

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 5 mai 2021

## **AVIS**

### **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail**

#### **relatif à la mise à jour des fiches de description de danger biologique transmissible par les aliments**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.  
L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.  
Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.  
Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).  
Ses avis sont publiés sur son site internet.*

---

L'Anses s'est autosaisie le 30 mars 2016 pour effectuer la mise à jour de la fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments relative à *Bacillus cereus* (saisine n°2016-SA-0075).

#### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

Afin d'aider les professionnels de la filière agroalimentaire à maîtriser la sécurité sanitaire et à rédiger des guides de bonnes pratiques d'hygiène, l'Anses met à leur disposition des fiches de description des dangers biologiques transmissibles par les aliments.

Ces travaux concernent la mise à jour d'une de ces fiches.

#### **2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE**

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences du Comité d'experts spécialisé « Évaluation des risques biologiques dans les aliments » (CES BIORISK). Sur la base d'une fiche de danger initiale rédigée par des rapporteurs, les travaux concernant la mise à jour de la fiche relative à *Bacillus cereus* (saisine n°2016-SA-0075) ont été validés en séance le 18 octobre 2016, et suivis d'une mise à jour en mars 2021 concernant les données épidémiologiques.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques via le site internet de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

### 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES BIORISK

Suite à l'expertise collective, la fiche de danger biologique transmissible par les aliments relative à *Bacillus cereus* a été mise à jour et est jointe en annexe.

### 4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse la fiche de danger biologique transmissible par les aliments mise à jour par le CES BIORISK.

Dr Roger Genet

### MOTS-CLÉS

Danger biologique ; aliments ; *Bacillus cereus*

Biological hazards ; food ; *Bacillus cereus*

### ANNEXE 1

Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : *Bacillus cereus*

Saisine n°2016-SA-0075, mise à jour : mars 2021

# Bacillus cereus

Famille des *Bacillaceae*

Genre *Bacillus*

Bactérie

## Caractéristiques et sources de *Bacillus cereus*

### Principales caractéristiques microbiologiques

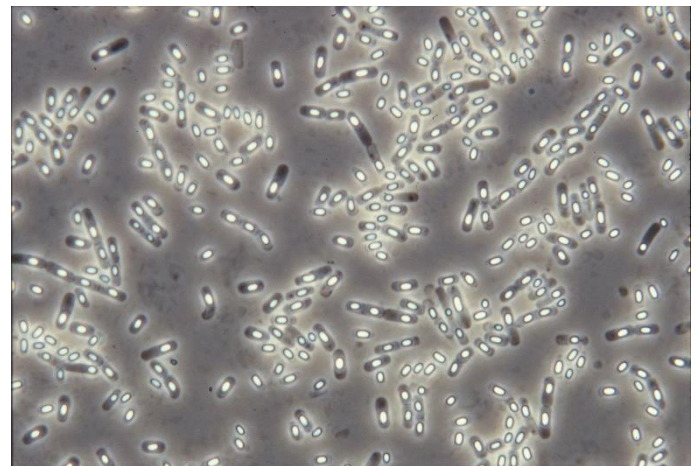
*Bacillus cereus* est responsable de toxi-infections caractérisées par des symptômes diarrhéiques, ainsi que d'intoxinations<sup>1</sup> se traduisant par des symptômes émétiques. Il s'agit d'un bacille à coloration de Gram positive, sporulant et aéro-anaérobie facultatif.

Il fait partie d'un groupe de bactéries qui ont été longtemps considérées comme des espèces différentes mais qui, d'après des expérimentations d'hybridation ADN/ADN, appartiennent à la même espèce. Pour simplifier la description de ce groupe, les noms des anciennes espèces seront ici conservés. Elles sont souvent regroupées dans la littérature sous le terme « *Bacillus cereus sensu lato* » au sein duquel on distingue :

- Les pathogènes pour l'Homme :
  - *Bacillus cereus sensu stricto* ;
  - *Bacillus thuringiensis*, se différenciant de *B. cereus sensu stricto* par la production d'un cristal parasporal toxique pour les insectes et étant utilisé comme bio-insecticide ;
  - *Bacillus anthracis*, sensible à la pénicilline, agent de la maladie du charbon ;
  - *Bacillus cytotoxicus*, thermotolérant et hautement toxique ;
- Les non-pathogènes pour l'Homme :
  - *Bacillus weihenstephanensis*, correspondant à certaines souches de *B. cereus* psychrotrophes ;
  - *Bacillus mycoides* et *Bacillus pseudomycoides*, caractérisés par la formation de colonies à bords filamenteux sur milieux gélosés.

Lors de l'analyse des aliments ou lors de l'investigation de toxi-infections alimentaires collectives, les tests permettant de distinguer *B. thuringiensis*, *B. cereus sensu stricto*, *B. cytotoxicus* et *B. weihenstephanensis* ne sont généralement pas effectués. Les informations dans ce domaine incluent donc de façon indifférenciée ces quatre bactéries.

Afin de mieux différencier les souches de ce groupe, *B. cereus sensu lato* a été subdivisé en sept groupes génétiques, les anciennes espèces se répartissant chacune dans un ou plusieurs groupes. Les sept groupes génétiques possèdent des capacités d'adaptation thermique différentes, des plus psychrotrophes<sup>2</sup> aux plus thermotolérants, et différents



*Bacillus cereus* © INRAe

degrés d'association avec des maladies transmises par les aliments. Le groupe VI est le plus psychrotrophe et n'a encore jamais été associé à des toxi-infections alimentaires. Les groupes II, IV, V sont psychrotrophes à mésophiles et les groupes III et VII sont mésophiles à thermotolérants.

Actuellement, trois entérotoxines majeures (Hbl, Nhe et CytK) ont été décrites chez *B. cereus sensu lato*. Les entérotoxines Hbl (hémolysine BL) et Nhe (entérotoxine non hémolytique) sont chacune composées de trois protéines. La cytotoxine K (CytK) existe sous deux formes, CytK-1 et CytK-2, la première étant plus cytotoxique que la seconde. Le gène codant *Nhe* est présent dans quasiment toutes les souches mais n'est pas toujours fonctionnel. Les souches impliquées dans les toxi-infections alimentaires produisent en général plus d'entérotoxines que les autres. En outre, certaines souches de *B. cereus* sont capables de produire une toxine émétique, appelée céréulide (un peptide cyclique). Elles représentent une minorité, généralement 1 % ou moins des isolats issus des aliments ou de l'environnement, mais représentent 15 % des souches isolées d'aliments ayant causé des troubles gastro-intestinaux. Ces souches appartiennent au groupe phylogénétique III ([Tableau 1](#)).

Une atmosphère modifiée contenant plus de 40 à 50% de CO<sub>2</sub> peut inhiber la croissance de *B. cereus*. L'anaérobiose inhibe la production de céréulide.

Il existe peu de données concernant la production des toxines diarrhéiques dans les conditions environnementales présentées dans le [Tableau 2](#). Cependant, ces toxines étant produites dans l'intestin après ingestion de l'aliment contaminé, l'essentiel est d'éliminer les spores de la bactérie ou ses cellules végétatives.

**Tableau 1** : Groupes phylogénétiques de *B. cereus sensu lato*

Groupes phylogénétiques	Gamme de températures de croissance (°C)	Dénomination	Thermo-résistance des spores	Association avec des foyers de toxi-infections alimentaires
I	10-43	<i>B. pseudomycoides</i>	Non renseigné	-
II	7-40	<i>B. thuringiensis</i> II ou <i>B. cereus</i> II	++	+
III	15-45	<i>B. thuringiensis</i> III, <i>B. cereus</i> III ou <i>B. anthracis</i>	+++	+++
IV	10-45	<i>B. thuringiensis</i> IV ou <i>B. cereus</i> IV	++	++
V	10-40	<i>B. thuringiensis</i> V ou <i>B. cereus</i> V	++	+
VI	5-37	<i>B. weihenstephanensis</i> , <i>B. mycoides</i> ou <i>B. thuringiensis</i> VI	+	-
VII	20-50	<i>B. cytotoxicus</i>	+++	+++

<sup>1</sup> Maladie d'origine alimentaire résultant de l'ingestion d'entérotoxines préformées dans l'aliment.

<sup>2</sup> Les bactéries psychrotrophes peuvent se multiplier à des températures observées dans les réfrigérateurs.

**Tableau 2** : Caractéristiques de croissance et de toxinogénèse de *B. cereus* (données variables en fonction des groupes phylogénétiques)

Cellule végétative			
Croissance	Min.	Opt.	Max.
Température (°C)	7* / 10	30-37	55
pH	4,6	6-7	9,3
a <sub>w</sub>	0,92	0,99-1	/
NaCl (%)	0,5	/	10
Toxine émétique (céréulide)			
Production	Min.	Opt.	Max.
Température (°C)	10	20-25	40
NaCl (%)	/	/	5**
Stabilité	Min.	Opt.	Max.
pH	2	/	9

\* pour la majorité des souches émétiques, la température minimale est de 10°C

\*\* faible production

## Sources du danger

*Bacillus cereus* est retrouvé sous forme de spores dans le sol, à des concentrations de l'ordre de 10<sup>4</sup> à 10<sup>5</sup> spores par gramme de sol. Les spores seraient dormantes dans le sol et germeraient plutôt dans la faune du sol, par exemple dans le tube digestif d'arthropodes dont insectes, et de lombrics.

*B. cereus* pourrait être un commensal du tube digestif d'insectes et s'y développerait lorsque son hôte est affaibli. Des spores de *B. cereus* sont aussi présentes dans le tube digestif d'animaux à sang chaud. *Bacillus cereus sensu stricto* peut être responsable, bien que rarement, de mammites chez les bovins et d'avortements chez les bovins et ovins.

## Voies de transmission

La principale voie de transmission de cette bactérie à l'Homme est alimentaire. En effet, de par son abondance dans le sol et la résistance de ses spores, *B. cereus* peut contaminer pratiquement toutes les matières premières et particulièrement les végétaux. On la retrouve par conséquent dans des aliments très diversifiés.

Des infections non gastro-intestinales à *B. cereus*, différentes de celles transmises par les aliments, ont été décrites. Elles se produisent lors de contamination de plaie ou de cathéter (souvent d'origine nosocomiale) ou encore lors d'injections pratiquées par les toxicomanes.

**Tableau 3** : Caractéristiques des maladies à symptômes émétiques et à symptômes diarrhéiques

Durée moyenne d'incubation	Principaux symptômes	Durée des symptômes	Durée de la période contagieuse	Complications
<b>Maladies à symptômes émétiques</b>				
30 min à 5 h	- Nausées - Vomissements - Malaises - Diarrhées et douleurs abdominales occasionnelles	Moins de 24 h	Non transmissible (toxines)	Activité toxique sur plusieurs types de cellules humaines et peut provoquer une dégénérescence, toutefois réversible, du foie.
<b>Maladies à symptômes diarrhéiques</b>				
6 à 24 h	- Diarrhées aqueuses - Douleurs abdominales - Nausées occasionnelles	24 h	Non transmissible (toxines)	Les complications des maladies à symptômes diarrhéiques sont exceptionnelles

<sup>3</sup> Les personnes ayant une probabilité plus forte que la moyenne de développer, après exposition au danger par voie alimentaire [dans le cas des fiches de l'ANSES], des symptômes de la maladie, ou des formes graves de la maladie.

<sup>4</sup> Relation entre la dose (la quantité de cellules microbiennes ou de toxines ingérées au cours d'un repas) et l'effet chez un individu.

<sup>5</sup> Pour un effet donné, relation entre la dose et la réponse, c'est-à-dire la probabilité de la manifestation de cet effet, dans la population.



**Tableau 4** : Données épidémiologiques françaises relatives aux toxi-infections alimentaires collectives à *B. cereus*. Foyers de TIAC déclarées aux ARS et/ou aux DD(CS)PP (Source : Santé publique France - Mise à jour mars 2021)

Année	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
<b>TIAC confirmées<sup>1</sup> à <i>B. cereus</i></b>								
Foyers (% <sup>2</sup> )	20 (9,3%)	29 (15%)	23 (9%)	29 (10%)	45 (13%)	47 (16%)	57 (15%)	62 (16%)
Malades (%)	349 (14,8%)	344 (15%)	447 (15%)	545 (17%)	816 (16%)	845 (18%)	1166 (26%)	988 (22%)
Hospitalisations	11 (5,8%)	7 (4%)	18 (7%)	10 (4%)	12 (5%)	5 (2%)	43 (13%)	37 (13%)
<b>TIAC suspectées à <i>B. cereus</i></b>								
Foyers (%)	198 (24,6%)	224 (25%)	241 (25%)	233 (26%)	208 (22%)	217 (28%)	283 (29%)	293 (27%)
Malades (%)	1673 (25,5%)	1902 (27%)	2031 (27%)	2085 (30%)	1656 (24%)	1652 (28%)	2047 (29%)	2155 (25%)
Hospitalisations	115 (25,7%)	67 (17%)	77 (22%)	53 (18%)	85 (26%)	87 (30%)	117 (32%)	46 (20%)

<sup>1</sup> Foyers dans lesquels l'agent est isolé dans un échantillon d'origine humaine et/ou dans les aliments consommés par les malades

<sup>2</sup> % par rapport au total des cas ou foyers avec des agents déterminés

## Épidémiologie

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) sont des maladies à déclaration obligatoire (DO) en France. Les maladies à *B. cereus* sont vraisemblablement sous-déclarées en France comme en Europe: lors d'épisodes de toxi-infections alimentaires collectives, leur recherche n'est pas souvent effectuée; par ailleurs, les symptômes des toxi-infections alimentaires diarrhéiques et émétiques à *B. cereus* sont très proches de ceux provoqués respectivement par *Clostridium perfringens* et *Staphylococcus aureus*.

## Rôle des aliments

### Principaux aliments à considérer

Les spores de *B. cereus* sont présentes dans quasiment toutes les catégories d'aliments. Des produits secs ou déshydratés, tels que les épices, les herbes aromatiques, certains légumes, les céréales et les farines, sont fréquemment contaminés par *B. cereus*, à des niveaux variables. Ces matières premières entrant dans la composition d'un produit fini, sont des sources potentielles de contamination. Par ailleurs, les spores de *B. cereus* montrent de fortes capacités d'adhésion aux surfaces des équipements, et être ainsi à l'origine de la formation

de biofilms. Ces biofilms, difficiles à éliminer par les traitements de nettoyage, peuvent à leur tour produire des spores.

Les risques pour le consommateur sont le plus souvent liés à une multiplication de *B. cereus* lors de l'exposition des aliments à des températures inappropriées. Les aliments associés à des toxi-infections à *B. cereus* subissent fréquemment, mais pas exclusivement, une étape de cuisson et/ou ne sont pas refroidis de manière adéquate après leur préparation et avant la consommation. Des intoxications avec symptômes émétiques ont été causées par des produits amylicés (par exemple, plats à base de riz ou de pâtes).

Sans être limitatif, les plats cuisinés, les produits agrémentés d'épices, d'herbes ou aromates, les aliments déshydratés reconstitués par addition d'eau chaude (potages en poudre, purées de pommes de terre préparées à partir de flocons, lait en poudre, etc.) ou cuits à l'eau (pâtes, riz, semoule) conservés à une température permettant la croissance de *B. cereus* (températures comprises entre 4°C et 55°C), et avec une consommation différée, sont le plus souvent à l'origine de toxi-infections alimentaires.

### Traitements d'inactivation en milieu industriel (tableau 5)

**Tableau 5** : Impact des traitements en milieu industriel

Traitement	Conditions	Impact	Matrice
Température	La cuisson des aliments ne permet pas de garantir l'absence de spores de <i>B. cereus</i> , mais peut suffire à inactiver celles des groupes génétiques les plus thermosensibles. Tous les <i>B. cereus</i> sont inactivés par les traitements d'appertisation. Valeurs de D <sup>6</sup> et z <sup>7</sup> pour les spores de <i>B. cereus</i> :		
	D <sub>95°C</sub> = 2 min, z = 8-12,5°C		Porc
	D <sub>100°C</sub> = 1,2-7,5 min		Riz
	Valeurs de D <sub>90°C</sub> pour les spores de <i>B. cereus</i> Groupe VI : 1,7 min Groupes II, IV, V : 20-30 min Groupes III, VII : 40-90 min Six réductions décimales sont obtenues, par exemple, avec un traitement thermique : - à 70°C pendant 12 s (sur cellule végétative dans la viande de porc) - à 105°C pendant 36 s (sur spore dans la viande de porc) <b>NB</b> : la thermorésistance des spores est réduite à pH acide (pH < 4,3). La toxine émétique à l'origine de l'intoxication est thermorésistante puisqu'elle ne peut être détruite que par un traitement à 126°C appliqué pendant 90 min. Il a été montré qu'à pH neutre, des traitements à 121°C pendant 120 min ne suffiraient pas à inactiver le céréulide.		
Hautes pressions	Combinaison traitement thermique (>60-70°C) + traitement par hautes pressions (550-600 MPa)	Inactivation des spores	/
Rayonnements ionisants	D <sub>10</sub> <sup>8</sup> = 1,6 – 2,6 kGy	Destruction des spores	/

<sup>6</sup> D est le temps nécessaire pour diviser par 10 la population du danger microbiologique initialement présente.

<sup>7</sup> z est l'augmentation de température (°C) correspondant à une diminution d'un facteur 10 du temps de réduction décimale D.

<sup>8</sup> D<sub>10</sub> est la dose de rayonnements ionisants (en kGy) nécessaire pour diviser par 10 la population du danger microbiologique initialement présente.

## Surveillance dans les aliments

*B. cereus* ne fait pas l'objet de critères de sécurité des aliments selon la réglementation européenne. Toutefois, le règlement (CE) n°2073/2005 définit un critère d'hygiène des procédés applicables à *B. cereus* dans le cas des préparations déshydratées destinées aux enfants de moins de 6 mois.

La norme NF EN ISO 7932 permet l'identification et le dénombrement de *B. cereus* présomptifs revivifiables. La recherche et le dénombrement de *B. cereus* présumés viables en petit nombre peuvent se faire suivant la norme NF EN ISO 21871. De plus, des méthodes de détection de *B. cereus* par PCR en temps réel ont été récemment développées.

La recherche des toxines diarrhéiques peut être effectuée par plusieurs techniques : test ELISA, agglutination passive reverse (RPLA), immunodiffusion ou encore par immunoelectrophorèse. Étant produites dans les intestins, leur recherche dans les aliments n'est pas un indicateur du risque d'intoxication diarrhéique. Ces tests sont utiles pour caractériser le potentiel toxinogène des différentes souches de *B. cereus*.

La détection/quantification du céruléide dans l'aliment peut être réalisée par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Le céruléide est très stable et peut subsister dans l'aliment après inactivation de la bactérie, par un traitement thermique par exemple, ou être apporté dans un aliment par l'ingrédient dans lequel *B. cereus* se serait développé. Le nombre de *B. cereus* dans un aliment au stade de sa consommation n'est donc pas un indicateur suffisant du risque d'intoxication.

### Recommandations aux opérateurs

- Les bonnes pratiques d'hygiène (BPH) et les bonnes pratiques de fabrication (BPF) sont des pré-requis indispensables pour prévenir la contamination par les spores et leur développement. Le nettoyage est une étape essentielle dans la prévention des contaminations des équipements utilisés pour acheminer les aliments sur les différents postes de fabrication.
- Il est nécessaire d'éviter que *B. cereus* n'atteigne un niveau dangereux lors de la consommation, ce qui, suivant la capacité de croissance de *B. cereus* dans l'aliment, peut nécessiter de surveiller le nombre de spores (et de formes végétatives) présentes dans les matières premières, en fin de fabrication et/ou au cours de la vie du produit, mais aussi dans les équipements de fabrication.
- Tout particulièrement en restauration collective, il est important de refroidir rapidement les aliments cuisinés que l'on veut conserver au froid pour empêcher la germination des spores et la multiplication des cellules végétatives. Les aliments non soumis à une réfrigération suffisamment rapide et qui ne sont pas consommés immédiatement après préparation et dans lesquels *B. cereus* peut être présent et se développer, doivent être maintenus au-dessus de 63°C. Le refroidissement des produits doit être rapide et permettre un abaissement de la température de 63°C et au-delà à moins de 10°C en moins de deux heures (d'après l'arrêté du 21 décembre 2009) afin de limiter la germination des spores et la prolifération des cellules végétatives. Le réchauffage des plats doit être rapide, de 10°C à 63°C en moins d'une heure, selon les mêmes principes. Les plats froids doivent être maintenus à moins de 3°C, avec une tolérance jusqu'à 10°C pendant moins de deux heures avant le service. L'opérateur peut suivre d'autres procédés pour ces différentes préparations sous réserve d'avoir mené une analyse complète des dangers.

## Hygiène domestique

### Recommandations aux consommateurs

- Le nettoyage des légumes pour éliminer la terre, le nettoyage des surfaces, du réfrigérateur et des ustensiles de cuisine réduisent mais n'éliminent pas la contamination des aliments par des spores de *B. cereus*.
- Les aliments cuits ou les aliments secs réhydratés doivent être refroidis et placés au réfrigérateur dans un délai de deux heures s'ils ne sont pas consommés immédiatement. Des aliments riches en eau (plats cuisinés, salades mélangées, etc.) conservés plusieurs heures à température ambiante (par exemple, restes de pique-nique) doivent être jetés et ne pas être consommés, même après avoir été réchauffés.

## Liens

### Références générales

Anses. 2010. « Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande d'avis complémentaire concernant les références applicables aux denrées alimentaires en tant que critères indicateurs d'hygiène des procédés » Maisons-Alfort : Anses

Cadel Six, S., Buysse, M., Vignaud, M., Dao, T. T., Messio, S., & Payraud, S. 2012. « Toxi-infections alimentaires collectives à *Bacillus cereus*: bilan de la caractérisation des souches de 2006 à 2010. » Bull. Épidémiol. Anim. Aliment, 50, 57-61.

Dromigny. 2008. « *Bacillus cereus*. » Monographies de microbiologie, Edn Tec & Doc, Lavoisier, Paris

EFSA. 2005. « Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. in foodstuffs ». The EFSA Journal, 175, 1-48

ECDC, EFSA. 2015. « The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014 ». The EFSA Journal, vol. 13, p. 4036 doi:10.2903/j.efsa.2015.4329

Guinebretière, M. H., Thompson, F. L., Sorokin, A., Normand, P., Dawyndt, P., Ehling-Schulz, 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.

Ramarao, N. 2012. « *Bacillus cereus* : caractéristiques et pathogénie », EMC Biol. Méd, 7, 1-11.

### Liens utiles

Santé Publique France - Données relatives aux toxi-infections alimentaires collectives déclarées en France : <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-infectieuses-d-origine-alimentaire/toxi-infections-alimentaires-collectives/donnees/#tabs>