

Freund oder Feind: Toxin-bildende *Bacillus* spp. als Pflanzenschutzmittel und Lebensmittelvergifter

Hendrik Frentzel

Inhalt

- 1. Taxonomie der *Bacillus cereus*-Gruppe**
- 2. Pathogenitätsfaktoren und deren Nachweis**
- 3. Einschätzung der Pathogenität**
- 4. Biotechnologische Anwendungen**

Spezies der *B. cereus*-Gruppe

bis 2015

<i>B. cereus</i> (s.s.)
<i>B. thuringiensis</i>
<i>B. anthracis</i>
<i>B. mycoides</i> / <i>B. weihenstephanensis</i>
<i>B. pseudomycoides</i>
<i>B. cytotoxicus</i>
<i>B. toyonensis</i>

Spezies der *B. cereus*-Gruppe

aktuell

<i>B. cereus</i> (s.s.)	<i>B. paranthracis</i>
<i>B. thuringiensis</i>	<i>B. pacificus</i>
<i>B. anthracis</i>	<i>B. albus</i>
<i>B. mycoides</i>	<i>B. mobilis</i>
<i>B. pseudomycoides</i>	<i>B. wiedmannii</i>
<i>B. cytotoxicus</i>	<i>B. tropicus</i>
<i>B. toyonensis</i>	<i>B. nitratireducens</i>
<i>B. paramycoides</i>	<i>B. proteolyticus</i>
<i>B. luti</i>	

Spezies der *B. cereus*-Gruppe

aktuell

<i>B. cereus</i> (s.s.) ^{2/3}	<i>B. paranthracis</i> ¹
<i>B. thuringiensis</i> ¹	<i>B. pacificus</i> ¹
<i>B. anthracis</i> ³	<i>B. albus</i> ¹
<i>B. mycooides</i> ²	<i>B. mobilis</i> ¹
<i>B. pseudomycooides</i> ¹	<i>B. wiedmannii</i> [*]
<i>B. cytotoxicus</i> ¹	<i>B. tropicus</i> ¹
<i>B. toyonensis</i> ¹	<i>B. nitratireducens</i> ¹
<i>B. paramycooides</i> ¹	<i>B. proteolyticus</i> ¹
<i>B. luti</i> [*]	

1,2,3 = Risikogruppe gemäß TRBA 466,
21.12.2020 (*nicht klassifiziert)

Spezies der *B. cereus*-Gruppe

aktuell

<i>B. cereus</i> (s.s.) ² B	<i>B. paranthracis</i> ¹
<i>B. thuringiensis</i> ¹	<i>B. pacificus</i> ¹
<i>B. anthracis</i> ³	<i>B. albus</i> ¹
<i>B. mycoides</i> ²	<i>B. mobilis</i> ¹
<i>B. pseudomycoides</i> ¹	<i>B. wiedmannii</i> *
<i>B. cytotoxicus</i> ¹	<i>B. tropicus</i> ¹
<i>B. toyonensis</i> ¹	<i>B. nitratireducens</i> ¹
<i>B. paramycoides</i> ¹	<i>B. proteolyticus</i> ¹
<i>B. luti</i> *	

1,2,3 = Risikogruppe gemäß TRBA 466,
21.12.2020 (*nicht klassifiziert)

„ungewöhnliche“ *B. cereus*, welche Anthrax-Toxine produzieren (plasmid-kodiert, pXO1); in Afrika (*B. cereus* biovar anthracis) und selten in Nord-Amerika (atypical *B. cereus*) nachgewiesen

Spezies der *B. cereus*-Gruppe

aktuell

<i>B. cereus</i> (s.s.) ^{2/3}	<i>B. paranthracis</i> ¹
<i>B. thuringiensis</i> ¹	<i>B. pacificus</i> ¹
<i>B. anthracis</i> ³	<i>B. albus</i> ¹
<i>B. mycoides</i> ²	<i>B. mobilis</i> ¹
<i>B. pseudomycooides</i> ¹	<i>B. wiedmannii</i> *
<i>B. cytotoxicus</i> ¹	<i>B. tropicus</i> ¹
<i>B. toyonensis</i> ¹	<i>B. nitratreducens</i> ¹
<i>B. paramycooides</i> ¹	<i>B. proteolyticus</i> ¹
<i>B. luti</i> *	

1,2,3 = Risikogruppe gemäß TRBA 466,
21.12.2020 (*nicht klassifiziert)

zukünftig?

<i>B. cereus</i> (s.s.)	„ <i>B. gaemokensis</i> “
<i>B. mosaicus</i>	„ <i>B. manliponensis</i> “
<i>B. mycoides</i>	“ <i>B. clarus</i> ”
<i>B. pseudomycooides</i>	Cluster 13
<i>B. cytotoxicus</i>	Cluster 14
<i>B. toyonensis</i>	Cluster 15
<i>B. paramycooides</i>	Cluster 16
<i>B. luti</i>	Cluster 17
„ <i>B. bingmayongensis</i> “	Cluster 18

+ weitere Differenzierung über Subspezies sowie Biovare:
Emeticus, Anthracis, Thuringiensis (Carroll et al., 2020)

Spezies der *B. cereus*-Gruppe

aktuell

<i>B. cereus</i> (s.s.) ^{2/3}	<i>B. paranthracis</i> ¹
<i>B. thuringiensis</i> ¹	<i>B. pacificus</i> ¹
<i>B. anthracis</i> ³	<i>B. albus</i> ¹
<i>B. mycoides</i> ²	<i>B. mobilis</i> ¹
<i>B. pseudomycooides</i> ¹	<i>B. wiedmannii</i> [*]
<i>B. cytotoxicus</i> ¹	<i>B. tropicus</i> ¹
<i>B. toyonensis</i> ¹	<i>B. nitratreducens</i> ¹
<i>B. paramycooides</i> ¹	<i>B. proteolyticus</i> ¹
<i>B. luti</i> [*]	

1,2,3 = Risikogruppe gemäß TRBA 466,
21.12.2020 (*nicht klassifiziert)

zukünftig?

<i>B. cereus</i> (s.s.)	„ <i>B. gaemokensis</i> “
<i>B. mosaicus</i>	„ <i>B. manliponensis</i> “
<i>B. mycoides</i>	“ <i>B. clarus</i> ”
<i>B. pseudomycooides</i>	Cluster 13
<i>B. cytotoxicus</i>	Cluster 14
<i>B. toyonensis</i>	Cluster 15
<i>B. paramycooides</i>	Cluster 16
<i>B. luti</i>	Cluster 17
„ <i>B. bingmayongensis</i> “	Cluster 18

+ weitere Differenzierung über Subspezies sowie Biovare:
Emeticus, Anthracis, Thuringiensis (Carroll et al., 2020)

DIN EN ISO 7932, 21871 und 10198 → präsumtive *B. cereus*

Eigenschaften der *B. cereus*-Gruppe*

- Grampositive, sporenbildende, stäbchenförmige Bakterien
- fakultativ anaerob
- Wachstumsgrenzen: T ~ 4 °C bis 55 °C; pH ~ 4,6 bis 9; a_w ~ 0,93
- optimale Wachstumstemperatur: 30 - 43 °C
- bildet Biofilme
- Sporen sind resistent gegenüber Hitze, Trockenheit und vielen Desinfektionsmitteln
- ubiquitär in der Umwelt
- in vielen Lebensmitteln nachweisbar
- Erreger von Magen-Darm-Erkrankungen (Hohe Dunkelziffer)
- häufig zubereitete Speisen

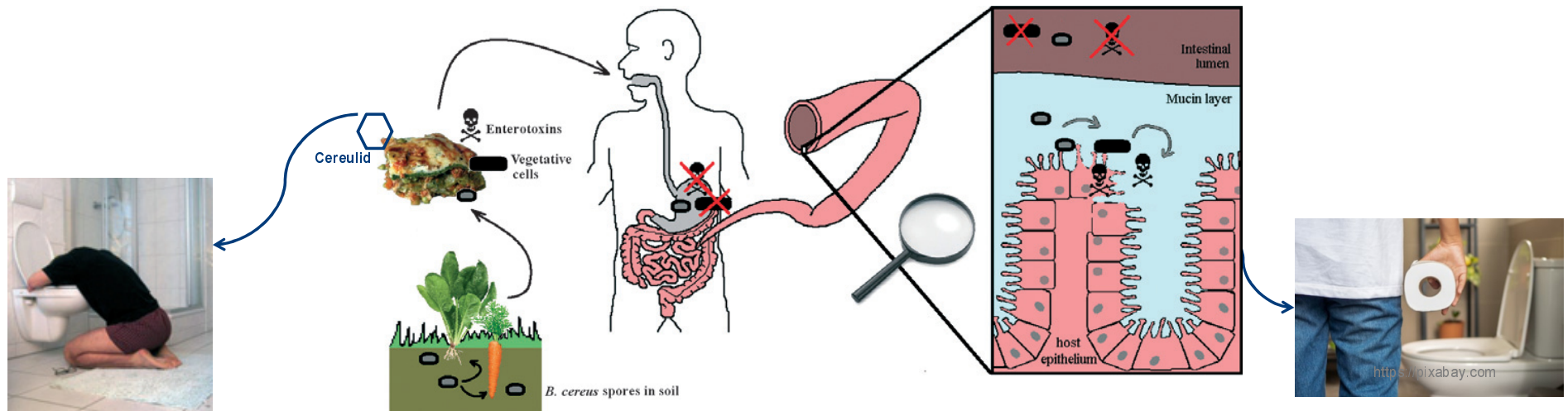


*ohne *B. anthracis*

Lebensmittelbedingte Erkrankungen durch Spezies der *B. cereus*-Gruppe

Emetische Erkrankung

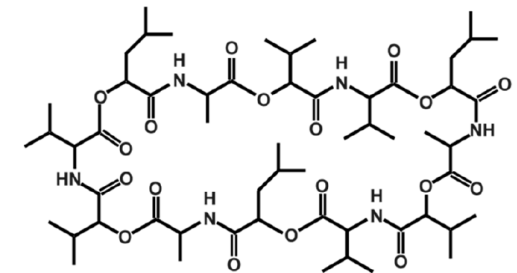
Durchfall-Erkrankung



Adaptiert nach Ceuppens et al., 2013

Emetisches Toxin - Cereulid

- stabil gegenüber pH 2 – 11, Proteasen und Hitze (121 °C, 2 h)
- < 5% aller *B. cereus* (s.l.) Stämme (abhängig vom Lebensmittel bis 17 %)
- *ces*-Gencluster für Cereulid-Synthetase (Plasmid)
- emetische Stämme bei *B. paranthracis* und selten *B. mycoides*
- Toxin-Produktion im Lebensmittel; ~8 - 45 °C (Optimum 20 – 40 °C)
- ab ca. 10⁵ KbE/g
- häufig Reis- und Nudelgerichte
- Übelkeit und Erbrechen (schwere Verläufe möglich)
- Inkubationszeit: 0,5 - 6 h; Krankheitsdauer 6 - 24 h
- Cereulid-Konzentrationen im Zusammenhang mit Erkrankungen meist ~1 µg/g_{Lebensmittel} (niedrigster beschriebener Wert = 3 ng/g; Biesta-Peters et al., 2016)
- High- und Low-Producer sowie verschiedene Isoformen



Cereulid-Struktur (aus Dietrich et al., 2021)

Nachweis Cereulid

- PCR-Nachweis einer Sequenz des *ces*-Genclusters (informativer Anhang **DIN EN ISO 7932:2004 + A1:2020**)
- Quantitative Bestimmung von emetischem Toxin (Cereulid) mittels LC-MS/MS (**DIN EN ISO 18465:2017**)
- Qualitativer Nachweis von Cereulid (und Cereulid-bildenden Isolaten) mittels MALDI-TOF-MS (Ulrich et al., 2019; Ducrest et al., 2019)

Enterotoxine

- Nicht-hämolytisches Enterotoxin (Nhe; A, B und C-Komponente)
Gene: *nheA*, *B* und *C*
- Hämolsin BL (Hbl; L2, L1 und B-Komponente)
Gene: *hblC*, *D* und *A*
- Zytotoxin K (CytK)
Gene: *cytK-2* oder *cytK-1*
- Toxin-Produktion im Darm
(ab 10^5 KbE/g_{Lebensmittel}; selten ab 10^3 KbE/g)
- verursachen Durchfall durch Porenbildung in Zellmembranen
- Inkubationszeit: 8 - 16 h, Krankheitsdauer: 12 - 48 h
- Inaktivierung durch Säure (pH 3,1; 20 min), Proteasen und Hitze (55 °C, 20 min)
- in unterschiedlicher Kombination in allen Spezies der *B. cereus*-Gruppe (*cytK-1* nur *B. cytotoxicus*)
- Zytotoxizität von CytK-2 beträgt 20% von CytK-1
- High- und Low-Producer

Nachweis Enterotoxine

- **PCR-Nachweis der Toxingene**
 - *cytK-1* und *cytK-2*: z.B. informativer Anhang DIN EN ISO 7932:2004 + A1:2020
 - *nheABC*, *hblCDA*: z.B. Wehrle et al., 2009 und 2010
- **Toxinnachweis**
 - Qualitativ: z.B. Duopath® (NheB, HblC), BCET-RPLA (HblC)
 - Quantitativ: z.B. ELISA, Zytotoxizitätsassay (indirekt)

Einschätzung der Pathogenität

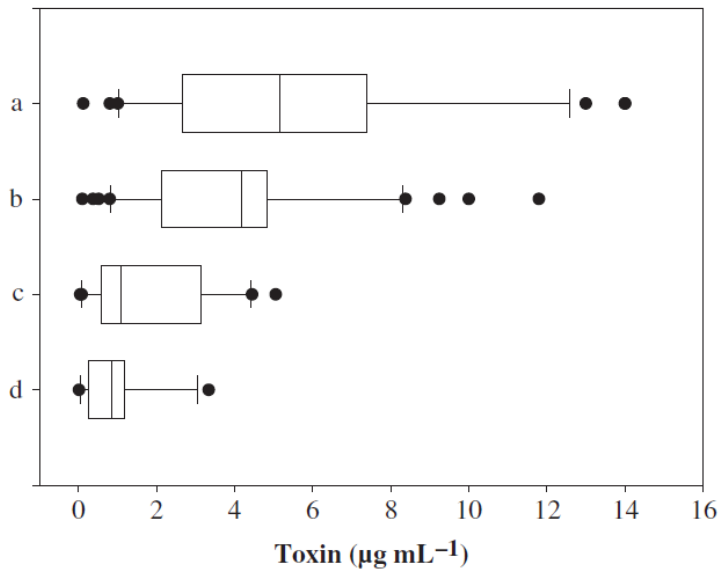
1. Gen-Nachweis

- *ces* und *cytK-1* = Risikofaktoren
- *nheABC* tragen alle Stämme der *B. cereus*-Gruppe (sehr seltene Ausnahmen)
- *nheABC* und *hblCDA*-Operon liegen (wenn vorhanden) komplett vor (sehr seltene Ausnahmen)
- Rolle von CytK-2 noch ungeklärt
- Zytotoxizität wird von Toxinmenge bestimmt, nicht vom Toxingprofil oder Sequenzvarianten

Einschätzung der Pathogenität

2. Enterotoxin-Nachweis

- **Qualitativ:** Toxin-Produktion unter Laborbedingungen möglich
- **Quantitativ:** Abstufung nach produzierter Menge unter Laborbedingungen

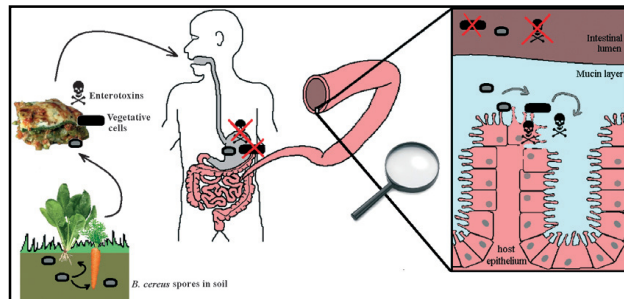


Moravek et al., 2006

- (a) NheB von Ausbruchstämmen
- (b) NheB von LM/Umwelt-Stämmen
- (c) Hbl(L2) von Ausbruchstämmen
- (d) Hbl(L2) von LM/Umwelt-Stämmen

Einschätzung der Pathogenität

in vivo



Adaptiert nach Ceuppens et al., 2013



- Überleben der Magenpassage
- Adhäsion an Darmzellen
- Auskeimen der Sporen
- Beweglichkeit der Zellen
- Produktion von Enterotoxinen
(beeinflusst von Stamm, Lebensmittel und Konsument)



in vitro

- T = 37 °C
- verringerter O₂-Gehalt
- Nährstofflimitation
- CaCo-2-behandeltes Medium
- CaCo-2-Zellen für Zytotoxizitätsassay



- NheB-Produktion
- Sphingomyelinase-Produktion
- Protease-Aktivität

Jessberger et al., 2014 - 2019



Einschätzung der Pathogenität

3. panC-Typing

Group I: Mesophilic (*B. pseudomycooides*)
not or weakly cytotoxic

Group II: Mesophilic and psychrotolerant (*B. thuringiensis* and *B. cereus*) **can contain cytotoxic strains**

Group III: Mesophilic (*B. thuringiensis*, *B. cereus* (emetic strains included) or *B. anthracis*)
generally cytotoxic, many of them are highly cytotoxic

Group IV: Mesophilic (*B. thuringiensis* or *B. cereus*) **generally cytotoxic, some can be highly cytotoxic**

Group V: Intermediate (*B. thuringiensis* or *B. cereus*)
can contain cytotoxic strains

Group VI: Psychrotolerant (*B. weihenstephanensis*, *B. mycooides* or *B. thuringiensis*) **not or weakly cytotoxic**

Group VII: Thermotolerant (*B. cytotoxicus*)
highly cytotoxic

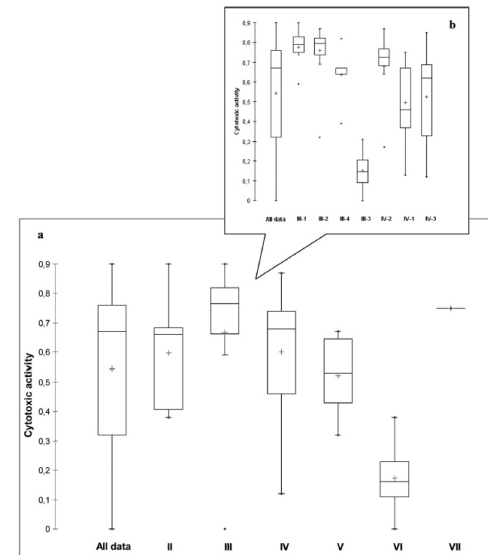


FIG. 1. Cytotoxic activity of *B. cereus* culture filtrates against Caco2 cells. (a) Data distribution of the global population (*B. cereus* group) is represented by the first box plot (all data), whereas that of each subpopulation (phylogenetic groups II to VII) is shown by the next box plots. In the boxplot representation, 50% of data values are within the central box and 25% are more (upper whiskers) and 25% are less (lower whiskers) than the values within the central box. Horizontal line within the central box, median value; plus sign within the central box, mean value; upper and lower boundaries of whiskers, maximum and minimum values; * extreme value (outlier). (b) Detailed results for subgroups in phylogenetic groups III and IV.

Guinebretiere et al., 2010

<https://www.tools.symprevius.org/Bcereus/english.php>

Kritische *B. cereus* (s.l.)-Gehalte in Lebensmitteln

VO (EG) Nr. 2073/2005 i.V.m. 1441/2007 → Prozesshygienekriterium

Getrocknete Säuglingsanfangsnahrung und getrocknete diätetische Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke, die für Säuglinge unter 6 Monaten bestimmt

sind (Ende des Herstellungsprozesses): **m = 50 KbE/g, M = 500 KbE/g, c = 1, n = 5.**

n = Anzahl der Probeneinheiten der Stichprobe; c = Anzahl der Probeneinheiten, deren Werte über m oder zwischen m und M liegen.

DGHM Warnwerte

Je nach Lebensmittel Warnwerte von **10³ KbE/g** oder **10⁴ KbE/g** für mehr als 20 Lebensmittelkategorien

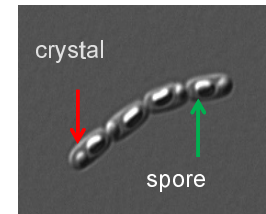
EFSA BIOHAZ Panel, 2016 (Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs)

“Most cases of food-borne outbreaks caused by the *B. cereus* group have been associated with concentrations above **10⁵ CFU/g**. However, cases of both emetic and diarrhoeal illness have been reported involving between **10³ and 10⁵ CFU/g** of *B. cereus*.”

The levels of the *B. cereus* group posing a **health risk** to consumers are **highly strain-dependent** due to the **highly diverse pathogenic potential**. The possibility of multiplication in foods after **storage and/or handling** must be taken into account when defining safe levels for human consumption, as well as the **composition of the food**, which can affect toxin production. All these factors can be responsible for the large variation in the estimated infectious dose, which **makes a valid dose–response relationship hard to establish.**“

Biotechnologische Nutzung – 1. Biopestizide auf Basis von *B. thuringiensis*

- Typstamm aus kranker Mehlmottenraupe in einer Mühle in Thüringen isoliert und von Ernst Berliner 1915 als Spezies *B. thuringiensis* beschrieben
- Bilden parasporale Kristalle, die für Insekten toxisch sind → plasmid-kodierte Proteine: Cry > 700, Cyt > 38 (zusätzlich Vip und Sip)
- Wirken im Darm von Larven bestimmter Insektenarten
- *B.t.* subsp. *kurstaki* (z.B. ABTS-351, EG-2348); *B.t.* subsp. *aizawai* (z.B. ABTS-1857, GC-91): gegen Schmetterlingslarven (Lepidoptera)
- *B.t.* subsp. *israelensis* (z.B. AM65-52): gegen Larven von Zweiflüglern (z.B. Mücken)
- *B.t.* subsp. *tenebrionis*: gegen Käferlarven (Coleoptera)



Biotechnologische Nutzung – 1. Biopestizide auf Basis von *B. thuringiensis*

- weltweit mehr als 400 kommerzielle Biopestizide
- enthalten Kristalle und Sporen
- Forstwirtschaft, Mückenbekämpfung und Landwirtschaft
- *Bt* natürlicherweise in Umwelt und in Lebensmitteln
- Rückstände von Biopestiziden in Lebensmitteln (z. B. Gurken, Tomaten, Paprika, Salat, Kohl
→ meist $\leq 10^3$, gelegentlich 10^4 und selten 10^5 KbE/g)
- EFSA-BIOHAZ-Panel (2016), „Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs”



Biotechnologische Nutzung – 1. Biopestizide auf Basis von *B. thuringiensis*

<u>Warnende</u>	<u>Befürwortende</u>
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bt</i> = <i>Bc</i> ohne Plasmid 	<ul style="list-style-type: none"> • unterschiedliche ökologische Nischen
<ul style="list-style-type: none"> • Enterotoxingene wie <i>Bc</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>ces</i> negativ; <i>Bt</i> in Tierversuchen nicht pathogen
<ul style="list-style-type: none"> • Zytotoxizität ähnlich zu <i>Bc</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • durch Cry-Plasmide <i>Bt</i> weniger konkurrenzfähig außerhalb von Insekten
<ul style="list-style-type: none"> • Beitrag von <i>Bt</i> zu Krankheitsgeschehen unbekannt 	<ul style="list-style-type: none"> • MLST-Typen kommerzieller <i>Bt</i>-Stämme nicht bei klinischen Isolaten; keine epidemiologischen Auffälligkeiten
<ul style="list-style-type: none"> • Hinweise auf Ausbrüche durch <i>Bt</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Zusammenhänge fraglich
<ul style="list-style-type: none"> • kritische <i>Bc</i>-Gehalte gelten auch für <i>Bt</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • „Übervorsicht“ hemmt Pflanzenschutz

Biotechnologische Nutzung – 1. Biopestizide auf Basis von *B. thuringiensis*

Aktuelle Studien

<i>Carroll et al., 2020</i>	<i>Bt</i> und <i>Bc</i> = eine „Genomo-Spezies“; <i>cry</i> -Gene bei verschiedenen Spezies
<i>Heini et al., 2020</i>	Vermehrung von Biopestizid-Stämmen in Ratatouille
<i>Johler et al., 2018</i>	7 Biopestizid-Stämme: <ul style="list-style-type: none">• <i>panC</i>-Gruppe IV• <i>nhe</i>, <i>hbl</i>, <i>cytK-2</i> (ein Stamm <i>cytK-2</i> negativ)• Zytotoxizität 6 x mittel, 1 x niedrig (Vero)• niedrige SMase-Produktion
<i>Schwenk et al., 2020</i>	7 Biopestizid-Stämme: <ul style="list-style-type: none">• Zell-Beweglichkeit: niedrig bis hoch• Sporenkeimung: möglich• <i>NheB</i>-Produktion: 5 x niedrig, 2 x mittel• Zytotoxizität: niedrig bis hoch (CaCo-2)
<i>Bonis et al., 2021</i>	Biopestizid-Stämme in Verbindung mit Ausbrüchen in Frankreich vermutet; Aber: Widersprüche bei Keimgehalten, Symptomen und Inkubationszeiten

Biotechnologische Nutzung – 2. Wachstumsförderer für Pflanzen

Endophyten können das Wachstum von Pflanzen fördern, indem sie Nährstoffe bereitstellen, Pflanzenhormone produzieren/beeinflussen oder Pflanzenpathogene inhibieren.

Beispiele:

Bacillus toyonensis → Blaubeerpflanzen

Bacillus thuringiensis → Sojabohnen

Bacillus thuringiensis und *Bacillus mycoides* → Tomaten



Biotechnologische Nutzung – 3. Probiotika

Probiotika

- lebende Mikroorganismen zur Verbesserung des Darmgleichgewichts
- für Tiergebrauch und menschlichen Gebrauch
- in Tierfutter als Alternative zu Antibiotika verwendet, vor allem als Wachstumsförderer



Biotechnologische Nutzung – 3. Probiotika: Beispiel *B. toyonensis*

- 1966 in Japan aus Erdboden isoliert (*Bacillus cereus* var. *toyoi*)
- 1975 in Japan Zulassung als Probiotikum (Toyocerin®) für Rinder-, Schweine-, Geflügel- und Kaninchenzucht
- 1994 Zulassung in der EU
- 2012: Scientific Opinion on the safety and efficacy of Toyocerin® durch EFSA FEEDAP → genes coding for **resistance to tetracycline and chloramphenicol**; complete *nhe* and *hbl* operons
- 2013: Aussetzung der Zulassung in der EU
- Spezies-Neubeschreibung *B. toyonensis*
- 2014: Bestätigung der Einschätzung von 2012 durch FEEDAP
- weitere *B. cereus* (s.l.)-Probiotika, die nicht mehr zugelassen sind: Paciflor™ (Stamm CIP 5832), Esporafeed Plus® (Stamm CECT 953)
- aktuell keine Probiotika auf Basis von Spezies der *B. cereus*-Gruppe in der EU

Zusammenfassung – Risiken und Chancen

- *B. cereus*-Gruppe umfasst pathogene und biotechnologisch nutzbare Stämme
- alle Stämme der *B. cereus*-Gruppe sind potentielle Enterotoxinbildner
- Pathogenes Potential stark Stamm-abhängig
- Einschätzung der Pathogenität komplex
- Unterscheidung von *B. cereus* und *B. thuringiensis* wichtig
- Chance zur Reduktion von Antibiotikaeinsatz (Probiotika)
- Alternative zu chemischen Pflanzenschutzmitteln (Insektizide)

Danke für Ihre Aufmerksamkeit

Dr. Hendrik Frentzel

Fachgruppe Bakterielle Toxine, Gemeinschaftsverpflegung
Abteilung Biologische Sicherheit

Bundesinstitut für Risikobewertung

Max-Dohrn-Straße 8-10 • 10589 Berlin

Telefon 030 - 184 12 - 0 • Fax 030 - 184 12 – 99 0 99

bfr@bfr.bund.de • www.bfr.bund.de

Referenzen

- 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*(2), 230-238.
- Bonis, M., Felten, A., Paireud, S., Dijoux, A., Maladen, V., Mallet, L., Radomski, N., Duboisset, A., Arar, C., Sarda, X., Vial, G., Mistou, M.-Y., Firmesse, O., Hennekinne, J.-A., & Herbin, S. (2021). Comparative phenotypic, genotypic and genomic analyses of *Bacillus thuringiensis* associated with foodborne outbreaks in France. *PLoS One*, *16*(2).
- Bravo, A., Gill, S. S., & Soberon, M. (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicol*, *49*(4), 423-435.
- 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*(1), 69-76.
- 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*(1), 15.
- Carroll, L. M., & Wiedmann, M. (2020). Cereulide Synthetase Acquisition and Loss Events within the Evolutionary History of Group III *Bacillus cereus* Sensu Lato Facilitate the Transition between Emetic and Diarrheal Foodborne Pathogens. *Mbio*, *11*(4).
- 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*(3), 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*(3), 188-213.
- Contreras-Pérez, M., Hernández-Salmerón, J., Rojas-Solis, D., Rocha-Granados, C., Orozco-Mosqueda, M. d. C., Parra-Cota, F. I., de los Santos-Villalobos, S., & Santoyo, G. (2019). Draft genome analysis of the endophyte, *Bacillus toyonensis* COPE52, a blueberry (*Vaccinium* spp. var. *Biloxi*) growth-promoting bacterium. *3 Biotech*, *9*(10), 370.
- Dietrich, R., Jessberger, N., Ehling-Schulz, M., Märklbauer, E., & Granum, P. E. (2021). The Food Poisoning Toxins of *Bacillus cereus*. *Toxins*, *13*(2), 98.
- 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*(7), 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*(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*(7), 17.
- 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.
- Frederiksen, K., Rosenquist, H., Jorgensen, K., & Wilcks, A. (2006). Occurrence of natural *Bacillus thuringiensis* contaminants and residues of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides on fresh fruits and vegetables. *Applied and Environmental Microbiology*, *72*(5), 3435-3440.
- Frentzel, H., Juraschek, K., Pauly, N., Kelner-Burgos, Y., & Wichmann-Schauer, H. (2020). Indications of biopesticidal *Bacillus thuringiensis* strains in bell pepper and tomato. *International Journal of Food Microbiology*, *321*.
- 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*(4), 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*(9), 3388-3391.
- Heini, N., Stephan, R., Ehling-Schulz, M., & Jöhler, S. (2018). Characterization of *Bacillus cereus* group isolates from powdered food products. *International Journal of Food Microbiology*, *283*, 59-64.
- Heini, N., Stephan, R., Filter, M., Plaza-Rodriguez, C., Frentzel, H., Ehling-Schulz, M., & Jöhler, S. (2020). Temperature-Dependent Growth Characteristics of *Bacillus thuringiensis* in a Ratatouille Food Model. *Journal of Food Protection*, *83*(5), 816-820.

Referenzen

- Hendriksen, N. B., & Hansen, B. M. (2006). Detection of *Bacillus thuringiensis* kurstaki HD1 on cabbage for human consumption. *Fems Microbiology Letters*, 257(1), 106-111.
- Hollensteiner, J., Wemheuer, F., Harting, R., Kolarzyk, A. M., Diaz Valerio, S. M., Poehlein, A., Brzuszkiewicz, E. B., Nesemann, K., Braus-Stromeyer, S. A., Braus, G. H., Daniel, R., & Liesegang, H. (2017). *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus weihenstephanensis* Inhibit the Growth of Phytopathogenic *Verticillium* Species. *Frontiers in Microbiology*, 7(2171).
- Hong, C. E., & Park, J. M. (2016). Endophytic bacteria as biocontrol agents against plant pathogens: current state-of-the-art. *Plant Biotechnology Reports*, 10(6), 353-357.
- Hong, H. A., Duc le, H., & Cutting, S. M. (2005). The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(4), 813-835.
- 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(2), 103-105.
- Jeong, H., Jo, S. H., Hong, C. E., & Park, J. M. (2016). Genome Sequence of the Endophytic Bacterium *Bacillus thuringiensis* Strain KB1, a Potential Biocontrol Agent against Phytopathogens. *Genome Announc*, 4(2).
- Jessberger, N., Dietrich, R., Bock, S., Didier, A., & Märtlbauer, E. (2014). *Bacillus cereus* enterotoxins act as major virulence factors and exhibit distinct cytotoxicity to different human cell lines. *Toxicon*, 77, 49-57.
- Jessberger, N., Dietrich, R., Granum, P. E., & Märtlbauer, E. (2020). The *Bacillus cereus* Food Infection as Multifactorial Process. *Toxins*, 12(11).
- Jessberger, N., Kranzler, M., Da Rioli, C., Schwenk, V., Buchacher, T., Dietrich, R., Ehling-Schulz, M., & Märtlbauer, E. (2019). Assessing the toxic potential of enteropathogenic *Bacillus cereus*. *Food Microbiology*, 84, 12.
- Jessberger, N., Krey, V. M., Rademacher, C., Böhm, M. E., Mohr, A. K., Ehling-Schulz, M., Scherer, S., & Märtlbauer, 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., & Märtlbauer, 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(6), 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.
- 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(8), 2499-2508.
- 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.
- Lopes, R., Cerdeira, L., Tavares, G. S., Ruiz, J. C., Blom, J., Horacio, E. C. A., Mantovani, H. C., & de Queiroz, M. V. (2017). Genome analysis reveals insights of the endophytic *Bacillus toyonensis* BAC3151 as a potentially novel agent for biocontrol of plant pathogens. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 33(10), 15.
- 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(23), 7451-7453.
- Messelhäußer, U., & Ehling-Schulz, M. (2014). *Bacillus cereus* - Vorkommen, Nachweis und Präventionsstrategien (Vol. 2). Hamburg: B. Behr's Verlag.
- Messelhäußer, U., & Ehling-Schulz, M. (2018). *Bacillus cereus*—a Multifaceted Opportunistic Pathogen. *Current Clinical Microbiology Reports*, 5(2), 120-125.
- Mishra, P. K., Mishra, S., Selvakumar, G., Kundu, S., & Shankar Gupta, H. (2009). Enhanced soybean (*Glycine max* L.) plant growth and nodulation by *Bradyrhizobium japonicum*-SB1 in presence of *Bacillus thuringiensis*-KR1. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 59(2), 189-196.

Referenzen

- 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*(2), 293-298.
- 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*(7), 2184-2187.
- Raymond, B., & Federici, B. A. (2017). In defence of *Bacillus thuringiensis*, the safest and most successful microbial insecticide available to humanity—a response to EFSA. *FEMS Microbiology Ecology*, *93*(7), 8.
- Schwenk, V., Riegg, J., Lacroix, M., Märtlbauer, E., & Jessberger, N. (2020). Enteropathogenic Potential of *Bacillus thuringiensis* Isolates from Soil, Animals, Food and Biopesticides. *Foods*, *9*(10).
- Stephan, D., Scholz-Döbelin, H., Reintges, T., Pelz, J., Jehle, J. A., & Keßler, J. (2014). Investigations on residues of Xentari® (*Bacillus thuringiensis* sub spec. aizawai) on greenhouse tomatoes. *Journal für Kulturpflanzen*, *66*(9), 312-318.
- Wang, J., Ding, T., & Oh, D. H. (2014). Effect of temperatures on the growth, toxin production, and heat resistance of *Bacillus cereus* in cooked rice. *Foodborne Pathogens and Disease*, *11*(2), 133-137.
- Wehrle, E., Didier, A., Moravek, M., Dietrich, R., & Märtlbauer, E. (2010). Detection of *Bacillus cereus* with enteropathogenic potential by multiplex real-time PCR based on SYBR Green I. *Molecular and Cellular Probes*, *24*(3), 124-130.
- Wehrle, E., Moravek, M., Dietrich, R., Burk, C., Didier, A., & Märtlbauer, E. (2009). Comparison of multiplex PCR, enzyme immunoassay and cell culture methods for the detection of enterotoxinogenic *Bacillus cereus*. *Journal of Microbiological Methods*, *78*(3), 265-270.