

DOI 10.17590/20190916-142347

Bacillus cereus-Bakterien in Lebensmitteln können Magen-Darm-Erkrankungen verursachen

Aktualisierte Stellungnahme Nr. 048/2020 des BfR vom 30. Oktober 2020¹

Bacillus (B.) cereus ist der namensgebende Vertreter der sogenannten *B. cereus*-Gruppe, zu der aktuell 17 anerkannte, eng verwandte Spezies gehören, die sich nur durch sehr aufwändige Laboruntersuchungen voneinander unterscheiden lassen. Bei Kontrolluntersuchungen von Lebensmitteln wird daher fast immer nur der sogenannte präsumtive *B. cereus* nachgewiesen, was bedeutet: Es ist ein Bakterium aus der *B. cereus*-Gruppe. Die vorliegende Stellungnahme informiert zu gesundheitlichen Risiken durch Bakterien der *B. cereus*-Gruppe in Lebensmitteln und nennt vorbeugende Maßnahmen, um vor allem der amtlichen Lebensmittelüberwachung in Deutschland eine Grundlage für die Beurteilung von Lebensmitteln zur Verfügung zu stellen.

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat dazu Studien und eigene Untersuchungsergebnisse ausgewertet und stellt fest: Bei jedem präsumtiven *B. cereus*-Stamm ist davon auszugehen, dass er Toxine bilden kann, wenngleich die Toxintypen und die gebildeten Toxinmengen variieren. Diese Toxine können Magen-Darm-Erkrankungen verursachen. Es werden zwei Erkrankungsformen unterschieden, eine, die sich durch Erbrechen zeigt (emetische Erkrankung) und eine, die mit Durchfall einhergeht (Diarrhoetyp). Diese Magen-Darm-Erkrankungen können Menschen aller Altersklassen treffen, sie sind nicht ansteckend und dauern selten länger als 24 Stunden. Schwere Krankheitsverläufe sind sehr selten.

Eine Verunreinigung von Lebensmitteln mit präsumtiven *B. cereus* lässt sich kaum vollständig vermeiden. Denn Überdauerungsformen dieser Bakterien, sogenannte Sporen, können etwa über Erdbodenpartikel oder Staub in Lebensmittel gelangen und auch extreme Bedingungen wie Hitze oder Trockenheit lange überstehen. Meist ist eine anfängliche Verunreinigung von Lebensmitteln mit Sporen gering. Durch unsachgemäße Lagerung können die Sporen jedoch auskeimen, und die Bakterien können sich im Lebensmittel vermehren. *B. cereus* wächst in einem Bereich von 7 °C bis 48 °C. In der *B. cereus*-Gruppe gibt es jedoch auch kältetolerante Vertreter, die sich bereits bei Temperaturen von etwa 4 °C vermehren können und thermotolerante Vertreter, die sich auch noch oberhalb von 50 °C vermehren können. Bei niedrigen Temperaturen ist das mikrobielle Wachstum jedoch deutlich verlangsamt. In der Regel ist eine Bakterienzahl von mindestens 10⁵ koloniebildenden Einheiten pro Gramm (KbE/g) notwendig, um solche Toxinmengen im Lebensmittel oder im Dünndarm zu bilden, die Krankheitssymptome auslösen.

Übliche Hitzebehandlungen wie Kochen oder Pasteurisieren töten zwar die Bakterienzellen ab, ermöglichen aber das Überleben und Auskeimen einzelner Sporen. Eine ausreichende und schnelle Kühlung (≤ 7 °C) oder Heißhaltung (≥ 60 °C an allen Stellen des Produkts) nach einer erfolgten Hitzebehandlung von Speisen (mindestens 70 °C für 2 Minuten an allen Stellen des Lebensmittels) ist notwendig, um das Auskeimen von Sporen und damit die Vermehrung der Bakterien zu unterbinden.

¹ Ersetzt die Stellungnahme Nr. 035/2019 des BfR vom 16. September 2019

1 Gegenstand der Bewertung

Bacillus (B.) cereus ist der namensgebende Vertreter der sogenannten *B. cereus*-Gruppe, zu der aktuell 17 anerkannte, eng verwandte Spezies gehören, die sich nur durch sehr aufwändige Laboruntersuchungen voneinander unterscheiden lassen. Dazu zählen die schon bis 2016 beschriebenen Spezies *B. cereus (sensu stricto (s.s.))*, *B. thuringiensis*, *B. cytotoxicus*, *B. toyonensis*, *B. wiedmannii*, *B. anthracis*, *B. mycoides* und *B. pseudomycoides*. Hinzu kommen neun weitere Spezies, die 2017 von Liu et al. (2017) beschrieben wurden: *B. paranthracis*, *B. pacificus*, *B. tropicus*, *B. albus*, *B. mobilis*, *B. luti*, *B. proteolyticus*, *B. nitratreducens* und *B. paramycoides*. Diese neuen Spezies lassen sich bislang nur durch Methoden der Gesamtgenomsequenzierung voneinander und von den etablierten Spezies der *B. cereus*-Gruppe abgrenzen. Über die eigentlichen Speziesbeschreibungen hinaus existieren bislang kaum Daten zu diesen neuen Vertretern.

Die Spezies *B. weihenstephanensis* wird seit 2018 als Synonym für *B. mycoides* betrachtet (Liu et al., 2018; Parte et al., 2020). Daher werden alle Stämme, die bisher als *B. weihenstephanensis* bezeichnet wurden, nun zur Spezies *B. mycoides* gezählt. Es ist zu erwarten, dass sich die Struktur der *B. cereus*-Gruppe zukünftig weiter stark verändert (Carroll et al., 2020).

Bei der routinemäßig durchgeführten Untersuchung von Lebensmitteln findet bislang nur selten eine Unterscheidung zwischen den einzelnen Spezies statt. Einige Labore differenzieren jedoch auch weitergehend, beispielsweise mit Methoden der Mikroskopie, PCR oder FT-IR (Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie).

In der Literatur (und so auch im vorliegenden Bericht) werden die Begriffe „*B. cereus*-Gruppe“, „*B. cereus (sensu lato (s.l.))*“ und „präsumtiver *B. cereus*“ häufig synonym benutzt. Der Begriff „präsumtiver *B. cereus*“ wird unter anderem auch in einschlägigen DIN EN ISO-Normen² verwendet, mit denen keine eindeutige Unterscheidung zwischen den einzelnen Vertretern der *B. cereus*-Gruppe möglich ist.

B. cereus (s.l.) mit der Fähigkeit zur Toxinbildung kommen in vielen Lebensmitteln in geringer Keimzahl vor. Zu Erkrankungen des Menschen nach Verzehr kontaminierter Lebensmittel kommt es in der Regel erst, wenn sich diese Bakterien durch unsachgemäße Lagerung der Lebensmittel auf hohe Keimzahlen vermehren konnten und entweder im Lebensmittel oder im menschlichen Darm Toxine gebildet haben.

Um der amtlichen Lebensmittelüberwachung in Deutschland eine Grundlage für die Beurteilung von Lebensmitteln zur Verfügung zu stellen, die mit *B. cereus (s.l.)* kontaminiert sind, hat das BfR vorhandene Literatur und eigene Untersuchungsdaten von Bakterienstämmen der *B. cereus*-Gruppe ausgewertet. Die vorliegende Stellungnahme fasst die wesentlichen Informationen zu den lebensmittelrelevanten *B. cereus (s.l.)*, das von diesen Bakterien ausgehende Gefährdungspotenzial sowie die wichtigsten Präventionsmaßnahmen zusammen. Der Erreger des Milzbrands (*B. anthracis*) und dessen Gefährdungspotenzial ist nicht Gegenstand dieser Stellungnahme.

² DIN EN ISO 7932:2004, Untersuchung von Lebensmitteln - Horizontales Verfahren zur Zählung von präsumtiven *Bacillus cereus* - Koloniezählverfahren bei 30 Grad Celsius (°C);

DIN EN ISO 10198:2010, Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung präsumtiver *Bacillus cereus* in Milch und Milchprodukten - Koloniezählverfahren bei 37 °C;

DIN EN ISO 21871:2006, Untersuchung von Lebensmitteln - Horizontales Verfahren zur Bestimmung niedriger Zahlen von präsumtiven *Bacillus cereus* in Lebensmitteln - Verfahren der wahrscheinlichsten Keimzahl (MPN) und Nachweisverfahren

2 Ergebnis

Nach Auswertung der Literatur und der eigenen Untersuchungsergebnisse kommt das BfR zu dem Schluss, dass bei jedem *B. cereus* (*s.l.*)-Stamm von einem potentiellen Enterotoxinbildner auszugehen ist, wenngleich sich die gebildeten Toxintypen und Toxinmengen unterscheiden können. Es ist deshalb möglich, dass der Verzehr von Lebensmitteln, die sehr hohe Gehalte von *B. cereus* (*s.l.*) (ab 10^5 koloniebildende Einheiten pro Gramm (KbE/g)) bzw. von *B. cytotoxicus* (ab 10^4 KbE/g) enthalten, beim Menschen innerhalb kurzer Zeit Durchfallerkrankungen auslöst. Bei Stämmen der *B. cereus*-Gruppe, die bei der Körpertemperatur des Menschen nur eine eingeschränkte Vermehrungs- bzw. Toxinbildungsfähigkeit besitzen (*B. mycoides*; synonym *B. weihenstephanensis*) ist die Eintrittswahrscheinlichkeit für lebensmittelbedingte Durchfallerkrankungen jedoch gering.

Durch das gründliche Waschen pflanzlicher Lebensmittel mit Trinkwasser lässt sich die Keimzahl und damit das gesundheitliche Risiko, wenn überhaupt, nur geringfügig minimieren. Aufgrund der hohen Hitzeresistenz der Sporen ist nur dann von einer sicheren Eliminierung der Sporen auszugehen, wenn starke Erhitzungsverfahren angewandt werden, wie sie beispielsweise bei der Konservenherstellung zum Einsatz kommen (z. B. 121 Grad Celsius (°C), 3 Minuten (min)).

Doch auch bei geringeren Gehalten von *B. cereus* (*s.l.*) in einem Lebensmittel (ab etwa 10^3 KbE/g) kann von diesem Lebensmittel ein Erkrankungsrisiko ausgehen, sofern der Stamm die Fähigkeit zur Cereulid-Bildung besitzt und die Bedingungen im Lebensmittel bis zu dessen Verzehr die Vermehrung des Stamms und die Cereulid-Bildung begünstigen. Das Risiko lässt sich minimieren, wenn Temperaturen, bei denen sich *B. cereus* (*s.l.*) vermehren, bei der Aufbewahrung von Speisen und milchhaltigen Getränken vermieden werden.

Befindet sich bereits eine relevante Menge an Cereulid im Lebensmittel, so ist davon auszugehen, dass die Gesundheitsschädlichkeit nicht eliminiert werden kann, da Cereulid extrem stabil ist (> 120 min bei 121 °C). Aufgrund der unterschiedlichen Angaben zu möglichen minimalen Intoxikationsdosen lässt sich nach Ansicht des BfR derzeit kein allgemeingültiger Cereulid-Grenzwert in Lebensmitteln ableiten, so dass die lebensmittelrechtliche Beurteilung eines Cereulid-haltigen Lebensmittels nur als Einzelfallbetrachtung durchgeführt werden kann.

Zum Schutz vor lebensmittelbedingten Infektionen und Lebensmittelvergiftungen empfiehlt das BfR bei der Lagerung und Zubereitung von Lebensmitteln in der Gastronomie und anderen Gemeinschaftsverpflegungseinrichtungen sowie in Privathaushalten folgende generelle Regeln der Küchenhygiene einzuhalten:

- Kühlkette leicht verderblicher Lebensmittel einhalten
- Speisen bei der Zubereitung gut durchkochen und beim Wiederaufwärmen ausreichend erhitzen, um vegetative Zellen abzutöten (mindestens 70 °C für zwei Minuten an allen Stellen des Lebensmittels; im Zweifelsfall die Temperatur mit einem Fleischthermometer überprüfen); das gleiche gilt für das Aufwärmen in der Mikrowelle (auf gleichmäßiges Erwärmen achten, Speisen zwischendurch umrühren)
- zubereitete, erhitzte Speisen schnell auf ≤ 7 °C abkühlen (größere Speisemengen dafür in mehrere flache Schalen füllen) und bis zum erneuten Erhitzen kurz vor dem Verzehr im Kühlschrank aufbewahren
- bei der Heißhaltung von Speisen (z. B. Suppen, Soßen, Eintöpfe) darauf achten, dass sie an allen Stellen eine Temperatur von mindestens +60 °C haben. Leicht verderbliche Lebensmittel und erhitzte Speisen nicht längere Zeit bei Temperaturen zwischen +7 °C und +60 °C aufbewahren

- Reste gegarter Speisen im Kühlschrank aufbewahren und innerhalb von zwei bis drei Tagen verbrauchen
- Wasser, das zum Einweichen von Trockenpilzen verwendet wird, sorgfältig entsorgen und die Hände sowie alle Gegenstände oder Arbeitsflächen nach Kontakt mit dem Einweichwasser oder den gequollenen Pilzen gründlich reinigen

3 Begründung

3.1 Risikobewertung

3.1.1 *Bacillus cereus* und andere Vertreter der *Bacillus cereus*-Gruppe (Mögliche Gefahrenquelle)

***B. cereus* (s.s.)** ist ein ubiquitär vorkommendes grampositives, fakultativ anaerobes, bewegliches, sporenbildendes Stäbchenbakterium. Seine Sporen finden sich im Erdboden, im Wasser, im Darmtrakt von Menschen und Tieren sowie in vielen Lebensmitteln tierischen und vor allem pflanzlichen Ursprungs (EFSA BIOHAZ Panel, 2016). Aufgrund seiner Fähigkeit, unter bestimmten Umständen Toxine zu bilden, besitzt das Bakterium eine große Bedeutung als Erreger von lebensmittelbedingten Erkrankungen. Außerdem kann seine Vermehrung zum Verderb von Lebensmitteln führen.

Einige Stämme, die bislang als emetische *B. cereus* (s.s.) bezeichnet wurden, sind in der Lage, unter bestimmten Bedingungen ein hitzestabiles emetisches Toxin, das sogenannte Cereulid (ein zyklisches Peptid), zu bilden. Aufgrund neuer Erkenntnisse zur Zusammensetzung der *B. cereus*-Gruppe wird aktuell davon ausgegangen, dass diese emetischen Stämme nicht zur Spezies *B. cereus* (s.s.) gehören, sondern der neu beschriebenen Spezies *B. paranthracis* zuzurechnen sind. In der Literatur wird auch vorgeschlagen, *B. paranthracis* gemeinsam mit weiteren Spezies (*B. albus*, *B. anthracis*, *B. mobilis*, *B. pacificus*, *B. tropicus* und *B. wiedmannii*) zur Spezies *B. mosaicus* zusammenzufassen und bei emetischen Stämmen durch den Zusatz „biovar Emeticus“ erkenntlich zu machen, dass es sich um einen Cereulid-Bildner handelt (Carroll et al., 2020). Im Sinne der Verständlichkeit wird in dieser Stellungnahme die Bezeichnung „emetische *B. cereus*“ verwendet.

Es wird angenommen, dass die Cereulidbildung durch „emetische *B. cereus*“ während der exponentiellen Wachstumsphase bei sehr hohen Zellkonzentrationen (ab 10^5 KbE/g) einsetzt und während der stationären Wachstumsphase fortbesteht (Ceuppens et al., 2011; Dommel et al., 2011; Lücking et al., 2009). Geeignete Bedingungen sind neutraler pH-Wert ($\text{pH} > 5$), mittlerer a_w -Wert³, niedrige Salzkonzentration und ausreichend Nährstoffe (Messelhäußer et al., 2014). In einer Studie von Carlin et al. (2013) wurden für das Wachstum zweier emetischer Stämme ein minimaler a_w -Wert von 0,94 und ein minimaler pH von 4,6 berechnet. Bei Wachstumsversuchen über einen Zeitraum von 14 Tagen zeigten in der Studie einige der untersuchten emetischen Stämme auch noch bei a_w 0,93 und pH 4,3 Wachstum. Bei anaeroben Bedingungen ist die Bildung von Cereulid unwahrscheinlich (Jääskeläinen et al., 2004). Eine Übersicht zu Faktoren und Lebensmitteln, welche die Cereulid-Bildung begünstigen, findet sich bei Messelhäußer et al. (2014) und Rouzeau-Szynalski et al. (2020). Da „emetische *B. cereus*“ mesophil sind, liegt der Temperaturbereich, in dem sich diese Stämme vermehren können wahrscheinlich zwischen 10 °C und 48 °C (in verschiedenen Publikationen wurde ein Wachstum erst ab 10 °C oder darüber beobachtet, Carlin et al. (2013) haben ein theoretischen Wachstumstemperaturminimum von 7 °C bis 8 °C errechnet)

³ a_w -Wert: activity of water; Maß für die Verfügbarkeit von Wasser in Lebensmitteln und/oder Speisen. Je größer der a_w -Wert, desto mehr Wasser steht dem Wachstum/Stoffwechsel von Bakterien zur Verfügung.

(Carlin et al., 2006, 2013; Finlay et al., 2000; Guinebretiere et al., 2010). Der Temperaturbereich, in dem tatsächlich Cereulid gebildet werden kann, ist vermutlich etwas enger. Beispielsweise konnten Kranzler et al. (2016) bei 43 °C in einem Nährmedium keine Cereulid-Bildung mehr nachweisen. Hingegen wurde von Wang et al. (2014) in Reis, der bei 45 °C inkubiert wurde, Cereulid-Bildung festgestellt. Die optimale Temperatur für die Cereulid-Bildung dürfte zwischen 20 °C und 40 °C liegen (Agata et al., 2002; Häggblom et al., 2002; Rajkovic et al., 2006, Kranzler et al., 2016). Darüber hinaus variieren die von verschiedenen Stämmen gebildeten Cereulide hinsichtlich ihrer Struktur (18 verschiedene Isocereulide) und Mengen (Häggblom et al., 2002; Marxen et al., 2015a; Stark et al., 2013). Außerdem können sich die verschiedenen Isocereulide in ihrer Zytotoxizität deutlich unterscheiden (Marxen et al., 2015a).

Der *ces*-Gen-Cluster, welcher für die Bildung von Cereulid notwendig ist, befindet sich auf einem großen Plasmid (Stenfors Arnesen et al., 2008). Die Literaturangaben zum Anteil von emetischen Stämmen bei Lebensmittel-Isolaten sind sehr unterschiedlich und liegen je nach untersuchter Lebensmittelmatrix meist in einem Bereich von 0 % bis 17 % (Biesta-Peters et al., 2016; Ceuppens et al., 2011; Erbslöh, 2007; Messelhäuser et al., 2014; Samapundo et al., 2011; Wehrle et al., 2010).

Im Gegensatz zum *ces*-Gen-Cluster, kommen die Gene für die Bildung von Durchfall-auslösenden Enterotoxinen bei *B. cereus* (*s.s.*) sowie allen anderen Vertretern der *B. cereus*-Gruppe vor. Aufgrund von veröffentlichten Studien sowie eigener Untersuchungsergebnisse geht das BfR davon aus, dass alle Stämme der *B. cereus*-Gruppe grundsätzlich die genetischen Voraussetzungen besitzen, um Enterotoxine zu bilden (Ausnahmen siehe unten). Bisher wurden drei bedeutende Enterotoxine bzw. Enterotoxinkomplexe beschrieben, die von *B. cereus* (*s.l.*) gebildet werden können und im Zusammenhang mit Durchfallerkrankungen stehen. Das sogenannte nicht hämolytische Enterotoxin (Nhe) besteht aus den Protein-Komponenten NheA, NheB und NheC (kodiert in einem Operon mit den Genen *nheA*, *nheB* und *nheC*). Hämolsin BL (Hbl) ist zusammengesetzt aus den Komponenten L2 (HblC), L1 (HblD) und B (HblA) (kodiert in einem Operon mit den Genen *hblC*, *hblD* und *hblA*). Bei dem dritten Toxin, Zytotoxin K (CytK), werden zwei Formen unterschieden: CytK-1, welches ausschließlich von der Spezies *B. cytotoxicus* gebildet wird, und CytK-2, welches bei verschiedenen Spezies der *B. cereus*-Gruppe vorkommt und dessen Rolle bei der Verursachung von Durchfallsymptomen noch weitgehend ungeklärt ist (Fagerlund et al., 2004; Guinebretiere et al., 2013). Die Enterotoxin-Gene (*nhe*, *hbl*, *cytK-2*) sind chromosomal verankert und können in unterschiedlichen Kombinationen in allen Spezies der *B. cereus*-Gruppe vorkommen. Das *cytK-1*-Gen liegt hingegen ausschließlich im Chromosom von *B. cytotoxicus* vor. Repräsentative Studien zeigen, dass grundsätzlich alle untersuchten Stämme der *B. cereus*-Gruppe das *nhe*-Operon tragen und dieses ganz überwiegend vollständig vorliegt. Von Guinebretiere et al. (2010) wurden 391 Stämme aller bis 2010 beschriebenen Spezies (7) der *B. cereus*-Gruppe mittels PCR und Southern Blotting untersucht, und bei allen Stämmen wurden die *nhe*-Gene nachgewiesen, darunter auch 38 *ces*-positive Stämme. Bei Wehrle et al. (2010) waren 330 von 331 Stämmen der *B. cereus*-Gruppe *nheA*-positiv, darunter auch 50 *ces*-positive (real-time PCR). Bei dem *nheA*-negativen Stamm handelte es sich um einen Vertreter der Spezies *B. cytotoxicus*, welche eine ungewöhnliche *nhe*-Variante trägt (Fagerlund et al., 2007). In einer anderen Studie von Wehrle et al. (2009) wurden 176 Stämme untersucht (wahrscheinlich gleiches Stamm-Set wie bei Wehrle et al., 2010). Nur bei einem dieser Stämme wurde das vollständige *nhe*-Operon nicht nachgewiesen (*B. cytotoxicus*). Darüber hinaus wurde bei einem Stamm kein *nheB* und bei einem weiteren kein *nheB* und *nheC* nachgewiesen. Unter den *nhe*-positiven Stämmen befanden sich auch 44 *ces*-positive Stämme. Neben den *nhe*-Genen wurde bei allen Stämmen auch die Bildung der entsprechenden Nhe-Toxin-Komponenten mittels ELISA nachgewiesen. In einer Studie von

Lindbäck et al. (2010) wurden zwei Stämme beschrieben, die kein *NheC* bzw. *NheA* produzieren, da sie ein vorzeitiges Stopcodon im entsprechenden Gen (*nheC* bzw. *nheA*) besitzen. Diese Ergebnisse decken sich mit den Erfahrungen des Labors für Sporenbildner am BfR. Von allen präsumtiven *B. cereus*-Isolaten, die seit 2016 auf *nheA* untersucht wurden, wurde nur bei *B. cytotoxicus* und *B. pseudomycooides* Isolaten kein *nheA* detektiert (real-time PCR Methode wie bei Wehrle et al., 2010). Wie oben beschrieben, liegt der fehlende *nheA*-Nachweis bei *B. cytotoxicus* an einer ungewöhnlichen *nhe*-Variante. Wahrscheinlich ist dies auch bei *B. pseudomycooides* der Fall, da davon auszugehen ist, dass auch die Vertreter dieser Spezies das *nhe*-Operon tragen (vgl. Guinebretiere et al., 2010 und Miller et al., 2018).

Auch bei einem fehlenden PCR-Nachweis eines Toxin-Gens kann die Bildung eines entsprechenden Toxins nicht gänzlich ausgeschlossen werden, da viele beschriebene Methoden nicht alle Sequenzvarianten erfassen (Ceuppens et al., 2013). So konnten Miller et al. (2018) durch Gesamtgenomsequenzierung Toxingene nachweisen, welche mittels PCR nicht detektiert wurden.

Unabhängig von der Präsenz einzelner Enterotoxingene ist die Pathogenität von *B. cereus* (*s.l.*) stark stammabhängig. Zur Einschätzung des pathogenen Potenzials von Enterotoxinbildnern werden in der Forschung zum einen antikörperbasierte Verfahren (ELISA) zur Abschätzung von gebildeten Toxinmengen genutzt und zum anderen Zytotoxizitätstests eingesetzt. Dabei wurde von Moravek et al. (2006) gezeigt, dass krankheitsassoziierte Stämme tendenziell größere Toxinmengen produzieren. In Studien von Jessberger et al. (2015, 2017) zeigten Kulturüberstände von *B. cereus* (*s.l.*)-Stämmen unterschiedlich hohe Zytotoxizitäten, wobei den Gruppen, die sich in ihrer Zytotoxizität unterschieden, kein spezieller Genotyp zugeordnet werden konnte. Von Guinebretiere et al. (2008) wurden *B. cereus* (*s.l.*)-Stämme in sieben phylogenetische Gruppen unterteilt, die sich anhand eines Sequenzabschnitts des *panC*-Gens unterscheiden lassen. Gemäß Guinebretiere et al. (2008, 2010) sind diese phylogenetischen Gruppen zum einen durch unterschiedliche Wachstumstemperaturgrenzen und zum anderen durch eine unterschiedliche Zytotoxizität gekennzeichnet. Nach Aussage der Autoren sind Stämme der Gruppe III (Wachstum von 15 °C bis 45 °C) generell am stärksten zytotoxisch, gefolgt von Stämmen der Gruppen VII (20 °C bis 50 °C) (ausschließlich *B. cytotoxicus*), IV (10 °C bis 45 °C) und II (7 °C bis 40 °C). Gruppe V (8 °C bis 40 °C) wird als weniger zytotoxisch eingeschätzt, während die Gruppen I⁴ (10 °C bis 43 °C) und VI (5 °C bis 37 °C) als sehr gering zytotoxisch klassifiziert werden. Jedoch herrscht auch innerhalb der einzelnen Gruppen noch eine deutliche Heterogenität bezüglich der Zytotoxizität. Mit Blick auf die Wachstumstemperaturgrenzen ist davon auszugehen, dass diese etwas weiter gefasst werden müssen, als oben beschrieben (Carlin et al., 2013). Aufgrund aktueller Erkenntnisse ist davon auszugehen, dass „emetische *B. cereus*“ ausschließlich der Gruppe III und *B. cereus* (*s.s.*) ausschließlich der Gruppe IV zuzuordnen sind (Carroll et al., 2020; Miller et al., 2018).

Anhand von *in-vitro*-Studien wird angenommen, dass die Expression der Enterotoxin-Gene unter anderem in Abhängigkeit von der Zelldichte reguliert ist und die Enterotoxin-Produktion erst bei hohen Zelldichten in der späten exponentiellen Wachstumsphase bzw. in der stationären Phase erfolgt (Ceuppens et al., 2011).

⁴ Die Angabe, dass Gruppe I als niedrig zytotoxisch bewertet wird, ist dem Online-Tool „<https://www.tools.symprevius.org/Bcereus/english.php>“ zu entnehmen, das in der Publikation von Guinebretiere et al. (2010) beschrieben wird. Tatsächliche Zytotoxizitätsdaten zu Stämmen der Gruppe I (ausschließlich *B. pseudomycooides*) wurden jedoch nicht publiziert.

B. cytotoxicus ist ein thermotoleranter Vertreter der *B. cereus*-Gruppe, der sich auch bei hohen Temperaturen noch vermehren kann. In diesem Zusammenhang wurde in Laborstudien Wachstum bei 50 °C (Guinebretiere et al., 2008), 53 °C (Auger et al., 2008) und 52 °C (Carlin et al., 2013) beobachtet. In der letzten Studie wurde auf Grundlage des „Cardinal temperature model with inflection point“ (CTMI) eine theoretische maximale Wachstumstemperatur von 55 °C für *B. cytotoxicus* errechnet (Mittelwert der Berechnung). Bei Berücksichtigung des 97,5 Perzentils lag die errechnete theoretische maximale Wachstumstemperatur eines Stammes bei 56,8 °C.

Die Spezies *B. cytotoxicus* besitzt die Fähigkeit zur Bildung des CytK-1 Toxins, welches eine deutlich höhere Zytotoxizität als die CytK-2 Variante zeigt (Fagerlund et al., 2004; Guinebretiere et al., 2013). Aufgrund unterschiedlich hoher Toxinbildung sind jedoch nicht alle *B. cytotoxicus*-Stämme stark zytotoxisch. Fagerlund et al. (2007) wiesen bei zwei *B. cytotoxicus*-Stämmen, die im Zusammenhang mit Durchfallerkrankungen aus Gemüsepüree bzw. Kartoffelpüree isoliert wurden, eine hohe Zytotoxizität nach, während ein dritter Stamm (isoliert aus Gewürzen) nur eine geringe Zytotoxizität zeigte. In einer Studie von Heini et al. (2018) war nur eines von neun *B. cytotoxicus*-Isolaten aus Kartoffelpüree-Pulver stark zytotoxisch (deutlich stärker als ein *B. cereus* (s.s.)-Ausbruchs-Referenzstamm), während die anderen acht Isolate eine geringe Zytotoxizität aufwiesen. Durch eine Voranreicherung bei 50 °C wurden *B. cytotoxicus* in einer Untersuchung von Contzen et al. (2014) vor allem in pulverförmigen Kartoffelprodukten oder daraus hergestellten Lebensmitteln detektiert. Anschließende quantitative Untersuchungen auf *B. cytotoxicus* ergaben dabei eine maximale Keimzahl von 300 KbE/g.

B. thuringiensis ist bekannt für seine Insektenpathogenität, die von sogenannten parasporalen Kristallen ausgeht, welche während der Sporulation gebildet werden. Die für die Kristallbildung verantwortlichen Gene sind Plasmid-kodiert. Neben dem natürlichen Vorkommen von *B. thuringiensis* werden einige Stämme dieser Spezies in kommerziellen biologischen Insektiziden verwendet. Ähnlich wie *B. cereus* (s.s.) ist *B. thuringiensis* häufig auf pflanzlichen Lebensmitteln zu finden. Die Präsenz der verschiedenen Enterotoxin-Gene ist bei *B. thuringiensis* wahrscheinlich ähnlich wie bei *B. cereus* (s.s.). Der *ces*-Gen-Cluster für die Cereulid-Bildung wurde hingegen noch nicht bei *B. thuringiensis* nachgewiesen (EFSA BIOHAZ Panel, 2016). Die Zytotoxizität von *B. thuringiensis* scheint stark abhängig vom jeweiligen Stamm zu sein. In einer Studie von Jöhler et al. (2018) wurden 39 *B. thuringiensis*-Stämme untersucht. Davon zeigten neun Stämme eine geringe Zytotoxizität (darunter zwei Biopestizid-Stämme) und 29 eine mittlere Zytotoxizität gegenüber Vero-Zellen (darunter sechs Biopestizid-Stämme). Die meisten dieser Stämme (36) waren darüber hinaus durch eine niedrige Produktion des Enzyms Sphingomyelinase gekennzeichnet, welches möglicherweise den Effekt der Enterotoxine verstärkt. Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen zeigte ein einzelner *B. thuringiensis* Stamm (Lebensmittel-Isolat) eine hohe Zytotoxizität (höher als ein *B. cereus* (s.s.) Ausbruchs-Referenzstamm) kombiniert mit einer hohen Sphingomyelinase-Bildung. In einer Scientific Opinion des EFSA BIOHAZ Panels (2016) wird davon ausgegangen, dass die Gehalte von *B. cereus* (s.s.) in Lebensmitteln, die ein Risiko für Verbraucher darstellen, auch für *B. thuringiensis* gelten. In der Klassifizierung von Guinebretiere et al. (2010) kommen Stämme mit der Fähigkeit zur Bildung parasporaler Kristalle in fast allen phylogenetischen Gruppen vor (außer in den Gruppen I und VII). Das verdeutlicht, dass das Plasmid-kodierte Merkmal der Bildung von parasporalen Kristallen für eine eindeutige Speziesabgrenzung nicht geeignet ist. Entsprechend konnte die Bildung dieser Kristalle bereits bei Stämmen nachgewiesen werden, die aufgrund ihrer Phylogenie einer anderen Spezies als *B. thuringiensis* zugeordnet wurden (Jimenez et al., 2013; Lazarte et al., 2018; Liu et al., 2015; Soufiane and Cote, 2010). Der Stamm, welcher als Grundlage für die Speziesbeschreibung von *B. thuringiensis* genutzt wird (Typstamm), gehört zur phylogenetischen Gruppe IV. Die chromosomale DNA-Sequenz dieses Typstamms ist so ähnlich zu der DNA-

Sequenz des *B. cereus* (s.s.)-Typstamms, dass der getrennte Speziesstatus nicht gerechtfertigt ist (Carroll et al., 2020).

B. toyonensis wurde 2014 als eigenständige neue Spezies beschrieben (Jimenez et al., 2013; Oren and Garrity, 2014). Der Typstamm dieser Spezies wurde 1966 in Japan isoliert und wurde als *B. cereus* var. *toyoi* bezeichnet. Seit 1975 werden Sporen dieses Stammes kommerziell als probiotischer Futtermittelzusatz verwendet, vor allem in der Schweine- und Geflügelhaltung. In der EU wurde ein entsprechendes Produkt 1994 als Futtermittelzusatz zugelassen. Diese Zulassung ist jedoch seit 2013 ausgesetzt (Durchführungsverordnung (EU) Nr. 288/2013), was auf Einschätzungen des EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) von 2012 und 2014 zurückgeht (EFSA FEEDAP Panel, 2012, 2014). Hierin wird aufgeführt, dass der Stamm sowohl Antibiotikaresistenz-Gene (*catQ* und *tet(M)*) als auch das *nhe*- und das *hbl*-Operon trägt. Der Stamm ist außerdem in der Lage, die entsprechenden Enterotoxine zu bilden, jedoch weniger effektiv als die verwendeten *B. cereus* (s.s.)-Kontrollstämme. Gemäß Miller et al. (2018) ist die Spezies *B. toyonensis* der phylogenetischen Gruppe V zuzuordnen.

B. wiedmannii ist eine psychrotolerante Spezies (Wachstum von 5 °C bis 43 °C), welche 2016 beschrieben wurde. Der Typstamm wurde aus Rohmilch isoliert und produziert sowohl Nhe als auch Hbl (Miller et al., 2016). Neben den *nhe*- und *hbl*-Genen wurde auch das *cytK-2*-Gen in *B. wiedmannii*-Stämmen nachgewiesen. Sowohl der Typ-Stamm als auch weitere Stämme dieser Spezies zeigten eine Zytotoxizität gegenüber HeLa-Zellen und gehören zur phylogenetischen Gruppe II (Miller et al., 2016, 2018). Stämme dieser Gruppe zeigten in der Studie von Guinebriere et al. (2010) gegenüber CaCo-2-Zellen eine höhere Zytotoxizität als Stämme der Gruppen V und eine geringere Zytotoxizität als Stämme der Gruppen III, IV und VII.

***B. mycoides* (synonym *B. weihenstephanensis*)** ist ebenfalls eine psychrotolerante Spezies, die bereits bei Temperaturen von etwa 4 °C wächst. Aufgrund einer Reklassifizierung umfasst die Spezies *B. mycoides* auch alle Stämme, die bisher als *B. weihenstephanensis* bezeichnet wurden (Liu et al., 2018; Parte et al., 2020). Als ein wesentliches Unterscheidungsmerkmal zwischen *B. weihenstephanensis* und *B. mycoides* wurde unter anderem die rhizoide Koloniemorphologie von *B. mycoides* verwendet, welche jedoch ein variables Merkmal ist, dessen Ausprägung von den Kultivierungsbedingungen abhängt (Hendriksen and Hansen, 2011). Basierend auf der Ähnlichkeit der Gesamtgenomsequenzen der Typstämme von *B. weihenstephanensis* und *B. mycoides* handelt es sich nur um eine Spezies, wobei *B. mycoides* zuerst beschrieben wurde.

Es ist bekannt, dass auch bei Stämmen, die bisher als *B. weihenstephanensis* bezeichnet wurden, die Gene für die Bildung von Enterotoxinen (hauptsächlich *nhe* und *hbl*) und selten auch für die Bildung von Cereulid vorhanden sein können (Thorsen et al., 2006). Guerin et al. (2017b) wiesen anhand von zwei dieser emetischen Stämme nach, dass diese bereits bei 8 °C Cereulid produzieren können, wobei die Cereulidbildung bei höheren Temperaturen (10 °C bis 25 °C) deutlich gesteigert war.

Bezüglich nicht-emetischer *B. mycoides*/*B. weihenstephanensis*-Stämme ergab eine Studie von Stenfors et al. (2002), dass 40 von 50 getesteten Stämmen keine bzw. eine geringe Zytotoxizität aufwiesen, während vier Stämme eine mittlere Toxizität besaßen. Jedoch zeigten auch sechs Stämme eine hohe Zytotoxizität, vergleichbar mit *B. cereus* (s.s.)-Ausbruchsstämmen. Bei diesen Tests wurden die Stämme bei 32 °C angereichert und Vero-Zellen für den Zytotoxizitätsassay verwendet. In einer Studie von Guinebriere et al. (2010) wurden die untersuchten *B. mycoides*/*B. weihenstephanensis*-Stämme der phylogenetischen Gruppe VI zugeordnet, die generell eine geringe Zytotoxizität zeigte. Auch hier wurden die Stämme bei 32 °C angereichert, jedoch CaCo2-Zellen für den Zytotoxizitätsassay verwendet.

Ceuppens et al. (2013) berichten, dass bei 36 °C Inkubationstemperatur psychrotolerante Stämme (Wachstum bei ≤ 7 °C) weniger häufig Nhe-Bildung zeigen als mesophile Stämme (Wachstum bei > 7 °C). Dies wird mit einer geringeren Wachstumsrate der psychrotoleranten Stämme bei höheren Temperaturen erklärt. Entsprechend schätzen die Autoren das von diesen Stämmen ausgehende Risiko für eine Durchfallerkrankung als gering ein, da eine Toxinbildung bei Körpertemperatur kaum stattfinden dürfte. Übereinstimmend berichten auch Miller et al., 2018, dass bei Stämmen der Gruppe VI (Anzucht bei 37 °C) keine Zytotoxizität gegenüber HeLa-Zellen nachweisbar war.

B. pseudomycooides zeigt ebenfalls eine rhizoide Koloniemorphologie, ist aber im Gegensatz zu *B. mycooides* eine mesophile Spezies und lässt sich unter anderem durch das Fehlen der psychrotoleranten *cspA*-Gen-Signatur von *B. mycooides* abgrenzen (Francis et al., 1998; Guinebretiere et al., 2008). Sowohl *nhe*- als auch *hbl*-Gene wurden bereits bei *B. pseudomycooides* nachgewiesen (Guinebretiere et al., 2010; Miller et al., 2018). Gemäß Guinebretiere et al. (2010) gehört *B. pseudomycooides* zur phylogenetischen Gruppe I, der eine geringe Zytotoxizität zugeschrieben wird. Im Widerspruch dazu wurde durch Miller et al. (2018) gezeigt, dass Kulturüberstände (Anzucht bei 37 °C) von *B. pseudomycooides*-Stämmen eine hohe zytotoxische Wirkung gegenüber HeLa-Zellen besitzen.

3.1.2 Erkrankungen durch *Bacillus cereus* (s.l.) (Gefährdungspotenzial/ Charakterisierung der Gefahr und Exposition)

B. cereus (s.l.) werden hauptsächlich über Lebensmittel auf den Menschen übertragen. Der Verzehr von mit *B. cereus* (s.l.) kontaminierten Lebensmitteln kann zu Magen-Darm-Erkrankungen beim Menschen führen. Es wird davon ausgegangen, dass in den meisten Fällen ein Keimgehalt von mindestens 10^5 KBE/g Lebensmittel notwendig ist, um eine Krankheit auszulösen. Es sind aber auch Erkrankungsfälle beschrieben, bei denen geringere Gehalte von *B. cereus* (s.l.) im Lebensmittel nachgewiesen wurden (Ceuppens et al., 2013; EFSA BIOHAZ Panel, 2016).

Die von *B. cereus* (s.l.) hervorgerufenen Magen-Darm-Erkrankungen sind nicht ansteckend und die Symptome dauern selten länger als 24 Stunden. Es sind Menschen aller Altersklassen betroffen. In der Vergangenheit kam es in Einzelfällen zu tödlichen Krankheitsverläufen. Es werden zwei Erkrankungsformen unterschieden, eine emetische Erkrankung (Erbrechenstyp, Intoxikation) und eine Durchfallerkrankung (Diarrhoetyp; Toxiko-Infektion).

Bei der **emetischen Erkrankung** wird ein im Lebensmittel von vegetativen Zellen gebildetes Säure-, Hitze- und Proteolyse-stabiles Toxin (Cereulid) aufgenommen. Durch Bindung von Cereulid an bestimmte Rezeptoren im Magen-Darm-Trakt verursacht es bereits innerhalb von sechs Stunden nach Aufnahme Erbrechen und Übelkeit, wobei die Symptome meist innerhalb von 24 Stunden von selbst abklingen. Bei schweren Intoxikationen kann Cereulid außerdem Leberschäden und Hirnödeme verursachen (Dierick et al., 2005; Shiota et al., 2010). In Tierversuchen waren die Cereulid-bedingten Leberschäden bei subletalen Dosen reversibel (Yokoyama et al., 1999). Darüber hinaus wird angenommen, dass Cereulid hemmend auf das Immunsystem wirkt, indem es die körpereigenen natürlichen Killerzellen schädigt (Paananen et al., 2002). Schwere Intoxikationen haben selten auch zu Todesfällen geführt (Dierick et al., 2005; Naranjo et al., 2011; Shiota et al., 2010). Eine Intoxikation durch Cereulid steht häufig im Zusammenhang mit dem Verzehr von stärkehaltigen Lebensmitteln wie Reis und Nudeln. In der Literatur sind jedoch auch emetische Krankheitsfälle in Verbindung mit Milch- und Fleischprodukten beschrieben (Messelhäußer et al., 2014; Rouzeau-Szynalski et al., 2020). Der Grund für das häufigere Auftreten von Krankheitsfällen im Zusammenhang mit stärkehaltigen Lebensmitteln könnte einerseits darin liegen, dass der Wurzelbereich oder

Teile bestimmter Anbaupflanzen ein natürliches Habitat für „emetische *B. cereus*“ darstellen. Zum anderen könnte die Zusammensetzung von stärkehaltigen Speisen die Cereulid-Bildung fördern, da in ihnen ein günstiger (relativ niedriger) Gehalt von bestimmten Aminosäuren vorliegt. So ist bekannt, dass eine zu hohe Konzentration von verzweigten Aminosäuren die Cereulid-Bildung hemmt (Ehling-Schulz et al., 2015).

In aktuellen Veröffentlichungen zu Cereulid-Konzentrationen in Lebensmitteln, die im Zusammenhang mit Intoxikationen untersucht wurden, werden häufig Werte im Bereich von 0,19 bis 15 µg/g (Mikrogramm pro Gramm) Lebensmittel berichtet (Marxen et al., 2015b; Messelhäuser et al., 2014; Rouzeau-Szynalski et al., 2020). Eine deutlich niedrigere Konzentration von nur 0,003 µg/g Lebensmittel in einer Verdachtsprobe (Reisgericht; Erkrankung mit Cereulid-typischer Symptomatik) wird von Biesta-Peters et al. (2016) beschrieben. Als ein möglicher Grund für die extremen Unterschiede bei gemessenen Cereulid-Konzentrationen, die mit Krankheiten assoziiert werden, wird aufgeführt, dass der Zeitraum zwischen Verzehr des Lebensmittels und der Untersuchung des Lebensmittels auf dessen Cereulid-Gehalt von Fall zu Fall unterschiedlich sein kann. Je nach Lagerung des Lebensmittels ist jedoch auch in diesem Zeitraum eine weitere Cereulidbildung (sowie mikrobielles Wachstum) möglich, sodass sich die Cereulid-Gehalte in dem verzehrten und dem untersuchten Lebensmittel unterscheiden können. In der Veröffentlichung von Biesta-Peters et al. (2016) wird außerdem eine Risikobewertung des niederländischen National Institute for Public Health and the Environment zitiert, in der eingeschätzt wird, dass ein Wert von unter 0,0018 µg/g Lebensmittel (0,03 µg/kg Körpergewicht) keinen gesundheitsschädlichen Effekt erzeugt. Basierend auf Tierversuchen wird die minimale Intoxikations-Dosis des Menschen hingegen auf 8-10 µg/kg Körpergewicht geschätzt (EFSA BIOHAZ Panel, 2016).

Angaben über *B. cereus*-Gehalte in Lebensmitteln, die mit emetischen Erkrankungen assoziiert wurden, sind sehr unterschiedlich und reichen von $< 10^2$ bis 10^7 KbE/g (EFSA BIOHAZ Panel, 2005, 2016; Glasset et al., 2016; Messelhäuser et al., 2014; Rouzeau-Szynalski et al., 2020). Ein Grund für diese unterschiedlichen Angaben könnte sein, dass die gebildeten Toxinmengen stark von Stammeigenschaften und den Umgebungsbedingungen abhängen (Agata et al., 2002; Apetroaie-Constantin et al., 2008; Carlin et al., 2006; Rajkovic et al., 2006; Stark et al., 2013). Die niedrigen beschriebenen Keimgehalte ($< 10^5$) erscheinen jedoch als Widerspruch zu der Annahme, dass die Cereulidbildung erst während der exponentiellen Wachstumsphase bei Zellzahlen ab 10^5 KbE/g einsetzt (siehe auch 3.1.1). Ein Grund für vergleichsweise niedrige, ermittelte Gehalte von *B. cereus* im Zusammenhang mit emetischen Erkrankungen könnte sein, dass in den untersuchten Lebensmitteln vorhandene vegetative Zellen durch Verarbeitungsschritte reduziert wurden, nachdem bereits Cereulid produziert wurde. Ein weiterer Grund könnte sein, dass die untersuchten Rückstellproben vor der Vermehrung von *B. cereus* im Lebensmittel und der anschließenden Abgabe an Verbraucherinnen und Verbraucher entnommen wurden. Daher besteht die Möglichkeit, dass in diesen untersuchten Lebensmitteln *B. cereus*-Gehalte unterhalb von 10^5 KbE/g bestimmt wurden, der *B. cereus*-Gehalt zum Zeitpunkt des Verzehrs aber höher war.

Im Lebensmittel gebildetes Cereulid wird durch eine Erhitzung bei 100 °C für 150 min (pH 8,6 bis 10,6) bzw. eine Erhitzung bei 121 °C für 120 min (pH 7) nicht zerstört (Rajkovic et al., 2008).

Beim **Diarrhoetyp** werden vegetative Zellen und/oder Sporen von *B. cereus* (*s.l.*) über das Lebensmittel aufgenommen. Möglicherweise bereits im Lebensmittel gebildete Enterotoxine spielen bei der Ausbildung von Durchfallssymptomen wahrscheinlich keine Rolle, da sie bei der Magen-Passage und im anschließenden Dünndarm-Milieu größtenteils inaktiviert werden, denn die Enterotoxine sind gegenüber Proteinasen und niedrigen pH-Werten empfindlich. Die Enterotoxine sind außerdem hitzelabil und werden durch eine Erhitzung bei 55 °C für 20 min inaktiviert (Ceuppens et al., 2011, 2013). Auch vegetative Zellen werden bei der

Magen-Passage zu einem großen Teil inaktiviert. Wie hoch dieser Anteil ist, hängt jedoch von verschiedenen Faktoren ab (z. B. Wachstumsphase der Bakterien, Eigenschaften des Lebensmittels, Magen-Milieu), sodass auch vegetative Zellen am Krankheitsgeschehen beteiligt sein könnten (Berthold-Pluta et al., 2015; Ceuppens et al., 2012). Aufgenommene Sporen überleben größtenteils die Magen-Passage und können dann nahe bzw. in direktem Kontakt mit dem Dünndarm-Epithel auskeimen und vegetative Zellen bilden. Es wird angenommen, dass Sporen an Enterozyten anheften können. Der Kontakt zu den Enterozyten fördert wiederum das Auskeimen der Sporen, wodurch die notwendigen Zelldichten entstehen, welche die Genregulationskaskade zur Bildung von Enterotoxinen auslösen. Die Fähigkeit, an Enterozyten zu binden, hängt wahrscheinlich auch mit Oberflächeneigenschaften der Sporen zusammen, welche sich zwischen Stämmen unterscheiden können und damit möglicherweise auch einen Teil der unterschiedlichen Pathogenität erklären (Berthold-Pluta et al., 2015). Darüber hinaus wird vermutet, dass der Kontakt von vegetativen Zellen zu Enterozyten zusätzlich die Toxinbildung fördert (Jessberger et al., 2017). Die Enterotoxine bilden Poren in den Membranen der Enterozyten. Infolgedessen kommt es zur osmotischen Lyse der Enterozyten und zu Durchfallssymptomen. Die Krankheitssymptome setzen meist innerhalb von 8 bis 24 Stunden nach Aufnahme des kontaminierten Lebensmittels ein und umfassen wässrigen Durchfall und Bauchschmerzen. In der Regel ist die Erkrankung selbstlimitierend (Messelhäußer and Ehling-Schulz, 2014).

B. cereus (*s.l.*) bilden neben den Enterotoxinen weitere potenzielle Virulenzfaktoren, wie z. B. Sphingomyelinasen, Phospholipasen, Hämolsine oder Metalloproteinasen, welche möglicherweise die Wirkung der Enterotoxine verstärken. Angaben über *B. cereus*-Gehalte in Lebensmitteln, die mit Durchfallerkrankungen assoziiert wurden, variieren stark. Bei *B. cereus*-bedingten Ausbrüchen mit Durchfallssymptomatik, die im Zeitraum von 2007 bis 2014 an die EFSA berichtet wurden, enthielten die ursächlichen Lebensmittel in den meisten Fällen Keimzahlen von mehr als 10^5 KbE/g. Jedoch gab es auch Ausbrüche, bei denen *B. cereus*-Gehalte von nur 10^3 KbE/g nachgewiesen wurden (EFSA BIOHAZ Panel, 2016). In einer Veröffentlichung zu lebensmittelbedingten Ausbrüchen in Frankreich der Jahre 2007 bis 2014 wird berichtet, dass ursächliche Lebensmittel *B. cereus*-Gehalte von 10^2 bis 10^9 KbE/g enthielten (Glasset et al., 2016). Berücksichtigt man dabei nur die Ausbrüche, in denen ausschließlich Durchfallssymptome auftraten, so liegen die Werte zwischen 10^3 und 10^6 KbE/g, wobei drei von insgesamt sechs dieser Ausbrüche mit Lebensmitteln in Verbindung standen, die nur 10^3 bis 10^4 KbE/g enthielten. Ob Durchfallssymptome ausgelöst werden, hängt jedoch nicht nur von der Keimzahl, den Eigenschaften des Bakterienstammes und des aufgenommenen Lebensmittels ab, sondern auch vom Gesundheitszustand des Konsumenten (Ceuppens et al., 2013). Wie bereits weiter oben beschrieben, beeinflusst auch der Zeitpunkt der Probenahme die ermittelten Keimgehalte von an Ausbrüchen beteiligten Lebensmitteln. Die Bakteriengehalte zum Zeitpunkt des Verzehrs können darüber oder darunter liegen.

Zur Häufigkeit der Erkrankung liegen in Deutschland keine verlässlichen Daten vor. Zwischen 2009 und 2015 wurden von den zuständigen Behörden der Länder und der Bundeswehr über BELA⁵ jährlich zwei bis sechs lebensmittelbedingte Ausbrüche durch *B. cereus* (*s.l.*) gemeldet. Von 2015 bis 2018 wurden von Deutschland jährlich drei bis zehn durch *B. cereus* (*s.l.*) verursachte Ausbrüche an die EFSA übermittelt (Rosner and Schewe, 2016; BVL 2017, 2018, 2019). In dem Zeitraum von 2007 bis 2014 wurden insgesamt 1.127 *B. cereus*-bedingte Ausbrüche von europäischen Staaten an die EFSA übermittelt. Die tatsächliche Anzahl von Ausbruchsfällen dürfte aber sowohl in Deutschland als auch in Europa deutlich höher sein.

⁵ Bundeseinheitliches System zur Erfassung von Daten zu Lebensmitteln, die bei Krankheitsausbrüchen beteiligt sind (BELA)

Da in der Routine-Diagnostik kaum zwischen den Spezies der *B. cereus*-Gruppe unterschieden wird, kann der Beitrag der einzelnen Spezies zu Krankheitsgeschehen derzeit nicht beurteilt werden.

Bei einem Krankheitsausbruch mit Durchfallsymptomatik bei 44 Erkrankten (davon drei Todesfälle und sechs Fälle mit blutigem Durchfall) in einem Altenheim in Frankreich wurde erstmals *B. cytotoxicus* isoliert. Das Isolat wurde aus Gemüsepurée gewonnen, welches mit 3×10^5 KbE/g präsumtiven *B. cereus* kontaminiert war (Lund et al., 2000). Daten zur minimalen Keimzahl von *B. cytotoxicus* in einem Lebensmittel, die benötigt wird, um eine Erkrankung auszulösen, sind nicht verfügbar.

Bislang gibt es nur wenige Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von *B. thuringiensis* in Lebensmitteln und Erkrankungen des Menschen (EFSA BIOHAZ Panel, 2016; Jackson et al., 1995; McIntyre et al., 2008).

B. mycoides (synonym *B. weihenstephanensis*) und *B. pseudomycoides* wurden bislang nicht mit lebensmittelbedingten Erkrankungen in Zusammenhang gebracht (EFSA BIOHAZ Panel, 2016).

In Übereinstimmung mit der Klassifizierung der Zytotoxizität unterschiedlicher phylogenetischer Gruppen anhand der *panC*-Sequenz scheinen die Gruppen II, III und IV häufiger mit Erkrankungen assoziiert zu sein (Glasset et al., 2016).

3.1.3 Hitzeinaktivierung von *Bacillus cereus* (*s.l.*) in Lebensmitteln

Übliche Hitzebehandlungen wie Kochen oder Pasteurisieren töten vegetative Bakterienzellen der *B. cereus*-Gruppe ab, ermöglichen aber teilweise das Überleben von Sporen (EFSA BIOHAZ Panel, 2016; Guerin et al., 2017a). Die Reduktion der kompetitiven Mikrobiota durch die Hitzebehandlung unterstützt das Auskeimen der Sporen und das Wachstum vegetativer Zellen. Die Hitzeresistenz der Sporen ist stark abhängig von der Lebensmittelmatrix, in der sich die Sporen befinden. Beispielsweise besteht eine höhere Resistenz von *B. cereus* (*s.l.*)-Sporen in ölhaltigen Lebensmitteln (van Asselt and Zwietering, 2006). Außerdem ist die Stammvariabilität sehr hoch; so können D-Werte (Dezimalreduktionszeit) bei 90 °C und pH 7 zwischen wenigen Minuten bis > 100 min betragen (EFSA BIOHAZ Panel, 2016). Vor allem die Sporen emetischer Stämme sind stärker hitzeresistent (Ankolekar and Labbe, 2009; Carlin et al., 2006; Hariram and Labbe, 2016; Rajkovic et al., 2006), während die Sporen psychrotoleranter Stämme eine niedrigere Hitzeresistenz zeigen (Luu-Thi et al., 2014).

Die Hitzebehandlung eines Lebensmittels für drei Minuten bei 121 °C würde alle Sporen abtöten (EFSA BIOHAZ Panel, 2005, 2016). Entscheidend für die Inaktivierung der Sporen sind dabei die Temperatur und die Dauer der Hitzeeinwirkung, nicht aber der Druck, da die Sporen extrem resistent gegenüber hohem Druck sind (Nicholson et al., 2000). Temperaturen, die beim Pasteurisieren oder Kochen von Lebensmitteln erreicht werden, reichen hingegen nicht aus, um alle Sporen sicher zu inaktivieren (EFSA BIOHAZ Panel, 2005, 2016). Mildere Temperatur-Behandlungen (z.B. 70 °C - 80 °C für 10 Minuten) können sogar das Auskeimen und Wachstum von *B. cereus* (*s.l.*) beschleunigen (Samapundo et al., 2014).

3.1.4 Risikocharakterisierung

Nach Auswertung der Literatur und der eigenen Untersuchungsergebnisse kommt das BfR zu dem Schluss, dass bei jedem *B. cereus* (*s.l.*)-Stamm von einem potentiellen Enterotoxinbildner auszugehen ist, wenngleich sich die gebildeten Toxintypen und Toxinmengen unterscheiden können. Es ist deshalb möglich, dass der Verzehr von Lebensmitteln, die sehr hohe Keimzahlen von *B. cereus* (*s.l.*) (ab 10^5 KbE/g) enthalten, beim Menschen innerhalb von kurzer Zeit Durchfallerkrankungen auslöst. Bei Stämmen der *B. cereus*-Gruppe, die bei der Körpertemperatur des Menschen nur eine eingeschränkte Vermehrungs- bzw. Toxinbildungsfähigkeit besitzen (*B. mycoides* (synonym *B. weihenstephanensis*)) ist die Eintrittswahrscheinlichkeit für lebensmittelbedingte Durchfallerkrankungen jedoch gering.

Beim Vorkommen von *B. cytotoxicus* könnten nach Ansicht des BfR aufgrund der höheren Toxizität des CytK-1-Toxins auch schon etwas geringere Keimzahlen im Lebensmittel (ab 10^4 KbE/g) ausreichen, um beim Menschen Durchfallerkrankungen auszulösen, auch wenn nicht alle *B. cytotoxicus*-Stämme stark zytotoxisch sind.

Durch das gründliche Waschen pflanzlicher Lebensmittel mit Trinkwasser lässt sich die *B. cereus* (*s.l.*)-Keimzahl und damit das Risiko, wenn überhaupt, nur geringfügig minimieren. Aufgrund der hohen Hitzeresistenz der Sporen ist nur dann von einer sicheren Eliminierung der Sporen auszugehen, wenn starke Erhitzungsverfahren angewandt werden, wie sie beispielsweise bei der Konservenherstellung zum Einsatz kommen (z. B. 121 °C, 3 min).

Doch auch bei geringeren Gehalten von *B. cereus* (*s.l.*) in einem Lebensmittel (ab etwa 10^3 KbE/g) kann von dem Lebensmittel ein Erkrankungsrisiko ausgehen, sofern der Stamm die Fähigkeit zur Cereulid-Bildung besitzt und die Bedingungen im Lebensmittel bis zu dessen Verzehr die Vermehrung des Stamms sowie die Cereulid-Bildung begünstigen. Das Risiko lässt sich minimieren, wenn Temperaturen, bei denen sich *B. cereus* (*s.l.*) vermehren, bei der Aufbewahrung von Speisen und milchhaltigen Getränken vermieden werden.

Befindet sich bereits eine relevante Menge an Cereulid im Lebensmittel, so ist davon auszugehen, dass die Gesundheitsschädlichkeit nicht eliminiert werden kann, da Cereulid extrem stabil ist (> 120 min bei 121 °C). Aufgrund der unterschiedlichen Angaben zu möglichen minimalen Intoxikationsdosen lässt sich nach Ansicht des BfR derzeit kein allgemeingültiger Cereulid-Grenzwert in Lebensmitteln ableiten, so dass die lebensmittelrechtliche Beurteilung eines Cereulid-haltigen Lebensmittels nur als Einzelfallbetrachtung durchgeführt werden kann.

3.2 Weitere Aspekte

Zum Schutz der Bevölkerung vor mikrobiologischen Gefahren in Lebensmitteln hat die Europäische Kommission in der Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 verschiedene mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel festgelegt. Für präsumtive *B. cereus* in getrockneter Säuglingsanfangsnahrung und getrockneten diätetischen Lebensmitteln für besondere medizinische Zwecke, die für Säuglinge unter 6 Monaten bestimmt sind, ist in Anhang I Kapitel 2 Nummer 2.2.11 dieser Verordnung ein Prozesshygienekriterium aufgeführt, dessen Einhaltung der Lebensmittelunternehmer am Ende des Herstellungsprozesses zu kontrollieren hat. Bei unbefriedigenden Ergebnissen hat der Lebensmittelunternehmer bestimmte Maßnahmen zu ergreifen (Verbesserungen der Herstellungshygiene, Verhinderung der Rekontamination, Auswahl der Rohstoffe).

4 Handlungsrahmen/Maßnahmen

Zum Schutz vor lebensmittelbedingten Infektionen und Lebensmittelvergiftungen empfiehlt das BfR bei der Lagerung und Zubereitung von Lebensmitteln in der Gastronomie und anderen Gemeinschaftsverpflegungseinrichtungen sowie in Privathaushalten folgende generelle Regeln der Küchenhygiene einzuhalten:

- Kühlkette leicht verderblicher Lebensmittel einhalten
- Speisen bei der Zubereitung gut durchkochen und beim Wiederaufwärmen ausreichend erhitzen, um vegetative Zellen abzutöten (mindestens 70 °C für zwei Minuten an allen Stellen des Lebensmittels; im Zweifelsfall die Temperatur mit einem Fleischthermometer überprüfen); das gleiche gilt für das Aufwärmen in der Mikrowelle (auf gleichmäßiges Erwärmen achten, Speisen zwischendurch umrühren)
- zubereitete, erhitzte Speisen schnell auf ≤ 7 °C abkühlen (größere Speisemengen dafür in mehrere flache Schalen füllen) und bis zum erneuten Erhitzen kurz vor dem Verzehr im Kühlschrank aufbewahren
- bei der Heißhaltung von Speisen (z. B. Suppen, Soßen, Eintöpfe) darauf achten, dass sie an allen Stellen eine Temperatur von mindestens +60 °C haben. Leicht verderbliche Lebensmittel und erhitzte Speisen nicht längere Zeit bei Temperaturen zwischen +7 °C und +60 °C aufbewahren
- Reste gegarter Speisen im Kühlschrank aufbewahren und innerhalb von zwei bis drei Tagen verbrauchen
- Wasser, das zum Einweichen von Trockenpilzen verwendet wird, sorgfältig entsorgen und die Hände sowie alle Gegenstände oder Arbeitsflächen nach Kontakt mit dem Einweichwasser oder den gequollenen Pilzen gründlich reinigen

Weitere Informationen auf der BfR-Website

Schutz vor lebensmittelbedingten Erkrankungen durch bakterielle Toxine, vom 01.02.2020;
<https://www.bfr.bund.de/cm/350/verbrauchertipps-schutz-vor-lebensmittelbedingten-erkrankungen-durch-bakterielle-toxine.pdf>

Schutz vor lebensmittelbedingten Erkrankungen beim Heißhalten von Speisen, vom 27. August 2020
<https://www.bfr.bund.de/cm/343/schutz-vor-lebensmittelbedingten-erkrankungen-beim-heisshalten-von-speisen.pdf>

Empfehlungen zur hygienischen Zubereitung von pulverförmiger Säuglingsnahrung
Stellungnahme Nr. 040/2012 des BfR vom 6. November 2012
<https://www.bfr.bund.de/cm/343/empfehlungen-zur-hygienischen-zubereitung-von-pulverfoermiger-saeuglingsnahrung.pdf>



„Stellungnahmen-App“ des BfR

5 Referenzen

- Agata, N., Ohta, M., Yokoyama, K., 2002. Production of *Bacillus cereus* emetic toxin (cereulide) in various foods. *International Journal of Food Microbiology* 73, 23-27.
- Ankolekar, C., Labbe, R.G., 2009. Survival during Cooking and Growth from Spores of Diarrheal and Emetic Types of *Bacillus cereus* in Rice. *Journal of Food Protection* 72, 2386-2389.
- Apetroaie-Constantin, C., Shaheen, R., Andrup, L., Smidt, L., Rita, H., Sallinoja-Salonen, M., 2008. Environment driven cereulide production by emetic strains of *Bacillus cereus*. *International Journal of Food Microbiology* 127, 60-67.
- Auger, S., Galleron, N., Bidnenko, E., Ehrlich, S.D., Lapidus, A., Sorokin, A., 2008. The genetically remote pathogenic strain NVH391-98 of the *Bacillus cereus* group is representative of a cluster of thermophilic strains. *Applied and Environmental Microbiology* 74, 1276-1280.
- Berthold-Pluta, A., Pluta, A., Garbowska, M., 2015. The effect of selected factors on the survival of *Bacillus cereus* in the human gastrointestinal tract. *Microbial Pathogenesis* 82, 7-14.
- 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. *Journal of Food Protection* 79, 230-238.
- Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), 2017. Gemeinsamer nationaler Bericht des BVL und RKI zu lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen in Deutschland 2016.
- Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), 2018. Gemeinsamer nationaler Bericht des BVL und RKI zu lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen in Deutschland 2017.
- Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 2019 (BVL). Gemeinsamer nationaler Bericht des BVL und RKI zu lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen in Deutschland 2018.
- Carlin, F., Albagnac, C., Rida, A., Guinebretière, M.-H., Couvert, O., Nguyen-the, C., 2013. Variation of cardinal growth parameters and growth limits according to phylogenetic affiliation in the *Bacillus cereus* Group. Consequences for risk assessment. *Food Microbiology* 33, 69-76.
- Carlin, F., Fricker, M., Pielat, A., Heisterkamp, S., Shaheen, R., Salonen, M.S., Svensson, B., Nguyen-The, C., Ehling-Schulz, M., 2006. Emetic toxin-producing strains of *Bacillus cereus* show distinct characteristics within the *Bacillus cereus* group. *International Journal of Food Microbiology* 109, 132-138.
- Carroll, L.M., Wiedmann, M., Kovac, J., 2020. Proposal of a Taxonomic Nomenclature for the *Bacillus cereus* Group Which Reconciles Genomic Definitions of Bacterial Species with Clinical and Industrial Phenotypes. *Mbio* 11, 15.
- Ceuppens, S., Boon, N., Uyttendaele, M., 2013. Diversity of *Bacillus cereus* group strains is reflected in their broad range of pathogenicity and diverse ecological lifestyles. *FEMS Microbiology Ecology* 84, 433-450.
- Ceuppens, S., Rajkovic, A., Heyndrickx, M., Tsilia, V., van De Wiele, T., Boon, N., Uyttendaele, M., 2011. Regulation of toxin production by *Bacillus cereus* and its food safety implications. *Critical Reviews in Microbiology* 37, 188-213.
- Ceuppens, S., Uyttendaele, M., Drieskens, K., Rajkovic, A., Boon, N., Van de Wiele, T., 2012. Survival of *Bacillus cereus* Vegetative Cells and Spores during In Vitro Simulation of Gastric Passage. *Journal of Food Protection* 75, 690-694.
- Contzen, M., Hailer, M., Rau, J., 2014. Isolation of *Bacillus cytotoxicus* from various commercial potato products. *International Journal of Food Microbiology* 174, 19-22.

- Dierick, K., Van Coillie, E., Swiecicka, I., Meyfroidt, G., Devlieger, H., Meulemans, A., Hoedemaekers, G., Fourie, L., Heyndrickx, M., Mahillon, J., 2005. Fatal family outbreak of *Bacillus cereus*-associated food poisoning. *Journal of Clinical Microbiology* 43, 4277-4279.
- Dommel, M.K., Lucking, G., Scherer, S., Ehling-Schulz, M., 2011. Transcriptional kinetic analyses of cereulide synthetase genes with respect to growth, sporulation and emetic toxin production in *Bacillus cereus*. *Food Microbiology* 28, 284-290.
- EFSA BIOHAZ Panel, 2005. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp in foodstuffs. *EFSA Journal* 175, 1-48.
- EFSA BIOHAZ Panel, 2016. Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. *EFSA Journal* 14, 93.
- EFSA FEEDAP Panel, 2012. Scientific Opinion on Toyocerin (*Bacillus cereus*) as a feed additive for sows, piglets, pigs for fattening, cattle for fattening, calves for rearing, chickens for fattening and rabbits for fattening. *EFSA Journal* 10, 17.
- EFSA FEEDAP Panel, 2014. Scientific Opinion on the safety and efficacy of Toyocerin® (*Bacillus toyonensis*) as a feed additive for rabbits for fattening, chickens for fattening, weaned piglets, pigs for fattening, sows for reproduction, cattle for fattening, and calves for rearing. *EFSA Journal* 12, 17.
- Ehling-Schulz, M., Frenzel, E., Gohar, M., 2015. Food–bacteria interplay: pathometabolism of emetic *Bacillus cereus*. *Frontiers in Microbiology* 6.
- Erbslöh, I., 2007. Vorkommen und Charakterisierung des Toxinbildungsvermögen von *Bacillus cereus*-Isolaten aus ausgewählten Lebensmitteln (Dissertation).
- Fagerlund, A., Brillard, J., Fürst, R., Guinebretiere, M.H., Granum, P.E., 2007. Toxin production in a rare and genetically remote cluster of strains of the *Bacillus cereus* group. *Bmc Microbiology* 7.
- Fagerlund, A., Ween, A., Lund, T., Hardy, S.P., Granum, P.E., 2004. Genetic and functional analysis of the *cytK* family of genes in *Bacillus cereus*. *Microbiology-Sgm* 150, 2689-2697.
- Finlay, W.J.J., Logan, N.A., Sutherland, A.D., 2000. *Bacillus cereus* produces most emetic toxin at lower temperatures. *Letters in Applied Microbiology* 31, 385-389.
- Francis, K.P., Mayr, R., von Stetten, F., Stewart, G., Scherer, S., 1998. Discrimination of psychrotrophic and mesophilic strains of the *Bacillus cereus* group by PCR targeting of major cold shock protein genes. *Applied and Environmental Microbiology* 64, 3525-3529.
- 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. *Eurosurveillance* 21, 18-28.
- Guerin, A., Dargaignaratz, C., Clavel, T., Broussolle, V., Nguyen-the, C., 2017a. Heat-resistance of psychrotolerant *Bacillus cereus* vegetative cells. *Food Microbiology* 64, 195-201.
- Guerin, A., Ronning, H.T., Dargaignaratz, C., Clavel, T., Broussolle, V., Mahillon, J., Granum, P.E., Nguyen-The, C., 2017b. Cereulide production by *Bacillus weihenstephanensis* strains during growth at different pH values and temperatures. *Food Microbiology* 65, 130-135.
- Guinebretiere, M.H., Auger, S., Galleron, N., Contzen, M., De Sarrau, B., De Buyser, M.L., Lamberet, G., Fagerlund, A., Granum, P.E., Lereclus, D., De Vos, P., Nguyen-The, C., Sorokin, A., 2013. *Bacillus cytotoxicus* sp nov is a novel thermotolerant species of the *Bacillus cereus* Group occasionally associated with food poisoning. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63, 31-40.

- Guinebretiere, M.H., Thompson, F.L., Sorokin, A., Normand, P., Dawyndt, P., Ehling-Schulz, M., Svensson, B., Sanchis, V., Nguyen-The, C., Heyndrickx, M., De Vos, P., 2008. Ecological diversification in the *Bacillus cereus* Group. *Environmental Microbiology* 10, 851-865.
- Guinebretiere, M.H., Velge, P., Couvert, O., Carlin, F., Debuyser, M.L., Nguyen-The, C., 2010. Ability of *Bacillus cereus* group strains to cause food poisoning varies according to phylogenetic affiliation (groups I to VII) rather than species affiliation. *Journal of Clinical Microbiology* 48, 3388-3391.
- Hägglom, M.M., Apetroaie, C., Andersson, M.A., Salkinoja-Salonen, M.S., 2002. Quantitative analysis of cereulide, the emetic toxin of *Bacillus cereus*, produced under various conditions. *Applied and Environmental Microbiology* 68, 2479-2483.
- Hariram, U., Labbe, R.G., 2016. Growth and inhibition by spices of growth from spores of enterotoxigenic *Bacillus cereus* in cooked rice. *Food Control* 64, 60-64.
- Heini, N., Stephan, R., Ehling-Schulz, M., Johler, S., 2018. Characterization of *Bacillus cereus* group isolates from powdered food products. *International Journal of Food Microbiology* 283, 59-64.
- Hendriksen, N.B., Hansen, B.M., 2011. Diagnostic properties of three conventional selective plating media for selection of *Bacillus cereus*, *B. thuringiensis* and *B. weihenstephanensis*. *Folia Microbiologica* 56, 535-539.
- Luu-Thi, H., Khadka, D.B., Michiels, C.W., 2014. Thermal inactivation parameters of spores from different phylogenetic groups of *Bacillus cereus*. *International Journal of Food Microbiology* 189, 183-188.
- Jääskeläinen, E.L., Hägglom, M.M., Andersson, M.A., Salkinoja-Salonen, M.S., 2004. Atmospheric oxygen and other conditions affecting the production of cereulide by *Bacillus cereus* in food. *International Journal of Food Microbiology* 96, 75-83.
- Jackson, S.G., Goodbrand, R.B., Ahmed, R., Kasatiya, S., 1995. *Bacillus-cereus* and *bacillus-thuringiensis* isolated in a gastroenteritis outbreak investigation. *Letters in Applied Microbiology* 21, 103-105.
- Jessberger, N., Krey, V.M., Rademacher, C., Böhm, M.E., Mohr, A.K., Ehling-Schulz, M., Scherer, S., Märklbauer, E., 2015. From genome to toxicity: a combinatory approach highlights the complexity of enterotoxin production in *Bacillus cereus*. *Frontiers in Microbiology* 6, 15.
- Jessberger, N., Rademacher, C., Krey, V.M., Dietrich, R., Mohr, A.K., Bohm, M.E., Scherer, S., Ehling-Schulz, M., Märklbauer, E., 2017. Simulating Intestinal Growth Conditions Enhances Toxin Production of Enteropathogenic *Bacillus cereus*. *Frontiers in Microbiology* 8.
- Jimenez, G., Urdiain, M., Cifuentes, A., Lopez-Lopez, A., Blanch, A.R., Tamames, J., Kampfer, P., Kolsto, A.B., Ramon, D., Martinez, J.F., Codoner, F.M., Rossello-Mora, R., 2013. Description of *Bacillus toyonensis* sp nov., a novel species of the *Bacillus cereus* group, and pairwise genome comparisons of the species of the group by means of ANI calculations. *Systematic and Applied Microbiology* 36, 383-391.
- Johler, S., Kalbhenn, E.M., Heini, N., Brodmann, P., Gautsch, S., Bagcioglu, M., Contzen, M., Stephan, R., Ehling-Schulz, M., 2018. Enterotoxin Production of *Bacillus thuringiensis* Isolates From Biopesticides, Foods, and Outbreaks. *Frontiers in Microbiology* 9.
- Kranzler, M., Stollewerk, K., Rouzeau-Szynalski, K., Blayo, L., Sulyok, M., Ehling-Schulz, M., 2016. Temperature Exerts Control of *Bacillus cereus* Emetic Toxin Production on Post-transcriptional Levels. *Frontiers in Microbiology* 7.
- Lazarte, J.N., Lopez, R.P., Ghiringhelli, P.D., Berón, C.M., 2018. *Bacillus wiedmannii* biovar *thuringiensis*: A Specialized Mosquitocidal Pathogen with Plasmids from Diverse Origins. *Genome Biology and Evolution* 10, 2823-2833.

- Lechner, S., Mayr, R., Francis, K.P., Pruss, B.M., Kaplan, T., Wiessner-Gunkel, E., Stewart, G.S., Scherer, S., 1998. *Bacillus weihenstephanensis* sp. nov. is a new psychrotolerant species of the *Bacillus cereus* group. *International Journal of Systematic Bacteriology* 48 Pt 4, 1373-1382.
- Lindbäck, T., Hardy, S.P., Dietrich, R., Sodring, M., Didier, A., Moravek, M., Fagerlund, A., Bock, S., Nielsen, C., Casteel, M., Granum, P.E., Martlbauer, E., 2010. Cytotoxicity of the *Bacillus cereus* Nhe Enterotoxin Requires Specific Binding Order of Its Three Exoprotein Components. *Infection and Immunity* 78, 3813-3821.
- Liu, Y., Du, J., Lai, Q.L., Zeng, R.Y., Ye, D.Z., Xu, J., Shao, Z.Z., 2017. Proposal of nine novel species of the *Bacillus cereus* group. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 67, 2499-2508.
- Liu, Y., Lai, Q., Shao, Z., 2018. Genome analysis-based reclassification of *Bacillus weihenstephanensis* as a later heterotypic synonym of *Bacillus mycoides*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 68, 106-112.
- Liu, Y., Lai, Q.L., Goker, M., Meier-Kolthoff, J.P., Wang, M., Sun, Y.M., Wang, L., Shao, Z.Z., 2015. Genomic insights into the taxonomic status of the *Bacillus cereus* group. *Scientific Reports* 5, 11.
- Lücking, G., Dommel, M.K., Scherer, S., Fouet, A., Ehling-Schulz, M., 2009. Cereulide synthesis in emetic *Bacillus cereus* is controlled by the transition state regulator AbrB, but not by the virulence regulator PlcR. *Microbiology-Sgm* 155, 922-931.
- Lund, T., De Buyser, M.L., Granum, P.E., 2000. A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. *Molecular Microbiology* 38, 254-261.
- Marxen, S., Stark, T.D., Frenzel, E., Ruetschle, A., Luecking, G., Puerstinger, G., Pohl, E.E., Scherer, S., Ehling-Schulz, M., Hofmann, T., 2015a. Chemodiversity of cereulide, the emetic toxin of *Bacillus cereus*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 407, 2439-2453.
- Marxen, S., Stark, T.D., Rutschle, A., Luecking, G., Frenzel, E., Scherer, S., Ehling-Schulz, M., Hofmann, T., 2015b. Multiparametric quantitation of the *Bacillus cereus* toxins cereulide and isocereulides A-G in foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63, 8307-8313.
- McIntyre, L., Bernard, K., Beniac, D., Isaac-Renton, J.L., Naseby, D.C., 2008. Identification of *Bacillus cereus* Group Species Associated with Food Poisoning Outbreaks in British Columbia, Canada. *Applied and Environmental Microbiology* 74, 7451-7453.
- Messelhäußer, U., Ehling-Schulz, M., 2014. *Bacillus cereus* - Vorkommen, Nachweis und Präventionsstrategien. B. Behr's Verlag, Hamburg.
- Messelhäußer, U., Frenzel, E., Blochinger, C., Zucker, R., Kampf, P., Ehling-Schulz, M., 2014. Emetic *Bacillus cereus* are more volatile than thought: Recent foodborne outbreaks and prevalence studies in Bavaria (2007-2013). *Biomed Research International*.
- 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. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 66, 4744-4753.
- Miller, R.A., Jian, J.H., Beno, S.M., Wiedmann, M., Kovac, J., 2018. Intraclade Variability in Toxin Production and Cytotoxicity of *Bacillus cereus* Group Type Strains and Dairy-Associated Isolates. *Applied and Environmental Microbiology* 84.
- Moravek, M., Dietrich, R., Bürk, C., Broussolle, V., Guinebretiere, M.H., Granum, P.E., Nguyen-the, C., Märtlbauer, E., 2006. Determination of the toxic potential of *Bacillus cereus* isolates by quantitative enterotoxin analyses. *Fems Microbiology Letters* 257, 293-298.
- Naranjo, M., Denayer, S., Botteldoorn, N., Delbrassinne, L., Veys, J., Waegenaere, J., Sirtaine, N., Driesen, R.B., Sipido, K.R., Mahillon, J., Dierick, K., 2011. Sudden Death

- of a Young Adult Associated with *Bacillus cereus* Food Poisoning. *Journal of Clinical Microbiology* 49, 4379-4381.
- Nicholson, W.L., Munakata, N., Horneck, G., Melosh, H.J., Setlow, P., 2000. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64, 548-572.
- Oren, A., Garrity, G.M., 2014. List of new names and new combinations previously effectively, but not validly, published. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64, 2184-2187.
- Paananen, A., Mikkola, R., Sareneva, T., Matikainen, S., Hess, M., Andersson, M., Julkunen, I., Salkinoja-Salonen, M.S., Timonen, T., 2002. Inhibition of human natural killer cell activity by cereulide, an emetic toxin from *Bacillus cereus*. *Clinical and Experimental Immunology* 129, 420-428.
- Parte, A.C., Sardà Carbasse, J., Meier-Kolthoff, J.P., Reimer, L.C., Göker, M., 2020. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Rajkovic, A., Uyttendaele, M., Ombregt, S.A., Jaaskelainen, E., Salkinoja-Salonen, M., Debevere, J., 2006. Influence of type of food on the kinetics and overall production of *Bacillus cereus* emetic toxin. *Journal of Food Protection* 69, 847-852.
- Rajkovic, A., Uyttendaele, M., Vermeulen, A., Andjelkovic, M., Fitz-James, I., in't Veld, P., Denon, Q., Verhe, R., Debevere, J., 2008. Heat resistance of *Bacillus cereus* emetic toxin, cereulide. *Letters in Applied Microbiology* 46, 536-541.
- Rosner, B., Schewe, T., 2016. Gemeinsamer nationaler Bericht des BVL und RKI zu lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen in Deutschland 2015. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*.
- Rouzeau-Szynalski, K., Stollewerk, K., Messelhauser, U., Ehling-Schulz, M., 2020. Why be serious about emetic *Bacillus cereus*: Cereulide production and industrial challenges. *Food Microbiology* 85.
- Samapundo, S., Heyndrickx, M., Xhaferi, R., de Baenst, I., Devlieghere, F., 2014. The combined effect of pasteurization intensity, water activity, pH and incubation temperature on the survival and outgrowth of spores of *Bacillus cereus* and *Bacillus pumilus* in artificial media and food products. *International Journal of Food Microbiology* 181, 10-18.
- Samapundo, S., Heyndrickx, M., Xhaferi, R., Devlieghere, F., 2011. Incidence, diversity and toxin gene characteristics of *Bacillus cereus* group strains isolated from food products marketed in Belgium. *International Journal of Food Microbiology* 150, 34-41.
- Shiota, M., Saitou, K., Mizumoto, H., Matsusaka, M., Agata, N., Nakayama, M., Kage, M., Tatsumi, S., Okamoto, A., Yamaguchi, S., Ohta, M., Hata, D., 2010. Rapid Detoxification of Cereulide in *Bacillus cereus* Food Poisoning. *Pediatrics* 125, E951-E955.
- Soufiane, B., Cote, J.C., 2010. *Bacillus thuringiensis* Serovars bolivia, vazensis and navarrensis meet the description of *Bacillus weihenstephanensis*. *Current Microbiology* 60, 343-349.
- Stark, T., Marxen, S., Rutschle, A., Lucking, G., Scherer, S., Ehling-Schulz, M., Hofmann, T., 2013. Mass spectrometric profiling of *Bacillus cereus* strains and quantitation of the emetic toxin cereulide by means of stable isotope dilution analysis and HEp-2 bioassay. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405, 191-201.
- Stenfors Arnesen, L.P., Fagerlund, A., Granum, P.E., 2008. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS* 32, 579 - 606.
- Stenfors, L.P., Mayr, R., Scherer, S., Granum, P.E., 2002. Pathogenic potential of fifty *Bacillus weihenstephanensis* strains. *Fems Microbiology Letters* 215, 47-51.

- Thorsen, L., Hansen, B.M., Nielsen, K.F., Hendriksen, N.B., Phipps, R.K., Budde, B.B., 2006. Characterization of emetic *Bacillus weihenstephanensis*, a new cereulide-producing bacterium. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 5118-5121.
- van Asselt, E.D., Zwietering, M.H., 2006. A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens. *International Journal of Food Microbiology* 107, 73-82.
- Wehrle, E., Didier, A., Moravek, M., Dietrich, R., Martlbauer, E., 2010. Detection of *Bacillus cereus* with enteropathogenic potential by multiplex real-time PCR based on SYBR Green I. *Molecular and Cellular Probes* 24, 124-130.
- Wehrle, E., Moravek, M., Dietrich, R., Burk, C., Didier, A., Martlbauer, E., 2009. Comparison of multiplex PCR, enzyme immunoassay and cell culture methods for the detection of enterotoxinogenic *Bacillus cereus*. *Journal of Microbiological Methods* 78, 265-270.
- Yokoyama, K., Ito, M., Agata, N., Isobe, M., Shibayama, K., Horii, T., Ohta, M., 1999. Pathological effect of synthetic cereulide, an emetic toxin of *Bacillus cereus*, is reversible in mice. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 24, 115-120.

Über das BfR

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) ist eine wissenschaftlich unabhängige Einrichtung im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL). Es berät die Bundesregierung und die Bundesländer zu Fragen der Lebensmittel-, Chemikalien- und Produktsicherheit. Das BfR betreibt eigene Forschung zu Themen, die in engem Zusammenhang mit seinen Bewertungsaufgaben stehen.