

ADVIES 23-2018

Betreft:

**Inschatting van het risico voor de consument
van *Bacillus cereus* in levensmiddelen**

(SciCom 2018/04)

Wetenschappelijk advies goedgekeurd door het Wetenschappelijk Comité op 21 december 2018.

Sleutelwoorden:

Bacillus cereus, *Bacillus thuringiensis*, levensmiddelenmicrobiologie, biopesticide, risico-evaluatie

Key terms:

Bacillus cereus, *Bacillus thuringiensis*, food microbiology, biopesticide, risk assessment

Inhoud

Samenvatting	3
Summary	4
1. Referentietermen	6
1.1. <i>Vraagstelling</i>	6
1.2. <i>Wettelijke bepalingen</i>	6
1.3. <i>Methodologie</i>	6
2. Definities & Afkortingen	6
3. Inleiding	7
3.1. <i>Bacillus cereus</i>	7
3.2. <i>Het BACEREUS project</i>	8
3.3. <i>Context van de adviesaanvraag</i>	8
4. Literatuurstudie	9
4.1. <i>Opzet van de literatuurstudie</i>	9
4.2. <i>Resultaten literatuurstudie</i>	9
4.2.1. <i>Taxonomie en pathogeniciteit van de B. cereus-groep</i>	9
4.2.2. <i>Methoden voor het detecteren, tellen en differentiëren van leden van de B. cereus-groep</i>	10
4.2.3. <i>Voorkomen en niveaus van Bacillus spp., en in het bijzonder B. cereus, in voedsel en in het milieu ..</i>	11
4.2.4. <i>Controlemogelijkheden om de besmetting van voedingsmiddelen met Bacillus spp. en hun toxines te beheren</i>	12
5. Hoe veilig is het gebruik van <i>B. thuringiensis</i> als biopesticide?	13
6. Te nemen maatregelen naar aanleiding van hoge concentraties <i>B. thuringiensis</i> of <i>B. cereus</i>	14
7. Onzekerheden	15
8. Conclusies	16
9. Aanbevelingen	16
Referenties	18
Leden van het Wetenschappelijk Comité	21
Belangenconflict	21
Dankbetuiging	22
Samenstelling van de werkgroep	22
Wettelijk kader	22
Disclaimer	22
Bijlage 1: Uitgevoerde benadering van de literatuurstudie	23
Bijlage 2: Lijst relevante artikels (literatuurstudie)	26

Samenvatting

Advies 23-2018 Inschatting van het risico voor de consument van *Bacillus cereus* in levensmiddelen

Context & Vraagstelling

Er wordt aan het Wetenschappelijk Comité gevraagd op basis van welke wetenschappelijke elementen het risico voor de consument kan worden ingeschat wanneer hoge concentraties *Bacillus cereus* (*B. cereus*) ($>10^5$ kve/g of ml) met een potentieel toxinevormende eigenschap worden vastgesteld in een levensmiddel. Bijkomend wordt gevraagd op basis van welke criteria maatregelen dienen genomen te worden naar aanleiding van de vaststelling van hoge aantallen *B. cereus*. Daarnaast wordt eveneens aandacht besteed aan de veiligheid van het gebruik van *B. thuringiensis* als biopesticide.

Methodologie

Het advies is gebaseerd op recente wetenschappelijke literatuur en expertopinie. Door middel van een literatuurstudie werd de recente wetenschappelijke literatuur op een systematische wijze geanalyseerd en werd beoordeeld of er nieuwe kennis beschikbaar was met betrekking tot het risico voor de consument van *B. cereus* ten opzichte van de EFSA opinie uit 2016 met betrekking tot *B. cereus* in levensmiddelen.

Resultaat

De literatuurstudie leverde geen nieuwe inzichten op ten opzichte van de EFSA opinie uit 2016 met betrekking tot de elementen die toelaten om de risico's van de aanwezigheid van *B. cereus* in levensmiddelen in te schatten, dit zowel voor vegetatieve cellen, sporen als toxines. Omwille van deze reden werd er door het Wetenschappelijk Comité geen nieuwe risico-evaluatie uitgevoerd voor *B. cereus*.

In het algemeen worden commerciële *B. thuringiensis* stammen die als biopesticide worden gebruikt, als veilig beschouwd vanwege hun lange gebruiksgeschiedenis. Het blijft echter belangrijk om de veiligheid van deze stammen individueel te beoordelen. Momenteel zijn er geen merkers om deze stammen gemakkelijk te onderscheiden van *B. cereus* stammen.

Conclusie

Op basis van een literatuurstudie en expertopinie heeft het Wetenschappelijk Comité geen nieuwe wetenschappelijke elementen gevonden om het risico van *B. cereus* in levensmiddelen beter te kunnen inschatten. Daarom stelt het Wetenschappelijk Comité voor om, gezien de onzekerheden, een pragmatische actielimiet voor *B. cereus* (10^5 kve/g of ml) te hanteren en maatregelen te nemen op basis van deze actielimiet. Het Wetenschappelijk Comité beveelt eveneens aan om stalen van levensmiddelen met hoge concentraties ($> 10^5$ kve/g of ml) van vermoedelijke *B. cereus* door te sturen

naar het referentielaboratorium voor verdere identificatie op speciesniveau om kennis op te bouwen over de circulerende stammen.

Daarnaast wil het Wetenschappelijk Comité de aandacht vestigen op het feit dat niet enkel bepaalde stammen van *B. cereus sensu stricto*, maar ook bepaalde stammen van andere species uit de *B. cereus*-groep, zoals *B. thuringiensis*, *B. pseudomycooides* of *B. cytotoxicus*, een potentieel risico kunnen vormen voor de voedselveiligheid. Het Wetenschappelijk Comité beveelt dus aan om dezelfde actielimiet (10^5 kve/g of ml) toe te passen bij andere species uit de *B. cereus*-groep, zoals *B. thuringiensis* (inclusief de stammen gebruikt als biopesticide), aangezien er geen uitsluitel kan gegeven worden over hun infectieus vermogen voor de mens. Het Wetenschappelijk Comité beveelt tevens aan om de actielimiet voor *B. cereus* en andere species uit de *B. cereus*-groep opnieuw te evalueren, indien er voldoende nieuwe informatie beschikbaar is. Ten slotte raadt het Wetenschappelijk Comité aan om de *B. thuringiensis* stammen gebruikt als biopesticide te sequencen en deze stammen te analyseren voor de aanwezigheid van klinisch relevante antibioticaresistentiegenen.

Summary

Advice 23-2018 Estimation of the risk to the consumer of *Bacillus cereus* in food

Background & Terms of reference

The Scientific Committee is asked on basis of which scientific elements the risk to the consumer can be estimated when high concentrations of *Bacillus cereus* (*B. cereus*) ($> 10^5$ CFU / g or ml) with toxin-forming property are found in food. The Scientific Committee is also asked on the basis of which criteria measures should be taken in connection to high concentrations of *B. cereus*. In addition, attention was also given to the safety of the use of *B. thuringiensis* as biopesticide.

Methodology

This advice is based on recent literature data, as well as on expert opinion. The recent scientific literature was analysed in a systematic way by means of a literature study and it was assessed whether new knowledge was available with regard to the risk for the consumer of *B. cereus* compared to the EFSA opinion from 2016 on *B. cereus* in food.

Result

The literature study did not provide any new insights compared to the EFSA opinion from 2016 with regard to the elements that allow to estimate the risks related to the presence of *B. cereus* in food, for vegetative cells, spores and toxins. For this reason, no new risk assessment was performed by the Scientific Committee for *B. cereus*.

In general, commercial *B. thuringiensis* strains used as biopesticide are considered as safe due to their long usage history. However, it remains important to assess the safety of these strains individually. At present there are no markers to easily differentiate these strains from other *B. cereus* strains.

Conclusion

Based on a literature study and expert opinion, the Scientific Committee did not find new scientific elements to better assess the risk of *B. cereus* in food. Therefore the Scientific Committee proposes , in view of the uncertainties, to use a pragmatic action limit for *B. cereus* (10^5 CFU/g or ml) and to take measures based on this action limit. The Scientific Committee also recommends sending food samples with high concentrations ($> 10^5$ CFU/g or ml) from suspected *B. cereus* to the reference laboratory for further identification at species level in order to gain further knowledge on the circulating strains.

In addition, the Scientific Committee would like to draw attention to the fact that not only certain strains of *B. cereus sensu stricto*, but also strains of other species from the *B. cereus* group, such as *B. thuringiensis*, *B. pseudomycoides* or *B. cytotoxicus*, can potentially pose a risk to food safety. The Scientific Committee recommends using the same action limit (10^5 CFU/g or ml) for the other species from the *B. cereus* group, such as *B. thuringiensis*, since no definite answer can be given about their infectious ability for humans. For *B. thuringiensis* strains, including the strains used as biopesticide, the same action limit also applies (10^5 CFU / g or ml).The Scientific Committee also recommends that the action limit for *B. cereus* and other species from the *B. cereus* group be re-evaluated, if sufficient new information becomes available. Finally, the Scientific Committee recommends sequencing the *B. thuringiensis* strains used as biopesticides and analyzing these strains for the presence of clinically relevant antibiotic resistance genes.

1. Referentietermen

1.1. Vraagstelling

Het Wetenschappelijk Comité wordt verzocht om de volgende vragen te beantwoorden:

- Op basis van welke **wetenschappelijke elementen** kan het risico voor de consument worden ingeschat wanneer *B. cereus* in hoge concentratie wordt vastgesteld ($>10^5$ /g of ml) en de toxinevormende eigenschap van de stam wordt aangetoond, zowel voor het emetisch als voor het diarreetoxine in kant-en-klare en niet-kant-en-klare levensmiddelen ?
- Gezien de resultaten van het BACEREUS-onderzoeksproject, is het zinvol **maatregelen te baseren op** de vaststelling van hoge gehalten vegetatieve cellen met een diarree-toxinevormend vermogen? Is het aangewezen om een actielimiet te hanteren voor de sporen van *B. cereus*? Of dient een andere benadering met betrekking tot analyse gehanteerd te worden ?

1.2. Wettelijke bepalingen

Verordening (EG) Nr. 178/2002 van het Europees Parlement en de Raad van 28 januari 2002 tot vaststelling van de algemene beginselen en voorschriften van de levensmiddelenwetgeving, tot oprichting van een Europese Autoriteit voor voedselveiligheid en tot vaststelling van procedures voor voedselveiligheidsaangelegenheden

Verordening (EG) nr. 852/2004 van het Europees Parlement en de Raad van 29/04/2004 inzake levensmiddelenhygiëne

Verordening (EG) nr. 853/2004 van het Europees Parlement en de Raad van 29 april 2004 houdende vaststelling van specifieke hygiënevoorschriften voor levensmiddelen van dierlijke oorsprong

Verordening (EG) Nr. 2073/2005 van de Commissie van 15 november 2005 inzake microbiologische criteria voor levensmiddelen

1.3. Methodologie

Het advies is gebaseerd op recente wetenschappelijke literatuur en expertopinie. Door middel van een literatuurstudie werd de recente wetenschappelijke literatuur op een systematische wijze bestudeerd (zie bijlage 1) en werd nagegaan of er nieuwe kennis beschikbaar was met betrekking tot het risico voor de consument van *B. cereus* ten opzichte van de EFSA opinie uit 2016 met betrekking tot *B. cereus* in levensmiddelen.

2. Definities & Afkortingen

CytK	Cytotoxine K (CytK1 of CytK2)
EFSA	Europese Autoriteit voor Voedselveiligheid (<i>European Food Safety Authority</i>)
FAVV	Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen
HBL	Hemolysine BL

HGR	Hoge Gezondheidsraad
kve	Kolonievormende eenheden (CFU, <i>Colony Forming Unit</i> in het Engels)
MYP	Mannitol egg-yolk polymyxin
Nhe	Niet-hemolytisch enterotoxine
SciCom	Het Wetenschappelijk Comité van het FAVV

Actielimiet: Reglementair criterium of door DG Controlebeleid voorgestelde (en indien nodig door het Wetenschappelijk Comité gevalideerde) richtwaarde indien geen reglementair criterium beschikbaar is.

Overwegende de besprekingen tijdens de werkgroepvergaderingen van 7/05/2018 en 19/09/2018 en de plenaire zittingen van het Wetenschappelijk Comité van 26/10/2018 en 21/12/2018,

geeft het Wetenschappelijk Comité het volgend advies:

3. Inleiding

3.1. *Bacillus cereus*

B. cereus is een grampositieve, facultatief anaerobe bacterie die hitte-resistente sporen kan vormen in ongunstige groeiomstandigheden (FDA, 2013). Deze bacteriën en hun sporen komen wijdverspreid voor in het milieu en worden bijgevolg in veel levensmiddelen aangetroffen. Via de voeding kunnen vegetatieve *B. cereus* cellen, sporen of toxines terechtkomen in het spijsverteringsstelsel waar ze aanleiding kunnen geven tot twee types van voedselgebonden ziekte. Het eerste type, een voedselvergiftiging, komt voor wanneer voedsel gecontamineerd met het emetisch toxine cereulide geproduceerd door bepaalde stammen van *B. cereus* wordt geconsumeerd. Symptomen zoals misselijkheid en braken starten 0,5 tot 6 uur na consumptie. Bij het tweede type, een toxi-infectie, wordt voedsel gecontamineerd met vegetatieve cellen en/of sporen van *B. cereus* geconsumeerd en dit maakt de productie van enterotoxine(s) mogelijk in de dunne darm. In dit geval starten 6 tot 15 uur na consumptie de symptomen waaronder waterige diarree, abdominale krampen, pijn, misselijkheid en in zeldzame gevallen braken. De ziekte is gewoonlijk mild en zelflimiterend met symptomen die verdwijnen na een dag, hoewel er enkele zeldzame ernstige, zelfs dodelijke, gevallen gerapporteerd werden (ANSES, 2011; Stenfors Arnesen *et al.*, 2008).

Deze toxi-infecties ten gevolge van *B. cereus* contaminatie zijn in het algemeen geassocieerd met concentraties van $>10^5$ kve/g (EFSA, 2016).

3.2. Het BACEREUS project

De FOD Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu financierde het onderzoeksproject 'BACEREUS' waarin o. a. het gedrag van *B. cereus* in de maag en de dunne darm werd bestudeerd. Het doel was om een betere inschatting te kunnen maken van het risico dat verschillende *B. cereus* stammen in de voedselketen stellen. Het BACEREUS project werd uitgevoerd in 2009-2012 door verschillende onderzoeks- en universitaire instellingen (ILVO, UGent, UCLouvain en WIV/ISP).

De belangrijkste bevindingen uit dit project en vergelijkbaar onderzoek zijn:

- Een simulatiemodel van het humaan gastro-intestinaal stelsel toonde een goede overleving van *B. cereus* sporen bij consumptie en passage doorheen het maag-darmkanaal. Ook toonde het ontkieming aan van *B. cereus* sporen in het darmmilieu, maar geen uitgroei ervan. Vegetatieve cellen daarentegen hadden een slechte overleving. Enterotoxineproductie werd nooit vastgesteld in dit "in vitro" systeem. Er ontbreekt dus kennis over de mechanismen van toxineproductie in de darm. De volgende hypothese werd geformuleerd: lokale groei van *B. cereus* en enterotoxineproductie treedt op na interactie met mucus en/of intestinaal epitheel van de gastheer.
- Er werd een methode ontwikkeld op basis van MALDI-TOF massaspectrometrie om de enterotoxines Nhe (niet-hemolytisch enterotoxine) en CytK (cytotoxine K), geproduceerd door *B. cereus* stammen, te detecteren. Aan de hand van de huidige kennis blijken voornamelijk CytK1 (geassocieerd met bloederige diarree) en Nhe van belang te zijn. Ook het *CytK2* gen komt veel voor, maar het is niet bekend of dit een virulentiefactor is. Er blijft echter nog altijd onzekerheid over welke specifieke genen (of genencombinatie) belangrijk zijn voor de productie van diarreetoxinen door *B. cereus*.

3.3. Context van de adviesaanvraag

In het advies 27-2007 van het Wetenschappelijk Comité over actielimieten voor microbiologische contaminanten met betrekking tot o.a. toxines van *B. cereus* staat de volgende aanbeveling met betrekking tot het emetisch toxine en diarreetoxine van *B. cereus*: "Indien echter bij dit besmettingsniveau ($>10^5$ kve/g) door laboratoriumtesten de toxinevormende eigenschap van de stam kan worden aangetoond, wordt aan het FAVV aangeraden een risico-inschatting uit te voeren en op basis daarvan geschikte maatregelen te treffen ter bescherming van de volksgezondheid." (SciCom, 2007). Uit de resultaten van het BACEREUS-onderzoeksproject blijkt echter dat de aanwezigheid van de toxinegenen niet noodzakelijk verbonden is met toxineproductie. Bijgevolg is het niet duidelijk hoe het risico voor de volksgezondheid moet worden ingeschat bij consumptie van levensmiddelen besmet met een hoog aantal vegetatieve cellen van *B. cereus* welke een toxinevormende eigenschap bevatten. Daarom wordt omtrent het risico voor de consument van hoge concentraties *B. cereus* ($>10^5$ kve/g) opnieuw een advies gevraagd aan het Wetenschappelijk Comité. Zowel kant-en-klare als niet-kant-en-klare levensmiddelen behoren tot de scope van het advies. Dit advies heeft betrekking op de *B. cereus*-groep en in het bijzonder stammen van *B. cereus sensu stricto*.

4. Literatuurstudie

4.1. Opzet van de literatuurstudie

Momenteel wordt er een pragmatische aanpak gebruikt om te bepalen vanaf welk contaminatieniveau *B. cereus* een potentieel risico vormt voor de consument, met uitzondering van gedroogde volledige zuigelingenvoeding en gedroogde diëtvoeding voor medisch gebruik voor zuigelingen jonger dan zes maanden waarvoor er een wettelijke limiet is vastgesteld. In België wordt een actielimiet voor *B. cereus* van $>10^5$ kve/g of ml toegepast. Bij detectie van hoge concentraties *B. cereus* cellen ($>10^5$ kve/g of ml) worden de toxinegenen onderzocht. Gezien de vele onzekerheden met betrekking tot *B. cereus*, oordeelde het Wetenschappelijk Comité dat het nuttig was om de recente literatuur op een gestructureerde wijze te bestuderen in het kader van dit dossier.

De beschikbare literatuur over *B. cereus* is uitgebreid en complex. Daarnaast is de evaluatie van het risico van *B. cereus* eveneens complex en afhankelijk van vele factoren. Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat er reeds goede adviezen en overzichten over *B. cereus* bestaan die als startpunt kunnen dienen, waaronder het advies van de Hoge Gezondheidsraad (HGR, 2010) en de wetenschappelijke opinie van de Europese Autoriteit voor voedselveiligheid (EFSA, 2016). In het kader van het huidige advies werd een literatuurstudie uitgevoerd met een gelijkaardige aanpak als in EFSA (2016) voor artikels gepubliceerd vanaf 2016. De volledige benadering van de literatuurstudie is terug te vinden in bijlage 1. Aan de hand van deze recente artikels evalueerde het Wetenschappelijk Comité of er al dan niet een *status quo* is van de kennis ten opzichte van de wetenschappelijke opinie van EFSA (2016).

4.2. Resultaten literatuurstudie

4.2.1. Taxonomie en pathogeniciteit van de *B. cereus*-groep

Algemene kennis (EFSA, 2016): De *B. cereus*-groep bestaat uit 9 erkende species: *B. cereus sensu stricto* (of *B. cereus s.s.*), *B. anthracis*, *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. cytotoxicus*, *B. toyonensis* en het recent beschreven species *Bacillus wiedmannii* (Miller *et al.*, 2016). Andere species werden ook beschreven, maar (nog) niet gevalideerd (o.a. *Bacillus gaemokensis* (Jung *et al.*, 2010), *Bacillus manliponensis* (Jung *et al.*, 2011), *Bacillus bingmayongensis* (Liu *et al.*, 2014). De genen welke coderen voor belangrijke eigenschappen bevinden zich vaak op (mogelijks mobiele) plasmiden. Het Wetenschappelijk Comité merkt eveneens op dat de transfer van genen mogelijk is tussen stammen/soorten van de *B. cereus*-groep. Hun frequenties in de natuur blijven echter grotendeels onbekend.

De *B. cereus*-groep produceert verschillende potentiële virulentiefactoren, die synergetisch kunnen werken binnen de gastheer. Verschillende putatieve enterotoxines (Nhe, HBL en CytK) en het emetisch toxine (cereulide) zijn in verband gebracht met infecties door *B. cereus*. De capaciteit voor toxineproductie is echter sterk afhankelijk van de stam. De regulatie van toxineproductie is complex en afhankelijk van transcriptionele, post-transcriptionele en translationele regulatiesystemen (Jeßberger *et al.*, 2015). Daarnaast is ook de werking van enterotoxines nog grotendeels onbekend. Naast deze enterotoxines kunnen sommige stammen van de *B. cereus*-groep nog andere virulentiefactoren produceren zoals fosfolipasen, svingomyelinasen, hemolysinen of metalloproteïnasen, waarvan het effect nog verder dient onderzocht te worden. Gezien deze

complexe situatie, met nog veel onzekerheden, is het bepalen van een minimale infectieuze dosis voor *B. cereus* moeilijk. Omwille van de moeilijkheid om pathogene stammen te identificeren, dient er rekening mee gehouden te worden dat elke stam van de *B. cereus*-groep potentieel pathogeen is.

Nieuwe kennis (literatuurstudie): Verschillende stammen van de *B. cereus*-groep, geïsoleerd uit specerijen, tonen aan dat niet enkel *B. cereus* s.s. maar ook sommige *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis* of *B. toyonensis*-achtige stammen potentieel enterotoxines kunnen produceren (Frentzel *et al.*, 2018). Er wordt opgemerkt dat *B. pseudomycooides* isolaten, welke in het algemeen beschouwd worden als onschadelijke micro-organismen, ook potentieel cytotoxisch en mogelijks pathogeen kunnen zijn (Lee *et al.*, 2016; Miller *et al.*, 2018). De taxonomie van de *B. cereus*-groep is dus geen bruikbaar criterium voor het inschatten van het risico voor de voedselveiligheid verbonden met bepaalde isolaten. Er is ook een grote variatie in de toxiciteit van de verschillende stammen. Bijvoorbeeld in een stam geïsoleerd uit Chinese rauwe melk werd cereulide geproduceerd met een 7-15 maal hogere toxiciteit ten opzichte van de emetisch *B. cereus* referentiestam (Cui *et al.*, 2018).

Daarnaast is het ook belangrijk om op te merken dat er geen associatie bestaat tussen de aanwezigheid van toxinegenen, eiwitexpressie en de cytotoxiciteit van de isolaten. Het is dus waarschijnlijk dat er nog andere (ongekende) virulentiefactoren invloed hebben op de cytotoxiciteit van de isolaten. Een fundamentele studie gebaseerd op transcriptoomanalyse, toont aan dat een groot aantal van de genen differentieel tot expressie komen tijdens de levenscyclus van *B. cereus* (Bassi *et al.*, 2016). Dit toont aan dat er nog veel te ontdekken kennis is met betrekking tot welke genen een belangrijke functie hebben voor de cytotoxiciteit van *B. cereus* stammen. De nieuwe literatuurgegevens bevestigen dus de conclusies van de EFSA opinie.

4.2.2. Methoden voor het detecteren, tellen en differentiëren van leden van de *B. cereus*-groep

Algemene kennis (EFSA, 2016): Voor de detectie van *B. cereus* wordt standaard de volgende methode gebruikt: directe tellingen worden gemaakt met behulp van een selectief medium zoals mannitol egg-yolk polymyxin (MYP). De bevestiging van 'vermoedelijke' *B. cereus* isolaten gebeurt aan de hand van een hemolyse-test. Een eerste probleem met deze aanpak is dat bepaalde *B. cereus* stammen niet hemolytisch zijn. Een tweede probleem is dat ook andere species van de *B. cereus*-groep zoals *B. thuringiensis* worden gedetecteerd met deze methode.

Alhoewel het toxine cereulide goed gekend is en relatief gemakkelijk aan te tonen is in levensmiddelen, zijn de enterotoxines nog een 'black box'. Momenteel wordt PCR gebruikt voor de detectie van de genen van de potentiële toxines. Zoals reeds eerder vermeld, blijft het echter de vraag of deze benadering alle toxinen betrokken bij het diarreeziektebeeld kan detecteren en, daarnaast, wat de relatie is tussen de aanwezigheid van deze potentiële enterotoxinegenen en de mogelijke virulentie van de betreffende stam.

Nieuwe kennis (literatuurstudie): Hieronder een overzicht van de belangrijkste bevindingen:

- Een interessante technologie is LAMP (Loop-mediated isothermal AMPlification), waarbij snel (<1 uur) en met eenvoudige uitleesapparatuur detectie van *B. cereus* kan verkregen worden (Xia *et al.*, 2016).

Deze recente technologie wordt echter momenteel enkel gebruikt voor onderzoek en niet voor routine-analyses.

- Voor de detectie en telling van *B. cereus* en gerelateerde species in levensmiddelen wordt normaalgezien het standaardmedium MYP gebruikt. Na onderzoek blijkt dat alternatieve voedingsbodems zoals Bacara™ medium selectiever zijn (Kabir *et al.*, 2017).

- Voor detectie van het cereulide toxine werden nieuwe chemische probes ontwikkeld (García-Calvo *et al.*, 2017). De probes geven een sterk fluorescent signaal in de aanwezigheid van kationen. Cereulide zal een complex vormen met de beschikbare kationen, waardoor het fluorescente signaal van de probe vermindert. Deze methode kan in de toekomst nuttig zijn voor een snelle detectie van cereulide in voedselstalen op het terrein, maar omdat verdere optimalisatie nodig is, is deze methode (nog) niet geschikt voor routinetoepassing.

- Voor toxiciteitsstudies op menselijke cellen lijkt de incubatietemperatuur een belangrijke factor, aangezien isolaten van *B. weihenstephanensis* bij 37°C geen cytotoxiciteit vertonen, maar wel bij lagere incubatietemperaturen (Miller *et al.*, 2018). Het bepalen van cytotoxiciteit van isolaten bij 37°C (= menselijke lichaamstemperatuur) lijkt dus interessant ten opzichte van methoden welke lagere incubatietemperaturen gebruiken.

In conclusie, er zijn nieuwe ontwikkelingen in het domein van detectiemethoden voor *B. cereus*, maar er zijn geen innovaties welke direct gebruikt kunnen worden in routinetoepassingen.

4.2.3. Voorkomen en niveaus van *Bacillus* spp., en in het bijzonder *B. cereus*, in voedsel en in het milieu

Algemene kennis (EFSA, 2016): *B. cereus* komt wijdverspreid voor in het milieu (e.g. bodem en vegetatie). Er is echter weinig informatie beschikbaar over de transfer van *Bacillus* spp. uit de omgeving naar levensmiddelen. In levensmiddelen kunnen sporen van *B. cereus*, welke hitte-resistent zijn, een intensieve verwerking overleven. Voedselvergiftigingen worden meestal geassocieerd met concentraties van $>10^5$ kve/g, maar er zijn ook gevallen van toxi-infecties geconstateerd waarbij de levensmiddelen tussen 10^3 en 10^5 kve/g bevatten. Er moet ook rekening gehouden worden met het feit dat *B. cereus* zich kan vermenigvuldigen in het levensmiddel tijdens opslag.

Nieuwe kennis (literatuurstudie): Voor verscheidene levensmiddelen zijn nieuwe prevalentiedata beschikbaar. Bijvoorbeeld voor kant-en-klare zeevruchten varieerde de aanwezigheid van *B. cereus* (>10 kve/g) van 13% voor inktvis tot 93% in oesters. Maar de concentraties *B. cereus* waren altijd lager dan 10^3 kve/g (Kim *et al.*, 2017). Voor diverse soorten kaas uit Turkije blijkt 10.4% positief voor *B. cereus* met tellingen tot 3.8×10^5 kve/g (Yibar *et al.*, 2017). Voor verse ricotta kaas werd in ongeveer 16% van de stalen *B. cereus* teruggevonden, maar de concentraties waren altijd lager dan 10 kve/g (Scatassa *et al.*, 2018). Voor 602 schoolmaaltijden was het aantal gedetecteerde *B. cereus* altijd lager dan 10^5 kve/g (Petruzzelli *et al.*, 2018). De analyse van 1489 stalen van levensmiddelen afkomstig van een Nederlandse markt toont de aanwezigheid van *B. cereus* aan in 5.4 % van de gevallen en in 0.7% was de concentratie hoger dan 10^5 kve/g (Biesta-Peters *et al.*, 2016). Zetmeelrijke levensmiddelen en groenten werden geïdentificeerd als de meest voorkomende levensmiddelen bij voedseluitbraken gerelateerd met *B. cereus* in Frankrijk gedurende de periode 2007-2014 (Glasset *et al.*, 2016).

De prevalentie van *B. cereus* in kuilvoer (welke niet werd behandeld in het EFSA advies) heeft gerapporteerde concentraties met een maximaal niveau van 10^4 kve/g (Driehuis *et al.*, 2018; Queiroz *et al.*, 2018). Aangezien kuilvoer niet beschouwd wordt als een belangrijke bron van contaminatie van melk door *B. cereus* (Vissers *et al.*, 2007), is het Wetenschappelijk Comité van mening dat deze bron van contaminatie van levensmiddelen met *B. cereus* een laag risico is. Meerdere artikels bestuderen eveneens *B. cereus* prevalentie in melkstalen (rauwe melk, gepasteuriseerde melk of UHT melk). Een onverwachte observatie is de aanwezigheid van *B. cereus* volgens de auteurs in UHT melk, ondanks de toegepaste hittebehandeling (Bartoszewicz *et al.*, 2017, Chavez *et al.*, 2017). Mogelijke verklaringen voor deze aanwezigheid in UHT melk zijn onvoldoende bewaking van het UHT proces of postcontaminatie. In het algemeen leverden de nieuwe prevalentiegegevens echter weinig verrassende resultaten op. De conclusies van de EFSA opinie over het voorkomen en de niveaus van *B. cereus* in het milieu en de voeding blijven dus geldig.

4.2.4. Controlemogelijkheden om de besmetting van voedingsmiddelen met *Bacillus* spp. en hun toxines te beheeren

Algemene kennis (EFSA, 2016): Voor de beheersing van het risico van *B. cereus* kunnen verschillende strategieën worden toegepast, waaronder hittebehandeling en bestraling om de bacteriën te inactiveren, en temperatuurbeheer om uitgroei tegen te gaan tijdens bewaring. De meeste inactivatiebehandelingen zijn efficiënt tegen vegetatieve cellen, maar niet tegen sporen van *B. cereus*. Voor de thermische inactivatie van *B. cereus* sporen zijn hoge temperaturen (sterilisatie of UHT) vereist, maar combinatie met hoge druk kan de efficiëntie van thermische processen bij lagere temperaturen verhogen. Daarnaast wordt het aanwezige cereulide toxine niet geïnactiveerd door de algemeen gebruikte thermische behandelingsmethoden. De enterotoxinen daarentegen worden geïnactiveerd tijdens de maag-darm passage en vormen dus enkel een risico wanneer ze gevormd worden in de dunne darm.

Nieuwe kennis (literatuurstudie):

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat het voorkomen van kieming en groei van *B. cereus* een belangrijke focus moet zijn met het oog op het bewaken van de voedselveiligheid. Een belangrijke beheersmaatregel voor *B. cereus* is de bewaring bij 4°C. Volgens Porcellato *et al.*, bleef tijdens de opslag van melk in dozen bij 4°C de bacteriesamenstelling stabiel gedurende de houdbaarheidsperiode van het product met lage of niet-detecteerbare *B. cereus* aantallen. Opslag bij 8°C daarentegen zorgde voor een verhoging van het aantal *Bacillus* spp. en een aanzienlijke verhoging van het aantal vermoedelijke *B. cereus* (Porcellato *et al.*, 2018). Opslag bij 4°C zou eveneens de hittebestendigheid van *B. cereus* sporen verminderen, dit fenomeen dient echter nog verder onderzocht te worden (Soni *et al.*, 2018). Het is gekend dat bereide levensmiddelen, die mogelijk niet-geïnactiveerde *B. cereus* sporen bevatten, een hoog risico vormen voor voedselvergiftiging, omdat in deze producten kieming en uitgroei van *B. cereus* mogelijk is gedurende de bewaring bij een ongepaste temperatuur (> 4°C). Risicoproducten zijn bereide levensmiddelen zoals gekoelde bereide voeding met een lange houdbaarheid, groentepuree, peulvruchtproducten, sauzen, rijst, vis en zeevruchten, melk en zuiverproducten (EFSA, 2016). Voor deze producten is de temperatuur gedurende bewaring een zeer belangrijke beheersmaatregel.

Het Wetenschappelijk Comité wil ook de aandacht vestigen op het feit dat *B. cereus* biofilms kan vormen (Fernandes *et al.*, 2017; Nadaraja *et al.*, 2017; Sadiq *et al.*, 2017). Dit is dus een aandachtspunt

voor de voedingsindustrie. In conclusie, voor de beheersing van het risico van *B. cereus* kunnen verschillende strategieën worden toegepast, waarvan bewaring bij 4°C een van de belangrijkste beheersmaatregelen blijft. Er is ook blijvende aandacht nodig voor potentiële bronnen van contaminatie, zoals biofilms.

4.3. Conclusie literatuurstudie

Naar aanleiding van de literatuurstudie formuleert het Wetenschappelijk Comité een aantal algemene bevindingen:

- Het Wetenschappelijk Comité merkt op dat er veel artikels van matige tot zelfs bedenkelijke kwaliteit teruggevonden werden in de literatuurstudie, gebaseerd op expertopinie. Hoewel er dus uiteindelijk 80 artikels gelezen werden door leden van de werkgroep, is informatie uit een beperkt aantal artikels weerhouden in bovenstaande secties.
- Naast stammen van *B. cereus* s.s. kunnen sommige stammen van verschillende species uit de *B. cereus*-groep, zoals *B. thuringiensis*, *B. pseudomycooides* of *B. cytotoxicus*, een potentieel gevaar vormen voor de voedselketen.
- Een vaststelling van hoge concentraties *B. cereus* ($> 10^5$ kve/g of ml) is eerder uitzonderlijk en dus een indicatie dat er iets verkeerd is gelopen bij de productie en/of bewaring van het levensmiddel.
- Er werden geen nieuwe detectiemethoden geïdentificeerd met directe toepassing(en) in routinelaboratoria.
- Er werden geen fundamenteel nieuwe inzichten gevonden, die aanleiding geven tot een nieuwe risico-evaluatie ten opzichte van de EFSA opinie uit 2016. De vele onzekerheden met betrekking tot o.a. pathogeniciteit van de verschillende stammen en de dosisrespons blijven bestaan.

5. Hoe veilig is het gebruik van *B. thuringiensis* als biopesticide?

Er zijn momenteel meerdere commerciële stammen van *B. thuringiensis* op de markt in België, welke vrij te verkrijgen zijn voor gebruik als biopesticide. Indien producten besproeid met een *B. thuringiensis* biopesticide na een korte wachttijd (bv. na één dag) reeds worden geoogst kan dit aanleiding geven tot de detectie van hoge concentraties vermoedelijke *B. cereus* volgens de ISO methode die geen onderscheid toelaat tussen *B. cereus* s.s. en *B. thuringiensis*. Studies met betrekking tot het lot van *B. thuringiensis* na toepassing als biopesticide rapporteren halfwaardetijden van 100-200 dagen in de bodem en 16-38 uur op bladeren van een plant (EFSA, 2016). De beschikbare gegevens zijn echter beperkt en het is dus moeilijk te voorspellen hoelang een biopesticide aanwezig is op een gewas.

Het Wetenschappelijk Comité merkt op dat er weinig informatie beschikbaar is over deze *B. thuringiensis* stammen. In het EFSA advies van 2016 werd aangeraden om het genoom van deze stammen te laten sequencen zodanig dat de ondubbelzinnige identificatie van deze stammen gebruikt als biopesticiden mogelijk wordt. Bovendien moeten merkers geïdentificeerd worden voor deze commerciële *B. thuringiensis* stammen met het oog op een eenvoudige identificatie en gemakkelijke differentiatie ten opzichte van *B. cereus*. Momenteel zijn er echter (nog) geen merkers beschikbaar. Deze *B. thuringiensis* stammen, gebruikt als biopesticide, dienen ook geanalyseerd te worden voor de aanwezigheid van klinisch relevante en potentieel overdraagbare antibioticaresistentiegenen.

Het Wetenschappelijk Comité vraagt zich af of de kwaliteitscontrole van de bedrijven die *B. thuringiensis* biopesticiden produceren voldoende is om de veiligheid van de voedselketen te garanderen. De bedrijven zijn voornamelijk geïnteresseerd in de goede werking van het biopesticide (= afdoding van insecten) en niet zo zeer in de mogelijke risico's voor de voedselveiligheid. Echter, het gebruik van *B. thuringiensis* als biopesticide heeft reeds een lange geschiedenis – meer dan 50 jaar voor bepaalde stammen (Rosas-García, 2009). Tijdens deze periode gaf het gebruik van *B. thuringiensis* als biopesticide voor zover gekend geen aanleiding tot voedseluitbraken, wat te verwachten zou zijn wanneer deze stammen pathogeen zijn, waardoor deze stammen met grote waarschijnlijkheid beschouwd kunnen worden als veilig. Een recent artikel (Johler *et al.*, 2018) toont echter aan dat bepaalde *B. thuringiensis* stammen gebruikt als biopesticide gemiddelde niveaus van potentiële enterotoxines produceren. Het is dus belangrijk om de veiligheid van *B. thuringiensis* stammen gebruikt als biopesticide individueel te beoordelen.

De vraag stelt zich welk gevolg er moet gegeven worden aan hoge concentraties van *B. thuringiensis* in kant-en-klare levensmiddelen. Het Wetenschappelijk Comité stelt voor om *B. thuringiensis* even streng te beoordelen als *B. cereus* en dezelfde actielimiet te gebruiken. Dit omwille van het feit dat *B. thuringiensis* grote gelijkenissen vertoont met *B. cereus* op genetisch vlak en eveneens het potentieel heeft om potentiële enterotoxines te produceren.

6. Te nemen maatregelen naar aanleiding van hoge concentraties *B. cereus* of *B. thuringiensis*

In het algemeen zijn toxi-infecties ten gevolge van *B. cereus* contaminatie geassocieerd met concentraties van $>10^5$ kve/g (EFSA, 2016). Ziekte als gevolg van *B. cereus* (of *B. thuringiensis*) contaminatie van levensmiddelen is gewoonlijk mild en “zelflimiterend” met symptomen die verdwijnen na een dag, hoewel er echter ook een aantal ernstige en zelfs dodelijke gevallen gerapporteerd zijn (ANSES, 2011; Stenfors Arnesen *et al.*, 2008). Het Wetenschappelijk Comité raadt aan om stalen met hoge concentraties ($> 10^5$ kve/g of ml *B. thuringiensis* of *B. cereus*) door te sturen naar het referentielaboratorium voor een verdere identificatie op het speciesniveau. Op deze manier wordt kennis opgebouwd over de circulerende *B. cereus* en *B. thuringiensis* stammen. Het Wetenschappelijk Comité merkt op dat er geen alarmerende publicaties bestaan die erop wijzen dat de aanwezigheid van *B. thuringiensis* of *B. cereus* een groot probleem zou vormen in de praktijk. Desalniettemin is het mogelijk dat er een onderrapportering is van het aantal ziektegevallen ten gevolge van de consumptie van voedsel gecontamineerd met *B. cereus* of *B. thuringiensis*, aangezien er niet altijd een dokter geraadpleegd wordt voor milde symptomen van diarree. Op basis van de huidige kennis worden hoge niveaus van beide species (*B. cereus* en *B. thuringiensis*) beschouwd als potentieel onveilig ($> 10^5$ kve/g of ml). Het Wetenschappelijk Comité raadt aan om maatregelen te nemen op basis van de actielimiet voor *B. cereus* (of *B. thuringiensis*) van 10^5 kve/g of ml. Het risico is mogelijks lager voor bepaalde niet-cytotoxische *B. thuringiensis* stammen gebruikt als biopesticide. Indien er in de toekomst betrouwbare en gemakkelijk op te sporen merkers voor deze stammen voor handen zijn kan de actielimiet voor deze stammen opnieuw geëvalueerd worden.

7. Onzekerheden

Er zijn verschillende onzekerheden die bij dit advies in acht moeten genomen worden.

Onzekerheden met betrekking tot de infectiedosis in geval van toxi-infectie (dosisrespons, variabiliteit tussen stammen, andere factoren)

Er dient in rekening te worden gebracht dat groei van *B. cereus* mogelijk is in verschillende levensmiddelen. Daarnaast bestaat er veel variatie tussen de stammen van *B. cereus*. Zo, is de capaciteit voor toxineproductie sterk afhankelijk van de stam. In het algemeen worden toxi-infecties ten gevolge van *B. cereus* contaminatie geassocieerd met concentraties van $>10^5$ kve/g (EFSA, 2016). Maar ziekte kan ook optreden ten gevolge van lagere concentraties, en dit zowel voor het emetische als diarree ziektebeeld. Gezien de complexe situatie, met nog veel onzekerheden, is het bepalen van een minimale infectieuze dosis voor *B. cereus* moeilijk.

Onzekerheden met betrekking tot het definiëren van pathogene stammen

De taxonomie van de *B. cereus*-groep is geen bruikbaar criterium voor het inschatten van het risico voor de voedselveiligheid verbonden met bepaalde isolaten. Met uitzondering van emetische stammen (welke cereulide produceren), bestaat er geen eenvoudige correlatie tussen de aanwezigheid van potentiële toxinegenen, hun expressie en de virulentie van de isolaten. Daarnaast bestaat er onzekerheid over de specifieke genen (of combinatie van genen) die belangrijk zijn voor de productie van enterotoxinen door *B. cereus*, evenals de productiemechanismen en de werking van enterotoxinen in de darm. Bepaalde stammen van verschillende species uit de *B. cereus*-groep, waaronder *B. cereus s.s.*, *B. thuringiensis*, *B. pseudomycooides* en *B. cytotoxicus*, kunnen daarom potentieel pathogeen zijn.

Onzekerheden met betrekking tot het aantal ziektegevallen

Er is mogelijk een onderrapportering van het aantal ziektegevallen ten gevolge van de consumptie van voedsel gecontamineerd met *B. cereus* (of *B. thuringiensis*), aangezien er niet altijd een dokter geraadpleegd wordt voor milde symptomen van diarree. Het is eveneens niet altijd mogelijk om *B. cereus* (of *B. thuringiensis*) te identificeren als oorzaak van de voedselgebonden ziekte.

Onzekerheden van de detectiemethoden

De standaardmethode gebruikt voor de detectie van *B. cereus* heeft een aantal beperkingen. De bevestiging van 'vermoedelijke' *B. cereus* isolaten gebeurt aan de hand van een hemolyse-test, maar bepaalde *B. cereus* stammen zijn niet-hemolytisch. Daarnaast worden ook andere species van de *B. cereus*-groep zoals *B. thuringiensis* gedetecteerd met deze methode. De huidige gegevens over 'vermoedelijke' *B. cereus* omvatten dus niet enkel gegevens over stammen van *B. cereus sensu stricto*.

8. Conclusies

Na uitvoering van de literatuurstudie blijkt dat er geen relevante vernieuwende inzichten beschikbaar zijn ten opzichte van het EFSA advies (EFSA, 2016) met betrekking tot de risico's van *B. cereus* in levensmiddelen voor de consument, dit zowel voor vegetatieve cellen, sporen als toxines. Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat er onvoldoende nieuwe informatie beschikbaar is om een nieuwe risico-evaluatie uit te voeren voor *B. cereus*. De risico-evaluatie van EFSA wordt dus nog steeds als geldig beschouwd. Er blijven veel onzekerheden bestaan met betrekking tot o.a. de pathogeniciteit van de verschillende *B. cereus* stammen en de dosisresponsrelatie.

Op basis van de huidige kennis, met uitzondering van de stammen die cereulide produceren, is het niet mogelijk om een correlatie te maken tussen de aanwezigheid van bepaalde toxinegenen of hun expressieniveaus met de potentiële virulentie van de isolaten, waardoor de aanwezigheid van virulentiegenen onvoldoende is om een conclusie te maken over het risico voor de consument. Een goede differentiatie tussen de verschillende *Bacillus* species, in het bijzonder *B. cereus* en *B. thuringiensis*, blijft eveneens moeilijk. De aanwezigheid van hoge concentraties *B. cereus* (10^5 kve/g of ml) in levensmiddelen wordt als een verhoogd risico voor de consument beschouwd, aangezien voedselvergiftigingen ten gevolge van *B. cereus* contaminatie in het algemeen geassocieerd zijn met concentraties van $>10^5$ kve/g (EFSA, 2016). Het Wetenschappelijk Comité raadt op basis van deze bevindingen aan om een pragmatische actielimiet voor *B. cereus* (10^5 kve/g of ml), gezien de onzekerheden, te hanteren. Voor *B. thuringiensis* stammen, inclusief stammen gebruikt als biopesticide, raadt het Wetenschappelijk Comité eveneens aan om, gezien de onzekerheden, de pragmatische actielimiet van 10^5 kve/g of ml te hanteren.

In het geval van RASFF berichten over *B. cereus* met concentraties lager dan 10^5 kve/g, kan afhankelijk van de situatie een productterugroeping nodig zijn in België. Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat de aanwezigheid van lage concentraties *B. cereus* in bepaalde gevallen een indicatie kan zijn van een onderliggend probleem. Bijvoorbeeld in steriele levensmiddelen wordt er geen aanwezigheid van *B. cereus* verwacht. Aanwezigheid van *B. cereus* kan in zo'n geval wijzen op een probleem met de hittebehandeling (sterilisatie) of hercontaminatie van het product bij de productie, verwerking of opslag van het product.

9. Aanbevelingen

Het Wetenschappelijk Comité raadt aan om maatregelen te nemen op basis van de actielimiet voor *B. cereus* van 10^5 kve/g of ml. Deze actielimiet is onafhankelijk van de aanwezigheid van virulentiegenen, aangezien de huidige kennis ontoereikend is om verdere verfijning toe te laten. Het Wetenschappelijk Comité raadt aan om stalen met hoge concentraties ($> 10^5$ kve/g of ml *B. thuringiensis* of *B. cereus*) door te sturen naar het referentielaboratorium voor een verdere identificatie op speciesniveau om kennis op te bouwen naar de toekomst toe. Daarnaast is het Wetenschappelijk Comité van mening dat andere species uit de *B. cereus*-groep, zoals *B. thuringiensis*, aan dezelfde actielimiet onderhevig horen

te zijn. Als er in de toekomst voldoende nieuwe informatie beschikbaar is, kan deze actielimiet voor *B. cereus* en andere species uit de *B. cereus*-groep opnieuw worden geëvalueerd. Ten slotte, is het aangeraden om de *B. thuringiensis* stammen, gebruikt als biopesticide, te sequencen en deze stammen te analyseren voor de aanwezigheid van klinisch relevante antibioticaresistentiegenen.

Voor het Wetenschappelijk Comité,
De Voorzitter,

Prof. Dr. E. Thiry (Get.)
Brussel, 14/01/2019

Referenties

- ANSES (2011). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : "*Bacillus cereus*"
Beschikbaar op : <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2011sa0116Fi.pdf>
- Bartoszewicz M., Marjańska P. S. (2017). Milk-originated *Bacillus cereus sensu lato* strains harbouring *Bacillus anthracis*-like plasmids are genetically and phenotypically diverse. *Food Microbiol.* 67, 23–30. doi: 10.1016/j.fm.2017.05.009
- Bassi D., Colla F., Gazzola S., Puglisi E., Delledonne M., Cocconcelli P. (2016). Transcriptome analysis of *Bacillus thuringiensis* spore life, germination and cell outgrowth in a vegetable-based food model. *Food Microbiol.* 55: 73-85. doi:10.1016/j.fm.2015.11.006
- Biesta-Peters E.G., Dissel S., Reij M.W., Zwietering M.H., In't Veld P.H. (2016). Characterization and Exposure Assessment of Emetic *Bacillus cereus* and Cereulide Production in Food Products on the Dutch Market. *J. Food Prot.* 79(2): 230-238. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-15-217
- Chaves, J. Q., de Paiva E. P., Rabinovitch L., Vivoni A. M. (2017). Molecular characterization and risk assessment of *Bacillus cereus sensu lato* isolated from ultrahigh-temperature and pasteurized milk marketed in Rio de Janeiro, Brazil. *J. Food Prot.* 80, 1060–1065. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-448
- Cui Y., Liu Y., Liu X., Xia X., Ding S., Zhu K. (2016). Evaluation of the toxicity and toxicokinetics of cereulide from an emetic *Bacillus cereus* strain of milk origin. *Toxins*, 8 (6): 156 doi: 10.3390/toxins8060156
- Driehuis F., Wilkinson J.M., Jiang Y., Ogunade I., Adesogan A.T. (2018). Silage review: Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives. *J. Dairy Sci.* 101(5): 4093-4110. doi: 10.3168/jds.2017-13901
- EFSA, (2016). Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus spp.* Including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. *EFSA J.* 14(7): 4524
- FDA, (2013). Bad Bug Book. Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Beschikbaar online: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/UCM297627.pdf>
- Fernandes M. D. S., Alvares A. C. C., Manoel J. G. M., EsperL. M. R., Kabuki D. Y., Kuaye A. Y. (2017). Formation of multi-species biofilms by *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, and *Bacillus cereus* isolated from ricotta processing and effectiveness of chemical sanitation procedures. *Int. Dairy J.* 72:23-28. doi:10.1016/j.idairyj.2017.03.016
- Frentzel H., Kraushaar B., Krause G., Bodi D., Wichmann-Schauer H., Appel B., Mader A. (2018). Phylogenetic and toxinogenic characteristics of *Bacillus cereus* group members isolated from spices and herbs. *Food Contr.* 83: 90-98. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.12.022
- García-Calvo J., Ibeas S., Antón-García E.-C., Torroba T., González-Aguilar G., Antunes W., González-Lavado E., Fanarraga M. L. (2017). Potassium-Ion-Selective Fluorescent Sensors To Detect Cereulide, the Emetic Toxin of *B. cereus*, in Food Samples and HeLa Cells. *ChemistryOpen* 6(4):562-570. doi: 10.1002/open.201700057
- Glasset B., Herbin S., Guillier L., Cadel-Six S., Vignaud M., Grout J., Pairaud S., Michel V., Hennekinne J., Ramarao N., Brisabois A. (2016). *Bacillus cereus*-induced food-borne outbreaks in France, 2007 to 2014: epidemiology and genetic characterisation. *Euro Surveill.* 21(48):pii=30413 doi: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917>
- HGR, (2010). Advies HGR Nr. 8316 van januari 2010. Risico-profiel voor *Bacillus cereus* Groep in voedsel toxi-infecties: situatie in België en aanbevelingen. Beschikbaar online: https://www.health.belgium.be/sites/default/files/uploads/fields/fpshealth_theme_file/18060669/Risico-profiel%20voor%20Bacillus%20cereus%20Groep%20in%20voedsel%20toxi-infecties%3A%20situatie%20in%20Belgi%C3%AB%20en%20aanbevelingen%20%28januari%202010%29%20%28HGR%208316%29.pdf

- Jeßberger N., Krey V. M., Rademacher C., Böhm M.-E., Mohr A.-K., Ehling-Schulz M., Scherer S., Märtilbauer E. (2015). From genome to toxicity: a combinatory approach highlights the complexity of enterotoxin production in *Bacillus cereus*. *Front. Microbiol.* 6:560. doi: 10.3389/fmicb.2015.00560
- Johler S., Kalbhenn E. M., Heini N., Brodman, P., Gautsch S., Bağcıoğlu M., Contzen M., Stephan R., Ehling-Schulz M. (2018). Enterotoxin Production of *Bacillus thuringiensis* Isolates From Biopesticides, Foods, and Outbreaks. *Front. Microbiol.* 9:1915. doi: 10.3389/fmicb.2018.01915
- Jung M.Y., Paek W.K., Park I.S., Han J.R., Sin Y., Paek J., Rhee M.S., Kim H., Song H.S., Chang Y.H. (2010). *Bacillus gaemokensis* sp. nov., isolated from foreshore tidal flat sediment from the Yellow Sea. *J. Microbiol.* 48:867-871. doi: 10.1007/s12275-010-0148-0
- Jung M.Y., Kim J.S., Paek W.K., Lim J., Lee H., Kim P.I., Ma J.Y., Kim W., Chang Y.H. (2011). *Bacillus manliponensis* sp. nov., a new member of the *Bacillus cereus* group isolated from foreshore tidal flat sediment. *J. Microbiol.* 49:1027-1032. doi: 10.1007/s12275-011-1049-6
- Kabir M.S., Hsieh Y.H., Simpson S., Kerdahi K., Sulaiman I.M. (2017). Evaluation of two standard and two chromogenic selective media for optimal growth and enumeration of isolates of 16 unique *Bacillus* species. *J. Food Prot.* 80:952–962. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-441
- Kim H.W., Hong Y.J., Jo J.I., Ha S.D., Kim S.H., Lee H.J., Rhee M.S. (2017). Raw ready-to-eat seafood safety: microbiological quality of the various seafood species available at fishery, hyper, and online market. *Let. Appl. Microbiol.* 64:27-34. doi: 10.1111/lam.12688
- Lee W. , Kim H., Kim K. (2016). Isolation and Characterization of Spore-Forming Bacilli (SFB) from Shepherd's Purse (*Capsella bursa-pastoris*). *J. Food Science*,81:M684-M691. doi:10.1111/1750-3841.13231
- Liu B., Liu G.H., Hu G.P., Sengonca C., Lin N.Q., Tang J.Y., Tang W.Q., Lin Y.Z. (2014). *Bacillus bingmayongensis* sp. nov., isolated from the pit soil of Emperor Qin's Terra-cotta warriors in China. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 105:501-510. doi: 10.1007/s10482-013-0102-3
- Miller R. A., Jian J., Ben, S. M., Wiedmann M., Kovac J. (2018). Intraclade Variability in Toxin Production and Cytotoxicity of *Bacillus cereus* Group Type Strains and Dairy-Associated Isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 84(6):e02479-17. doi: 10.1128/AEM.02479-17
- Miller R.A., Beno S.M., Kent D.J., Carroll L.M., Martin N.H., Boor K.J., Kovac J. (2016). *Bacillus wiedmannii* sp. nov., a psychrotolerant and cytotoxic *Bacillus cereus* group species isolated from dairy foods and dairy environments. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66: 4744–4753. doi: 10.1099/ijsem.0.001421
- Nadaraja A. V., Nair A. J., Prameela M., Hari N., Balakrishnan N. (2017). Evaluation of currently employed food preservation conditions to tackle biofilm forming food pathogens. *J. Food Safety.* 38:e12407. doi: 10.1111/jfs.12407
- Petruzzelli A., Osimani A., Tavoletti S., Clementi F., Vetrano V., Di Lullo S., Paolini F., Fogliani M., Micci E., Oraziotti N., Luchetti T., Tonucci F. (2018). Microbiological quality assessment of meals and work surfaces in a school deferred catering system. *Int. J. Hosp. Manag.* 68:105-114 doi: 10.1016/j.ijhm.2017.10.003
- Porcellato D., Aspholm M., Skeie B. S., Monshaugen M., Brendehaug J., Mellegård H. (2017). Microbial diversity of consumption milk during processing and storage. *Int. J. Food Microbiol.* 266:21-30. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.004
- Queiroz O. C. M., Ogunade I. M., Weinberg Z., Adesogan A. T., (2018). Silage review: Animal and human health risks from silage. *J. Dairy Sci.* 101(5):4132-4142. doi: 10.3168/jds.2017-13836
- Rosas-Garcia N. M. (2009). Biopesticide Production from *Bacillus thuringiensis*: An Environmentally Friendly Alternative. *Rec. Patents on Biotechnol.* 3:28-36. doi: 10.2174/187220809787172632
- Sadiq F.A., Flint S., Yuan L., Li Y., Liu T., He G. (2017). Propensity for biofilm formation by aerobic mesophilic and thermophilic spore forming bacteria isolated from Chinese milk powders. *Int. J. Food Microbiol.* 262:89-98 doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.09.015

- Scatassa M. L., Mancus, I., Sciortino S., Macaluso G., Palmeri M., Arcuri L., Todaro M., Cardamone C. (2018). Retrospective study on the hygienic quality of fresh ricotta cheeses produced in Sicily, Italy. *Ital. J. Food Safety* 7(1):6911. doi: 10.4081/ijfs.2018.6911
- SciCom, (2007). Advies 27-2007 van het Wetenschappelijk Comité van 14 september 2007. Actielimieten voor microbiologische contaminanten met betrekking tot *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, toxines van *Staphylococcus aureus* en toxines van *Bacillus cereus*. (dossier Sci Com 2006/25ter). Beschikbaar online: http://www.afsca.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/2007/documents/ADVIES27-2007_NL_DOSSIER2006_25_ter.pdf
- Stenfors Arnesen L. P., Fagerlund A., Granum P. E. (2008). From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins, *FEMS Microbiol. Rev.*, 32 (4): 579-606. doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00112.x
- Soni A., Oey I., Silcock P., Bremer P.J. (2018). Impact of temperature, nutrients, pH and cold storage on the germination, growth and resistance of *Bacillus cereus* spores in egg white. *Food Res. Int.* 106:394-403. doi: 10.1016/j.foodres.2018.01.006
- Vissers M. M. M., Driehuis F., Te Giffel M. C., De Jong P., Lankveld J. M. G. (2007). Quantification of the transmission of microorganisms to milk via dirt attached to the exterior of teats. *J. Dairy Sci.* 90:3579–3582. doi: 10.3168/jds.2006-633
- Xia Y., Liu Z., Yan S., Yin F., Feng X., Liu B.-F. (2016) Identifying multiple bacterial pathogens by loop-mediated isothermal amplification on a rotate & react slipchip. *Sens. Actuators B Chem.* 228: 491–499. doi: 10.1016/j.snb.2016.01.074
- Yibar A., Cetinkaya F., Soyutemiz E., Yaman G. (2017). Prevalence, enterotoxin production and antibiotic resistance of *Bacillus cereus* isolated from milk and cheese. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 23:635-642. doi: 10.9775/kvfd.2017.17480

Voorstelling van het Wetenschappelijk Comité van het FAVV

Het Wetenschappelijk Comité is een adviesorgaan van het Belgisch Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV) dat **onafhankelijk wetenschappelijk advies** verschaft met betrekking tot risicobeoordeling en risicobeheer in de voedselketen en dit op vraag van de gedelegeerd bestuurder van het FAVV, de Minister die bevoegd is voor de voedselveiligheid of op eigen initiatief. Het Wetenschappelijk Comité wordt administratief en wetenschappelijk ondersteund door de Stafdirectie voor Risicobeoordeling van het Agentschap.

Het Wetenschappelijk Comité bestaat uit 22 leden die benoemd zijn bij koninklijk besluit op basis van hun wetenschappelijke expertise in domeinen die te maken hebben met de veiligheid van de voedselketen. Het Wetenschappelijk Comité kan bij de voorbereiding van een advies beroep doen op externe deskundigen die geen lid zijn van het Wetenschappelijk Comité. Net als de leden van het Wetenschappelijk Comité dienen zij in staat te zijn om onafhankelijk en onpartijdig te kunnen werken. Om de onafhankelijkheid van de adviezen te waarborgen worden potentiële belangenconflicten transparant beheerd.

De adviezen zijn gebaseerd op een wetenschappelijke beoordeling van de vraagstelling. Zij vertolken het standpunt van het Wetenschappelijk Comité dat in consensus is genomen op basis van risicobeoordeling en de bestaande kennis over het onderwerp.

De adviezen van het Wetenschappelijk Comité kunnen **aanbevelingen** bevatten voor het controlebeleid van de voedselketen of voor de belanghebbende partijen. De opvolging van de aanbevelingen voor het beleid behoort tot de verantwoordelijkheid van de risicomangers.

Vragen over een advies kunnen gericht worden aan het secretariaat van het Wetenschappelijk Comité: Secretariaat.SciCom@favv.be.

Leden van het Wetenschappelijk Comité

Het Wetenschappelijk Comité is samengesteld uit de volgende leden:

S. Bertrand^b, M. Buntinx, A. Clinquart, P. Delahaut, B. De Meulenaer, N. De Regge, S. De Saeger, J. Dewulf, L. De Zutter, M. Eeckhout, A. Geeraerd, L. Herman, P. Hoet, J. Mahillon, C. Saegerman, M.-L. Scippo, P. Spanoghe, N. Speybroeck, E. Thiry, T. van den Berg, F. Verheggen, P. Wattiau^c

Belangenconflict

Er werden geen belangenconflicten gemeld.

^b Tot maart 2018

^c Tot 17/06/2018

Dankbetuiging

Het Wetenschappelijk Comité dankt de Stafdirectie voor Risicobeoordeling en de leden van de werkgroep voor de voorbereiding van het ontwerpadvies. Het Wetenschappelijk Comité dankt eveneens L. Herman en T. van den Berg voor de 'deep reading' van het advies.

Samenstelling van de werkgroep

De werkgroep was samengesteld uit:

Leden van het Wetenschappelijk Comité:	J. Mahillon (verslaggever), L. De Zutter, A. Geeraerd, P. Wattiau (tot 17/06/2018)
Externe experts:	N. Botteldoorn (Sciensano), M. Heyndrickx (ILVO), P. Melin (ULiège), C. Michiels (KULeuven), A. Rajkovic (UGent)
Dossierbeheerder:	K. Feys

De activiteiten van de werkgroep werden opgevolgd door het volgende lid van de administratie (als waarnemer): V. Cantaert (FAVV)

Wettelijk kader

Wet van 4 februari 2000 houdende oprichting van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, inzonderheid artikel 8;

Koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen;

Huishoudelijk reglement, bedoeld in artikel 3 van het koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, goedgekeurd door de Minister op 8 juni 2017.

Disclaimer

Het Wetenschappelijk Comité behoudt zich, te allen tijde, het recht voor dit advies te wijzigen indien nieuwe informatie en gegevens ter beschikking komen na de publicatie van deze versie.

Bijlage 1: Uitgevoerde benadering van de literatuurstudie

De wetenschappelijke opinie van EFSA uit 2016 biedt een goed overzicht van de bestaande kennis over *B. cereus* en andere *Bacillus* spp. tot en met 2016 en dient als startpunt voor de literatuurstudie uitgevoerd in het kader van het huidige dossier.

- **Zoekopdracht in Web of Science (Uitgevoerd op 20 juni 2018)**

Zoekcriteria:

Periode: 2016-2018

Zoektermen:

AND	cereus
AND	<i>vegetable OR fruit OR crop OR fresh produce OR leafy greens OR meal OR salad OR cereal OR spice OR herb OR seed OR pulses OR berry OR berries OR sprout OR mushroom OR potato OR potatoe OR nut OR coconut OR honey OR cocoa OR chocolate OR coffee OR tea OR ready-to-eat OR ready to eat OR RTE OR soup OR sauce OR dressing OR oil OR meat OR milk OR dairy OR cheese OR egg OR shellfish OR mollusc OR crustacean OR surimi OR snail OR fish OR fishery product OR gastropod OR bakery product OR sweet OR confectionery product OR infant formula OR beverage OR water OR juice OR tuber OR leafy brassica OR fungi OR legume</i>
AND	<i>prevalence OR occurrence OR incidence OR enumeration OR quantification OR monitoring OR presence OR detection OR count OR level OR isolation OR identification</i>
AND	toxin* OR toxic* OR virul* OR pathogeni*

(**markering:** zoektermen letterlijk overgenomen uit EFSA, 2016)

Resultaat: 186 artikels

- **Screening artikels op basis van de titel en het abstract**

Een eerste screening werd uitgevoerd op basis van de informatie in het abstract en de titel. Als de informatie in de titel en het abstract niet relevant is voor dit dossier, wordt het artikel niet geselecteerd voor de beoordeling van volledige tekst. Voor alle weerhouden artikels wordt ook gekeken bij welke sectie van de wetenschappelijke opinie van EFSA (2016) ze het beste aansluiten.

De artikels worden onderverdeeld per onderwerp in analogie met EFSA (2016):

- 1. Het genus *Bacillus*
- 2. Pathogeniciteit en bijdragende virulentiefactors in de *B. cereus*-groep
- 3. Methoden voor het detecteren, tellen en differentiëren van leden van de *B. cereus*-groep
- 4. Reservoirs, natuurlijke achtergrondprevalentie en levels van *Bacillus thuringiensis* in het milieu
- 5. Voorkomen en niveaus van *Bacillus* spp., in het bijzonder *B. cereus*, in levensmiddelen
- 6. Beheersmaatregelen om de besmetting van levensmiddelen met *Bacillus* spp. en hun toxines te controleren

Er wordt aan de leden van de werkgroep gevraagd om de relevante sectie(s) uit de wetenschappelijke opinie van EFSA (2016) te lezen, zodanig dat de informatie in EFSA (2016) indien mogelijk geactualiseerd kan worden aan de hand van de geselecteerde artikels.

Resultaat: 80 artikels (Zie bijlage 2)

- **Synthese artikels**

Alle leden van de werkgroep ontvangen een lijst van te lezen artikels (elk artikel wordt beoordeeld door één expert in de werkgroep) en een gestructureerd bestand om de synthese op een gestructureerde manier uit te voeren. De volgende vragen zijn opgenomen in het bestand:

- **Algemene gegevens:** Auteurs, titel, jaar
- **Relevant voor dit dossier?**
 - Nee: stop
 - Ja: volgende vraag
- **Relevant voor de geselecteerde sectie?**
 - Nee: Relevant voor een andere sectie? Ja: Vragenlijst invullen relevante sectie
 - Ja: Vragenlijst invullen relevante sectie
- **Nieuwe info t.o.v. geselecteerde sectie?**
 - Ja: welke info?
 - Nee: specifieke vragen niet invullen
- **Specifieke vragen per sectie:**
 - 1. Het genus *Bacillus*
 - Species:
 - Gebruikte methode:
 - Plasmide(s):
 - Antimicrobiële resistentie:
 - Extrachromosomale genetische elementen:
 - 2. Pathogeniciteit en bijdragende virulentiefactors in de *B. cereus*-groep
 - Pathogeniciteit:
 - Virulentie factor(en):
 - Toxine(s):
 - Antimicrobiële resistentie:
 - Specifieke gen(en):
 - 3. Methodes voor het detecteren, tellen en differentiëren van leden van de *B. cereus*-groep
 - - Gebruikte methode:
 - Natuurlijke of artificiële contaminatie:
 - Voordelen methode:
 - Nadelen methode:
 - 4. Reservoirs, natuurlijke achtergrondprevalentie en levels van *B. thuringiensis* in het milieu
 - Waar komt *B. cereus* voor in de omgeving:

- Hoeveelheid *B. cereus*:
 - Overleving *B. cereus*:
 - Transfer naar voedsel mogelijk?:
 - 5. Voorkomen en niveaus van *Bacillus* spp., in het bijzonder *B. cereus*, in levensmiddelen
 - Infectieuze dosis *B. cereus*:
 - Categorie voedingsmiddel: kant-en-klaar of niet kant-en-klaar
 - Voedingsmiddel:
 - Aanwezigheid sporen:
 - 6. Beheersmaatregelen om de besmetting van levensmiddelen met *Bacillus* spp. en hun toxines te controleren
 - Beheersmaatregelen:
 - Inactivatiemethode *B. cereus*:
 - Inactivatiemethode toxine:
- **Opmerking(en)/andere relevante info voor dit dossier:**
- **Bespreking artikels**

Voor alle relevante artikels wordt een overzicht van de met nieuwe informatie, ten opzichte van de EFSA opinie van 2016, gemaakt en beschikbaar gesteld voor de werkgroep. Deze informatie werd diepgaander besproken tijdens een werkgroepvergadering binnen het kader van dit dossier.

Bijlage 2: Lijst relevante artikels (literatuurstudie)

Een overzicht van de 80 artikels welke werden behouden op basis van de informatie in de titel en het abstract. Deze artikels werden gelezen door een lid van de werkgroep en relevante nieuwe informatie werd meegedeeld aan alle leden van de werkgroep en opgenomen in dit advies.

Titel	Auteur(s)	Jaar
A Meta-Analysis of Major Foodborne Pathogens in Chinese Food Commodities Between 2006 and 2016	Paudyal, N; Pan, H; Liao, XY; Zhang, X; Li, XL; Fang, WH; Yue, M	2018
A Rapid and Simple Real-Time PCR Assay for Detecting Foodborne Pathogenic Bacteria in Human Feces	Hanabara, Y; Ueda, Y	2016
A Study To Assess the Numbers and Prevalence of Bacillus cereus and Its Toxins in Pasteurized Fluid Milk	Saleh-Lakha, S; Leon-Velarde, CG; Chen, S; Lee, S; Shannon, K; Fabri, M; Downing, G; Keown, B	2017
Asymmetric polymerase chain assay combined with propidium monoazide treatment and unmodified gold nanoparticles for colorimetric detection of viable emetic Bacillus in milk	Li, F; Li, FL; Yang, GT; Aguilar, ZP; Lai, WH; Xu, HY	2018
Bacillus cereus hazard and control in industrial dairy processing environment	Kumari, S; Sarkar, PK	2016
Bacillus cereus in fresh ricotta: Comparison of growth and Haemolysin BL production after artificial contamination during production or post processing	Tirioni, E; Ghelardi, E; Celandroni, F; Bernardi, C; Casati, R; Rosshaug, PS; Stella, S	2017
Bacillus cereus-induced food-borne outbreaks in France, 2007 to 2014: epidemiology and genetic characterisation	Glasset, B; Herbin, S; Guillier, L; Cadel-Six, S; Vignaud, M; Grout, J; Pairaud, S; Michel, V; Hennekinne, J; Ramarao, N; Brisabois, A	2016
Bacteriophages of soil bacilli: A new multivalent phage of Bacillus altitudinis	Shah Mahmud, R; Garifulina, KI; Ulyanova, VV; Evtugyn, VG; Mindubaeva, LN; Khazieva, LR; Dudkina, EV; Vershinina, VI; Kolpakov, AI; Ilinskaya, ON	2017
Changes in microbial composition and the prevalence of foodborne pathogens in crab marinated in soy sauce produced by six manufacturing plants	Kim, SA; Choi, ES; Kim, NH; Kim, HW; Lee, NY; Cho, TJ; Jo, JI; Kim, SH; Lee, SH; Ha, SD; Rhee, MS	2017
Characterization and Exposure Assessment of Emetic Bacillus cereus and Cereulide Production in Food Products on the Dutch Market	Biesta-Peters, EG; Dissel, S; Reij, MW; Zwietering, MH; in't Veld, PH	2016
Characterization of Bacillus cereus isolates from local dairy farms in China	Cui, YF; Liu, XY; Dietrich, R; Martlbauer, E; Cao, J; Ding, SY; Zhu, K	2016
Characterization of Enterotoxigenic Bacillus cereus sensu lato and Staphylococcus aureus Isolates and Associated Enterotoxin Production Dynamics in Milk or Meat-Based Broth	Walker-York-Moore, L; Moore, SC; Fox, EM	2017
Comparative genomic survey of Bacillus cereus sensu stricto isolates from the dairy production chain in Brazil	Rossi, GAM; Silva, HO; Aguilar, CEG; Rochetti, AL; Pascoe, B; Meric, G; Mourkas, E; Hitchings, MD; Mathias, LA; Ruiz, VLD; Fukumasu, H; Sheppard, SK; Vidal, AMC	2018
Contamination and characterization of multiple pathogens in powdered formula at retail collected between 2014 and 2015 in China	Gan, X; Dong, YP; Yan, SF; Hu, YJ; Fanning, SN; Wang, JH; Li, FQ	2018
Contamination patterns and molecular typing of Bacillus cereus in fresh-cut vegetable salad processing	Kim, HJ; Koo, M; Hwang, D; Choi, JH; Kim, SM; Oh, SW	2016
Control of Bacillus cereus spore germination and outgrowth in cooked rice during chilling by nonorganic and organic apple, orange, and potato peel powders	Juneja, VK; Friedman, M; Mohr, TB; Silverman, M; Mukhopadhyay, S	2017
Detection of viable enterotoxin-producing Bacillus cereus and analysis of toxigenicity from ready-to eat foods and infant formula milk powder by multiplex PCR	Zhang, ZH; Peng, LX; Xu, HY; Liu, CW; Shah, NP; Wei, H	2016
Development and validation of ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry methods for the simultaneous	Decler, M; Rajkovic, A; Sas, B; Madder, A; De Saeger, S	2016

determination of beauvericin, enniatins and cereulid in maize weat pasta en rice		
Distribution and expression of the enterotoxin genes of <i>Bacillus cereus</i> in food products from Jiangxi Province, China	Li, F; Zuo, S; Yu, P; Zhou, BQ; Wang, LJ; Liu, CW; Wei, H; Xu, HY	2016
Diversity and enzymatic potentialities of <i>Bacillus</i> sp strains isolated from a polluted freshwater ecosystem in Cuba	Larrea-Murrell, JA; Rojas-Badia, MM; Garcia-Soto, I; Romeu-Alvarez, B; Bacchetti, T; Gillis, A; Boltes-Espinola, AK; Heydrich-Perez, M; Lugo-Moya, D; Mahillon, J	2017
Diversity of <i>Bacillus cereus</i> strains in extended shelf life	Mugadza, DT; Buys, EM	2017
Draft Genome Sequence of <i>Bacillus cereus</i> CITVM-11.1, a Strain Exhibiting Interesting Antifungal Activities	Caballero, J; Peralta, C; Molla, A; Del Valle, EE; Caballero, P; Berry, C; Felipe, V; Yaryura, P; Palma, L	2018
Effect of Processing Methods on Quality and Safety of Suya, a West African Grilled Meat	Adeyeye, SAO	2017
Elucidation of enterotoxigenic <i>Bacillus cereus</i> outbreaks in Austria by complementary epidemiological and microbiological investigations, 2013	Schmid, D; Rademacher, C; Kanitz, EE; Frenzel, E; Simons, E; Allerberger, F; Ehling-Schulz, M	2016
Evaluation of currently employed food preservation conditions to tackle biofilm forming food pathogens	Nadaraja, AV; Nair, AJ; Prameela, M; Hari, N; Balakrishnan, N	2017
Evaluation of the Toxicity and Toxicokinetics of Cereulide from an Emetic <i>Bacillus cereus</i> Strain of Milk Origin	Cui, YF; Liu, Y; Liu, XY; Xia, X; Ding, SY; Zhu, K	2016
Evaluation of two standard and two chromogenic selectieve media for optimal growth and enumeration of isolates of 16 unique <i>Bacillus</i> spp.	Kabir, MS; Hsieh, YH; Simpson, S; Kerdahi, K; Sulaiman, IM	2017
Formation of multi-species biofilms by <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , and <i>Bacillus cereus</i> isolated from ricotta processing and effectiveness of chemical sanitation procedures	Fernandes, MD; Alvares, ACC; Manoel, JGM; Esper, LMR; Kabuki, DY; Kuaye, AY	2017
Genotypic heterogeneity of emetic toxin producing <i>Bacillus cereus</i> isolates from China	Yang, Y; Gu, H; Yu, XF; Zhan, L; Chen, JC; Luo, Y; Zhang, YY; Zhang, YJ; Lu, YY; Jiang, JM; Mei, LL	2017
Growth and inhibition by spices of growth from spores of enterotoxigenic <i>Bacillus cereus</i> in cooked rice	Hariram, U; Labbe, RG	2016
Growth and toxigenic potential of <i>Bacillus cereus</i> during storage temperature abuse in cooked irradiated chicken rice in combination with nisin and carvacrol	Ayari, S; Dussault, D; Hamdi, M; Lacroix, M	2016
Identification and characterization of aerobic spore forming bacteria isolated from commercial camel's milk in south of Algeria	Ziane, M; Couvert, O; Le Chevalier, P; Moussa-Boudjemaa, B; Leguerinel, I	2016
Identifying multiple bacterial pathogens by loop-mediated isothermal amplification on a rotate & react slipchip	Xia, Y; Liu, ZH; Yan, SQ; Yin, F; Feng, XJ; Liu, BF	2016
Impact of temperature, nutrients, pH and cold storage on the germination, growth and resistance of <i>Bacillus cereus</i> spores in egg white	Soni, A; Oey, I; Silcock, P; Bremer, PJ	2018
Improvement of microbiological qualities of namphrik by gamma irradiation	Chahorm, K; Neramitmansook, N; Kongsang, N; Ko, J	2017
Inactivation of <i>Bacillus cereus</i> spores in a tsuyu sauce using continuous ohmic heating with five sequential elbow-type electrodes	Ryang, JH; Kim, NH; Lee, BS; Kim, CT; Lee, SH; Hwang, IG; Rhee, MS	2016
Influence of season and type of restaurants on sashimi microbiota	Migueis, S; Moura, AT; Saraiva, C; Esteves, A	2016
Intraclade Variability in Toxin Production and Cytotoxicity of <i>Bacillus cereus</i> Group Type Strains and Dairy-Associated Isolates	Miller, RA; Jian, JH; Beno, SM; Wiedmann, M; Kovac, J	2018
Investigation on <i>Bacillus cereus</i> and associated risk factors in bovine raw milk in Debre Zeit town, Ethiopia	Kassa, A; Zewude, G; Tessema, TS	2017
Isolation and Characterization of Spore-Forming Bacilli (SFB) from Shepherd's Purse (<i>Capsella bursa-pastoris</i>)	Lee, WJ; Kim, HB; Kim, KS	2016
iTRAQ-based proteomic analysis of LI-F type peptides produced by <i>Paenibacillus polymyxa</i> JSa-9 mode of action against <i>Bacillus cereus</i>	Han, JZ; Gao, P; Zhao, SM; Bie, XM; Lu, ZX; Zhang, C; Lv, FX	2017
Microbial diversity of consumption milk during processing and storage	Porcellato, D; Aspholm, M; Skeie, SB; Monshaugen, M; Brendehaug, J; Mellegard, H	2018
Microbiological contamination of imported frozen fish marketed in Eastern Province of Saudi Arabia	Elhadi, N; Aljeldah, M; Aljindan, R	2016
Microbiological quality assessment of meals and work surfaces in a school-deferred catering system	Petruzzelli, A; Osimani, A; Tavoletti, S; Clementi, F; Vetrano, V; Di Lullo, S; Paolini,	2018

	F; Foglini, M; Micci, E; Oraziotti, N; Luchetti, T; Tonucci, F	
Microbiological quality assessment of milk at different stages of the dairy value chain in a developing country setting	Islam, MA; Roy, S; Nabi, A; Solaiman, S; Rahman, M; Huq, M; Siddiquee, NA; Ahmed, N	2018
Microbiological safety of Thai pandan custard filled products and their ingredients	Puangburee, S; Jindaprasert, A; Vattanmanee, S; Wongsommart, D; Swetwiwathana, A	2016
Milk-originated <i>Bacillus cereus</i> sensu lato strains harbouring <i>Bacillus anthracis</i> -like plasmids are genetically and phenotypically diverse	Bartoszewicz, M; Marjanska, PS	2017
Molecular Characterization and Risk Assessment of <i>Bacillus cereus</i> Sensu Lato Isolated from Ultrahigh-Temperature and Pasteurized Milk Marketed in Rio de Janeiro, Brazil	Chaves, JQ; de Papa, EP; Rabinovitch, L; Vivoni, AM	2017
Molecular Characterization of Mosquitocidal Toxin (Surface Layer Protein, SLP) from <i>Bacillus cereus</i> VCRC B540	Mani, C; Selvakumari, J; Han, Y; Jo, Y; Thirugnanasambantham, K; Sundarapandian, S; Poopathi, S	2018
Next generation sequencing-based multigene panel for high throughput detection of food-borne pathogens	Ferrario, C; Lugli, GA; Ossiprandi, MC; Turrone, F; Milani, C; Duranti, S; Mancabelli, L; Mangifesta, M; Alessandri, G; van Sinderen, D; Ventura, M	2017
Non-haemolytic enterotoxigenic <i>Bacillus cereus</i> strains from raw and pasteurized milk and milking utensils in Kelantan, Malaysia	Aklilu, E; Atiqah, RN	2017
NOT AVAILABLE - 16S rRNA gene sequencing and culture dependent analysis of bacterial diversity associated with commercially processed salads	Abida, B; Basharat, A	2016
Occurrence and behavior of <i>Bacillus cereus</i> in naturally contaminated ricotta salata cheese during refrigerated storage	Spanu, C; Scarano, C; Spanu, V; Pala, C; Casti, D; Lamon, S; Cossu, F; Ibba, M; Nieddu, G; De Santis, EPL	2016
Occurrence and diversity of <i>Bacillus cereus</i> and moulds in spices and herbs	Fogele, B; Granta, R; Valcina, O; Berzins, A	2018
Pathogenic Characteristics and Antibiotic Resistance of Bacterial Isolates from Farmstead Cheeses	Jang, K; Lee, J; Lee, H; Kim, S; Ha, J; Choi, Y; Oh, H; Yoon, Y; Lee, S	2018
Pathogenic features of heterotrophic plate count bacteria from drinking-water boreholes	Horn, S; Pieters, R; Bezuidenhout, C	2018
Phylogenetic and toxinogenic characteristics of <i>Bacillus cereus</i> group members isolated from spices and herbs	Frentzel, H; Kraushaar, B; Krause, G; Bodi, D; Wichmann-Schauer, H; Appel, B; Mader, A	2018
Potassium-Ion Selective fluorescent sensors to detect cereulide the emetic toxin of BC in food samples and HeLa Cells	Garcia-Calvo, J; Ibeas, S; Anton-Garcia, EC; Torroba, T; Gonzalez-Aguilar, G; Antunes, W; Gonzalez-Lavado, E; Fanarraga, ML	2017
Presence of Human Pathogens in Produce from Retail Markets in Northern Germany	Fiedler, G; Kabisch, J; Bohnlein, C; Huch, M; Becker, B; Cho, GS; Franz, CMAP	2017
Presence of pathogenic bacteria in ice cubes and evaluation of their survival in different systems	Settanni, L; Gaglio, R; Stucchi, C; De Martino, S; Francesca, N; Moschetti, G	2017
Presenting a rapid method for detection of BC, <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>Campylobacter jejuni</i> in food samples	Razei, A; Sorouri, R; Mousavi, SL; Nazarian, S; Amani, J; Aghamollaei, H	2017
Prevalence and antimicrobial resistance of <i>Bacillus cereus</i> isolated from beef products in Egypt	Shawish, R; Tarabees, R	2017
Prevalence, Enterotoxin Production and Antibiotic Resistance of <i>Bacillus cereus</i> Isolated from Milk and Cheese ([1] [2])	Yibar, A; Cetinkaya, F; Soyutemiz, E; Yaman, G	2017
Prevalence, molecular identification and characterization of <i>Bacillus cereus</i> isolated from beef burgers	Soleimani, M; Hosseini, H; Pilevar, Z; Mehdizadeh, M; Carlin, F	2017
Prevalence, virulence factor genes and antibiotic resistance of <i>Bacillus cereus</i> sensu lato isolated from dairy farms and traditional dairy products	Owusu-Kwarteng, J; Wuni, A; Akabanda, F; Tano-Debrah, K; Jespersen, L	2017
Prevalence, Virulence Genes, Antimicrobial Susceptibility, and Genetic Diversity of <i>Bacillus cereus</i> Isolated From Pasteurized Milk in China	Gao, TT; Ding, Y; Wu, QP; Wang, J; Zhang, JM; Yu, SB; Yu, PF; Liu, CC; Kong, L; Feng, Z; Chen, MT; Wu, S; Zeng, HY; Wu, HM	2018
Production of hemolysin BL by <i>Bacillus cereus</i> group isolates of dairy origin is associated with whole-genome phylogenetic clade	Kovac, J; Miller, RA; Carroll, LM; Kent, DJ; Jian, JH; Beno, SM; Wiedmann, M	2016
Propensity for biofilm formation by aerobic mesophilic and thermophilic spore forming bacteria isolated from Chinese milk powders	Sadiq, FA; Flint, S; Yuan, L; Li, Y; Liu, TJ; He, GQ	2017

Propidium monoazide quantitative real time PCR for the enumeration of some viable but nonculturable foodborne bacteria in meat and meat product	Norhan Khairy Abd El-Aziz	2018
Quantitative Prevalence, Phenotypic and Genotypic Characteristics of <i>Bacillus cereus</i> Isolated from Retail Infant Foods in China	Zhang, YY; Chen, JC; Feng, CY; Zhan, L; Zhang, JY; Li, Y; Yang, Y; Chen, HH; Zhang, Z; Zhang, YJ; Mei, LL; Li, HF	2017
Raw ready-to-eat seafood safety: microbiological quality of the various seafood species available in fishery, hyper and online markets	Kim, HW; Hong, YJ; Jo, JI; Ha, SD; Kim, SH; Lee, HJ; Rhee, MS	2017
Recapitulating the competence of novel & rapid monitoring tools for microbial documentation in food systems	Rahman, UU; Shahzad, T; Sahar, A; Ishaq, A; Khan, MI; Zahoor, T; Aslam, S	2016
Retrospective study on the hygienic quality of fresh ricotta cheeses produced in Sicily, Italy	Scatassa, ML; Mancuso, I; Sciortino, S; Macaluso, G; Palmeri, M; Arcuri, L; Todaro, M; Cardamone, C	2018
Safety evaluation of <i>Bacillus cereus</i> isolated from smelly mandarin fish	Yang, PZ; Zhu, XX; Cao, LL; Cheng, JS; Zheng, Z; Jiang, ST	2017
Signal enhancement in ATP bioluminescence to detect bacterial pathogens via heat treatment	Lee, J; Park, C; Kim, Y; Park, S	2017
Silage review: Animal and human health risks from silage	Driehuis, F; Wilkinson, JM; Jiang, Y; Ogunade, I; Adesogan, AT	2018
Silage review: Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives	Queiroz, OCM; Ogunade, IM; Weinberg, Z; Adesogan, AT	2018
Thermal inactivation kinetics of <i>Bacillus cereus</i> in Chinese rice wine and in simulated media based on wine components	Lv, RL; Chantapakul, T; Zou, MM; Li, M; Zhou, JW; Ding, T; Ye, XQ; Liu, DH	2018
Transcriptome analysis of <i>Bacillus thuringiensis</i> spore life, germination and cell outgrowth in a vegetable-based food model	Bassi, D; Colla, F; Gazzola, S; Puglisi, E; Delledonne, M; Cocconcelli, PS	2016
Virulence profiles of pathogenic bacterial strains isolated from different sources	Muresan, A; Sarbu, I; Pelinescu, D; Ionescu, R; Csutak, O; Stoica, I; Rusu, E; Vassu-Dimov, T	2016