

**Rapport d'évaluation finale de la souche
ATCC 14579 de *Bacillus cereus* et de la
souche 11685-3 de *Bacillus subtilis* (*B. cereus*)**

**Environnement et Changement climatique Canada
Santé Canada**

Août 2018

Cat. No.: En14-326/2018E-PDF

ISBN 978-0-660-27016-6

Le contenu de cette publication ou de ce produit peut être reproduit en tout ou en partie, et par quelque moyen que ce soit, sous réserve que la reproduction soit effectuée uniquement à des fins personnelles ou publiques mais non commerciales, sans frais ni autre permission, à moins d'avis contraire.

On demande seulement :

- de faire preuve de diligence raisonnable en assurant l'exactitude du matériel reproduit;
- d'indiquer le titre complet du matériel reproduit et l'organisation qui en est l'auteur;
- d'indiquer que la reproduction est une copie d'un document officiel publié par le gouvernement du Canada et que la reproduction n'a pas été faite en association avec le gouvernement du Canada ni avec l'appui de celui-ci.

La reproduction et la distribution à des fins commerciales est interdite, sauf avec la permission écrite de l'auteur. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec l'informathèque d'Environnement et Changement climatique Canada au 1-800-668-6767 (au Canada seulement) ou 819-997-2800 ou par courriel à ec.enviroinfo.ec@canada.ca.

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le ministre de l'environnement, 2018.

Sommaire

Conformément à l'alinéa 74b) de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement, 1999 (LCPE), les ministres d'Environnement et Changement climatique Canada et de la Santé ont procédé à une évaluation préalable de deux souches de *Bacillus cereus* (souche ATCC 14579 de *B. cereus* et souche 11685-3 de *B. subtilis*). La souche 11685-3 de *B. subtilis* figure sur la Liste intérieure des substances (LIS) en tant que souche de *B. subtilis*. Cependant, les scientifiques de Santé Canada ont découvert lors de tests qu'il s'agit en fait d'une souche de *B. cereus*. Aux fins de l'évaluation préalable, elle sera désignée comme « souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) ».

La souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) sont des bactéries qui ont des caractéristiques communes avec celles d'autres souches de l'espèce. *B. cereus* est généralement considéré comme ubiquiste et a la capacité de s'adapter et de prospérer dans de nombreuses niches aquatiques et terrestres. Il est résistant aux antibiotiques et aux métaux lourds. *B. cereus* forme des endospores qui permettent sa survie dans des conditions environnementales sous-optimales. Les diverses caractéristiques de *B. cereus* la rendent apte à être utilisée comme principe actif dans des produits commerciaux et de consommation, y compris les détergents, les dégraissants, les additifs pour la biodégradation et la biorestauration, ainsi que dans divers procédés industriels.

B. cereus peut infecter certains animaux et provoquer une série de symptômes débilitants, voire la mort, mais dans les circonstances normales, il est peu probable qu'elle constitue un danger grave pour la santé du bétail ou d'autres organismes présents dans l'environnement. *B. cereus* peut provoquer une mammite chez les vaches, mais les animaux affectés se rétablissent rapidement après un traitement aux antibiotiques vétérinaires. Il n'y a pas de cas démontré dans la littérature scientifique que *B. cereus* a des effets nocifs sur les organismes dans l'environnement canadien. La souche ATCC 14579 de *B. cereus* a réduit le taux de reproduction chez le collembole nivicole (un invertébré du sol) et a diminué la longueur des pousses chez la fétuque rouge (une plante terrestre). Toutefois, ces effets ont été observés dans des conditions de laboratoire spécifiques qui ne sont pas préoccupantes dans les scénarios d'exposition connus actuels.

Chez les humains, *B. cereus* a un potentiel pathogène à la fois dans la population générale en bonne santé et chez les individus qui sont vulnérables à cause d'une immunité compromise, d'une maladie débilitante ou des extrêmes d'âge. *B. cereus* est un pathogène gastro-intestinal qui peut également causer d'autres types d'infection, y compris l'endophtalmie et les infections cutanées. *B. cereus* est résistant à plusieurs antibiotiques cliniques, ce qui pourrait rendre les infections plus difficiles à traiter. Les données de laboratoire montrent que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*)

produisent des enzymes extracellulaires et des toxines qui sont des facteurs connus de pathogénicité chez les humains.

La présente évaluation tient compte des caractéristiques ci-mentionnées du *B. cereus* en ce qui concerne les effets sur l'environnement et la santé humaine découlant de l'utilisation de produits commerciaux et de consommation ou des procédés industriels visés par la LCPE, y compris les rejets dans l'environnement via les flux de déchets et l'exposition humaine accidentelle dans les milieux naturels. Afin de mettre à jour les renseignements sur les utilisations actuelles de ces organismes vivants, le gouvernement a lancé une enquête pour la collecte obligatoire de renseignements en application de l'article 71 de la LCPE [avis en vertu de l'article 71], telle que publiée dans la Partie I de la Gazette du Canada le 23 septembre 2017. Les renseignements fournis en réponse à l'avis indiquent que ni la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ni la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) n'ont été importées ni fabriquées au Canada, sauf (dans le cas de la souche ATCC 14579 de *B. cereus*) en quantités limitées destinées à la recherche universitaire, à l'enseignement et aux activités de recherche et de développement. La probabilité d'exposition à cet organisme vivant au Canada découlant d'une activité commerciale et de consommation est faible.

Sur la base des renseignements disponibles, les ministres concluent que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) ne satisfont pas aux critères énoncés aux alinéas 64a) ni b) de la LCPE, car elles ne pénètrent pas dans l'environnement en une quantité, à une concentration ou dans des conditions de nature à avoir, immédiatement ou à long terme, un effet nocif sur l'environnement ou sur la diversité biologique ou à mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie. Les ministres concluent également que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) ne satisfont pas aux critères énoncés à l'alinéa 64c) de la LCPE, car elles ne pénètrent pas ou ne peuvent pénétrer dans l'environnement en une quantité ou une concentration ou dans des conditions de nature à constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaines.

Table des matières

Sommaire	iii
Introduction	vii
Décisions d'autorités compétentes au Canada et à l'étranger	ix
Au Canada	ix
À l'étranger	ix
1. Évaluation des dangers	1
1.1 Caractérisation de <i>Bacillus cereus</i>	1
1.2 Gravité du danger	22
2. Évaluation de l'exposition	23
2.1 Sources de l'exposition	23
2.2 Caractérisation de l'exposition	25
3. Caractérisation du risque	27
4. Conclusion	29
5. Références	30
Annexes	48
Annexe A : Caractérisation de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i>	48
Annexe B : Liens au sein du groupe <i>B. cereus</i>	50
Annexe C : Éléments génétiques mobiles du groupe <i>B. cereus</i>	51
Annexe D : Gènes toxiques présents dans le génome de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i> (NC 004721)	54
Annexe E : Facteurs de virulence produits par <i>B. cereus</i>	55
Annexe F : Pathogénicité de <i>B. cereus</i> pour les invertébrés et les vertébrés	61
Annexe G : Flambées épidémiques causées par <i>B. cereus</i>	77

Liste des tableaux

Tableau 1-1 : Morphologie des colonies de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i> et de <i>B. cereus sensu stricto</i>	2
Tableau 1-2 : Caractéristiques des espèces étroitement apparentées du groupe <i>B. cereus</i>	3
Tableau 1-3 : Comparaison des profils d'allèle dans la base de données sur le typage de séquences multilocus de <i>B. cereus</i> (adaptée de Jolley 2014)	5
Tableau 1-4 : Concentrations inhibitrices minimales (CIM, µg/mL) pour la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i>	11
Tableau 1-5 : Gènes de toxine identifiés par PCR dans la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i> et la souche 11685-3 de <i>B. subtilis</i> (<i>B. cereus</i>)	12
Tableau 0-1 : Croissance de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i> dans un milieu liquide à diverses températures	48
Tableau 0-2 : Caractéristiques de croissance de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i> sur un milieu solide à diverses températures	48
Tableau 0-3 : Caractérisation de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i> par analyse des esters méthyliques d'acide gras (EMAG)	49

Tableau C-1 : Liste de certains plasmides trouvés dans le groupe <i>B. cereus</i> et leurs caractères connexes	51
Tableau C-2 : Liste des phages trouvés dans le groupe <i>B. cereus</i>	52
Tableau C-3 : Liste des éléments génétiques mobiles trouvés dans le génome du groupe <i>B. cereus</i> et caractères connexes.....	52
Tableau D-1 : Gènes chromosomiques encodant pour les toxines de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i>	54
Tableau E-1 : Liste des toxines produites par <i>B. cereus</i>	55
Tableau E-2 : Liste des facteurs de virulence causant des dommages aux membranes et produits par <i>B. cereus</i>	58
Tableau E-3 : Liste des enzymes causant des dommages et produites par <i>B. cereus</i>	60
Tableau F-1 : Essais en laboratoire de pathogénicité de <i>B. cereus</i> pour les insectes.....	61
Tableau F-2 : Essais en laboratoire de pathogénicité de <i>B. cereus</i> pour les crustacés	64
Tableau F-3 : Infection par <i>B. cereus</i> signalée chez les insectes dans leur milieu naturel.....	65
Tableau F-4 : Essais en laboratoire de pathogénicité de <i>B. cereus</i> pour les mammifères	65
Tableau F-5 : Infections par <i>B. cereus</i> des vertébrés dans leurs milieux naturels	71
Tableau G-1 : Épidémies non gastro-intestinales sélectionnées, causées par <i>B. cereus</i> et rapportées dans la littérature	77
Tableau G-2 : Épidémies d'intoxication alimentaire rapportées liées à <i>B. cereus</i> ^a	77

Liste des figures

Figure 1-1 : Arbre phylogénétique produit par le Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale à l'aide des séquences d'ADNr 16S des espèces de *Bacillus*, identifiées à partir de recherches dans la littérature. Pour créer l'arbre phylogénétique, on a tout d'abord aligné les séquences au moyen de la méthode MUSCLE; on a ensuite fait une analyse à l'aide du modèle de distance de Kimura à deux paramètres dans la version 5.2 du logiciel MEGA (Tamura et coll. 2011). 6

Figure B -1 : Arbre phylogénétique basé sur la méthode dite de regroupement des voisinages (*neighbor-joining*) appliquée à une matrice de distances entre paires – l'arbre montre la relation des séquences du gène de l'ARN ribosomal (ARNr) 16S entre 57 espèces de *Bacillus*. Tiré de la figure 1 de Kolsto et coll. (2009)..... 50

Introduction

En vertu de l'alinéa 74b) de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (1999) (LCPE), les ministres de l'Environnement et de la Santé sont tenues de procéder à l'évaluation préalable des organismes vivants inscrits sur la *Liste intérieure des substances* (LIS) conformément à l'article 105 de la Loi, afin de déterminer s'ils constituent ou pourraient constituer un risque pour l'environnement ou la santé humaine (selon les critères établis dans l'article 64 de la LCPE)¹. Ces souches ont été ajoutées à la Liste intérieure des substances (LIS) en vertu du paragraphe 25(1) de la LCPE (1988) et à la LIS en vertu du paragraphe 105(1) de la LCPE (1999), parce qu'elles ont été fabriquées ou importées au Canada entre le 1^{er} janvier 1984 et le 31 décembre 1986. La souche 11685-3 de *B. subtilis* figurait sur la LIS en tant que souche de *B. subtilis*. Cependant, les scientifiques de Santé Canada ont découvert lors de tests qu'il s'agit en fait d'une souche de *B. cereus*. Dans le présent rapport d'évaluation préalable, cette souche sera désignée par souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*).

La présente évaluation préalable tient compte des renseignements sur les dangers disponibles dans le domaine public et provenant de données de recherche non publiées produites par les chercheurs de Santé Canada² et Environnement et Changement climatique Canada³, ainsi que de commentaires formulés par des examinateurs scientifiques compétents. L'information sur l'exposition provient du domaine public et des renseignements obtenus à la suite de l'avis émis en vertu de l'article 71 de la LCPE et publié le 23 septembre 2017 dans la Partie I de la *Gazette du Canada*. De plus amples précisions concernant la méthode d'évaluation des risques utilisée se trouvent dans le « [Cadre d'évaluation scientifique des risques liés aux micro-organismes réglementés en vertu de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement \(1999\)](#) » (Environnement Canada et Santé Canada 2011).

Dans le présent rapport, les données portant expressément sur la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*), figurant sur la LIS, sont indiquées. Lorsque les données propres aux souches n'étaient pas disponibles, des données de substitution provenant de recherches dans la littérature ont été utilisées. Pour cette recherche, on a utilisé leurs synonymes, leurs noms communs et leurs noms périmés. Les organismes de substitution sont identifiés dans chaque cas au niveau taxonomique fourni par la source. Pour la recherche dans la littérature, les bases de données de publications scientifiques (SCOPUS, PubMed, CAB Abstracts) ont été scrutées, et on a effectué

¹ Pour déterminer si un ou plusieurs des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE sont remplis, on se fonde sur une évaluation des risques potentiels pour l'environnement ou la santé humaine associés à une exposition dans l'environnement général. Pour ce qui est des humains, cela comprend, entre autres, l'exposition à l'air, à l'eau et à l'utilisation de produits contenant ces substances. Une conclusion formulée en vertu de la LCPE peut ne pas être pertinente et n'exclut pas une évaluation par rapport aux critères précisés dans le *Règlement sur les produits dangereux*, qui fait partie du cadre réglementaire du Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT) pour les produits destinés à être utilisés au travail.

² Essais réalisés par le Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale, Santé Canada.

³ Essais effectués par la Division de l'écotoxicologie et de la santé de la faune, Environnement et Changement climatique Canada.

des recherches sur le Web et avec des mots-clés afin d'établir les dangers pour la santé humaine et l'environnement associés à chacune des souches figurant sur la *Liste intérieure des substances* évaluées dans le présent rapport. Le présent rapport est à jour en date d'avril 2017.

Décisions d'autorités compétentes au Canada et à l'étranger

Au Canada

B. cereus est un agent pathogène humain et animal du Groupe de risque 2 et il est réglementé par l'Agence de la santé publique du Canada et l'Agence canadienne d'inspection des aliments. Cet organisme est réglementé en vertu de la *Loi sur les agents pathogènes humains et les toxines* et son utilisation dans les laboratoires de recherche et aux fins d'enseignement doit être conforme à la [Norme canadienne sur la biosécurité \(NCB\), deuxième édition](#) (CBS 2015). Un [permis](#) doit être obtenu en vertu du *Règlement sur les agents pathogènes humains et les toxines* pour les activités réglementées avec des pathogènes humains du Groupe de risque 2.

B. cereus figure dans le *Règlement sur le transport des marchandises dangereuses* (RTMD) en tant que matière infectieuse de catégorie B. Les procédures prévues pour le transport de *B. cereus* doivent également respecter les exigences fixées dans la *Loi sur le transport des marchandises dangereuses* et son règlement d'application. Ces mesures visent à prévenir toute exposition humaine ou environnementale à cet organisme. On s'attend à ce que l'exposition humaine et environnementale à *B. cereus*, dans le cadre des activités de recherche et développement et d'enseignement déclarées dans l'avis en vertu de l'article 71, soit faible.

À l'étranger

Les données sur les flambées épidémiques provoquées par *B. cereus* ont été publiées par les Centers for Disease Control (CDC) des États-Unis. *B. cereus* figure dans le Bad Bug Book publié par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis. Une autre souche de *B. cereus* a été évaluée par l'Environmental Protection Agency (EPA) des États-Unis pour son utilisation dans un pesticide.

Dans la communauté européenne (CE), *B. cereus* est considéré comme un pathogène du Groupe de risque 2. Le Règlement (CE) n° 1831/2003 prévoit qu'une demande d'autorisation doit être présentée pour des additifs destinés à l'alimentation animale, y compris les additifs pouvant contenir des microorganismes tels que *B. cereus*. Deux avis scientifiques concernant deux souches de *B. cereus* ont conclu qu'en raison de la présence de gènes codants pour l'entérotoxine dans le génome de ces souches, il existe un risque pour les personnes exposées aux organismes ou au produit qui en contient. L'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a publié plusieurs documents sur les risques pour la santé publique associés aux espèces de *Bacillus*, y compris *B. cereus*, dans les aliments.

Le ministère australien de la Santé a fait état de maladies d'origine alimentaire dans toute l'Australie, dans lesquelles *B. cereus* était souvent associé au riz. Biosecurity

New Zealand a récemment publié un profil de risque pour *B. cereus* dans les produits laitiers.

Aucune autre décision à l'étranger concernant *Bacillus cereus* n'a été trouvée⁴.

⁴ Les données des agences et organisations gouvernementales suivantes ont été examinées : Animal and Plant Health Inspection Services du département de l'Agriculture des États-Unis; American Biological Safety Association; Organisation mondiale de la santé; Centre européen de prévention et de contrôle des maladies.

1. Évaluation des dangers

1.1 Caractérisation de *Bacillus cereus*

1.1.1 Identification taxonomique et historique de la souche

Nom binomial : *Bacillus cereus*

Désignation taxonomique :

Règne :	Bactéries
Division :	Firmicutes
Classe :	Bacilles
Ordre :	Bacillales
Famille :	<i>Bacillaceae</i>
Genre :	<i>Bacillus</i>
Espèce :	<i>Bacillus cereus</i>

Souches dans la LIS : ATCC 14579 et 11685-3

Historique de la souche :

La souche ATCC 14579 de *B. cereus* a été isolée pour la première fois dans l'air d'une étable à vaches au Royaume-Uni (Frankland et Frankland 1887). La souche ATCC 14579 de *B. cereus* est la souche type. Elle porte plusieurs numéros d'enregistrement dans d'autres collections de cultures, notamment DSM 31 (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH) et NCCB 75008 (Netherlands Culture Collection of Bacteria).

Bien qu'elle soit inscrite sur la LIS comme souche de *B. subtilis* et qu'elle figure sous ce nom d'espèce dans les collections de cultures, les scientifiques de Santé Canada ont découvert que la souche 11685-3 de *B. subtilis* est en fait une souche de *B. cereus*. La souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) figure sur la LIS sous la désignation de souche masquée. Bien qu'elle figure dans une collection reconnue de cultures, cette collection ne possède aucun renseignement sur sa source d'isolation. Il existe très peu de publications dans la littérature scientifique sur cette souche et il n'y a pas de données phénotypiques.

1.1.1.1 Caractéristiques phénotypiques

Bacillus cereus est une bactérie Gram positif, anaérobie facultative, sporifère et vagile qui se présente sous forme de bâtonnet. Les spores de *B. cereus* sont ellipsoïdales, subterminales et ne gonflent pas le sporange. Les cellules de *B. cereus* tendent à se présenter en chaînes et la stabilité de ces chaînes détermine la forme de la colonie, qui peut varier d'une souche à l'autre (Logan et De Vos 2009).

Le Tableau 1-1 compare les morphologies des colonies de *B. cereus* provenant de diverses sources, y compris les souches figurant sur la LIS. Les caractéristiques phénotypiques résumées dans le Tableau 1-2 donnent un aperçu des capacités métaboliques de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* par rapport aux autres membres du groupe *B. cereus*. Les écarts entre les données de Santé Canada, de l'American Type Culture Collection (ATCC) et du manuel de Bergey se situent dans la fourchette d'acceptabilité pour *B. cereus*, et peuvent être attribuables à des conditions de cultures variables. Les résultats des tests phénotypiques (autres que la morphologie des colonies) pour la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) ne sont pas disponibles.

Tableau 1-1 : Morphologie des colonies de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et de *B. cereus sensu stricto*

Caractéristique	ATCC 14579	ATCC 14579	Souche 11685-3	<i>B. cereus sensu stricto</i>
Forme	Circulaire, irrégulière	Irrégulière	Circulaire	Circulaire à irrégulière
Taille (mm)	5-8	N. D.	2	2-7
Marge	Ondulée	Érodée	Entière	Entière à ondulée, crémée ou fimbriée
Élévation	Plate	Plate	N. D.	N. D.
Couleur	Crème	N. D.	Blanc cassé	Blanchâtre à crème
Texture (surface)	Humide	Mate	Lisse	Mate ou granulaire (lisse et humide)
Opacité	Opaque	Opaque	Opaque	Opaque
Pigment	Aucun	N. D.	N. D.	Rosâtre-brun, jaune diffusible ou jaune-vert fluorescent possible
Source de données	Santé Canada ^a	American Type Culture Collection ^b	Santé Canada	Manuel de Bergey ^c

N. D. = données non disponibles.

^a Apparence sur de la gélose TSB après 7 jours de croissance à la température ambiante.

^b Apparence sur de la gélose nutritive à 30 °C.

^c Apparence sur de la gélose au sang après 24 à 36 heures à 37 °C.

Tableau 1-2 : Caractéristiques des espèces étroitement apparentées du groupe *B. cereus*

Caractéristiques	Souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i> ^a	<i>Bacillus cereus</i> ^b	<i>Bacillus cereus</i> Emetic biovar ^b	<i>Bacillus anthracis</i> ^b	<i>Bacillus thuringiensis</i> ^b
Motilité	+	+	+	-	+
Catalase	+	+	+	+	+
Oxydase	+	-	-	N. D.	-
Réaction au jaune d'œuf	N. D.	+	+	+	+
Hydrolyse de la caséine	+	+	+	+	+
Hydrolyse de l'esculine	+	+	+	+	+
Hydrolyse de la gélatine	+	+	+	+	+
Acide produit par le glycogène	N. D.	+	-	+	+
Acide produit par l'amidon	N. D.	+	-	+	+
Dégradation de la tyrosine	+	+	N. D.	-	+
Utilisation de citrate	+	+	+	d	+
Utilisation de propionate	+	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
Cristal de parasporal	-	-	-	-	+
Réduction du nitrate	+	d	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+
Désamination de la phénylalanine	N. D.	-	-	N. D.	-

+ indique une valeur > 85 % positive; – indique une valeur de 0 à 15 % positive; N. D. = données non disponibles; d = différentes souches donnent différentes réactions.

^a Données déterminées

^b Selon des renseignements résumant le phénotype de plusieurs souches et provenant de différentes publications disponibles dans le manuel de Bergey (Logan et De Vos 2009).

Les données non publiées produites par Santé Canada⁵, y compris la croissance en milieu liquide à différentes températures, la croissance en milieu solide à 28 °C et 37 °C, les tests biochimiques et l'analyse des esters méthyliques d'acide gras (EMAG), sont présentées à l'annexe A pour la souche ATCC 14579 de *B. cereus*, mais ne sont pas disponibles pour la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*). Ces techniques ne peuvent pas être utilisées pour différencier la souche ATCC 14579 de *B. cereus* des autres souches de *B. cereus*. L'analyse EMAG de la souche 14579 de *B. cereus* a montré de fortes similitudes avec *B. thuringiensis*, ce qui était à prévoir compte tenu de la similitude génétique entre les membres du groupe *B. cereus*.

⁵ Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale

1.1.1.2 Caractéristiques moléculaires

Pour démontrer les relations phylogénétiques et comprendre les quelques variations génomiques entre les espèces du groupe *B. cereus*, on a utilisé diverses méthodes génotypiques, telles que le séquençage génomique (Ivanova et coll. 2003), le polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP) (Ticknor et coll. 2001), les empreintes digitales rep-PCR (Cherif et coll. 2003), l'analyse du séquençage du gène de l'ARNr 16S et de l'ARNr 23S (Ash et coll. 1991), l'électrophorèse enzymatique multilocus (MLEE) (Ash et Collins 1992; Helgason et coll. 2000b), le typage de séquence multilocus (MLST) (Helgason et coll. 2004; Priest et coll. 2004; Tourasse et coll. 2006) et l'hybridation soustractive suppressive (SSH) (Radnedge et coll. 2003). La parenté génétique entre les membres du groupe *B. cereus* est si proche que, d'un point de vue strictement phylogénétique, ils peuvent être considérés comme une seule espèce.

Les membres du groupe *B. cereus* sont généralement divisés en trois clades phylogénétiques principaux (annexe B). Le clade I comprend *B. anthracis* et certaines variantes de *B. cereus* et de *B. thuringiensis*, principalement de sources cliniques. Le clade II contient la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et plusieurs autres souches de *B. cereus*, mais elle est surtout composée de souches de *B. thuringiensis*, dont peu sont issues de sources cliniques. Le clade III contient les bacilles non pathogènes *B. mycoides* et *B. weihenstephanensis* (Didelot et coll. 2009; Helgason et coll. 2000b; Kolsto et coll. 2009; Priest et coll. 2004; Vassileva et coll. 2006). Différentes lignées établies par MLST ont également émergé des clades I et II. La souche ATCC 14579 de *B. cereus* appartient plus spécifiquement à la lignée Tolworthi (Barker et coll. 2005; Priest et coll. 2004; Vassileva et coll. 2006).

Le séquençage du gène de l'ARNr 16S de la souche ATCC 14579 de *B. cereus*, par des scientifiques de Santé Canada à partir d'une souche mère obtenue d'ATCC, montre une homologie de 100 % avec la souche ATCC 14579 de *B. cereus* provenant de la bibliothèque exclusive MicroSeq® ID et une homologie supérieure à 99 % avec les autres membres du groupe *B. cereus* inclus dans la base de données (souches ATCC 33679 et ATCC 10792 de *B. thuringiensis*, souche Ames de *B. anthracis* et souche ATCC 6462 de *B. mycoides*). Ceci a confirmé que la séquence du gène de l'ARNr 16S provenant de la souche ATCC 14579 de *B. cereus*, obtenue de l'ATCC, correspondait à la séquence publiée du gène de l'ARNr 16S obtenu de la souche ATCC 14579 de *B. cereus*. Les séquences génétiques de l'ARNr 16S provenant de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ont également montré une même similarité élevée par rapport aux séquences de *B. cereus* publiées par le NCBI.

Les chercheurs de Santé Canada ont découvert que les séquences du gène de l'ARNr 16S préparées à partir d'une souche mère de la souche 11685-3 de *B. subtilis* provenant directement de la collection de cultures présentaient une homologie supérieure à 99 % avec des membres du groupe *B. cereus* de la

bibliothèque exclusive MicroSeq^{MD} ID, y compris la souche ATCC 14579 de *B. cereus*. La possibilité que la souche mère ait été contaminée dans le laboratoire de Santé Canada a été écartée, puisque des résultats semblables ont été observés pour des souches mères obtenues de l'Université Carleton et avec quelques nouvelles souches mères commandées à la collection de cultures. Pour confirmer ce résultat, le génome a été séquencé. La comparaison des marqueurs génétiques, par l'intermédiaire du site Web *Bacillus cereus* MLST Databases (Jolley 2014), a montré une correspondance proche, mais non exacte avec une souche existante (Tableau 1-3).

Tableau 1-3 : Comparaison des profils d'allèle dans la base de données sur le typage de séquences multilocus de *B. cereus* (adaptée de Jolley 2014)

Allèle MLST	Souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i>	Souche 11685-3 de <i>B. subtilis</i> (<i>B. cereus</i>)	Souche la plus apparentée (souche ST204 de <i>B. cereus</i>)
glp	13	15	15
gmk	8	6	6
ilv	11	29	29
pta	11	8	8
pur	12	4	4
pyc	7	8	8
tpi	4	39	14

Afin de déterminer sa parenté avec d'autres génomes de *B. cereus* séquencés, un arbre phylogénétique à génome entier a été construit à partir de séquences d'ARNr 16S provenant de deux souches figurant sur la LIS (Figure 1-1). Les deux souches sont regroupées au sein du groupe *B. cereus* avec les autres pathogènes du genre *Bacillus*. Cette méthode confirme que la souche 11685-3 de *B. subtilis* est en fait une souche de *B. cereus*.

L'analyse des caractères de pathogénicité et des éléments extrachromosomiques qui reflètent le spectre de virulence de l'espèce joue un rôle central dans l'identification des membres du groupe *B. cereus*. Les éléments extrachromosomiques qui diffèrent entre les membres du groupe *B. cereus* sont présentés à l'annexe C. Les plasmides déterminant les profils de pathogénicité dans le groupe *B. cereus* comprennent pXO1 et pXO2 de *B. anthracis*, qui contiennent l'îlot de pathogénicité de l'anthrax, pBtoxis de *B. thuringiensis*, qui code la protéine insecticide, et pCER270 de *B. cereus*, qui code la toxine émétique. Les éléments extrachromosomiques peuvent aussi varier entre les souches d'une même espèce. Bien que la présence de pXO1 ait été constatée dans certaines souches de *B. cereus* comme G9241 et que d'autres portent pCER270, ces éléments extrachromosomiques ne sont pas caractéristiques de la souche ATCC 14579, qui ne contient qu'un seul élément extrachromosomique, pbclin15 (Ivanova et coll. 2003). Le plasmide pbclin15 ne contient aucun gène associé à des traits de

pathogénicité connus. Les recherches de données annotées sur le génome n'ont pas permis d'identifier des gènes ou des opérons de toxine connus associés à pXO1 (cya/facteur d'œdème, lef/facteur létal, pagA/répresseur d'antigène protecteur), à pXO2 (potentiellement positif pour le gène CapA, mais pas pour aucun autre gène de capsule) et à pCER270 (groupe de gènes de toxine émétique) dans la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*). Par électrophorèse sur gel, on voit des bandes très pâles qui suggèrent la présence de plasmides en faible nombre de copies. Ces plasmides présumés sont de petite taille (3 kb et 5 kb), alors que pXO1 a une taille de 181 kb, pXO2 a une taille de 94,8 kb; pCER270 a une taille de 270,1 kb, et pBtoxis a une taille de 127,9 kb, et il est peu probable qu'ils aient un contenu génétique considérable. Pour exclure la possibilité que la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) soit *B. thuringiensis*, on a effectué des recherches dans le génome et fait des tests de PCR pour les gènes de la protéine insecticide végétative (vip3) et de la protéine cristalline (cry). Aucun des deux n'a été détecté.

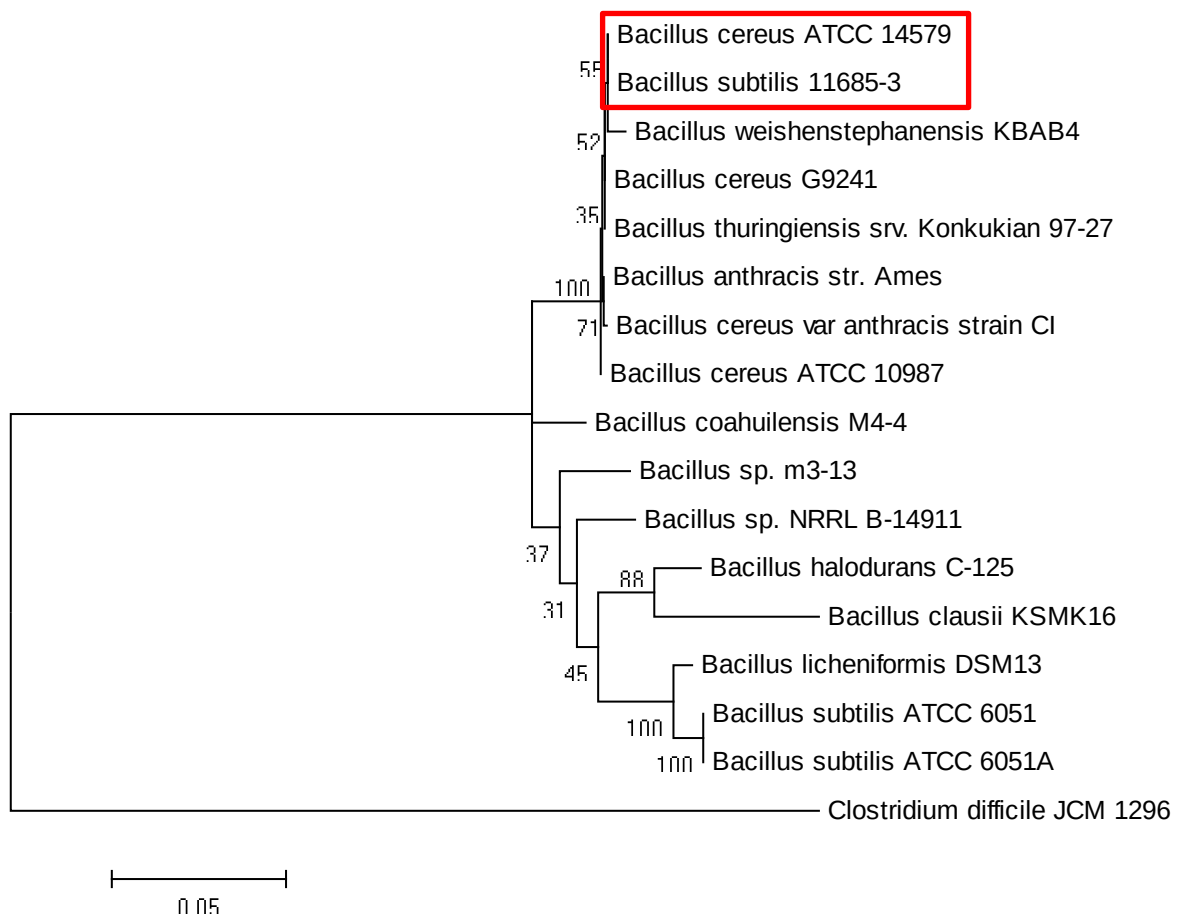


Figure 1-1 : Arbre phylogénétique produit par le Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale à l'aide des séquences d'ADNr 16S des espèces de *Bacillus*, identifiées à partir de recherches dans la littérature. Pour créer l'arbre phylogénétique, on a tout d'abord aligné les séquences au moyen de la méthode MUSCLE; on a ensuite fait une analyse à l'aide du modèle de

distance de Kimura à deux paramètres dans la version 5.2 du logiciel MEGA (Tamura et coll. 2011).

1.1.2 Propriétés biologiques et écologiques

1.1.2.1 Paramètres de croissance

B. cereus a des besoins nutritionnels minimes et croît dans une plage de températures et de pH. La température minimale de croissance est généralement d'environ 10 à 20 °C et la température maximale de croissance est de 40 à 45 °C, la température de croissance optimale étant d'environ 37 °C (Logan et De Vos 2009). Certaines souches psychrotolérantes ont été isolées à 6 °C (Logan et De Vos 2009). Des renseignements additionnels sur les exigences de croissance propres aux souches figurant sur la LIS sont présentés à l'annexe A.

1.1.2.2 Survie, persistance et dispersion dans l'environnement

B. cereus a la capacité de former des spores; par conséquent, ses cellules végétatives sont en mesure de coloniser une variété de niches et ses spores peuvent persister pendant une période indéfinie dans plusieurs environnements (Kotiranta et coll. 2000). *B. cereus* forme des endospores qui peuvent survivre dans des conditions environnementales sous-optimales. Ces endospores ont une couche externe solide semblable à la kératine et résistante à la chaleur, aux agents chimiques, aux radiations, aux désinfectants et au dessèchement et résistent souvent à des températures de 126 °C pendant plus de 90 minutes (Pillai et coll. 2006). Les spores sont présentes dans de nombreux types de sol et dans les sédiments, la poussière et le matériel végétal, sont décrites comme omniprésentes dans la nature (Stenfors Arnesen et coll. 2008) et pourraient se répandre de façon passive dans l'environnement. Les spores ne se détruisent pas facilement par les moyens utilisés pour éliminer les cellules végétatives, et elles peuvent germer au contact de matière organique, ou une fois à l'intérieur d'un insecte ou d'un animal hôte (Stenfors Arnesen et coll. 2008).

Néanmoins, les conditions requises pour la croissance et la survie varient selon la souche (Bassen et coll. 1989; Gibriel et Abd-el Al 1973; Jaquette et Beuchat 1998; Rizk et Ebeid 1989; Rosslund et coll. 2003). Pour la plupart des souches, la température optimale de croissance se situe entre 30 °C et 37 °C, et il n'y a normalement aucune croissance au-dessus de 55 °C ou en dessous de 5 °C. Le pH optimal varie selon le milieu de culture utilisé et aucune croissance n'est observée dans un milieu présentant un pH inférieur à 4,3 ou supérieur à 10,5 (Andersson 1995).

Des données de tests de persistance ont été obtenues par Environnement et Changement climatique Canada pour la souche ATCC 14579 de *B. cereus* dans des sols agricoles. Après l'inoculation de cellules vivantes dans le sol, des échantillons ont été prélevés à divers moments, et la présence d'ADN de la souche ATCC 14579

de *B. cereus* a été recherchée par AFLP PCR spécifique. L'ADN de cette souche a été détectée jusqu'à 127 jours suivant l'inoculation (Xiang et coll. 2010). Aucune donnée de persistance n'était disponible pour la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*). Dans une autre étude (West et coll. 1985) où un sol sec naturel (non autoclavé) avait été inoculé artificiellement par 10^4 spores de *B. cereus*, le niveau de population était passé à 10^5 pendant la durée de l'expérience (64 jours). Cela correspond au fait que les spores peuvent se maintenir dans l'environnement et sont résistantes à certains facteurs qui normalement causent le déclin des cellules végétales suite à une inoculation artificielle. Par conséquent, il est raisonnable de penser que le relâchement répété de spores de *B. cereus* dans l'environnement naturel pourrait mener à l'augmentation du nombre de spores qui se maintiendraient dans ces milieux.

B. cereus est un microorganisme persistant qui est fréquemment isolé des milieux naturels. Cependant, les études des ouvrages scientifiques qui contiennent des données sur les niveaux des populations sont très limitées. Une étude (Tucker et McHugh 1991) a montré que, dans divers sols contenant des populations florales variables, la concentration de *B. cereus* atteignait 6×10^4 UFC/g de sol. En outre, aucun rapport pertinent sur la persistance environnementale des toxines produites par *B. cereus* n'a été retrouvé. Bien qu'un apport important de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) dans l'environnement pourrait entraîner des concentrations plus élevées que les concentrations de fond de *B. cereus*, il est peu probable qu'un grand nombre de cellules végétatives se maintiennent dans l'eau et dans le sol en raison de la concurrence (Leung et coll. 1995) et de la microbiostase (van Veen et coll. 1997), un effet inhibiteur du sol, entraînant la baisse rapide des populations de bactéries introduites. Les spores de *B. cereus* risquent néanmoins de persister et de s'accumuler dans l'environnement comme il est indiqué plus haut. Aucun rapport documentant l'élimination de spores après une contamination environnementale n'a été retrouvé dans la littérature scientifique.

Il a été démontré que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* est capable de produire une substance inhibitrice du type bactériocine (*bacteriocin-like inhibitory substance* – BLIS) très active contre les espèces de *Bacillus* étroitement apparentées (Risoen et coll. 2004). Cependant, il n'existe actuellement aucun rapport ou article de recherche publié indiquant que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* est nuisible au microbiote dans l'environnement au niveau des populations (aux fins de la présente évaluation, cela indique un nombre important d'organismes de la même espèce vivant dans une zone donnée). On ne sait pas si la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) produit la substance BLIS ou des composés similaires.

1.1.2.2 Participation au cycle biogéochimique

Il est fort probable que *B. cereus* participe au cycle des nutriments biogéochimiques, puisqu'il produit une large gamme d'enzymes extracellulaires et qu'il peut croître sur des matières organiques en décomposition (Borsodi et coll. 2005). Par conséquent,

il est en mesure de jouer un rôle dans la décomposition et le recyclage des matières organiques du sol, lorsqu'il apparaît dans un état végétatif; cependant, c'est principalement à l'état de spores qu'il est le plus répandu dans le sol. *B. cereus* est également capable de réduire les nitrates en nitrites et en ammonium et peut donc jouer un rôle dans le cycle de l'azote (Andersson 1995).

1.1.2.3 Transfert génétique

Différents plasmides se retrouvent dans différentes souches de *B. cereus* (annexe C) et certains abritent des gènes liés à la pathogénicité ou à l'adaptation environnementale (Helgason et coll. 2000a; Hoffmaster et coll. 2004; Rasko et coll. 2005; Rasko et coll. 2007). En général, ces plasmides sont présents en petit nombre de copies et ne sont pas autotransmissibles, mais ils peuvent être mobilisés avec l'aide d'autres plasmides portant des homologues d'éléments clés d'un système de sécrétion conjugatif (Van der Auwera et Mahillon 2005). La transduction (transfert horizontal de gènes par transmission phagique) est un mécanisme potentiellement important du transfert de gènes dans les milieux naturels. Le bactériophage CP-51, un phage transducteur généralisé pour *B. cereus*, *B. anthracis* et *B. thuringiensis*, assiste la transduction de l'ADN plasmidique (Ruhfel et coll. 1984). Le seul plasmide présent dans la souche ATCC 14579 de *B. cereus* est le plasmide linéaire pBClin15 (Ivanova 2003) qui ressemble beaucoup au phage Bam35, un virus bactérien commun (Stromsten et coll. 2003), mais aucun événement de transduction n'a été associé à pBClin15 dans la littérature scientifique. Les plasmides présumés de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) sont de petite taille (3 kb et 5 kb), et il est peu probable qu'ils contiennent beaucoup de gènes.

Les séquences d'insertion (*insertion sequence* – SI) sont un autre type d'élément mobile pouvant participer au transfert génétique horizontal. Les éléments SI sont composés de répétitions inversées flanquant un gène de transposase (De Palmenaer et coll. 2004) et ont été trouvés chez divers membres du groupe *B. cereus*. IS231 participait à la translocation de cassettes d'insertion mobiles pouvant contenir certains gènes participant à la résistance aux antibiotiques ou l'adaptation à l'environnement (Chen et coll. 1999; De Palmenaer et coll. 2004). Une variante IS231 a été identifiée dans la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et est composée de deux gènes présumés. L'un est identique à 60 % à une déhalogénase d'halogénoacide et l'autre est identique à 55 % à une acétyltransférase (De Palmenaer et coll. 2004).

Des introns du groupe II ont aussi été identifiés dans le génome des membres du groupe *B. cereus* (chromosome et plasmides), incluant une copie de la souche ATCC 14579. Même s'ils ne contiennent aucun gène de pathogénicité, ces introns sont des rétroéléments autoépisseurs mobiles participant au transfert génétique (Tourasse et Kolsto 2008). D'autres éléments pouvant faciliter le transfert génétique pourraient aussi être présents chez *B. cereus*. Økstad et coll. (2004) ont découvert un élément répété d'ADN spécifique au groupe *B. cereus*, bcr1. Cet

élément est présent dans la souche ATCC 14579 de *B. cereus* dans 54 copies et il présente les caractéristiques d'un élément mobile. Par conséquent, *bcr1* pourrait participer au transfert génétique horizontal au sein du groupe *B. cereus*. En outre, l'analyse complète par Ivanova et coll. (2003) du génome de la séquence de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* a révélé la présence de 28 gènes de la transposase, qui participent au transfert horizontal de gènes (Kolsto et coll. 2009).

Le transfert génétique est possible et pourrait augmenter le potentiel de risque de *B. cereus*, comme cela s'est produit lorsque la souche G9241 a acquis l'îlot de pathogénicité de l'anthrax du plasmide pXO1 de *B. anthracis*. Cependant, la présence de cellules végétatives semble essentielle à la conjugaison (Santos et coll. 2010). Puisque *B. anthracis* existe naturellement dans l'environnement, surtout sous forme de spores dormantes, et que ses cellules végétatives survivent mal hors de l'hôte, l'acquisition de plasmides de *B. anthracis* par d'autres membres du groupe *B. cereus* est très rare. Elle pourrait être limitée aux régions où l'anthrax est endémique ou, minimalement, y être plus fréquente (Hoffmaster et coll. 2006). De plus, la croissance de *B. anthracis* à l'extérieur d'un hôte entraîne habituellement une perte de virulence (Dragon et Rennie 1995). En laboratoire, le transfert conjugatif d'un plasmide insecticide de *B. thuringiensis* à *B. anthracis* a été observé à un ratio variant de $6,9 \times 10^{-4}$ à $1,9 \times 10^{-7}$, mais aucun isolat *B. anthracis* naturellement insecticide n'a encore été rapporté (Yuan et coll. 2010). La conjugaison des plasmides pAW63 et pXO16 de *B. thuringiensis* à une souche de *B. cereus* et entre des souches de *B. thuringiensis* a été rapportée dans des matrices alimentaires en laboratoire (Van der Auwera et coll. 2007). Le transfert conjugal du plasmide pHT73- EM^R de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* à la souche ATCC 14579 de *B. cereus* présentait des fréquences de $1,1 \pm 0,90 \times 10^{-9}$ sur un filtre de nitrocellulose et n'était pas détecté sur un milieu de culture LB ou des larves de *Bombyx mori* (Santos et coll. 2010).

Bien qu'il soit possible que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) puissent acquérir des plasmides de virulence de parents pathogènes, la probabilité d'une telle occurrence n'est pas plus élevée que pour d'autres souches naturelles de *B. cereus*. Les souches figurant sur la LIS ne contiennent pas de plasmides porteurs de facteurs de virulence, de sorte qu'elles ne peuvent pas participer au transfert conjugal des facteurs de virulence à d'autres bactéries dans l'environnement.

1.1.2.4 Résistance aux antibiotiques, aux métaux et aux agents chimiques

La résistance de *B. cereus* à différents antibiotiques est très variable selon les souches (Bernhard et coll. 1978; Weber et coll. 1988). La plupart des souches de *B. cereus* produisent la β -lactamase et sont donc considérées résistantes aux agents antimicrobiens de la β -lactame (Coonrod et coll. 1971). La plupart des souches de *B. cereus* se sont révélées résistantes à différents antibiotiques : pénicilline, pénicilline semi-synthétique, céphalosporine (Stretton et Bulman 1975; Weber et coll. 1988), ampicilline, colistine, polymyxine, kanamycine, tétracycline,

bacitracine et céphaloridine (Bernhard et coll. 1978; Wong et coll. 1988). Mols et coll. 2007 ont rapporté que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* était résistante aux antibiotiques ciblant les parois cellulaires, comme la céfazoline, le kétoprofène et le moxalactame. Même avec le régime antibiotique approprié, la littérature scientifique présente des exemples d'infections à *B. cereus* réfractaires conduisant à un résultat fatal (Musa 1999; Tuladhar 2000). Les tests de sensibilité aux antibiotiques menés par Santé Canada sur dix catégories d'antibiotiques ont révélé que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* présentait une résistance élevée à l'amoxycilline, à l'aztréonam et au triméthoprim et une sensibilité intermédiaire au céphotaxime et à l'acide nalidixique, mais une sensibilité à la doxycycline, à l'érythromycine, à la gentamicine et à la vancomycine (tableaux 1 et 4). Le profil de sensibilité de la souche 11685-3 B de *B. subtilis* (*B. cereus*) aux antibiotiques n'est pas disponible.

Tableau 1-4 : Concentrations inhibitrices minimales (CIM, µg/mL) pour la souche ATCC 14579 de *B. cereus*

Antibiotique	Points d'effet de la CIM ^a (µg/mL)	Souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i> ^b	Interprétation des résultats
Amoxycilline	N. D.	> 24	N. D.
Aztréonam	N. D.	> 24	N. D.
Céphotaxime	S ≤ 8; I 16-32; R ≥ 64	> 12	I
Doxycycline	N. D.	< 0,37	N. D.
Érythromycine	S ≤ 0,5; I 1-4; R ≥ 64	< 0,37	S
Gentamicine	S ≤ 4; I 8; R ≥ 16	1,5	S
Acide nalidixique	N. D.	6	N. D.
Triméthoprim	R ≥ 4	> 24	R
Vancomycine	S ≤ 4	1,5	S

S = sensibilité; I = sensibilité intermédiaire; R = résistance; N. D. = données non disponibles.

^a Les points d'effet pour déterminer la sensibilité de la souche proviennent de la méthode *Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Test of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria* (Approved Guideline – Second Edition), Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI 2012).

^b Travaux réalisés selon la méthode d'essai liquide TSB-MTT (Seligy et coll. 1997). Les valeurs indiquées sont basées sur un minimum de trois expériences indépendantes. Les valeurs correspondent à la concentration inhibitrice minimale (µg/ml) pour la souche ATCC 14579 de *B. cereus* (20 000 UFC/puits), cultivée en présence de l'antibiotique pendant 72 heures à 37 °C.

1.1.2.5 Caractéristiques pathogènes et toxigènes

Toxines

B. cereus peut causer deux types d'intoxication alimentaire : un syndrome de vomissement, qui se traduit par des vomissements sous l'action de la toxine émétique cereulide et un syndrome diarrhéique produit par l'action de diverses entérotoxines (Granum 2001; Kotiranta et coll. 2000; Stenfors Arnesen et coll. 2008). La cereulide est une toxine peptidique qui doit être présente dans l'aliment au moment de l'ingestion pour provoquer des vomissements, mais la présence de cellules vivantes n'est pas requise pour causer le vomissement (Agata et coll. 2002). En ce qui concerne le syndrome diarrhéique, on ne sait pas si les

entérotoxines présentes dans les aliments ou produites dans l'intestin grêle par des bactéries vivantes causent l'effet. Cependant, les entérotoxines sont instables à un pH < 4 et peuvent être dégradées par la pepsine, la trypsine et la chymotripsine (Granum 1994), de sorte qu'il est probable qu'elles sont produites dans l'intestin grêle. Cinq toxines ont été proposées comme causes potentielles du syndrome diarrhéique : HBL, NHE, BceT, EntFM et CytK, mais trois d'entre elles seulement (HBL, NHE et CytK) ont été associées à des flambées épidémiques d'origine alimentaire (Agata et coll. 1995a; Lund et coll. 2000; Lund et Granum 1997; Stenfors Arnesen et coll. 2008; Schoeni et Lee Wong 2005).

Les deux souches – la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) – produisent les entérotoxines hémolysine BL [HBL], l'entérotoxine non hémolytique [Nhe], des hémolysines (hémolysine II [HlyII] et III [HlyIII]) et la phospholipase C (PLC), dont trois variantes sont reconnues : hydrolase du phosphatidylinositol (PIH), hydrolase de la phosphatidylcholine (PC-PLC) et sphingomyélinase (SMase) (voir l'annexe D) (Ivanova et coll. 2003). Des analyses PCR non publiées, réalisées par les scientifiques de Santé Canada, ont confirmé la présence des entérotoxines dans le chromosome de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) (Tableau 1-5). Le gène codant pour la toxine émétique est situé sur un plasmide, pCER270, qui n'est pas porté par la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*), ce qui rend ces souches improbables pour la production de la cereulide (Haggbloom et coll. 2002). La phospholipase C et les hémolysines produites par *B. cereus* sont des toxines nécrotiques qui imitent les effets de certaines toxines staphylococciques ou clostridiales, entraînant des infections non gastro-intestinales envahissantes (Turnbull et Kramer 1983).

Tableau 1-5 : Gènes de toxine identifiés par PCR dans la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*)

Gène de toxine	Souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i>	Souche 11685-3 de <i>B. subtilis</i> (<i>B. cereus</i>)
Entérotoxine hémolytique BL (<i>hblA</i> , <i>hblC</i> , <i>hblD</i>)	+	+
Entérotoxine non hémolytique <i>Nhe</i>	+	+
Entérotoxine FM1	+	+
Cytotoxine K	+	+
Phospholipase C spécifique du phosphatidylinositol	+	+
Céréolysine A, B	+	+
Céréolysine O	+	+
Hémolysine II	+	-
Hémolysine III	+	+
Protéine insecticide végétative	-	-

Gène de toxine	Souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i>	Souche 11685-3 de <i>B. subtilis</i> (<i>B. cereus</i>)
Protéine cristalline	-	-

Adhésion des bactéries et formation de biofilms

L'adhésion des entéropathogènes à l'épithélium intestinal est une première étape essentielle à la colonisation. La fixation de la bactérie est liée à la présence des fimbriae, qui reconnaissent un site spécifique à la surface des entérocytes. La couche de surface cristalline (couche S) était aussi potentiellement en cause, mais sa présence n'a pas été détectée à la surface cellulaire de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* (Kotiranta et coll. 1998). Les composantes entérotoxines sont exprimées sur la membrane cellulaire de la bactérie ou sécrétées dans la lumière intestinale. À cet endroit, les toxines causent la diarrhée en perturbant l'échange d'eau et d'électrolytes (Belaiche 2000). Il a été suggéré que les entérotoxines HBL, Nhe et CytK de *B. cereus* forment des pores dans la membrane des cellules épithéliales de l'intestin, ce qui cause une lyse osmotique (Beecher et Wong 1997; Hardy et coll. 2001; Haug et coll. 2010).

Dans une étude récente, on a suggéré que le pilus en surface protège *B. cereus* de la clairance intraoculaire précoce (Callegan et coll. 2017). Cela pourrait potentiellement contribuer à sa virulence lors du début précoce de l'endophtalmie. Cependant, les deux espèces sauvages avec pilus (souche ATCC 14579) ainsi que le mutant sans pilus ont entraîné une perte de vision importante lorsque les infections n'ont pas été traitées.

Les couches d'exine sont externes, lâches, hydrophobes, glycosylées et de type ballon (Abhyankar et coll. 2013). En plus d'augmenter la résistance des spores, ces couches leur confèrent la capacité d'adhérer aux surfaces (Abhyankar et coll. 2013). Une centaine de protéines avec exine et couche de spores ont été identifiées dans la souche ATCC 14579, dont 11 sont supposées participer expressément à la fixation des spores aux surfaces (Abhyankar et coll. 2013). L'exine ressemble à une couche duveteuse dans laquelle la BclA est la principale glycoprotéine sur une couche basale paracristalline (Lequette et coll. 2011b). Il a été démontré que la BclA est un facteur clé dans l'adhésion des spores de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* sur les surfaces en acier inoxydable (Lequette et coll. 2011a). Les séquences de BclA sont bien conservées au sein du groupe *B. cereus* (Lequette et coll. 2011b).

La formation d'un biofilm est en général associée à la pathogénicité et à une augmentation de la résistance aux agents antimicrobiens. On a signalé que l'espèce *B. cereus* a la capacité de former des biofilms. Cependant, aucune formation de biofilm n'a été observée pour la souche ATCC 14579 de *B. cereus* après l'incubation d'une culture en phase exponentielle à une densité optique (600 nm) de 0,01 dans un milieu LB sur une plaque 96 puits en PVC, pendant 72 h à 30 °C, et la formation

de biofilm a été observée dans les mêmes conditions chez la souche ATCC 10987 de *B. cereus* (Auger et coll. 2006). Dans une autre étude, la souche ATCC 14579 de *B. cereus* avait formé des biofilms sur un milieu Y1 après 24 heures à 20 °C et 30 °C, mais le biofilm s'était dispersé après 48 heures (Wijman et coll. 2007). Les auteurs de cette étude ont conclu que la formation de biofilm était fortement dépendante du temps d'incubation, de la température et du milieu, de même que de la souche utilisée. Dans une autre étude, on a observé que la disponibilité en fer libre augmentait la formation de biofilm de la souche ATCC 14579 (Hayrapetyan et coll. 2015). On ne sait pas si la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) forme des biofilms. La capacité des souches de *B. cereus* de former des biofilms a un grand impact sur l'industrie alimentaire en tant que source possible de contamination (Ribeiro et coll. 2017).

Métabolites secondaires

D'autres facteurs de virulence propres à *B. cereus* comprennent les protéases, notamment les métalloprotéases (Cadot et coll. 2010; Guillemet et coll. 2010), et d'autres enzymes dégradantes jouent un rôle dans l'établissement et le développement des infections, ainsi que dans le contournement du système immunitaire de l'hôte (annexe E). Certaines d'entre elles participaient à des infections cibles humaines et non humaines (annexe F). Le facteur de transcription PlcR est considéré comme un facteur de virulence, car il participe à l'expression de la plupart des facteurs de virulence connus chez *B. cereus*, y compris HBL, Nhe, CytK, les PLC et plusieurs protéases dans *B. cereus* figurant sur la LIS et peuvent être en partie responsables de la variabilité de la virulence parmi les souches de *B. cereus* (Gohar et coll. 2008). La capacité de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* de croître à 37 °C, comme le montre l'annexe A, est une autre préoccupation du point de vue de la santé humaine.

Essais de cytotoxicité

Des données non publiées générées par Santé Canada sur la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) (cellules et/ou filtrats de culture) ont indiqué une activité cytotoxique pointant vers une lignée cellulaire du cancer du côlon humain et une lignée cellulaire de macrophages de la souris à 37 °C, ce qui est conforme aux résultats d'autres laboratoires. La toxicité de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) était importante, mais nettement inférieure à celle de la souche ATCC 14579 de *B. cereus*. La souche ATCC 14579 de *B. cereus* présentait une cytotoxicité élevée pour les cellules Vero cultivées à 37 °C et à 15 °C par le BHIG (L. P. Stenfors Arnesen, communication personnelle⁶). Linbäck et coll. (1999) ont démontré l'effet cytopathogène de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* (surnageant) sur les cellules Vero, et une forte activité hémolytique

⁶ Lotte Pia Stenfors Arnesen, professeur adjoint et chef du laboratoire de microbiologie alimentaire à l'École des sciences vétérinaires de Norvège (NVH), Département de salubrité et d'infections alimentaires, Oslo, Norvège.

contre les érythrocytes ovins, les deux à 37 °C. Bien que la cytotoxicité soit manifeste dans ces études, les résultats varient selon les températures de croissance.

Gènes de virulence

En raison de la grande similitude génétique entre les membres du groupe *B. cereus*, les isolats cliniques partageant les toxines connues pour être présentes dans la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) sont considérés comme de bons substituts pour caractériser les dangers potentiels pour la santé humaine de la souche ATCC 14579 de *B. cereus*. Toutefois, il convient de reconnaître que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) diffèrent des souches hautement pathogènes du groupe *B. cereus* dans la mesure où elles ne contiennent pas les plasmides de virulence associés au syndrome émétique de *B. cereus* ou à l'anthrax (Didelot et coll. 2009; Helgason et coll. 2000b; Kolsto et coll. 2009; Rasko et coll. 2005; Vassileva et coll. 2006). La souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) peuvent également être différenciées des souches hautement pathogènes du groupe *B. cereus* d'après leurs séquences du génome et leur position phylogénétique dans le clade II du groupe *B. cereus*. Le clade II comprend la majorité des isolats de *B. thuringiensis* (Priest et coll. 2004), qui comprennent également des isolats cliniques (Barker et coll. 2005; Hoffmaster et coll. 2008), tandis que les souches hautement pathogènes (souches émétiques de *B. anthracis* et de *B. cereus*) sont groupées dans le clade I. Guinebretière et coll. (2008) ont proposé une nouvelle classification du groupe *B. cereus*, basée sur le polymorphisme AFLP. Cette nouvelle classification comprend sept groupes, dont chacun est associé à une plage particulière de températures de croissance et à un potentiel de pathogénicité. Selon cette classification, la souche ATCC 14579 appartient au groupe IV, qui comprend les souches de *B. cereus* et *B. thuringiensis* qui croissent à 37 °C et qui sont en cause dans l'intoxication alimentaire (Guinebretière et coll. 2008).

1.1.3 Effets

1.1.3.1 Environnement

B. cereus peut avoir divers effets sur les espèces autres qu'humaines, tout dépendant de l'hôte et la méthode d'exposition (annexe F). Mentionnons, entre autres, la diarrhée (singes), la mammite (bovins), l'inflammation (lapins) et la mort (différents organismes).

Vertébrés

On a étudié quatre cas de mammite chez les bovins, dont certains ont été mortels (annexe F). On sait cependant qu'un traitement approprié permet aux animaux de survivre à une telle infection (Schiefer et coll. 1976). Chez les vertébrés, des effets

ont été rapportés par différentes sources, incluant une inflammation nécrotique au site d'injection sous-cutanée, l'accumulation de liquide dans un modèle d'anse iléale de lapin, une augmentation de la perméabilité vasculaire, la présence d'abcès ou de nodules après l'injection intradermique, une calcification et une ulcération nécrotique de la peau après l'injection intramusculaire chez les lapins, la diarrhée après l'ingestion chez les singes, des avortements spontanés chez les bovins et les ovins ayant reçu des doses élevées par injection intraveineuse, ainsi que la mortalité chez les souris. Des détails précis sur ces expériences sont présentés à l'annexe F. D'après les renseignements disponibles, il convient de noter que les effets pathogènes indiqués à l'annexe F ne devraient pas toucher le biote dans l'environnement, car la voie d'administration a contourné les barrières physiques naturelles contre l'infection, ou encore les concentrations de bactéries utilisées étaient plus élevées que celles auxquelles on pourrait s'attendre dans le milieu naturel.

Un certain nombre d'études expérimentales visaient une variété d'organismes cibles avec *B. cereus* (avec la souche ATCC 14579 de *B. cereus* lorsque cela est indiqué par un astérisque [*]). Ces organismes comprenaient des cobayes, des lapins, des souris*, des bovins, des singes et des chats. Les modes d'exposition comprenaient notamment l'ingestion libre et le gavage, l'injection (intraveineuse, intradermique, intravitréenne, intrapéritonéale, sous-cutanée), l'instillation nasale ou l'exposition cutanée à des cultures ou des surnageants acellulaires. Les objectifs de ces études étaient variables et comprenaient entre autres la caractérisation du rôle de gènes spécifiques dans la virulence, l'étude des propriétés opportunistes de *B. cereus* et l'utilisation de modèles pour la pathogénicité humaine de *B. cereus*.

B. cereus a été désigné comme agent causal dans une éclosion ayant provoqué la mort subite de 12 perroquets appartenant à plusieurs espèces dans un zoo (Godoy et coll. 2012). *B. cereus* a été isolée dans le sang et dans des organes stériles. De vastes zones d'hémorragie pulmonaire, de congestion hépatique, d'entérite hémorragique et de congestion cardiaque ont été observées à la nécropsie.

On ne dispose d'aucune donnée ou d'aucun renseignement spécifique sur les effets de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) sur les vertébrés.

Invertébrés

Selon deux études réalisées sur des invertébrés, l'isolat WGPSB-2 de *B. cereus* présentait un certain potentiel comme agent de lutte biologique contre les vers blancs (Selvakumar et coll. 2007; Sushil et coll. 2008). Dans une autre étude, on a examiné les effets de plusieurs espèces bactériennes sur les vers blancs (insectes ravageurs connus de la pomme de terre), et on a indiqué que la souche CRPI14 de *B. cereus* provoquait la mortalité la plus élevée (51,85 % après sept jours) (Sharma et coll. 2013). La mortalité avait augmenté pendant toute la durée de l'étude pour atteindre 100 % trente jours après le traitement.

B. cereus a été impliqué dans un cas du syndrome de nécrose de l'hépatopancréas chez *Litopenaeus vannamei* (des crevettes d'élevage), avec plusieurs autres espèces bactériennes (Huang et coll. 2016). *B. cereus* avait précédemment été signalée comme agent causal dans la maladie des taches blanches qui peut causer de graves flambées dans l'élevage des crevettes, avec une mortalité de plus de 70 % dans les trois à cinq jours suivant l'apparition du foyer de la maladie (Velmurugan et coll. 2015). Les symptômes de la maladie des taches blanches comprennent des changements de coloration dans la carapace et les muscles, la nécrose et la perte d'appétit.

Un certain nombre d'études expérimentales ont mis en cause divers organismes ciblés avec *B. cereus* (et en particulier la souche ATCC 14579 de *B. cereus*, lorsque cela est indiqué par un astérisque [*]) (annexe F). Ces organismes comprennent des insectes et crustacés : lépidoptères*, blattes*, galleries et coléoptères). Certaines méthodes d'exposition comprenaient l'ingestion libre et l'injection (intra-hémocoelique et intracoelomique). Les objectifs des études étaient variés et comprenaient certains des objectifs suivants : la caractérisation du rôle de gènes spécifiques dans la virulence, l'étude des propriétés opportunistes de *B. cereus*, la pertinence d'organismes spécifiques comme modèle d'infection orale pour les bactéries entomopathogènes, l'étude des agents pathogènes naturels pour différents ravageurs, des essais de pathogénicité dans le but de caractériser les causes de décès larvaire, la purification et l'identification d'une exotoxine bactérienne du sol.

Les résultats des études mentionnées ci-dessus varient aussi selon les organismes, les souches de *B. cereus* et les modes d'exposition. Dans de nombreuses études sur les invertébrés lépidoptères, la toxine cristalline insecticide de *B. thuringiensis* (Cry1C) avait été administrée conjointement avec des spores de la souche ATCC 14579 de *B. cereus*. Les spores de *B. cereus* ont contribué de façon synergétique à la mortalité dans ces études, alors que la mortalité en l'absence de Cry1C était faible. Néanmoins, une souche spécifique de *B. cereus* a été identifiée comme pathogène des lépidoptères selon les postulats de Koch, chez *Trichoplusia ni*, et il a été démontré que la sphingomyélinase de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* est toxique pour les vers à soie et les blattes. Les larves du scolyte de l'orme en suspension dans une culture de *B. cereus* ont affiché un taux de mortalité de 63,6 %. *B. cereus* est aussi pathogène en inoculation orale pour les larves du dendroctone méridional du pin et affiche des degrés divers de toxicité et de mortalité en ingestion libre pour l'anthronome du cotonnier et le puceron noir des fèves (mais non pour la noctuelle africaine du coton). Les puces d'eau exposées à des cultures de *B. cereus* sont mortes en huit à seize jours. Des essais de pathogénicité et de toxicité sur des organismes terrestres ont également été effectués dans les laboratoires d'Environnement et Changement climatique Canada⁷. Les résultats des essais chroniques avec la souche ATCC 14579 de

⁷ Les essais ont été réalisés par la Section de l'évaluation biologique et de la normalisation, Laboratoire de biotechnologie des sols, selon la méthode « Guide des essais de pathogénicité et de

B. cereus, sur les espèces d'invertébrés *Folsomia candida* (collemboule nivicole; un invertébré du sol) n'ont démontré aucun effet sur la mortalité des adultes, mais une dépression dans la reproduction juvénile à 10^8 UFC/g sol (Environnement Canada 2010). Aucune donnée sur les effets de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) sur le collemboule nivicole n'est disponible.

Végétaux

Des essais de pathogénicité et de toxicité de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* sur des plantes ont été réalisés dans les laboratoires d'Environnement Canada. Des essais menés sur *Festuca rubra* (fétuque rouge) ont démontré une diminution significative de la longueur de la pousse (réduction de 21 % comparativement aux témoins), de la longueur des racines (réduction de 28 %) et de la masse sèche des racines (réduction de 42 %), mais aucun effet sur la masse sèche de la pousse par rapport à la croissance des témoins dans les essais (Environnement Canada 2012). Malgré les effets néfastes observés chez la fétuque rouge à la concentration utilisée, cette souche n'est pas soupçonnée d'être un pathogène végétal franc, et on ne s'attend pas à ce qu'elle soit utilisée à la même concentration sur des végétaux dans des applications industrielles ou sous forme de produits de consommation. On ne dispose d'aucune donnée sur les effets de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) sur la fétuque rouge.

1.1.3.2 Santé humaine

Les maladies intestinales sont les infections les plus fréquentes associées à *B. cereus*. Chez les personnes en bonne santé, les symptômes sont généralement bénins, mais les complications peuvent entraîner une maladie plus grave, voire la mort (Ginsburg 2003; Girish et coll. 2003; Lund et coll. 2000; Shiota 2010; Dierick et coll. 2005). Des flambées de troubles intestinaux dus à *B. cereus* ont été signalées dans le monde entier (annexe G). On lui attribue entre 1 % et 33 % des cas d'intoxication alimentaire (Anonyme 2005) avec des degrés de gravité variés. Le nombre véritable de cas est probablement sous-estimé, puisque la plupart des maladies d'origine alimentaire sont sous-déclarées. Au Canada, les maladies reliées à *B. cereus* ne sont pas à déclaration obligatoire et les flambées épidémiques font l'objet d'une enquête par les services de santé locaux (J. Greig, communication personnelle.). Une seule flambée de maladie d'origine alimentaire a été signalée pour cette espèce. Des éclosions d'intoxication alimentaire ont été signalées au Canada (Todd et coll. 1974; McIntyre et coll. 2008; Gaulin et coll. 2009), mais aucune infection acquise en laboratoire n'a été signalée à ce jour (J. Greig, communication personnelle).

B. cereus cause également des maladies non gastro-intestinales (Bottone 2010; Drowbnieski 1993). L'endophtalmie est une infection grave causée par l'introduction

de la bactérie dans les yeux après un traumatisme ou une chirurgie. Des cas d'endophtalmie ou de panophtalmie, causés par *B. cereus*, ont été signalés dans la littérature. De toutes les infections oculaires causées par un organisme, celle provoquée par *B. cereus* présente l'un des développements les plus rapides (Brinton et coll. 1984) et elle est l'une des plus destructrices (Levin et D'Amico 1991; Parke 1986; Pflugfelder et Flynn 1992). Une expérience menée sur des lapins par Callegan et coll. 2003 a démontré une endophtalmie reproductible causée par la souche ATCC 14579 de *B. cereus*. Malgré une intervention énergique menée avec des médicaments ou une intervention chirurgicale, l'endophtalmie à *B. cereus* entraîne habituellement une migration des bactéries à travers l'œil, une progression remarquablement rapide et une réponse inflammatoire intraoculaire grave, entraînant la perte fonctionnelle de la vue en 24 à 48 heures (Davey et Tauber 1987; Vahey et Flynn 1991).

B. cereus peut produire une variété d'infections de la peau et des tissus mous, y compris la cellulite (Dancer et coll. 2002; Latsios et coll. 2003) et la cellulite nécrosante (Darbar et coll. 2005; Hutchens et coll. 2010; Sada et coll. 2009). Des infections de plaies, principalement chez les personnes en bonne santé, ont été signalées à la suite de traumatismes, de chirurgies et de brûlures (Crane et Crane 2007; Dubouix et coll. 2005; Moulder et coll. 2008; Pillai et coll. 2006; Ribeiro et coll. 2010; Shimon et coll. 2008; Stansfield et Caudle 1997). L'utilisation de cathéter a souvent été associée à l'infection par *B. cereus* (Crane et Crane 2007; Flavelle et coll. 2007; Koch et Arvand 2005; Monteverde et coll. 2006; Ruiz et coll. 2006; Srivaths et coll. 2004).

L'endocardite due à *B. cereus* est une condition rare associée aux dispositifs intraveineux ou à l'injection de drogues à usage récréatif (Abusin et coll. 2008). La morbidité et la mortalité associées à l'endocardite à *B. cereus* sont élevées chez les patients atteints de cardiopathie valvulaire (Cone et coll. 2005; Steen et coll. 1992).

B. cereus a causé chez des nouveau-nés quelques cas de méningo-encéphalite (Evreux et coll. 2007; Lebessi et coll. 2009; Lequin et coll. 2005; Manickam et coll. 2008; Puvabanditsin et coll. 2007) et de bactériémie (Girisch et coll. 2003; Hilliard et coll. 2003; John et coll. 2007; Tuladhar et coll. 2000; Van Der Zwet et coll. 2000). La méningo-encéphalite néonatale causée par *B. cereus* est rare, mais le taux de mortalité en est élevé. Les cas d'infection peuvent souvent être retracés à des appareils médicaux. Une bactériémie causée par *B. cereus* a été signalée chez des utilisateurs de drogue injectable (Benusic et coll. 2015).

Certains cas de pneumonie à *B. cereus* ont été signalés. Les infections pulmonaires dues à *B. cereus* sont rares par rapport à celles qui sont attribuées à *B. anthracis*, mais elles peuvent être tout aussi dangereuses pour la vie chez les personnes immunodéprimées. Les personnes touchées sont en majorité des travailleurs du secteur des métaux et des personnes immunodéficientes, qui sont plus sensibles aux infections. Avashia et coll. (2007) signalent le cas de deux travailleurs dans le secteur des métaux, en bonne santé, décédés des suites d'une pneumonie causée

par *B. cereus*. Un autre cas mortel d'un ouvrier dans le secteur des métaux s'est produit dans une région où l'anthrax est naturellement présent chez les herbivores (Hoffmaster et coll. 2006). Dans chacun de ces cas, le plasmide pX01 (mais non pX02) a été trouvé dans tous les échantillons de *B. cereus* et on présume que la voie d'exposition était l'inhalation. Des cas de pneumonie à *B. cereus* chez des patients atteints de cancer ont été signalés par Frankard et coll. (2004), Fredrick et coll. (2006), Katsuya et coll. (2009), et Sotto et coll. (1995). Dans la plupart des cas, la voie de l'infection était inconnue, mais liée aux infections existantes de *B. cereus* chez les patients. Dans tous les cas, sauf un, l'infection a entraîné le décès. Une enquête menée aux États-Unis a révélé qu'une variété d'espèces du sous-groupe *B. cereus* est couramment présente dans les aérosols urbains en toute saison dans 11 grandes villes américaines, mais la fréquence signalée d'infections respiratoires dues à *B. cereus* est extrêmement faible aux États-Unis (Merrill et coll. 2006).

Les flambées non gastro-intestinales de *B. cereus* (annexe G) sont moins fréquentes et la plupart d'entre elles sont identifiées comme flambées nosocomiales. Les facteurs que sont la saison et la température (en d'autres mots, les mois d'été) ont été mis en cause dans les cas d'infections du flux sanguin par l'acquisition de *B. cereus* chez les patients munis de dispositifs médicaux à demeure en milieu hospitalier (Kato et coll. 2014). En outre, le linge lavé et les travaux de construction ont été mis en cause comme sources de colonisation et d'infection nosocomiales par *B. cereus* (Dohmae et coll. 2008; Balm et coll. 2012; Hosein et coll. 2013).

Une étude chez la souris BALB/c a montré que l'inhalation de spores ou de cellules végétatives de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* avait des effets nocifs. Salimatou et coll. (2000) ont rapporté que 90 % des souris étaient mortes 24 h après l'instillation nasale de 10^7 spores, et que toutes étaient mortes après l'administration de 6×10^6 cellules végétatives. La cause des morts n'a pas été déterminée, mais elles n'ont pas semblé dépendre de la croissance des bactéries chez les souris. Les lacunes de l'étude rendent ses résultats discutables. L'expérience n'a été faite qu'une seule fois, et l'instillation d'un fort volume de spores pourrait avoir causé la mort par asphyxie et hémorragie pulmonaire.

Tayabali et coll. (2010) n'ont signalé aucun effet toxicologique chez les souris BALB/c exposées à 10^7 spores de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* une semaine après leur instillation endotrachéale. Cependant, des signes graves ressemblant à un choc (léthargie, apparence voûtée, pelage ébouriffé, détresse respiratoire) se sont manifestés 4 heures après l'exposition à 10^5 ou 10^6 cellules végétatives. Une augmentation du niveau de cytokine inflammatoire a été observée dans le sang et les poumons, mais toutes les souris ne présentaient pas de réponse, ce qui a donné un écart type élevé. Les tests ont révélé une réponse intermédiaire des cytokines après une exposition à 10^4 et une absence de réponse à

de plus faibles niveaux d'exposition aux cellules végétatives (10^2 et 10^3) (A. Tayabali⁸, communication personnelle).

Dans des études non publiées, réalisées par les scientifiques de Santé Canada, des souris BALB/c ont été exposées par voie endotrachéale à 10^6 spores ou cellules végétatives de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*). La clairance des cellules végétatives et des spores a été rapide et presque complète en une semaine. Les animaux n'ont pas présenté de symptômes ressemblant à des chocs, ni de cytokines pulmonaires ou plasmatiques élevées. Ils ne présentaient pas non plus de concentrations élevées d'amyloïdes A sériques, ce qui indique une réponse systémique en phase aiguë. Ces résultats démontrent que la virulence de cette souche dans un modèle de souris n'était pas aussi forte que celle observée avec la souche ATCC 14579 de *B. cereus*.

Par rapport à l'étude de Salimatou, les études de Tayabali et Santé Canada étaient mieux contrôlées et mieux normalisées en ce qui concerne la production de spores et de cellules végétatives. L'utilisation d'une meilleure méthode, préalable à l'étude, a limité l'effet de la procédure d'instillation sur les résultats finaux.

La gamme d'infections non gastro-intestinales rapportées est plus large chez les personnes immunodéficientes. Des cas de méningite nécrosante, d'hémorragie sous-arachnoïdienne et d'abcès cérébraux ont été rapportés en lien avec des infections systémiques de *B. cereus* chez des patients atteints de leucémie (Gaur et coll. 2001; Nishikawa et coll. 2009). D'autres infections locales et systémiques de *B. cereus* ont été rapportées chez des patients dont l'immunité est compromise (Akiyama et coll. 1997; El Saleeby et coll. 2004; Hernaiz et coll. 2003; Hirabayashi et coll. 2010; Kiyomizu et coll. 2008; Kobayashi et coll. 2005; Le Scanff et coll. 2006; Musa et coll. 1999; Nishikawa et coll. 2009).

Les rapports cliniques démontrent que la gravité de l'infection par *B. cereus* est significativement corrélée avec sa capacité à synthétiser les toxines (Beecher et coll. 2000; Ghelardi et coll. 2002) et qu'elle dépend de la compétence immunitaire de l'hôte et de la virulence du microbe. Comme nous le mentionnons à la section 1.1.3, les gènes codants pour l'hémolysine BL, l'entérotoxine non hémolytique (Nhe), les hémolysines (hémolysine II et III) et la phospholipase C (hydrolase du phosphatidylinositol, hydrolase de la phosphatidylcholine et sphingomyélinase) sont présents dans la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*), et on a montré que toutes deux expriment l'entérotoxine diarrhéogène, d'après des essais réalisés par Santé Canada à l'aide d'une trousse d'essai fondée sur la méthode d'agglutination passive inversée au latex (RPLA) (Denka-Seiken, Campbell [CA], É.-U.) et une trousse d'essai pour *Cereus* Duopath pour les toxines NHE et HBL (Millipore, Etobicoke [Ontario], Canada). L'hémolysine II et les métalloprotéases InHA1 et NprA peuvent aussi

⁸ Azam Tayabali, Bureau de la science de la santé environnementale et de la recherche, Santé Canada.

servir d'indicateurs de pathogénicité (Cadot et coll. 2010). Cependant, il est impossible de prédire quelles souches de *B. cereus* sont en mesure de causer des maladies intestinales en se basant seulement sur la présence de ces facteurs de virulence, car ce ne sont pas toutes les souches contenant ces facteurs de virulence qui induisent des effets néfastes (Anonyme 2005).

1.2 Gravité du danger

1.2.1 Environnement

On estime que le danger potentiel de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) pour l'environnement est moyen. Les facteurs qui contribuent à cette estimation sont les suivants : *B. cereus* est connu comme étant un agent pathogène opportuniste, il a des effets néfastes, mais réversibles à moyen terme, et des traitements efficaces ou des mesures d'atténuation sont disponibles. *B. cereus* peut infecter certains animaux et causer divers effets qui peuvent affaiblir l'hôte et même le tuer, mais dans des circonstances normales, il est peu probable qu'elle présente un danger grave pour le bétail ou les autres organismes en santé dans l'environnement. *B. cereus* peut causer des mammites chez les vaches, mais les animaux affectés se rétablissent rapidement après un traitement aux antibiotiques vétérinaires. On ne trouve dans la littérature scientifique aucun cas démontrant que *B. cereus* nuit à des organismes dans l'environnement au Canada. Selon des données non publiées d'Environnement et Changement climatique Canada, la souche ATCC 14579 de *B. cereus* entraîne une diminution du taux de reproduction chez le collembole nivicole, et une diminution de la longueur des pousses et des racines chez la fétuque rouge.

1.2.2 Santé humaine

Le danger potentiel que représentent pour les humains la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) est considéré comme moyen. Les deux souches, qui figurent sur la LIS, portent les gènes qui encodent l'hémolysine BL, l'entérotoxine non hémolytique (Nhe), les hémolysines (hémolysine II et III) et la phospholipase C (hydrolase du phosphatidylinositol, hydrolase de la phosphatidylcholine et sphingomyélinase), qui sont reconnus comme des facteurs importants de pathogénicité chez les individus sensibles et en bonne santé. *B. cereus* est principalement un pathogène gastro-intestinal et les infections gastro-intestinales chez les humains en bonne santé sont bénignes, se résorbent d'elles-mêmes et sont généralement traitables, même si quelques décès ont été signalés chez les enfants. Les maladies non gastro-intestinales associées à *B. cereus* sont moins fréquentes et sont généralement associées à des interventions médicales invasives. L'éventail des infections non gastro-intestinales signalées, notamment les infections pulmonaires, l'endocardite, la méningo-encéphalite, est plus large chez les individus sensibles (immunocompromis, nouveau-né, patient cancéreux, etc.) et ces infections s'accompagnent d'un taux de mortalité plus élevé.

Les infections de plaies ont également été documentées pour *B. cereus* chez des individus sains. Cependant, elles sont rares et rien n'indique que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) pourrait pénétrer dans la peau intacte et causer une infection cutanée. Comme la peau est une barrière naturelle à l'envahissement du corps humain par les microbes, les infections risquent de survenir uniquement si la peau est endommagée par des abrasions ou des brûlures (Dubouix et coll. 2005). De même, bien que *B. cereus* soit hautement virulente dans les yeux, une infection n'est probable qu'en cas de lésion oculaire antérieure. Il existe des antibiotiques efficaces contre *B. cereus*. Cependant, le traitement de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) pourrait être entravé par la résistance existante à plusieurs médicaments antimicrobiens.

Les risques liés aux micro-organismes utilisés en milieu de travail doivent être catégorisés selon le Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT)⁹.

2. Évaluation de l'exposition

2.1 Sources d'exposition

La présente évaluation examine l'exposition à la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et à la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) résultant de leur ajout délibéré à des produits commerciaux ou de consommation et à leur utilisation dans des procédés industriels au Canada.

La souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) ont été inscrites sur la LIS d'après leur utilisation passée dans les produits commerciaux et de consommation. *B. cereus* est une espèce dont les propriétés présentent un intérêt commercial dans diverses industries.

Les réponses à un questionnaire facultatif envoyé en 2007 à un sous-ensemble d'entreprises clés en biotechnologie, combinées aux renseignements obtenus d'autres programmes réglementaires et non réglementaires fédéraux, ont indiqué qu'entre 10 000 et 100 000 kg de produits contenant potentiellement la souche ATCC 14579 de *B. cereus* (formulation et concentration inconnues) ont été importés ou fabriqués au Canada en 2006-2007 pour être utilisés dans des produits commerciaux et de consommation. Cependant, les réponses à l'enquête indiquent que la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) n'a pas été utilisée.

⁹ Pour déterminer si un ou plusieurs des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE sont remplis, on se fonde sur une évaluation des risques potentiels pour l'environnement ou la santé humaine associés à une exposition dans l'environnement général. Pour ce qui est des humains, cela comprend, entre autres, l'exposition à l'air, à l'eau et à l'utilisation de produits contenant ces substances. Une conclusion formulée en vertu de la LCPE peut ne pas être pertinente et n'exclut pas une évaluation par rapport aux critères précisés dans le *Règlement sur les produits dangereux*, qui fait partie du cadre réglementaire du Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT) pour les produits destinés à être utilisés au travail.

Le gouvernement a lancé une enquête pour la collecte obligatoire de renseignements en application de l'article 71 de la LCPE, publié dans la Partie I de la *Gazette du Canada*, le 23 septembre 2017 (avis en vertu de l'article 71). Cet avis d'enquête s'appliquait à quiconque qui, au cours de l'année civile 2016, fabriquait ou importait la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*), seule, en mélange ou dans un produit. Aucune activité commerciale ou de consommation utilisant la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) n'a été signalée en réponse à l'avis émis en vertu de l'article 71. On a indiqué que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* avait été utilisée dans de très petites quantités pour les activités de recherche et développement (R-D) et d'enseignement.

Les enquêtes de 2007 et de 2017 différaient considérablement en termes d'objectif et d'envergure. Aux fins de la présente évaluation, les résultats de l'enquête de 2017 ont servi à estimer l'exposition à des utilisations actuelles, car l'enquête demandait des renseignements sur les emplois de la souche du micro-organisme inscrit sur la LIS, tandis que l'enquête de 2007 cherchait à connaître les usages des produits qui étaient associés au micro-organisme au moment de sa demande d'inscription sur la LIS. Comme les préparations de ces produits peuvent avoir changé, les renseignements recueillis par l'enquête de 2017 pourraient être plus représentatifs des utilisations actuelles. Les utilisations déclarées dans l'enquête volontaire de 2007 ont également été prises en compte dans l'évaluation des utilisations potentielles.

Bien qu'aucune utilisation à des fins commerciales, industrielles ou de consommation n'ait été signalée pour la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) au cours de l'enquête obligatoire, la souche ATCC 14579 peut être achetée auprès de l'ATCC. Étant donné qu'elle est inscrite sur la *Liste intérieure des substances*, elle peut être utilisée au Canada sans avis préalable, et pourrait constituer un choix judicieux à des fins commerciales. Une recherche dans le domaine public (Internet, littérature et bases de données sur les brevets) a révélé plusieurs applications commerciales, industrielles et de consommation d'autres souches de *B. cereus*. Les utilisations possibles des souches figurant sur la LIS, comme les souches ATCC 14579 et 11685-3, partagent probablement les caractéristiques (modes d'action) d'autres souches de *B. cereus* commercialisées :

- transformation des aliments;
- produits pharmaceutiques;
- pâte et papier et traitement des textiles;
- production de produits biochimiques et d'enzymes;
- biorestauration et biodégradation;
- biolixiviation et bioprospection minière;
- traitement des eaux usées municipales et industrielles;
- applications agricoles, y compris les probiotiques pour bétail et agents antiparasitaires microbiens.

2.2 Caractérisation de l'exposition

La caractérisation de l'exposition est basée sur les activités déclarées lors des enquêtes menées en vertu de l'article 71 (recherche et développement, et enseignement). *B. cereus* est un agent pathogène humain et animal du Groupe de risque 2, et il est réglementé par l'Agence de la santé publique du Canada et l'Agence canadienne d'inspection des aliments. Il est de plus réglementé en vertu de la *Loi sur les agents pathogènes humains et les toxines*. Un [permis](#) en vertu du *Règlement sur les agents pathogènes humains et les toxines* est requis pour les activités réglementées mettant en cause les pathogènes humains du Groupe de risque 2. Les mesures visant à réduire l'exposition des humains et de l'environnement aux pathogènes du Groupe de risque 2 sont décrites dans la [Norme canadienne sur la biosécurité, Deuxième édition](#) (NCB 2015). Ces lignes directrices précisent notamment l'aménagement des laboratoires, pratiques opérationnelles et exigences physiques. Par exemple, tout le matériel doit être confiné et est décontaminé avant d'être éliminé ou réutilisé de façon à prévenir la libération d'un agent infectieux, et l'équipement pour les interventions en cas d'urgence et pour la décontamination doit être facilement accessible et maintenu en bon état de façon à pouvoir être utilisé immédiatement et efficacement.

2.2.1 Environnement

Compte tenu de l'absence d'activité commerciale ou de consommation au Canada selon l'avis émis en vertu de l'article 71, on estime que l'exposition environnementale globale à la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et à la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) est faible. Néanmoins, compte tenu de la plage et de l'ampleur des applications connues et potentielles des espèces *B. cereus* énumérées à la section 2.1, il existe un potentiel d'exposition environnementale accrue aux produits contenant la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*), et des scénarios d'exposition pour ces produits ont été examinés.

Si les utilisations potentielles indiquées à la section 2.1 se concrétisent au Canada, elles pourraient introduire la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) dans les écosystèmes aquatiques et terrestres. Par exemple, l'utilisation de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) pour le traitement des eaux usées ou leur rejet dans les déchets industriels, p. ex. la transformation des pâtes et papiers, la fabrication des textiles et la production de substances biochimiques, pourrait introduire la souche ATCC 14579 de *B. cereus* dans les écosystèmes aquatiques. De même, son utilisation en biorestauration et en biodégradation, ainsi que dans les agents probiotiques et de lutte antiparasitaire, pourrait introduire la souche ATCC 14579 de *B. cereus* dans les écosystèmes terrestres.

L'ampleur de l'exposition des espèces autres qu'humaines à ce microorganisme dépendra de la persistance et de la survie de la souche ATCC 14579 de *B. cereus*

et de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) dans l'environnement, comme il est décrit à la section 1.1.2.2.

Dans l'éventualité où les activités de consommation, commerciales ou industrielles reprenaient, l'exposition environnementale à la souche ATCC 14579 de *B. cereus* pourrait changer selon les scénarios d'exposition décrits ci-dessus.

2.2.2 Exposition des humains

Compte tenu de l'absence d'activité commerciale ou de consommation au Canada selon l'avis émis en vertu de l'article 71, on estime que l'exposition globale des humains à la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou à la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) est faible. Néanmoins, compte tenu de la plage et de l'ampleur des applications connues et potentielles des espèces de *B. cereus* énumérées à la section 2.1, il existe un potentiel d'exposition humaine accrue aux produits contenant la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*), et des scénarios d'exposition à ces produits ont été examinés.

Si les utilisations potentielles indiquées à la section 2.1 devaient se concrétiser au Canada, on pourrait s'attendre à l'exposition des personnes pendant l'utilisation directe et l'application de produits commerciaux ou de consommation contenant la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*). Des contacts cutanés et oculaires, l'ingestion accidentelle et l'inhalation de gouttelettes ou de particules aérosolisées sont des voies probables d'exposition directe des utilisateurs et des observateurs. L'usage de ces produits dans les zones de préparation des aliments pourrait entraîner une contamination des surfaces et des aliments au moment de l'application de ces produits. Des manquements ultérieurs aux bonnes pratiques de manipulation des aliments pourraient permettre à la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou à la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) de proliférer dans les aliments, ce qui pourrait entraîner l'ingestion d'un grand nombre de cellules.

L'exposition humaine peut également survenir bien après le moment de l'application. Après l'application, la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) devraient demeurer viables et établir des communautés là où la matière organique s'accumule (p. ex. comptoirs, drains, éviers, bacs à graisse et décharges d'ordures ménagères). À partir de ces réservoirs, les aérosols contenant la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) pourraient inoculer des surfaces et les aliments. Comme il est mentionné ci-dessus, des lacunes ultérieures dans les bonnes pratiques de manipulation des aliments pourraient permettre aux organismes de proliférer dans les aliments et entraîner l'ingestion d'un grand nombre de cellules menant à l'apparition d'effets néfastes.

Certaines utilisations peuvent introduire la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) dans les plans d'eau, comme il est décrit à la section 2.2.1. L'exposition humaine à la souche via l'environnement devrait

cependant être faible. En outre, les procédés de traitement de l'eau potable devraient éliminer efficacement ces microorganismes et limiter leur ingestion par l'eau potable.

En cas de reprise des activités commerciales, industrielles ou de consommation, l'exposition des personnes à la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou à la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) pourrait changer, selon les scénarios d'exposition décrits ci-dessus.

3. Caractérisation du risque

Dans la présente évaluation, la notion de risque est caractérisée selon un paradigme voulant qu'il doive y avoir à la fois un danger et une exposition possible à ce danger. La conclusion de l'évaluation des risques est fondée sur le danger et sur ce que l'on sait sur l'exposition découlant des utilisations actuelles.

On a estimé que le danger que représentent la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) est moyen pour l'environnement et moyen pour la santé humaine. L'exposition de l'environnement et des personnes à la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et à la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*), à la suite de leur utilisation délibérée dans les procédés industriels ou des produits commerciaux ou de consommation au Canada, devrait, selon les données actuelles, être faible, de sorte que les risques associés aux utilisations actuelles sont considérés comme faibles pour l'environnement et la santé humaine.

Une fois déterminé le risque que présentent les utilisations actuelles, on estime le danger en fonction des expositions futures qui sont prévisibles (découlant de nouvelles utilisations).

L'utilisation potentielle de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) dans les produits commerciaux ou de consommation pourrait entraîner une augmentation du niveau d'exposition des personnes et de l'environnement, comme il est décrit à la section 2.2, ce qui augmenterait l'estimation du risque.

Risques pour l'environnement liés aux utilisations futures prévisibles

Les espèces autres qu'humaines peuvent être exposées à la souche ATCC 14579 de *B. cereus* principalement par l'eau et le sol, et par son rejet lors d'activités industrielles ou manufacturières. Les utilisations subséquentes à son introduction dans les milieux terrestres pourraient poser problème, car on a démontré que des concentrations élevées (10^7 - 10^8 UFC/g sol sec) de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* peuvent provoquer des effets nocifs chez les collemboles nivicoles et la fétuque rouge (Environnement Canada 2010). De plus, on dispose de peu d'information sur les effets nocifs potentiels de *B. cereus* sur les espèces aquatiques.

Risques pour la santé humaine liés aux utilisations futures prévisibles

Le risque pour la santé humaine dépendra de la voie d'exposition. Parmi toutes les voies d'exposition relevées, l'exposition par ingestion est celle qui est la plus préoccupante, car *B. cereus* est principalement un agent pathogène gastro-intestinal. La souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) sont connues pour produire des facteurs pathogènes importants (p. ex. enzymes et toxines extracellulaires), qui participent aux maladies gastro-intestinales. La dose infectieuse de *B. cereus* varie, selon des rapports, entre 10^2 et 10^8 UFC par gramme d'aliments ou d'eau et on croit généralement que tout aliment contenant des concentrations de *B. cereus* qui dépassent 10^3 à 10^5 cellules ou spores par gramme est impropre à la consommation (Anonyme 2005; Haggblom et coll. 2002; Stenfors Arnesen et coll. 2008). L'utilisation de produits contenant la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) dans des zones de préparation des aliments pourrait entraîner l'inoculation des aliments et, par la suite, des lacunes dans les bonnes pratiques de manipulation des aliments pourraient permettre aux bactéries de proliférer. Le réchauffage répété et la réfrigération inappropriée causent particulièrement des problèmes dans le cas des bactéries sporogènes comme *B. cereus*, parce que les spores ne sont pas inactivées durant le réchauffage, ce qui permet aux cellules végétatives de germer, de se multiplier et de se sporuler à nouveau entre les cycles de chauffage. Le nombre de cellules viables dans les aliments augmente exponentiellement, pour finalement atteindre un niveau pouvant entraîner des infections gastro-intestinales chez les humains.

Le contact cutané et le contact oculaire sont d'autres voies potentielles d'exposition, quoique moins susceptibles d'entraîner des effets néfastes. Des infections de plaies ont été documentées pour *B. cereus* chez des personnes par ailleurs en bonne santé. Cependant, ces infections sont rares et rien n'indique que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) pourraient pénétrer par la peau intacte et causer une infection cutanée. Comme la peau est une barrière naturelle à l'envahissement du corps humain par les microbes, les infections risquent de survenir uniquement si la peau est endommagée par des abrasions ou des brûlures (Dubouix et coll. 2005). De même, bien que *B. cereus* soit très virulente dans les yeux, une infection n'est probable que dans les cas de lésion oculaire antérieure.

L'inhalation de cellules ou de spores de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* ou de la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*), présentes dans des aérosols produits par des moyens mécaniques ou par la perturbation de l'air, pendant ou après l'application d'un produit les contenant, pourrait mener à une exposition pulmonaire aux spores ou aux cellules végétatives, mais il est peu probable que le nombre de spores ou de cellules inhalées atteigne une dose infectieuse chez les individus en bonne santé.

4. Conclusion

À la lumière des renseignements contenus dans cette évaluation préalable, il a été conclu que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) ne pénètrent pas dans l'environnement en une quantité ou concentration ou dans des conditions de nature à :

- avoir, immédiatement ou à long terme, un effet néfaste sur l'environnement ou la diversité biologique;
- mettre en danger ou pouvoir mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie;
- constituer ou pouvoir constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaines.

Par conséquent, il a été conclu que la souche ATCC 14579 de *B. cereus* et la souche 11685-3 de *B. subtilis* (*B. cereus*) ne satisfont à aucun des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE.

5. Références

- Abhyankar, W., Hossain, A.H., Djajasaputra, A., Permpoonpattana, P., Ter Beek, A., Dekker, H.L., Cutting, S.M., Brul, S., De Koning, L.J., De Koster, C.G. (2013). In pursuit of protein targets: Proteomic characterization of bacterial spore outer layers. *J Proteome Res.* **12**, 4507-4521.
- Abul Nasr, S. E., Tawfik, M. F. S., Ammar, E. D. and Farrag, S. M.(1978) Occurrence and causes of mortality among active and resting larvae of *Pectinophora gossypiella* (Lepidoptera, Gelechiidae) in Giza, Egypt. *Zeitschrift für Angewandte Entomol* **86**, 403-414.
- Abusin, S., Bhimaraj, A. and Khadra, S. (2008) *Bacillus Cereus* Endocarditis in a permanent pacemaker: a case report. *Cases J* **1**, 95.
- Ackermann, H.W., Roy, R., Martin, M., Murthy, M.R. and Smirnov, W.A. (1978) Partial characterization of a cubic *Bacillus* phage. *Can J Microbiol* **24**, 986-993.
- Agata, N., Mori, M., Ohta, M., Suwa, S., Ohtani, I. and Isobe, M. (1994) A novel dodecadepsipeptide, cereulide, isolated from *Bacillus cereus* causes vacuole formation in HEp-2 cells. *FEMS Microbiol Lett* **121**, 31-34.
- Agata, N., Ohta, M., Arakawa, Y. and Mori, M. (1995a) The *bceT* gene of *Bacillus cereus* encodes an enterotoxin protein. *Microbiology* **141**, 983-988.
- Agata, N., Ohta, M., Mori, M. and Isobe, M. (1995b) A novel dodecadepsipeptide, cereulide, is an emetic toxin of *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiol Lett* **129**, 17-19.
- Agata, N., Ohta, M. and Yokoyama, K. (2002) Production of *Bacillus cereus* emetic toxin (cereulide) in various foods. *Int J Food Microbiol* **73**, 23-27.
- Akiyama, N., Mitani, K., Tanaka, Y., Hanazono, Y., Motoi, N., Zarkovic, M., Tange, T., Hirai, H. and Yazaki, Y. (1997) Fulminant septicemic syndrome of *Bacillus cereus* in a leukemic patient. *Intern Med* **36**, 221-226.
- Al-Jamali, J., Felmerer, G., Alawadi, K., Kalash, Z. and Stark, G.B. (2008) Flexor tendon sheath infection due to *Bacillus cereus* after penetrating trauma. *Eur J Plastic Surg* **31**, 201-203.
- Alouf, J.E. (2000) Cholesterol-binding cytolytic protein toxins. *Int J Med Microbiol* **290**, 351-356.
- Altıparmak, U.E., Ozer, P.A., Ozkuyumcu, C., Us, A.D., Aslan, B.S. and Duman, S. (2007) Postoperative endophthalmitis caused by *Bacillus cereus* and *Chlamydia trachomatis*. *J Cataract Refract Surg* **33**, 1284-7.
- Andersson, A. (1995) *Bacillus cereus*, strategy for survival. *SIK-report* 1995.
- Andreeva, Z.I., Nesterenko, V.F., Yurkov, I.S., Budarina, Z.I., Sineva, E.V. and Solonin, A.S. (2006) Purification and cytotoxic properties of *Bacillus cereus* hemolysin II. *Protein Expr Purif* **47**, 186-193.
- Andreeva, Z.I., Nesterenko, V.F., Fomkina, M.G., Ternovsky, V.I., Suzina, N.E., Bakulina, A.Y. , Solonin, A.S. and Sineva, E.V. (2007) The properties of *Bacillus cereus* hemolysin II pores depend on environmental conditions. *Biochim Biophys Acta (BBA) - Biomembranes* **1768**, 253-263.

Anonymous. (2005). Opinion of the scientific panel on biological hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus* in foodstuffs. *The EFSA Journal* 1-48.

Asano, S.I., Nukumizu, Y., Bando, H., Iizuka, T. and Yamamoto, T. (1997) Cloning of novel enterotoxin genes from *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*. *Appl Environ Microbiol* **63**, 1054-1057.

Ash, C. and Collins, M.D. (1992) Comparative analysis of 23S ribosomal RNA gene sequences of *Bacillus anthracis* and emetic *Bacillus cereus* determined by PCR-direct sequencing. *FEMS Microbiol Lett* **73**, 75-80.

Ash, C., Farrow, J.A., Dorsch, M., Stackebrandt, E. and Collins, M.D. (1991) Comparative analysis of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and related species on the basis of reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA. *Int J Syst Bacteriol* **41**, 343-346.

Auger, S., Krin, E., Aymerich, S. and Gohar, M. (2006) Autoinducer 2 affects biofilm formation by *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol* **72**, 937-941.

Avashia, S.B., Riggins, W.S., Lindley, C., Hoffmaster, A., Drumgoole, R., Nekomoto, T., Jackson, P.J., Hill, K.K., Williams, K., Lehman, L. (2007) Fatal pneumonia among metalworkers due to inhalation exposure to *Bacillus cereus* Containing *Bacillus anthracis* toxin genes. *Clin Infect Dis* **44**, 414-416.

Baida, G.E. and Kuzmin, N.P. (1995) Cloning and primary structure of a new hemolysin gene from *Bacillus cereus*. *Biochim Biophys Acta* **1264**, 151-154.

Baida, G.E. and Kuzmin, N.P. (1996) Mechanism of action of hemolysin III from *Bacillus cereus*. *Biochim Biophys Acta* **1284**, 122-124.

Balm, M.N.D., Jureen, R., Teo, C., Yeoh, A.E.J., Lin, R.T.P., Dancer, S.J., Fisher, D.A. (2012). Hot and steamy: Outbreak of *Bacillus cereus* in Singapore associated with construction work and laundry practices. *J Hosp Infect.* **81**, 224-230.

Barker M, Thakker B, Priest FG. (2005) Multilocus sequence typing reveals that *Bacillus cereus* strains isolated from clinical infections have distinct phylogenetic origins. *FEMS Microbiol Lett.* **245**, 179-84.

Barth, H., Aktories, K., Popoff, M.R. and Stiles, B.G. (2004) Binary bacterial toxins: biochemistry, biology, and applications of common *Clostridium* and *Bacillus* proteins. *Microbiol Mol Biol Rev* **68**, 373-402.

Bartoszewicz, M., Hansen, B.M. and Swiecicka, I. (2008) The members of the *Bacillus cereus* group are commonly present contaminants of fresh and heat-treated milk. *Food Microbiol* **25**, 588-596.

Bassen, M. K., Gupta, L. K., Jolly, L. and Tewari, R. P. (1989) Thermal Resistance of *Bacillus cereus* spores in custard preparations. *World J Microbiol Biotechnol* **5**, 511-516.

Beecher, D.J. and Macmillan, J.D. (1991) Characterization of the components of hemolysin BL from *Bacillus cereus*. *Infect Immun* **59**, 1778-1784.

Beecher, D.J. and Wong, A.C. (1994a) Improved purification and characterization of hemolysin BL, a hemolytic dermonecrotic vascular permeability factor from *Bacillus cereus*. *Infect Immun* **62**, 980-986.

- Beecher, D.J. and Wong, A.C. (1994b) Identification of hemolysin BL-producing *Bacillus cereus* isolates by a discontinuous hemolytic pattern in blood agar. *Appl Environ Microbiol* **60**, 1646-1651.
- Beecher, D.J. and Wong, A.C. (1994c) Identification and analysis of the antigens detected by two commercial *Bacillus cereus* diarrheal enterotoxin immunoassay kits. *Appl Environ Microbiol* **60**, 4614-4616.
- Beecher, D.J., Pulido, J.S., Barney, N.P. and Wong, A.C. (1995a) Extracellular virulence factors in *Bacillus cereus* endophthalmitis: methods and implication of involvement of hemolysin BL. *Infect Immun* **63**, 632-639.
- Beecher, D., Schoeni, J. and Wong, A. (1995b) Enterotoxic activity of hemolysin BL from *Bacillus cereus*. *Infect. Immun.* **63**, 4423-4428.
- Beecher, D.J. and Wong, A.C. (1997) Tripartite hemolysin BL from *Bacillus cereus*. Hemolytic analysis of component interactions and a model for its characteristic paradoxical zone phenomenon. *J Biol Chem* **272**, 233-239.
- Beecher, D.J. and Wong, A.C. (2000) Cooperative, synergistic and antagonistic haemolytic interactions between haemolysin BL, phosphatidylcholine phospholipase C and sphingomyelinase from *Bacillus cereus*. *Microbiology* **146**, 3033-3039.
- Beecher, D.J., Olsen, T.W., Somers, E.B. and Wong, A.C. (2000) Evidence for contribution of tripartite hemolysin BL, phosphatidylcholine-preferring phospholipase C, and collagenase to virulence of *Bacillus cereus* endophthalmitis. *Infect Immun* **68**, 5269-5276.
- Belaiche, J. (2000) Pathophysiology of acute infectious diarrhea. *Acta Endoscopia* **30**, 177-184.
- Benusic, M.A., Hoang, L.M.N., Press, N.M., Romney, M.G. (2015). A cluster of *Bacillus cereus* bacteremia cases among injection drug users. *Can J Infect Dis Med.* **26**, 103-104.
- Bernhard, K., Schrempf, H. and Goebel, W. (1978) Bacteriocin and antibiotic resistance plasmids in *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol* **133**, 897-903.
- Berry, C., O'Neil, S., Ben-Dov, E., Jones, A.F., Murphy, L., Quail, M.A., Holden, M.T., Harris, D., Zaritsky, A. and Parkhill, J. (2002) Complete sequence and organization of pBtoxis, the toxin-coding plasmid of *Bacillus thuringiensis* subsp. israelensis. *Appl Environ Microbiol* **68**, 5082-5095.
- Borsodi, A.K., Micsinai, A., Rusznyak, A., Vladar, P., Kovacs, G., Toth, E.M. and Marialigeti, K. (2005) Diversity of alkaliphilic and alkalitolerant bacteria cultivated from decomposing reed rhizomes in a Hungarian soda lake. *Microbial Ecology* **50**, 9-18.
- Bottone EJ. (2010) *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clin Microbiol Rev.* **23**, 382-98.
- Brillard, J. and Lereclus, D. (2004) Comparison of cytotoxin cytK promoters from *Bacillus cereus* strain ATCC 14579 and from a *B. cereus* food-poisoning strain. *Microbiology* **150**, 2699-2705.
- Brinton, G.S., Topping, T.M., Hyndiuk, R.A., Aaberg, T.M., Reeser, F.H. and Abrams, G.W. (1984) Posttraumatic endophthalmitis. *Arch Ophthalmol* **102**, 547-550.
- Burdon, K.L., Davis, J.S. and Wende, R.D. (1967) Experimental infection of mice with *Bacillus cereus*: studies of pathogenesis and pathologic changes. *J Infect Dis* **117**, 307-316.

- Cadot, C., Tran, S.L., Vignaud, M.L., De Buyser, M.L., Kolsto, A.B., Brisabois, A., Nguyen-The, C., Lereclus, D., Guinebretiere, M.H., and Ramarao, N. (2010) *InhA1*, *NprA*, and *HlyII* as candidates for markers to differentiate pathogenic from nonpathogenic *Bacillus cereus* strains. *J Clin Microbiol* **48**, 1358-1365.
- Callegan, M.C., Parkunan, S.M., Randall, C.B., Coburn, P.S., Miller, F.C., LaGrow, A.L., Astley, R.A., Land, C., Oh, S.-Y., Schneewind, O. (2017). The role of pili in *Bacillus cereus* intraocular infection. *Exp Eye Res.* **159**, 69-76.
- Callegan, M.C., Kane, S.T., Cochran, D.C., Gilmore, M.S., Gominet, M. and Lereclus, D. (2003) Relationship of *plcR*-regulated factors to *Bacillus endophthalmitis* virulence. *Infect Immun* **71**, 3116-24.
- Callegan, M. C., Booth, M. C., Jett, B. D. and Gilmore, M. S. (1999) Pathogenesis of Gram-Positive Bacterial Endophthalmitis. *Infect. Immun.* **67**, 3348-3356.
- CDC (2005) Outbreak of cutaneous *Bacillus cereus* infections among cadets in a university military program--Georgia, August 2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **54**, 1233-1235.
- CLSI (2012). Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; Approved Guideline - Second Edition. CLSI document M45-A2. Wayne, PA, Clinical and Laboratory Standard Institute.
- Chan, W.M., Liu, D.T., Chan, C.K., Chong, K.K. and Lam, D.S. (2003) Infective endophthalmitis caused by *Bacillus cereus* after cataract extraction surgery. *Clin Infect Dis* **37**, e31-34.
- Chen, Y., Braathen, P., Leonard, C. and Mahillon, J. (1999) MIC231, a naturally occurring mobile insertion cassette from *Bacillus cereus*. *Mol Microbiol* **32**, 657-668.
- Cherif, A., Brusetti, L., Borin, S., Rizzi, A., Boudabous, A., Khyami-Horani, H. and Daffonchio, D. (2003) Genetic relationship in the '*Bacillus cereus* group' by rep-PCR fingerprinting and sequencing of a *Bacillus anthracis*-specific rep-PCR fragment. *J Appl Microbiol* **94**, 1108-1119.
- Choma, C. and Granum, P.E. (2002) The enterotoxin T (BcET) from *Bacillus cereus* can probably not contribute to food poisoning. *FEMS Microbiol Lett* **217**, 115-119.
- Christiansson, A., Naidu, A. S., Nilsson, I., Wadstrom, T. and Pettersson, H. E. (1989) Toxin production by *Bacillus cereus* dairy isolates in milk at low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**, 2595-2600.
- Clark, F. E. (1937) The relation of *Bacillus siamensis* and similar pathogenic spore-forming bacteria to *Bacillus cereus*. *J. Bacteriol.* **33**, 435-443.
- Cone, L.A., Dreisbach, L., Potts, B.E., Comess, B.E. and Burleigh, W.A. (2005) Fatal *Bacillus cereus* endocarditis masquerading as an anthrax-like infection in a patient with acute lymphoblastic leukemia: case report. *J Heart Valve Dis* **14**, 37-39.
- Coonrod, J.D., Leadley, P.J. and Eickhoff, T.C. (1971) Antibiotic susceptibility of *Bacillus* species. *J Infect Dis* **123**, 102-105.
- Crane, P.K. and Crane, H.M. (2007) Indwelling intravenous catheter-associated *Bacillus cereus* sepsis in an immunocompetent patient. *Infect Med* **24**, 40-42.

- Dancer, S.J., McNair, D., Finn, P. and Kolsto, A.B. (2002) *Bacillus cereus* cellulitis from contaminated heroin. *J Med Microbiol* **51**, 278-281.
- Darbar, A., Harris, I.A. and Gosbell, I.B. (2005) Necrotizing infection due to *Bacillus cereus* mimicking gas gangrene following penetrating trauma. *J Orthop Trauma* **19**, 353-355.
- Davey, R.T. Jr and Tauber, W.B. (1987) Posttraumatic endophthalmitis: the emerging role of *Bacillus cereus* infection. *Rev Infect Dis* **9**, 110-123.
- De Palmenaer, D., Vermeiren, C. and Mahillon, J. (2004) IS231-MIC231 elements from *Bacillus cereus* sensu lato are modular. *Mol Microbiol* **53**, 457-467.
- Didelot, X., Barker, M., Falush, D. and Priest, F.G. (2009) Evolution of pathogenicity in the *Bacillus cereus* group. *Syst Appl Microbiol* **32**, 81-90.
- Dierick, K., Van Coillie, E., Swiecicka, I., Meyfroidt, G., Devlieger, H., Meulemans, A., Hoedemaekers, G., Fourie, L., Heyndrickx, M. and Mahillon, J. (2005) Fatal family outbreak of *Bacillus cereus*-associated food poisoning. *J Clin Microbiol* **43**, 4277-4279.
- Dohmae S., Okubo T., Higuchi W., Takano T., Isobe H., Baranovich T., Kobayashi S., Uchiyama M., Uchitama Y., Tanabe Y., Itoh M., Yamamoto T. (2008). *Bacillus cereus* nosocomial infection from reused towels in Japan. *J Hosp Infect.* **69**, 361-367.
- Dolan, S.A., Littlehorn, C., Glodé, M.P., Dowell, E., Xavier, K., Nyquist, A.-C., Todd, J.K. (2012). Association of *Bacillus cereus* infection with contaminated alcohol prep pads. *Infect Control Hosp Ep.* **33**, 666-671.
- Doll, V.M., Ehling-Schulz, M., Vogelmann, R. (2013). Concerted Action of Sphingomyelinase and Non-Hemolytic Enterotoxin in Pathogenic *Bacillus cereus*. *PLoS ONE*. **8**, e61404.
- Dragon, D.C. and Rennie, R.P. (1995) The ecology of anthrax spores: tough but not invincible. *Can Vet J* **36**, 295-301.
- Drobniewski FA. (1993) *Bacillus cereus* and related species. *Clin Microbiol Rev.* **6**, 324-338.
- Drysdale, M., Heninger, S., Hutt, J., Chen, Y., Lyons, C.R. and Koehler, T.M. (2005) Capsule synthesis by *Bacillus anthracis* is required for dissemination in murine inhalation anthrax. *EMBO J* **24**, 221-227.
- Dubouix, A., Bonnet, E., Alvarez, M., Bensafi, H., Archambaud, M., Chaminade, B., Chabanon, G. and Marty, N. (2005) *Bacillus cereus* infections in Traumatology-Orthopaedics Department: retrospective investigation and improvement of healthcare practices. *J Infect* **50**, 22-30.
- Edwards, P.R. and Fife, M.A. (1961) Lysine-iron agar in the detection of Arizona cultures. *Appl Microbiol* **9**, 478-480.
- Ehling-Schulz, M., Guinebretiere, M.-H., Monthán, A., Berge, O., Fricker, M. and Svensson, B. (2006) Toxin gene profiling of enterotoxic and emetic *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiol lett* **260**, 232-240.
- El Emmawie, A.H., Aly, N.Y.A. and Al-Sawan, R. (2008) Bloodstream infection due to *Bacillus cereus* in a preterm neonate associated with necrotizing enterocolitis: A case report. *Kuwait Med J* **40**, 140-142.

El Saleeby, C.M., Howard, S.C., Hayden, R.T. and McCullers, J.A. (2004) Association between tea ingestion and invasive *Bacillus cereus* infection among children with cancer. *Clin Infect Dis* **39**, 1536-1539.

Environment Canada. (2010) Pathogenicity and toxicity of risk group II microbial strains on terrestrial organisms. October 2010. Biological Assessment and Standardization Section, Wildlife and Landscape Science Directorate, Science and Technology Branch, Environment Canada (unpublished data).

Environnement Canada et Santé Canada. (2011). Cadre d'évaluation scientifique des risques liés aux micro-organismes réglementés en vertu de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement*. <http://www.ec.gc.ca/subsnouvelles-news/subs/default.asp?lang=Fr&n=120842D5-1>.

Evreux, F., Delaporte, B., Leret, N., Buffet-Janvresse, C. and Morel, A. (2007) Méningite néonatale à *Bacillus cereus*, à propos d'un cas. *Archives de Pédiatrie* **14**, 265-368.

Fagerlund, A., Lindback, T., Storset, A.K., Granum, P.E. and Hardy, S.P. (2008) *Bacillus cereus* Nhe is a pore-forming toxin with structural and functional properties similar to the ClyA (HlyE, SheA) family of haemolysins, able to induce osmotic lysis in epithelia. *Microbiology* **154**, 693-704.

Fagerlund, A., Ween, O., Lund, T., Hardy, S.P. and Granum, P.E. (2004) Genetic and functional analysis of the cytK family of genes in *Bacillus cereus*. *Microbiology* **150**, 2689-2697.

Fedhila, S., Buisson, C., Dussurget, O., Serror, P., Glomski, I. J., Liehl, P., Lereclus, D. and Nielsen-LeRoux, C. (2010) Comparative analysis of the virulence of invertebrate and mammalian pathogenic bacteria in the oral insect infection model *Galleria mellonella*. *J. Invertebr Pathol* **103**, 24-29.

Flavelle, S., Tyrrell, G.J. and Forgie, S.E. (2007) A 'serious' bloodstream infection in an infant. *Can J Infect Dis Med Microbiol* **18**, 311-312.

Frankard, J., Li, R., Taccone, F., Struelens, M.J., Jacobs, F. and Kentos, A. (2004) *Bacillus cereus* pneumonia in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **23**, 725-728.

Frankland, G. C. and Frankland, P. F. (1887) Studies on some new micro-organisms obtained from air. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **178**, 257-287.

Fredricks, D. N. and Myerson, D. (2006) Pneumonia in a neutropenic patient with leukemia. *Inf Dis Clin Pract* **14**, 107-109.

Fujii, S., Yoshida, A., Sakurai, S., Morita, M., Tsukamoto, K., Ikezawa, H. and Ikeda, K. (2004) Chromogenic assay for the activity of sphingomyelinase from *Bacillus cereus* and its application to the enzymatic hydrolysis of lysophospholipids. *Biol Pharm Bull* **27**, 1725-1729.

Gaulin, C., Viger, Y.B. and Fillion, L. (2002) An outbreak of *Bacillus cereus* implicating a part-time banquet caterer. *Can J Public Health* **93**, 353-355.

Gaur, A.H., Patrick, C.C., McCullers, J.A., Flynn, P.M., Pearson, T.A., Razzouk, B.I., Thompson, S.J. and Shenep, J.L. (2001) *Bacillus cereus* bacteremia and meningitis in immunocompromised children. *Clin Infect Dis* **32**, 1456-1462.

Ghelardi, E., Celandroni, F., Salvetti, S., Barsotti, C., Baggiani, A. and Senesi, S. (2002) Identification and characterization of toxigenic *Bacillus cereus* isolates responsible for two food-poisoning

outbreaks. *FEMS Microbiol Lett* **208**, 129-134.

Gibriel, A.Y. and Abd-el Al, A.T. (1973) Measurement of heat resistance parameters for spores isolated from canned products. *J Appl Bacteriol* **36**, 321-327.

Ginsburg A. S., Salazar L. G., True L. D., Disis M. L. (2003) Fatal *Bacillus cereus* sepsis following resolving neutropenic enterocolitis during the treatment of acute leukemia. *Am J Hematol.* **72** ,204-208.

Girisch, M., Ries, M., Zenker, M., Carbon, R., Rauch, R. and Hofbeck, M. (2003) Intestinal perforations in a premature infant caused by *Bacillus cereus*. *Infection* **31**, 192-193.

Glatz, B. A. and Goepfert, J. M. (1973) Extracellular factor synthesized by *Bacillus cereus* which evokes a dermal reaction in guinea pigs. *Infect. Immun.* **8**, 25-29.

Glatz, B. A., Spira, W. M. and Goepfert, J. M. (1974) Alteration of vascular permeability in rabbits by culture filtrates of *Bacillus cereus* and related species. *Infect. Immun.* **10**, 299-303.

Godoy, S.N., Matushima, E.R., Chaves, J.Q., Cavados, C.F.G., Rabinovitch, L., Teixeira, R.H.F., Nunes, A.L.V., Melville, P., Gattamorta, M.A., Vivoni, A.M. (2012). *Bacillus cereus* infection outbreak in captive psittacines. *Vet Microbiol.* **161**, 213-217.

Goepfert, J.M. (1974) Monkey feeding trials in the investigation of the nature of *Bacillus cereus* food poisoning. *Proc. IV. Internat. Congr. Food Sci. Technol.* **3**, 178-181.

Gohar, M., Okstad, O.A., Gilois, N., Sanchis, V., Kolsto, A.B., and Lereclus, D. (2002) Two-dimensional electrophoresis analysis of the extracellular proteome of *Bacillus cereus* reveals the importance of the PlcR regulon. *Proteomics* **2**, 784-791.

Gohar M, Faegri K, Perchat S, Ravnum S, Økstad OA, Gominet M, Kolstø AB, Lereclus D. (2008) The PlcR virulence regulon of *Bacillus cereus*. *PLoS One.* **3**, e2793.

Gorina, L.G., Fluer, F.S., Olovnikov, A.M. and Ezepcuk, YU. V. (1975) Use of the aggregate-hemagglutination technique for determining exo-Enterotoxin of *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **29**, 201-204.

Granum, P.E. (1994) *Bacillus cereus* and its toxins. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser* **23**, 61S-66S.

Granum, P.E., O'Sullivan, K. and Lund, T. (1999) The sequence of the non-haemolytic enterotoxin operon from *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiol Lett* **177**, 225-229.

Granum, PE. (2001) *Bacillus cereus*. In *Food microbiology: fundamentals and frontiers*, ed. M. P. Doyle, L.R.B.a.T.J.M.e. pp. 327-336. Washington: American Society for Microbiology.

Guinebretiere, M.H., Fagerlund, A., Granum, P.E. and Nguyen-The, C. (2006) Rapid discrimination of *cytK-1* and *cytK-2* genes in *Bacillus cereus* strains by a novel duplex PCR system. *FEMS Microbiol Lett* **259**, 74-80.

Guinebretière MH, Thompson FL, 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. *Environ Microbiol.* **10**, 851-865

- Guinebretière MH, Velge P, Couvert O, Carlin F, Debuyser ML, 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. *J Clin Microbiol*. **48**, 3388-3391
- Hagglblom, M.M., Apetroaie, C., Andersson, M.A. and Salkinoja-Salonen, M.S. (2002) Quantitative analysis of cereulide, the emetic toxin of *Bacillus cereus*, produced under various conditions. *Appl Environ Microbiol* **68**, 2479-2483.
- Hansen, B.M., Hiby, P.E., Jensen, G.B. and Hendriksen, N.B. (2003) The *Bacillus cereus* bceT enterotoxin sequence reappraised. *FEMS Microbiol Lett* **223**, 21-24.
- Hardy, S.P., Lund, T. and Granum, P.E. (2001) CytK toxin of *Bacillus cereus* forms pores in planar lipid bilayers and is cytotoxic to intestinal epithelia. *FEMS Microbiol Lett* **197**, 47-51.
- Harvie, D.R., Vilchez, S., Steggles, J.R. and Ellar, D.J. (2005) *Bacillus cereus* Fur regulates iron metabolism and is required for full virulence. *Microbiology* **151**, 569-577.
- Haug, T.M., Sand, S.L., Sand, O., Phung, D., Granum, P.E., and Hardy, S.P. (2010) Formation of very large conductance channels by *Bacillus cereus* Nhe in Vero and GH(4) cells identifies NheA + B as the inherent pore-forming structure. *J Membr Biol* **237**, 1-11.
- Hayrapetyan, H., Muller, L., Tempelaars, M., Abee, T., Nierop Groot, M. (2015). Comparative analysis of biofilm formation by *Bacillus cereus* reference strains and undomesticated food isolates and the effect of free iron. *Int J Food Microbiol*. **200**, 72-79.
- Helgason, E., Caugant, D. A., Olsen, I. and Kolsto, A.-B. (2000a) Genetic structure of population of *Bacillus cereus* and *B. thuringiensis* isolates associated with periodontitis and other human infections. *J. Clin. Microbiol*. **38**, 1615-1622.
- Helgason, E., Okstad, O.A., Caugant, D.A., Johansen, H.A., Fouet, A., Mock, M., Hegna, I. and Kolsto (2000b) *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis*--one species on the basis of genetic evidence. *Appl Environ Microbiol* **66**, 2627-2630.
- Helgason, E., Tourasse, N.J., Meisal, R., Caugant, D.A. and Kolsto, A.B. (2004) Multilocus sequence typing scheme for bacteria of the *Bacillus cereus* group. *Appl Environ Microbiol* **70**, 191-201.
- Hernaiz, C., Picardo, A., Alos, J.I. and Gomez-Garces, J.L. (2003) Nosocomial bacteremia and catheter infection by *Bacillus cereus* in an immunocompetent patient. *Clin Microbiol Infect* **9**, 973-975.
- Hilliard, N.J., Schelonka, R.L. and Waites, K.B. (2003) *Bacillus cereus* bacteremia in a preterm neonate. *J Clin Microbiol* **41**, 3441-3444.
- Hirabayashi, K., Shiohara, M., Saito, S., Tanaka, M., Yanagisawa, R., Tsuruta, G., Fukuyama, T., Hidaka, Y., Nakazawa, Y., Shimizu, T., Sakashita, K., Koike, K. (2010) Polymyxin-direct hemoperfusion for sepsis-induced multiple organ failure. *Pediatr Blood Cancer*. **55**, 202-205.
- Hoffmaster, A.R., Ravel, J., Rasko, D.A., Chapman, G.D., Chute, M.D., Marston, C.K., De, B.K., Sacchi, C.T., Fitzgerald, C., Mayer, L.W., Maiden, M.C., Priest, F.G., Barker, M., Jiang, L., Cer, R.Z., Rilstone, J., Peterson, S.N., Weyant, R.S., Galloway, D.R., Read, T.D., Popovic, T. and Fraser, C.M. (2004) Identification of anthrax toxin genes in a *Bacillus cereus* associated with an illness resembling inhalation anthrax. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**, 8449-8454.
- Hoffmaster, A.R., Hill, K.K., Gee, J.E., Marston, C.K., De, B.K., Popovic, T., Sue, D., Wilkins, P.P.,

Avashia, S.B., Drumgoole, R., (2006) Characterization of *Bacillus cereus* isolates associated with fatal pneumonias: strains are closely related to *Bacillus anthracis* and harbor *B. anthracis* virulence genes. *J Clin Microbiol* **44**, 3352-3360.

Hoffmaster AR, Novak RT, Marston CK, Gee JE, Helsel L, Pruckler JM, Wilkins PP. (2008) Genetic diversity of clinical isolates of *Bacillus cereus* using multilocus sequence typing. *BMC Microbiol.* **6**; 8:191.

Horvath, G., Toth-Marton, E., Meszaros, J.M. and Quarini, L. (1986) Experimental *Bacillus cereus* mastitis in cows. *Acta Vet Hung* **34**, 29-35.

Hosein I.K., Hoffman P.N., Ellam S., Asseez T.-M, Fakokunde A., Silles J., Deveraux E., Kaur D., Bosanquet J. (2013). Summertime *Bacillus cereus* colonization of hospital newborns traced to contaminated, laundered linen. *J Hosp Infect.***85**, 149-154.

Huang, C.C., Narita, M., Yamagata, T., Itoh, Y. and Endo, G. (1999) Structure analysis of a class II transposon encoding the mercury resistance of the Gram-positive Bacterium *Bacillus megaterium* MB1, a strain isolated from minamata bay, Japan. *Gene* **234**, 361-369.

Huang, Z., Chen, Y., Weng, S., Lu, X., Zhong, L., Fan, W., Chen, X., Zhang, H., He, J. (2016). Multiple bacteria species were involved in hepatopancreas necrosis syndrome (HPNS) of *Litopenaeus vannamei*. *Zhongshan Daxue Xuebao/Acta Sci Nat Uni Sunyatseni.* **55**,1-11.

Hutchens, A., Gupte, A., McAuliffe, P.F., Schain, D., Soldevila-Pico, C., Knapik, J.A., Fujita, S., Mzingo, D.W., Richards, W.T. (2010) *Bacillus cereus* Necrotizing Fasciitis in a Patient with End-Stage Liver Disease. *Surg Infect (Larchmt).* **11**, 469-474

Ikezawa, H., Mori, M. and Taguchi, R. (1980) Studies on sphingomyelinase of *Bacillus cereus*: hydrolytic and hemolytic actions on erythrocyte membranes. *Arch Biochem Biophys* **199**, 572-578.

Inui, S., Kume, T., Hiramane, T. and Murase, N. (1979) Pathological survey of bovine mastitis. *Bull Nat Institute Animal Health.* **78**, 25-38.

Ivanova, N., Sorokin, A., Anderson, I., Galleron, N., Candelon, B., Kapatral, V., Bhattacharyya, A., Reznik, G., Mikhailova, N., Lapidus, A., Chu, L., Mazur, M., Goltsman, E., Larsen, N., D'Souza, M., Walunas, T., Grechkin, Y., Pusch, G., Haselkorn, R., Fonstein, M., Ehrlich, S.D., Overbeek, R. and Kyrpides, N. (2003) Genome sequence of *Bacillus cereus* and comparative analysis with *Bacillus anthracis*. *Nature* **423**, 87-91.

Jaaskelainen, E.L., Teplova, V., Andersson, M.A., Andersson, L.C., Tammela, P., Andersson, M.C., Pirhonen, T.I., Saris, N.E., Vuorela, P. and Salkinoja-Salonen, M.S. (2003) In vitro assay for human toxicity of cereulide, the emetic mitochondrial toxin produced by food poisoning *Bacillus cereus*. *Toxicol In Vitro* **17**, 737-744.

Jaquette, C.B. and Beuchat, L.R. (1998) Combined effects of pH, nisin, and temperature on growth and survival of psychrotrophic *Bacillus cereus*. *J Food Prot* **61**, 563-570.

Jasper, D.E., Bushnell, R.B., Dellinger, J.D. and Stang, A.M. (1972) Bovine mastitis due to *Bacillus cereus*. *J Am Vet Med Assoc* **160**, 750-756.

Jassim, H. K., Foster, H. A. and Fairhurst, C. P. (1990) Biological control of Dutch elm disease: *Bacillus thuringiensis* as a potential control agent for *Scolytus scolytus* and *S. multistriatus*. *J. Appl Microbiol* **69**, 563-568.

John, A.B., Razak, E.A., Razak, E.E., Al-Naqeeb, N. and Dhar, R. (2007) Intractable *Bacillus cereus* bacteremia in a preterm neonate. *J Trop Pediatr* **53**, 131-132.

Johnson, K.M. (1984) *Bacillus cereus* food-borne illness. An update. *J Food Prot* **47**, 145-153.

Jolley, K. *Bacillus cereus* Multi Locus Sequence Typing website <http://pubmlst.org/bcereus/>
Searched October 17, 2014.

Jones, T.O. and Turnbull, P.C. (1981) Bovine mastitis caused by *Bacillus cereus*. *Vet Rec* **108**, 271-274.

Jucovic, M., Walters, F.S., Warren, G.W., Palekar, N.V. and Chen, J.S. (2008) From enzyme to zymogen: engineering Vip2, an ADP-ribosyltransferase from *Bacillus cereus*, for conditional toxicity. *Protein Eng Des Sel* **21**, 631-638.

Just, I., Schallehn, G. and Aktories, K. (1992) ADP-ribosylation of small GTP-binding proteins by *Bacillus cereus*. *Biochem Biophys Res Commun* **183**, 931-936.

Kato, K., Matsumura, Y., Yamamoto, M., Nagao, M., Ito, Y., Takakura, S., Ichiyama, S. (2014). Seasonal trend and clinical presentation of *Bacillus cereus* bloodstream infection: Association with summer and indwelling catheter. *Euro J Clin Microbiol Infect Dis*. **33**, 1371-1379.

Katsuya, H., Takata, T., Ishikawa, T., Sasaki, H., Ishitsuka, K., Takamatsu, Y. and Tamura, K. (2009) A patient with acute myeloid leukemia who developed fatal pneumonia caused by carbapenem-resistant *Bacillus cereus*. *J Infect Chemother* **15**, 39-41.

Kiyomizu, K., Yagi, T., Yoshida, H., Minami, R., Tanimura, A., Karasuno, T. and Hiraoka, A. (2008) Fulminant septicemia of *Bacillus cereus* resistant to carbapenem in a patient with biphenotypic acute leukemia. *J Infect Chemother* **14**, 361-367.

Klee, S.R., Brzuszkiewicz, E.B., Nattermann, H., Brüggemann, H., Dupke, S., Wollherr, A., Franz, T., Pauli, G., Appel, B., Liebl, W., Couacy-Hymann, E., Boesch, C., Meyer, F.D., Leendertz, F.H., Ellerbrok, H., Gottschalk, G., Grunow, R., Liesegang, H. (2010) The genome of a *Bacillus* isolate causing anthrax in chimpanzees combines chromosomal properties of *B. cereus* with *B. anthracis* virulence plasmids. *PLoS One*. **5**, e10986.

Kobayashi, K., Kami, M., Ikeda, M., Kishi, Y., Murashige, N., Tanosaki, R., Mori, S. and Takae, Y. (2005) Fulminant septicemia caused by *Bacillus cereus* following reduced-intensity umbilical cord blood transplantation. *Haematologica* **90**, ECR06.

Koch, A. and Arvand, M. (2005) Recurrent bacteraemia by 2 different *Bacillus cereus* strains related to 2 distinct central venous catheters. *Scand J Infect Dis* **37**, 772-774.

Kolsto, A.B., Tourasse, N.J. and Okstad, O.A. (2009) What sets *Bacillus anthracis* apart from other *Bacillus* species? *Annu Rev Microbiol* **63**, 451-476.

Kotiranta, A., Haapasalo, M., Kari, K., Kerosuo, E., Olsen, I., Sorsa, T., Meurman, J.H., and Lounatmaa, K. (1998) Surface structure, hydrophobicity, phagocytosis, and adherence to matrix proteins of *Bacillus cereus* cells with and without the crystalline surface protein layer. *Infect Immun* **66**, 4895-4902.

Kotiranta, A., Lounatmaa, K. and Haapasalo, M. (2000) Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes Infect* **2**, 189-198.

- Kramer, J. M. and Gilbert, R. J. (1989) *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. In *Foodborne Bacterial Pathogens*, ed. Doyle, M.P. pp. 21-70. New York: Marcel Dekker Inc.
- Lamanna, C. and Jones, L. (1963) Lethality for mice of vegetative and spore forms of *Bacillus cereus* and *Bacillus cereus* like insect pathogens injected intraperitoneally and subcutaneously. *J. Bacteriol.* **85**, 532-535.
- Latsios, G., Petrogiannopoulos, C., Hartzoulakis, G., Kondili, L., Bethimouti, K. and Zaharof, A. (2003) Liver abscess due to *Bacillus cereus*: a case report. *Clin Microbiol Infect* **9**, 1234-1237.
- Le Scanff, J., Mohammedi, I., Thiebaut, A., Martin, O., Argaud, L. and Robert, D. (2006) Necrotizing gastritis due to *Bacillus cereus* in an immunocompromised patient. *Infection* **34**, 98-99.
- Lebessi, E., Dellagrammaticas, H.D., Antonaki, G., Foustoukou, M. and Iacovidou, N. (2009) *Bacillus cereus* meningitis in a term neonate. *J Matern Fetal Neonatal Med* **22**, 458-461.
- Lequette, Y., Garénaux, E., Tauveron, G., Dumez, S., Perchat, S., Slomianny, C., Lereclus, D., Guérardel, Y., Faille, C. (2011a). Role played by exosporium glycoproteins in the surface properties of *Bacillus cereus* spores and in their adhesion to stainless steel. *Appl Environ Microb.* **77**, 4905-4911.
- Lequette, Y., Garénaux, E., Combrouse, T., del Lima Dias, T., Ronse, A., Slomianny, C., Trivelli, X., Guerardel, Y., Faille, C. (2011b). Domains of BclA, the major surface glycoprotein of the *B. cereus* exosporium: Glycosylation patterns and role in spore surface properties. *Biofouling.* **27**, 751-761.
- Lequin, M.H., Vermeulen, J.R., van Elburg, R.M., Barkhof, F., Kornelisse, R.F., Swarte, R. and Govaert, P.P. (2005) *Bacillus cereus* meningoencephalitis in preterm infants: neuroimaging characteristics. *AJNR Am J Neuroradiol* **26**, 2137-2143.
- Leung, K., Trevors, J.T. and Lee, H. (1995) Survival of and lacZ expression in recombinant *Pseudomonas* strains introduced into river water microcosms. *Can J Microbiol* **41**, 461-469.
- Levin, M. R. and D'Amico, D. J. (1991) Traumatic endophthalmitis. In *Eye trauma*, ed. B. J. Shingleton, P.S.H.a.K.R.K.ed. pp. 242-252. Missouri: Mosby Year Book.
- Lindback, T., Fagerlund, A., Rodland, M.S. and Granum, P.E. (2004) Characterization of the *Bacillus cereus* Nhe enterotoxin. *Microbiology* **150**, 3959-3967.
- Lindback, T., Okstad, O.A., Rishovd, A.L. and Kolsto, A.B. (1999) Insertional inactivation of hblC encoding the L2 component of *Bacillus cereus* ATCC 14579 haemolysin BL strongly reduces enterotoxigenic activity, but not the haemolytic activity against human erythrocytes. *Microbiology* **145**, 3139-3146.
- Lindbäck, T. and Granum, P. E. (2006) Detection and Purification of *Bacillus cereus* Enterotoxins. In *Food-Borne Pathogens* pp. 15-26. Humana Press.
- Lindbäck, T., Hardy, S.P., Dietrich, R., Sodring, M., Didier, A., Moravek, M., Fagerlund, A., Bock, S., Nielsen, C., Casteel, M., Granum, P. E. and Märklbauer, E. (2010) Cytotoxicity of the *Bacillus cereus* Nhe enterotoxin requires specific binding order of its three exoprotein components. *Infect Immun* **78**, 3813-3821

Logan, N. A. and De Vos, P. (2009) Genus I. *Bacillus*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 3: The Firmicutes*, ed. De Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.-H. and Whitman, W.B.E. pp. 21-127. New York: Springer.

Lund, T., De Buyser, M.L. and Granum, P.E. (2000) A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. *Mol Microbiol* **38**, 254-261.

Lund, T. and Granum, P.E. (1996) Characterisation of a non-haemolytic enterotoxin complex from *Bacillus cereus* isolated after a foodborne outbreak. *FEMS Microbiol Lett* **141**, 151-156.

Lund, T. and Granum, P.E. (1997) Comparison of biological effect of the two different enterotoxin complexes isolated from three different strains of *Bacillus cereus*. *Microbiology* **143**, 3329-3336.

Mahler, H., Pasi, A., Kramer, J.M., Schulte, P., Scoging, A.C., Bar, W. and Krahenbuhl, S. (1997) Fulminant liver failure in association with the emetic toxin of *Bacillus cereus*. *N Engl J Med* **336**, 1142-1148.

Manickam, N., Knorr, A. and Muldrew, K.L. (2008) Neonatal meningoencephalitis caused by *Bacillus cereus*. *Pediatr Infect Dis J* **27**, 843-846.

Martinez, M.F., Haines, T., Waller, M., Tingey, D. and Gomez, W. (2007) Probable occupational endophthalmitis from *Bacillus cereus*. *Arch Environ Occup Health* **62**, 157-160.

McIntyre, L., Bernard, K., Beniac, D., Isaac-Renton, J.L., and Naseby, D.C. (2008). Identification of *Bacillus cereus* Group Species Associated with Food Poisoning Outbreaks in British Columbia, Canada. *Appl Environ Microbiol* **74**, 7451-7453.

Melling, J., Capel, B. J., Turnbull, P. C. and Gilbert, R. J. (1976) Identification of a novel enterotoxigenic activity associated with *Bacillus cereus*. *J Clin Pathol* **29**, 938-940.

Merrill, L., Dunbar, J., Richardson, J., Kuske, C. R. (2006) Composition of *Bacillus* species in aerosols from 11 U.S. cities. *J Forensic Sci* **51**, 559-65.

Mikkola, R., Saris, N.-E. L., Grigoriev, P. A., Andersson, M. A. and Salkinoja-Salonen, M. S. (1999) Ionophoretic properties and mitochondrial effects of cereulide. *Eur J Biochem* **263**, 112-117.

Miles, G., Bayley, H. and Cheley, S. (2002) Properties of *Bacillus cereus* hemolysin II: a heptameric transmembrane pore. *Protein Sci* **11**, 1813-1824.

Miller, J.M., Hair, J.G., Hebert, M., Hebert, L., Roberts, F.J. Jr and Weyant, R.S. (1997) Fulminating bacteremia and pneumonia due to *Bacillus cereus*. *J Clin Microbiol* **35**, 504-507.

Mols, M., de Been, M., Zwietering, M.H., Moezelaar, R. and Abee, T. (2007) Metabolic capacity of *Bacillus cereus* strains ATCC 14579 and ATCC 10987 interlinked with comparative genomics. *Environ Microbiol* **9**, 2933-2944.

Monteverde, M.L., Sojo, E.T., Grosman, M., Hernandez, C. and Delgado, N. (2006) Relapsing *Bacillus cereus* Peritonitis in a Pediatric Patient on Chronic Peritoneal Dialysis. *Perit Dial Int* **26**, 715-716.

Moore, G.E. (1972) Pathogenicity of ten strains of bacteria to larvae of the southern pine beetle. *J Invertebr Pathol* **20**, 41-45.

- Moulder, E.H., Sharma, H.K. and Howell, F.R. (2008) Traumatic osteomyelitis of the femur treated with distraction osteogenesis without surgical bone resection: a case report. *J Trauma* **65**, E39-42.
- Musa, M.O., Al Douri, M., Khan, S., Shafi, T., Al Humaidh, A. and Al Rasheed, A.M. (1999) Fulminant septicaemic syndrome of *Bacillus cereus*: three case reports. *J Infect* **39**, 154-6.
- Narita, M., Matsui, K., Huang, C.C., Kawabata, Z. and Endo, G. (2004) Dissemination of TnMER11-like mercury resistance transposons among *Bacillus* isolated from worldwide environmental samples. *FEMS Microbiol Ecol* **48**, 47-55.
- Nishikawa, T., Okamoto, Y., Tanabe, T., Kodama, Y., Shinkoda, Y. and Kawano, Y. (2009) Critical illness polyneuropathy after *Bacillus cereus* sepsis in acute lymphoblastic leukemia. *Intern Med* **48**, 1175-1177.
- Nishiwaki, H., Ito, K., Otsuki, K., Yamamoto, H., Komai, H. and Matsuda, K. (2004) Purification and functional characterization of insecticidal sphingomyelinase C produced by *Bacillus cereus*. *Eur J Biochem* **271**, 601-606.
- Okinaka, R.T., Cloud, K., Hampton, O., Hoffmaster, A.R., Hill, K.K., Keim, P., Koehler, T.M., Lamke, G., Kumano, S., Mahillon, J., Manter, D., Martinez, Y., Ricke, D., Svensson, R. and Jackson, P.J. (1999) Sequence and organization of pXO1, the large *Bacillus anthracis* plasmid harboring the anthrax toxin genes. *J Bacteriol* **181**, 6509-6515.
- Okstad, O.A., Tourasse, N.J., Stabell, F.B., Sundfaer, C.K., Egge-Jacobsen, W., Risoen, P.A., Read, T.D. and Kolsto, A.B. (2004) The bcr1 DNA repeat element is specific to the *Bacillus cereus* group and exhibits mobile element characteristics. *J Bacteriol* **186**, 7714-7725.
- Paananen, A., Mikkola, R., Sareneva, T., Matikainen, S., Hess, M., Andersson, M., Julkunen, I., Salkinoja-Salonen, M.S. and Timonen, T. (2002) Inhibition of human natural killer cell activity by cereulide, an emetic toxin from *Bacillus cereus*. *Clin Exp Immunol* **129**, 420-428.
- Parke, D. W. B. G. S. (1986) Endophthalmitis. In *Infections of the eye* ed. K. F. Tabbara, a.R.A.H.ed. pp. 563-585. Boston: Little, Brown & Co.
- Perchat, S., Buisson, C., Chaufaux, J., Sanchis, V., Lereclus, D. and Gohar, M. (2005) *Bacillus cereus* produces several nonproteinaceous insecticidal exotoxins. *J Invertebr Pathol* **90**, 131-133.
- Perrin, D., Greenfield, J. and Ward, G.E. (1976) Aucte *Bacillus cereus* mastitis in dairy cattle associated with use of a contaminated antibiotic. *Can Vet J* **17**, 244-247.
- Pflugfelder, S.C. and Flynn, H.W. Jr (1992) Infectious endophthalmitis. *Infect Dis Clin North Am* **6**, 859-873.
- Pillai, A., Thomas, S. and Arora, J. (2006) *Bacillus cereus*: the forgotten pathogen. *Surg Infect (Larchmt)* **7**, 305-308.
- Priest, F.G., Barker, M., Baillie, L.W., Holmes, E.C. and Maiden, M.C. (2004) Population structure and evolution of the *Bacillus cereus* group. *J Bacteriol* **186**, 7959-7970.
- Puvabanditsin, S., Zaafran, A., Garrow, E., Diwan, R., Mehta, D. and Phattraprayoon, N. (2007) *Bacillus cereus* meningoencephalitis in a neonate. *HK J Paediatr* **12**, 293-296.

- Radnedge, L., Agron, P.G., Hill, K.K., Jackson, P.J., Ticknor, L.O., Keim, P. and Andersen, G.L. (2003) Genome differences that distinguish *Bacillus anthracis* from *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*. *Appl Environ Microbiol* **69**, 2755-2764.
- Rahmet-Alla, M. and Rowley, A.F. (1989) Studies on the pathogenicity of different strains of *Bacillus cereus* for the cockroach, *Leucophaea maderae*. *J Invert Pathol* **53**, 190-196.
- Rasko, D.A., Altherr, M.R., Han, C.S. and Ravel, J. (2005) Genomics of the *Bacillus cereus* group of organisms. *FEMS Microbiol Rev* **29**, 303-329.
- Rasko, D.A., Ravel, J., Okstad, O.A., Helgason, E., Cer, R.Z., Jiang, L., Shores, K.A., Fouts, D.E., Tourasse, N.J., Angiuoli, S.V., Kolonay, J., Nelson, W.C., Kolsto, A.B., Fraser, C.M. and Read, T.D. (2004) The genome sequence of *Bacillus cereus* ATCC 10987 reveals metabolic adaptations and a large plasmid related to *Bacillus anthracis* pXO1. *Nucleic Acids Res* **32**, 977-988.
- Rasko, D.A., Rosovitz, M.J., Okstad, O.A., Fouts, D.E., Jiang, L., Cer, R.Z., Kolsto, A.B., Gill, S.R. and Ravel, J. (2007) Complete sequence analysis of novel plasmids from emetic and periodontal *Bacillus cereus* isolates reveals a common evolutionary history among the *B. cereus*-group plasmids, including *Bacillus anthracis* pXO1. *J Bacteriol* **189**, 52-64.
- Ribeiro, N.F., Heath, C.H., Kierath, J., Rea, S., Duncan-Smith, M. and Wood, F.M. (2010) Burn wounds infected by contaminated water: Case reports, review of the literature and recommendations for treatment. *Burns* **36**, 9-22
- Ribeiro, M.C., da Silva Fernandes, M., Yoshiteru Kuaye, A., Jimenez-Flores, R., Gigante, M. (2017). Preconditioning of the stainless steel surface affects the adhesion of *Bacillus cereus* spores. *Int Dairy J.* **66**, 108-114.
- Risoen, P.A., Ronning, P., Hegna, I.K. and Kolsto, A.B. (2004) Characterization of a broad range antimicrobial substance from *Bacillus cereus*. *J Appl Microbiol* **96**, 648-655.
- Rizk, I.R. and Ebeid, H.M. (1989) Survival and growth of *Bacillus cereus* in Egyptian bread and its effect on bread staling. *Nahrung* **33**, 839-844.
- Rosslund, E., Andersen Borge, G.I., Langsrud, T. and Sorhaug, T. (2003) Inhibition of *Bacillus cereus* by strains of *Lactobacillus* and *Lactococcus* in milk. *Int J Food Microbiol* **89**, 205-212.
- Ruhfel, R.E., Robillard, N.J. and Thorne, C.B. (1984) Interspecies transduction of plasmids among *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, and *B. thuringiensis*. *J Bacteriol* **157**, 708-711.
- Ruiz, S.R., Reyes, G.M., Campos, C.T., Jimenez, V.L., Rojas, R.T., de la Fuente, C.G. and Esteve, A.A. (2006) Relapsing *Bacillus cereus* peritonitis during automated peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* **26**, 612-613.
- Sada, A., Misago, N., Okawa, T., Narisawa, Y., Ide, S., Nagata, M. and Mitsumizo, S. (2009) Necrotizing fasciitis and myonecrosis "synergistic necrotizing cellulitis" caused by *Bacillus cereus*. *J Dermatol* **36**, 423-426.
- Salamitou, S., Ramisse, F., Brehelin, M., Bourguet, D., Gilois, N., Gominet, M., Hernandez, E. and Lereclus, D. (2000) The *plcR* regulon is involved in the opportunistic properties of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* in mice and insects. *Microbiology* **146**, 2825-2832.

- Santos, C.A., Vilas-Boas, G.T., Lereclus, D., Suzuki, M.T., Angelo, E.A. & Arantes, O.M. (2010) Conjugal transfer between *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* strains is not directly correlated with growth of recipient strains, *J Invertebr Pathol* **105**, 171-175.
- Sasahara T., Hayashi S., Morisawa Y., Sakihama T., Yoshimura A., Hirai Y. (2011). *Bacillus cereus* bacteremia outbreak due to contaminated hospital linens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. **30**, 219-226.
- Schiefer, B., Macdonald, K.R., Klavano, G.G. and van Dreumel, A.A. (1976) Pathology of *Bacillus cereus* mastitis in dairy cows. *Can Vet J* **17**, 239-243.
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D.R. and Dean, D.H. (1998) *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiol Mol Biol Rev* **62**, 775-806.
- Schoeni, J.L., and A.C. Wong. (2005) *Bacillus cereus* food poisoning and its toxins. *J Food Prot* **68**, 636-648.
- Seligy, V.L., Beggs, R.W., Rancourt, J.M. and Tayabali, A.F. (1997) Quantitative bioreduction assays for calibrating spore content and viability of commercial *Bacillus thuringiensis* insecticides. *J Ind Microbiol Biotechnol* **18**, 370-378.
- Seligy, V. L., Shwed, P. S. and Tayabali., A. F. (2004) Comparison of Macrophage Cell Models exposed to spores of *Bacillus cereus* and *B.thuringiensis* sspp. Proc.12th Internat'l Immunol. Congress. Vol. ISBN 88-7587-0769-1 .Medimond S.r.l..
- Selvakumar, G., Mohan, M., Sushil, S. N., Kundu, S., Bhatt, J. C. and Gupta, H. S. (2007) Characterization and phylogenetic analysis of an entomopathogenic *Bacillus cereus* strain WGPSB-2 (MTCC 7182) isolated from white grub, *Anomala dimidiata* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Biocontrol Sci Technol* **17**, 525-534.
- Sharma, A., Thakur, D.R., Kanwar, S., Chandla, V.K. (2013). Diversity of entomopathogenic bacteria associated with the white grub, *Brahmina coriacea*. *J Pest Sci*. **86**, 261-273.
- Shimoni, Z., Mamet, Y., Niven, M., Mandelbaum, S., Valinsky, L. and Froom, P. (2008) *Bacillus cereus* peritonitis after Cesarean section. *Surg Infect (Larchmt)* **9**, 105-106.
- Shimono, N., Hayashi, J., Matsumoto, H., Miyake, N., Uchida, Y., Shimoda, S., Furusyo, N., Akashi, K. (2012). Vigorous cleaning and adequate ventilation are necessary to control an outbreak in a neonatal intensive care unit. *J Infect Chemother*. **18**, 303-307.
- Shinagawa, K., Ichikawa, K., Matsusaka, N. and Sugii, S. (1991a) Purification and some properties of a *Bacillus cereus* mouse lethal toxin. *J Vet Med Sci* **53**, 469-474.
- Shinagawa, K., Sugiyama, J., Terada, T., Matsusaka, N. and Sugii, S. (1991b) Improved methods for purification of an enterotoxin produced by *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiol Lett* **64**, 1-5.
- Shinagawa, K., Konuma, H., Sekita, H. and Sugii, S. (1995) Emesis of rhesus monkeys induced by intragastric administration with the HEp-2 vacuolation factor (cereulide) produced by *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiol Lett* **130**, 87-90.

- Sineva, E. V., Kovalevskaya, Z. I. A. S. A. M., Gerasimov, Y. L., Ternovsky, V. I., Teplova, V. V., Yurkova, T. V. and Solonin, A. S. (2009). Expression of *Bacillus cereus* hemolysin II in *Bacillus subtilis* renders the bacteria pathogenic for the crustacean *Daphnia magna*. *FEMS Microbiol Lett* **299**, 110-119.
- Shiota, M., Saitou, K., Mizumoto, H., Matsusaka, M., Agata, N., Nakayama, M., Kage, M., Tatsumi, S., Okamoto, A., Yamaguchi, S., Ohta, M. and Hata, D. (2010) Rapid detoxification of cereulide in *Bacillus cereus* food poisoning. *Pediatrics* **125**, e951-955
- Sotto, A., Porneuf, M., Gouby, A., Rossi, J.F., et Jourdan, J. (1995) Septicémie à *Bacillus cereus* et pneumopathie nécrosante au cours d'une leucémie lymphoïde chronique. *Méd Mal Infect* **25**, 1-3
- Spira, W. M. and Goepfert, J. M. (1972) *Bacillus cereus*-Induced Fluid Accumulation in Rabbit Ileal Loops. *Appl. Environ. Microbiol.* **24**, 341-348.
- Srivaths, P.R., Rozans, M.K., Kelly, E. Jr and Venkateswaran, L. (2004) *Bacillus cereus* central line infection in an immunocompetent child with hemophilia. *J Pediatr Hematol Oncol* **26**, 194-196.
- Stansfield, R. and Caudle, S. (1997) *Bacillus cereus* and orthopaedic surgical wound infection associated with incontinence pads manufactured from virgin wood pulp. *J Hosp Infect* **37**, 336-338.
- Steen, M.K., Bruno-Murtha, L.A., Chaux, G., Lazar, H., Bernard, S. and Sulis, C. (1992) *Bacillus cereus* endocarditis: report of a case and review. *Clin Infect Dis* **14**, 945-946.
- Stenfors Arnesen, L.P., Fagerlund, A. and Granum, P.E. (2008) From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol Rev* **32**, 579-606.
- Stretton, R.J. and Bulman, R.A. (1975) Experimental infection of rabbits with *Bacillus cereus*. *Zentralbl Bakteriolog Orig A* **232**, 83-90.
- Stromsten, N.J., Benson, S.D., Burnett, R.M., Bamford, D.H. and Bamford, J.K. (2003) The *Bacillus thuringiensis* linear double-stranded DNA phage Bam35, which is highly similar to the *Bacillus cereus* linear plasmid pBclin15, has a prophage state. *J Bacteriol* **185**, 6985-6989.
- Sushil, S. N., Mohan, M., Selvakumar, G., Bhatt, J. C. and Gupta, H. S. (2008) Isolation and toxicity evaluation of bacterial entomopathogens against phytophagous white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) in Indian Himalayan hills. *Int J Pest Manage* **54**, 301-307.
- Tayabali, A. F., Nguyen, K. C. and Seligy, V. L. (2010) Early murine immune responses from endotracheal exposures to biotechnology-related *Bacillus* strains. *Toxicol. Environ. Chem.* DOI: 10.1080/02772248.2010.526784
- Ticknor, L.O., Kolsto, A.B., Hill, K.K., Keim, P., Laker, M.T., Tonks, M. and Jackson, P.J. (2001) Fluorescent Amplified Fragment Length Polymorphism Analysis of Norwegian *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* Soil Isolates. *Appl Environ Microbiol* **67**, 4863-73.
- To, W.N., Gudauskas, R.T. and Harper, J.D. (1975) Pathogenicity of *Bacillus cereus* isolated from *Trichoplusia ni* larvae. *J Invertebr Pathol* **26**, 135-136.
- Tobita, H. and Hayano, E. (2007) A fulminant case of endogenous endophthalmitis caused by gram-positive bacillus. *Jpn J Clin Ophthalmol* **61**, 985-989.

- Todd, E., Park, C., Clecner, B., Fabricius, A., Edwards, D. and Ewan, P. (1974) Two outbreaks of *Bacillus cereus* food poisoning in Canada. *Can J Pub Health* **65**, 109-113.
- Tourasse, N.J., Helgason, E., Okstad, O.A., Hegna, I.K. and Kolsto, A.B. (2006) The *Bacillus cereus* group: novel aspects of population structure and genome dynamics. *J Appl Microbiol* **101**, 579-593.
- Tourasse, N.J. and Kolsto, A.B. (2008) Survey of group I and group II introns in 29 sequenced genomes of the *Bacillus cereus* group: insights into their spread and evolution. *Nucleic Acids Res* **36**, 4529-4548.
- Tran, S.L., Guillemet, E., Ngo-Camus, M., Clybouw, C., Puhar, A., Moris, A., Gohar, M., Lereclus, D., Ramarao, N. (2010a) Hemolysin II is a *Bacillus cereus* virulence factor that induces apoptosis of macrophages. *Cell Microbiol*. 2010 Aug 23. [Epub ahead ofprint].
- Tran S.L., Guillement, E., Gohar, M., Lereclus, D. and Ramarao, N. (2010b) CwpFM (EntFM) is a *Bacillus cereus* potential cell wall peptidase implicated in adhesion, biofilm formation, and virulence. *J Bacteriol* **192**, 2638-2642
- Tuladhar, R., Patole, S.K., Koh, T.H., Norton, R. and Whitehall, J.S. (2000) Refractory *Bacillus cereus* infection in a neonate. *Int J Clin Pract* **54**, 345-347.
- Turnbull, P. C. (1976) Studies on the production of enterotoxins by *Bacillus cereus*. *J Clin Pathol* **29**, 941-948.
- Turnbull, P.C., Jorgensen, K., Kramer, J.M., Gilbert, R.J. and Parry, J.M. (1979) Severe clinical conditions associated with *Bacillus cereus* and the apparent involvement of exotoxins. *J Clin Pathol* **32**, 289-293.
- Turnbull, P.C. and Kramer, J.M. (1983) Non-gastrointestinal *Bacillus cereus* infections: an analysis of exotoxin production by strains isolated over a two-year period. *J Clin Pathol* **36**, 1091-1096.
- Turnbull, P., Kramer, J., Jorgensen, K., Gilbert, R. and Melling, J. (1979) Properties and production characteristics of vomiting, diarrheal, and necrotizing toxins of *Bacillus cereus*. *Am J Clin Nutr* **32**, 219-228.
- Usui, K., Miyazaki, S., Kaito, C. and Sekimizu, K. (2009) Purification of a soil bacteria exotoxin using silkworm toxicity to measure specific activity. *Microb Pathog* **46**, 59-62.
- Vahey, J.B. and Flynn, H.W. Jr (1991) Results in the management of *Bacillus endophthalmitis*. *Ophthalmic Surg* **22**, 681-686.
- Van der Auwera, G. and Mahillon, J. (2005) TnXO1, a germination-associated class II transposon from *Bacillus anthracis*. *Plasmid* **53**, 251-257.
- Van der Auwera, G.A., Timmerly, S., Hoton, F. and Mahillon, J. (2007) Plasmid exchanges among members of the *Bacillus cereus* group in foodstuffs. *Int J Food Microbiol* **113**, 164-172.
- Van Der Zwet, W.C., Parlevliet, G.A., Savelkoul, P.H., Stoof, J., Kaiser, A.M., Van Furth, A.M. and Vandenbroucke-Grauls, C.M. (2000) Outbreak of *Bacillus cereus* infections in a neonatal intensive care unit traced to balloons used in manual ventilation. *J Clin Microbiol* **38**, 4131-4136.
- Van Veen, J.A., van Overbeek, L.S. and van Elsas, J.D. (1997) Fate and activity of microorganisms introduced into soil. *Microbiol Mol Biol Rev* **61**, 121-135.

- Vassileva, M., Torii, K., Oshimoto, M., Okamoto, A., Agata, N., Yamada, K., Hasegawa, T. and Ohta, M. (2006) Phylogenetic analysis of *Bacillus cereus* isolates from severe systemic infections using multilocus sequence typing scheme. *Microbiol Immunol* **50**, 743-749.
- Velmurugan, S., Palanikumar, P., Velayuthani, P., Donio, M.B.S., Babu, M.M., Lelin, C., Sudhakar, S., Citarasu, T. (2015). Bacterial white patch disease caused by *Bacillus cereus*, a new emerging disease in semi-intensive culture of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. **444**, 49-54
- Verheust, C., Fornelos, N. and Mahillon, J. (2005) GIL16, a new gram-positive tectiviral phage related to the *Bacillus thuringiensis* GIL01 and the *Bacillus cereus* pBClin15 elements. *J Bacteriol* **187**, 1966-1973.
- Virtanen, S.M., Roivainen, M., Andersson, M.A., Ylipaasto, P., Hoornstra, D., Mikkola, R. and Salkinoja-Salonen, M.S. (2008) In vitro toxicity of cereulide on porcine pancreatic Langerhans islets. *Toxicon* **51**, 1029-1037.
- Weber, D.J., Saviteer, S.M., Rutala, W.A. and Thomann, C.A. (1988) In vitro susceptibility of *Bacillus* spp. to selected antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* **32**, 642-645.
- Wijman, J.G., de Leeuw, P.P., Moezelaar, R., Zwietering, M.H., and Abee, T. (2007) Air-liquid interface biofilms of *Bacillus cereus*: formation, sporulation, and dispersion. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**; 1481-1488.
- Wijnands, L.M., Dufrenne, J.B. and van Leusden, F.M. (2001) The pathogenic mechanism of the diarrheal syndrome caused by *Bacillus cereus*. *RIVM report 250912001/2002*, 1-18.
- Wohlgemuth, K., Bicknell, E.J. and Kirkbride, C.A. (1972a) Abortion in cattle associated with *Bacillus cereus*. *J Am Vet Med Assoc* **161**, 1688-1690.
- Wohlgemuth, K., Kirkbride, C.A., Bicknell, E.J. and Ellis, R.P. (1972b) Pathogenicity of *Bacillus cereus* for pregnant ewes and heifers. *J Am Vet Med Assoc* **161**, 1691-1695.
- Wong, H.C., Chang, M.H. and Fan, J.Y. (1988) Incidence and characterization of *Bacillus cereus* isolates contaminating dairy products. *Appl Environ Microbiol* **54**, 699-702.
- Xiang, S.R., Cook, M., Saucier, S., Gillespie, P., Socha, R., Scroggins, R., and L.A. Beaudette. (2010) Development of Amplified Fragment Length Polymorphism-Derived Functional Strain-Specific Markers to Assess the Persistence of 10 Bacterial Strains in Soil Microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*. **76(21)**:7126-7135.
- Yuan, Y., Zheng, D., Hu, X., Cai, Q. and Yuan, Z. (2010) Conjugative transfer of insecticidal plasmid pHT73 from *Bacillus thuringiensis* to *B. anthracis* and compatibility of this plasmid with pXO1 and pXO2. *Appl Environ Microbiol* **76**, 468-473.
- Zheng, X., Kodama, T. and Ohashi, Y. (2008) Eyeball luxation in *Bacillus cereus*-induced panophthalmitis following a double-penetrating ocular injury. *Jpn J Ophthalmol* **52**, 419-421.

Annexes

Annexe A : Caractérisation de la souche ATCC 14579 de *B. cereus*

Tableau 0-1 : Croissance de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* dans un milieu liquide à diverses températures

Milieu	28 °C	32 °C	37 °C	42 °C
Bouillon de trypticase soya (TSB)	+	+	+	+
Plasma de mouton	-	-	(+)	~
Sérum fœtal bovin	+	+	+	-
Milieu de Eagles modifié par Dulbecco	(+)	~	-	-

+ croissance; – aucune croissance; (+) croissance faible et différée (après 15 h); ~ croissance de faible niveau. Données produites par le Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale de Santé Canada. La croissance de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* dans le bouillon de culture a été mesurée par une augmentation de l'absorbance à 500 nm, dans quatre milieux de croissance différents et à diverses températures. La concentration des bactéries au temps zéro était de 1×10^6 UFC/mL. Les mesures ont été prises toutes les 15 minutes sur une période de 24 heures, avec un spectrophotomètre à puits multiples.

Tableau 0-2 : Caractéristiques de croissance de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* sur un milieu solide à diverses températures

Milieu	28 °C	37 °C
Gélose nutritive	+	+
Citrate ^a	-	-
Lysine-fer ^b	+	+
Croissance sur gélose MacConkey ^c	-	-
Gélose de sel Mannitol ^d	-	-
Suppléments MYP ^e	+	+
Croissance sur une gélose d'amidon ^f	N. D.	+
Hydrolyse de l'amidon ^f	N. D.	+
Trois sucres-fer – avec rouge de phénol ^g	+	-
Hydrolyse de l'urée ^h	+	+
Activité de la catalase sur un bouillon TSB ⁱ	-	+
Activité de la catalase sur gélose de sang de mouton ⁱ	+	+
Hémolyse ^j	+	+

+ indique un résultat positif de croissance ou de l'essai; – indique un résultat négatif de croissance ou de l'essai; N. D. indique que les données ne sont pas disponibles.

Données produites par le Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale de Santé Canada.

^a Essai d'utilisation du citrate : capacité à utiliser le citrate en tant que source unique de carbone.

^b Détection simultanée de la lysine décarboxylase et de la formation de sulfure d'hydrogène.

^c Détection des organismes coliformes; tests permettant de définir la capacité d'un organisme à fermenter le lactose.

^d Isolement et différenciation de *Staphylococci*.

^e Gélose sélective pour *B. cereus*.

^f Milieu différentiel permettant de tester la capacité d'un organisme à produire des enzymes extracellulaires qui hydrolysent l'amidon.

^g Bacille entérique Gram négatif basé sur la fermentation du glucose, du lactose et du saccharose ainsi que sur la production de sulfure d'hydrogène.

^h Détection des entéropathogènes provenant de spécimens de selles – métabolisme de l'urée.

ⁱ L'essai sur l'enzyme catalase mesure la détoxification enzymatique du peroxyde d'hydrogène.

^j Hémolyse de sang de mouton. Des bactéries (500 UFC, 20 µL) ont été déposées sur la gélose de sang et incubées pendant 24 heures.

Tableau 0-3 : Caractérisation de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* par analyse des esters méthyliques d'acide gras (EMAG)

Base de données environnementales		Base de données cliniques	
<i>B. cereus</i> , groupe A	39/46 (0,889)	<i>B. thuringiensis</i> groupe B	24/35 (0,751)
<i>B. megaterium</i> sous-groupe A	1/46 (0,045)	<i>B. cereus</i> groupe A	8/35 (0,751)
Aucune correspondance	6/46	Aucune correspondance	3/35

Données produites par le Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale de Santé Canada. Les données présentées montrent la meilleure correspondance entre l'échantillon et différentes bases de données MIDI (cliniques et environnementales) ainsi que le nombre de correspondances (fraction du nombre total d'essais) et l'indice de similarité du profil d'acides gras (entre parenthèses : moyenne de l'ensemble des correspondances). Le système d'identification commercial MIDI est basé sur l'analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acide gras des cellules.

Annexe B : Liens au sein du groupe *B. cereus*

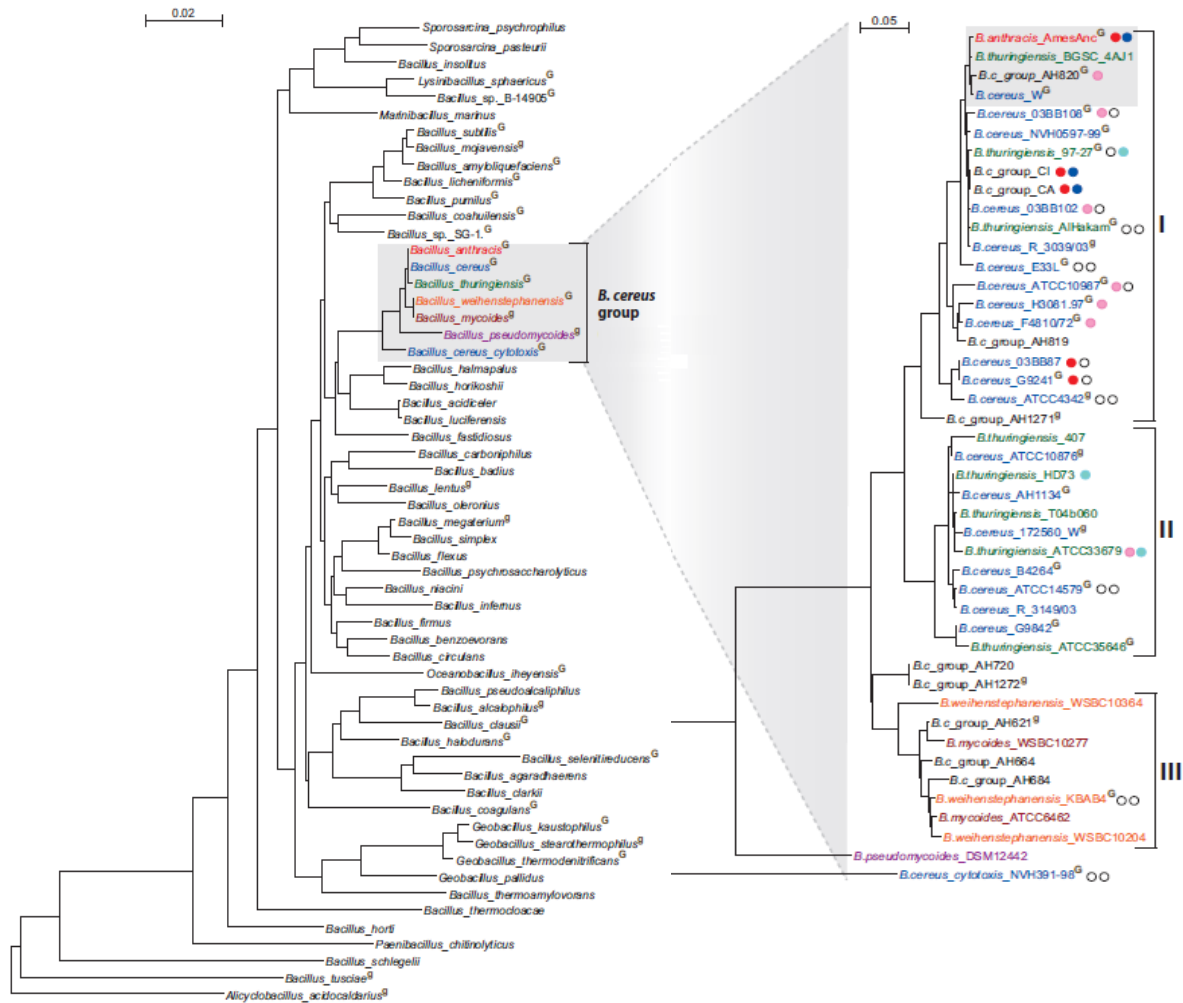


Figure B -1 : Arbre phylogénétique basé sur la méthode dite de regroupement des voisinages (*neighbor-joining*) appliquée à une matrice de distances entre paires – l'arbre montre la relation des séquences du gène de l'ARN ribosomal (ARNr) 16S entre 57 espèces de *Bacillus*. Tiré de la figure 1 de Kolsto et coll. (2009).

Annexe C : Éléments génétiques mobiles du groupe *B. cereus*

Tableau C-1 : Liste de certains plasmides trouvés dans le groupe *B. cereus* et leurs caractères connexes

Nom	<i>Bc</i> ^a	<i>Ba</i> ^b	<i>Bt</i> ^c	Caractères associés	Références
pAW63 ^d	N. D.	N. D.	sous-esp. <i>kurstaki</i>	- Aucune homologie connue avec <i>cry</i> et <i>cyt</i> , - Contient des éléments mobiles et des protéines putatives	(Schnepf et coll. 1998; Van der Auwera et Mahillon 2005)
pBc10987 ^e	10987	N. D.	N. D.	- Tn554, AbrB (régulateur) - Bc1A (déterminant du revêtement de spore)	(Rasko et coll. 2004)
pBC218	G9241	N. D.	N. D.	Capsule de polysaccharide	(Hoffmaster et coll. 2004)
pBClin15 ^f	14579	N. D.	N. D.	Élément prophage, similaire à Bam35	(Stromsten et coll. 2003; Verheust et coll. 2005)
pBClin29	G9241	N. D.	N. D.	Élément prophage	(Hoffmaster et coll. 2004)
pBCOX1 ^g	G9241	N. D.	N. D.	Complexe toxine létale <i>pagA</i> , <i>lef</i> , <i>cya</i>	(Hoffmaster et coll. 2004)
pBT9727 ^d	N. D.	N. D.	97-27 ^h	- Aucune homologie connue avec <i>cry</i> et <i>cyt</i> , - Contient des éléments mobiles et des protéines putatives	(Rasko et coll. 2005)
pBTaxis	N. D.	N. D.	+	Toxine protéinique insecticide (<i>cry</i> , <i>cyt</i>)	(Berry et coll. 2002)
pCER270	AH1134 AH187	N. D.	N. D.	Toxine émétique (céréulide)	(Ehling-Schulz et coll. 2006; El Emmawie et coll. 2008; Rasko et coll. 2007)
pE33L ⁱ (série)	E33L ^j	N. D.	N. D.	Possède un certain nombre de gènes transposables et d'éléments mobiles	(Rasko et coll. 2005)
pPER272	AH820 AH818	N. D.	N. D.	Associé aux isolats périodontaux	(Rasko et coll. 2007)
pXO1	N. D.	+	N. D.	Complexe toxine létale, gènes <i>pag</i> , <i>lef</i> et <i>cya</i>	(Okinaka et coll. 1999)
pXO2	N. D.	+	N. D.	- Capsule d'acide D-glutamique, - Opéron <i>coiffe</i> BCADE	(Drysdale et coll. 2005)
pXO16	N. D.	N. D.	sous-esp. <i>israelensis</i>	Phénotype d'agrégation	(Jensen et coll. 1995)
pCI-XO1 ^g	CI	N. D.	N. D.	Complexe toxine létale, gènes <i>pag</i> , <i>lef</i> et <i>cya</i>	(Klee et coll. 2010)
pCI-XO2 ^k	CI	N. D.	N. D.	- Capsule d'acide D-glutamique, - Opéron <i>coiffe</i> BCADE	(Klee et coll. 2010)

Nom	Bc ^a	Ba ^b	Bt ^c	Caractères associés	Références
CI-14	CI	N. D.	N. D.	- Fonction inconnue - Plasmide cryptique	(Klee et coll. 2010)

N. D. = données non disponibles; + = souches multiples.

^a Souches de *Bacillus cereus* connues pour porter des éléments génétiques mobiles.

^b Souches de *Bacillus anthracis* connues pour porter des éléments génétiques mobiles.

^c Souches de *Bacillus thuringiensis* connues pour porter des éléments génétiques mobiles.

^d Partage un squelette plasmidique conservé avec pX02 de *B. anthracis*.

^e Partage un squelette plasmidique conservé avec pX01 de *B. anthracis*.

^f Plasmide linéaire.

^g Partage 99 % et plus de son identité génétique avec pX01.

^h *B. thuringiensis*, sous-esp. *konkukian* 97-27 isolé d'un cas de nécrose humaine grave.

ⁱ Similaire à pX02 et pBC218.

^j Isolât extrait d'un zèbre soupçonné d'être mort de l'anthrax (phylogénétiquement proche de *B. anthracis*).

^k Partage 100 % de son identité génétique avec pX02.

Tableau C-2 : Liste des phages trouvés dans le groupe *B. cereus*

Nom	Bc ^a	Ba ^b	Bt ^c	Références
Bam35	N. D. ^d	N. D.	+	(Ackermann et coll. 1978)
CP-51	+	N. D.	N. D.	(Ruhfel et coll. 1984)
GIL01	N. D.	N. D.	+	(Verheust et coll. 2005)

N. D. = données non disponibles; + = souches multiples.

^a Souches de *Bacillus cereus* connues pour porter des éléments génétiques mobiles.

^b Souches de *Bacillus anthracis* connues pour porter des éléments génétiques mobiles.

^c Souches de *Bacillus thuringiensis* connues pour porter des éléments génétiques mobiles.

Tableau C-3 : Liste des éléments génétiques mobiles trouvés dans le génome du groupe *B. cereus* et caractères connexes

Type	Nom	Bc ^a	Ba ^b	Bt ^c	Caractères connexes	Références
Transposon	Tn5084	RC607 VKM684	+	+	- Résistance au mercure	(Huang et coll. 1999; Narita et coll. 2004)
Élément d'ADN répété	<i>bcr1</i>	+ (incl. 14579)	+	+	- Présente les caractéristiques d'un élément mobile	(Okstad et coll. 2004)
Séquence d'insertion	<i>IS231</i>	+ (incl. 14579)	+	+	- Transposase	(De Palmenaer et coll. 2004)
Intron du groupe I	<i>recA</i>	+ (incl. 10987 E33L)	+	+	- Ribozyme (ARN catalytique)	(Tourasse et coll. 2006)
Intron du groupe I	<i>nrdE</i>	+ E33L G9241 10987	+	+	- Ribozyme (ARN catalytique)	(Tourasse et coll. 2006)
Intron du groupe II	<i>B.c.I1</i>	10987 14579	N. D.	N. D.	N. D.	(Tourasse et coll. 2006)
Intron du groupe I	<i>Bc/St1</i>	10987 E33L	+	+	- Autoépissage d'introns du	(Tourasse et coll. 2006)

Type	Nom	<i>Bc</i> ^a	<i>Ba</i> ^b	<i>Bt</i> ^c	Caractères connexes	Références
		G9241 (non pas 14579)			groupe I associés à des éléments IS	

+ = souches multiples; N. D. = données non disponibles.

^a Souches de *Bacillus cereus* connues pour porter des éléments génétiques mobiles.

^b Souches de *Bacillus anthracis* connues pour porter des éléments génétiques mobiles.

^c Souches de *Bacillus thuringiensis* connues pour porter des éléments génétiques mobiles.

Annexe D : Gènes toxiques présents dans le génome de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* (NC 004721)

Tableau D-1 : Gènes chromosomiques encodant pour les toxines de la souche ATCC 14579 de *B. cereus*

Séquences d'ADN de codage dans <i>B. cereus</i> ^a	Fonction
BC3103, BC3102, BC3102	Entérotoxine hémolytique BL
BC1809, BC1810, BC0560	Entérotoxine non hémolytique Nhe
BC2081	Entérotoxine T, BceT
BC1953	Entérotoxine FM1
BC1110	Cytotoxine K
BC3761	Phospholipase C spécifique au Phosphatidylinositol
BC0670	Phospholipase C spécifique à la phosphatidylcholine
BC0671	Sphingomyélinase
BC5101	Céréolysine O
BC3523	Hémolysine II
BC2196	Hémolysine III

^a Adapté d'Ivanova et coll. 2003

Annexe E : Facteurs de virulence produits par *B. cereus*

Tableau E-1 : Liste des toxines produites par *B. cereus*

Toxine	Caractéristiques structurales	Dose toxique et effets	Références
Céréulide	- Peptide lipophile, thermostable, stable à la chaleur, toxine émétique - Dodécadepsipeptide cyclique ressemblant à la valinomycine (OLeu-Ala-OVal-Val-)₃ - Ionophore K⁺-spécifique similaire à la valinomycine	- La quantité de céréulide présente dans les échantillons d'aliments impliqués dans l'intoxication alimentaire émétique varie de 0,01 à 1,28 µg/g d'aliments. - La dose toxique chez l'humain est de 8 µg/kg⁻¹ de poids corporel (dose causant des vomissements chez l'humain). Elle est de 10 µg/kg chez le macaque rhésus et de 8 µg/kg chez <i>Suncus murinus</i>. - La DE₅₀ chez <i>Suncus murinus</i> est de 12,9 µg kg⁻¹ par administration orale. - Cytotoxique et mitochondriotoxique pour les cellules primaires et les lignées cellulaires d'origine humaine et des autres mammifères. - Dans un test biologique pour la détection de la production de céréulide dans les souches de <i>B. cereus</i>, du sperme de sanglier exposé <i>in vitro</i> à 2 µg/L de céréulide a montré des signes observables de dommages mitochondriaux. - Toxique pour les îlots de Langerhans et les cellules bêta de fœtus porcins. - Inhibe l'oxydation hépatique des acides gras mitochondriaux, ce qui peut causer une défaillance du foie. - Inhibe les cellules NK à une concentration de 20-30 µg/L.	(Agata et coll. 1994; Agata et coll. 1995b; Agata et coll. 2002; Haggbloom et coll. 2002; Jaaskelainen et coll. 2003; Mahler et coll. 1997; Mikkola et coll. 1999; Paananen et coll. 2002; Shinagawa et coll. 1995; Virtanen et coll. 2008)
Cytotoxine K (CytK)	- Deux variantes de la protéine : CytK-1 et CytK-2 - La comparaison des séquences laisse voir que la protéine pourrait appartenir à la famille des toxines en tonneau bêta formant des pores	- La CytK-1 et la CytK-2 sont capables de former des pores dans des bicouches de lipides, mais la distribution de la conductance des canaux est plus basse dans la CytK-2. - La CytK-1 est associée à des troubles gastropintestinaux graves. - Des effets hautement cytotoxiques, nécrotiques et hémolytiques sont produits par la CytK-1 ou la CytK-2. - Cette cytotoxine pourrait causer l'entérite nécrotique. - Les essais préliminaires d'injections intracutanées sur cobayes indiquent que les toxines CytK seraient dermonécrosantes. - Comparativement à la CytK2, la CytK-1 est fortement toxique pour les cellules intestinales humaines Caco2 et pour les cellules Vero.	(Brillard et Lereclus 2004; Fagerlund et coll. 2004; Guinebretiere et coll. 2006; Hardy et coll. 2001; Lund et coll. 2000)

Toxine	Caractéristiques structurales	Dose toxique et effets	Références
		- Les protéines CytK-2 sont toxiques pour les cellules Caco2 et pour les érythrocytes bovins, mais dans une moindre mesure que la protéine originale CytK-1. - Aucune information n'est disponible sur la dose applicable de la toxine.	
Hémolysine BL (HBL)	Toxine formant des pores à trois composantes (B, L ₁ , L ₂)	- Principal facteur de virulence associé au syndrome diarrhéique. HBL est responsable de l'activité entérotoxigénique majeure et de l'activité cytopathogénique de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i>. - Entérotoxine responsable du syndrome d'intoxication alimentaire diarrhéique. - Activités toxiques lorsque les trois composantes de HBL sont combinées : hémolyse, cytotoxicité, perméabilité vasculaire, dermonécrose, entérotoxicité et toxicité oculaire. - Lyse causée par la formation d'un complexe d'attaque membranaire à la surface de la cellule. - Entérotoxigène; endommage les membranes d'une variété de types différents de cellules. - Est cytotoxique pour les cellules Vero, les cellules ovariennes de hamster chinois (CHO) et les cellules rétinienne et lésales pour les souris à l'injection. - Cause la nécrose des tissus intestinaux, l'accumulation de fluide dans l'anse iléale ligaturée de souris ainsi que la perméabilité vasculaire et la nécrose dans la peau de lapin. - La toxine HBL ne contribue pas de façon notable à l'activité hémolytique de <i>B. cereus</i> à l'encontre des érythrocytes humains; HBL est principalement active contre les érythrocytes des moutons et des veaux. - Nécrosante pour le tissu rétinien des lapins avec une activité maximale pour les doses comprises entre 50 et 150 µg/L. - Induit l'apoptose dans les macrophages.	(Agata et coll. 1995a; Beecher et Macmillan 1991; Beecher et coll. 2000; Beecher et coll. 2000; Beecher et coll. 1995b; Beecher et Wong 1994a; Beecher et Wong 1994b; Beecher et Wong 1994c; Beecher et Wong 1997; Beecher et Wong 2000; Lindback et coll. 1999; Tran et coll. 2010a)
Entérotoxine non hémolytique (Nhe)	- Complexe à trois éléments (Nhe A, Nhe B et Nhe C). Un facteur de liaison (Nhe B), un facteur de formation de complexe	- Entérotoxine sans effets hémolytiques détectables - Propriétés cytotoxiques et entérotoxiques	(Fagerlund et coll. 2008; Granum et coll. 1999; Haug et coll. 2010; Lindback et coll. 2004; Linback et coll. 2010; Lund et Granum 1996;

Toxine	Caractéristiques structurales	Dose toxique et effets	Références
	(Nhe C), et un facteur de lyse (Nhe A). - Nhe est à la base une toxine à deux éléments (Nhe A et Nhe B), mais un troisième élément (Nhe C) est nécessaire pour obtenir un effet cytotoxique complet dans certaines cellules. - L'effet cytotoxique optimal est obtenu avec un ratio NheA:NheB:NheC de 10:10:1. Une concentration de NheC supérieure à 10 % de celle de NheA et de NheB inhibe l'activité toxique. - Le mécanisme de cytotoxicité est une lyse osmotique suivant la formation de pores dans la membrane plasmique.		Wijnands et coll. 2001)
Entérotoxine T (BceT ou bc-D-Ent)	Inconnues	- Action entérotoxique de type inconnu. - Proposé comme entérotoxine de <i>B. cereus</i>, mais la proposition a été désapprouvée après qu'il ait été suggéré que la construction clonique <i>bceT</i> était un artefact de clonage.	(Agata et coll. 1995a; Choma et Granum 2002; Guinebretiere et coll. 2006; Hansen et coll. 2003; Lindbäck

Toxine	Caractéristiques structurales	Dose toxique et effets	Références
			et Granum 2006)
Entérotoxine FM (entFM)	Inconnues	- Mécanisme d'action et rôle inconnus. - Augmente la perméabilité vasculaire chez le lapin et cause une accumulation de fluide dans les anses intestinales ligaturées des souris. - Cytotoxique pour les cellules Vero et létale pour les souris. - L'analyse de séquence révèle que EntFM est apparentée aux peptidases de paroi cellulaire (CwpS) et présente une homologie avec l'hydrolase de la paroi cellulaire de <i>B. subtilis</i>, laissant penser que la protéine pourrait ne pas être une toxine. - EntFm pourrait quand même avoir un rôle dans la virulence de <i>B. cereus</i>.	(Asano et coll. 1997; Lindbäck et Granum 2006; Tran et coll. 2010b; Shinagawa et coll. 1991a; Shinagawa et coll. 1991b)

Tableau E-2 : Liste des facteurs de virulence causant des dommages aux membranes et produits par *B. cereus*

Facteur	Caractéristiques structurales	Dose toxique et effets	Références
Hémolysine I (HlyII)	- Membre de la famille de toxines en tonneau bêta formant des pores - HlyII est un homologue structurel et fonctionnel de l'hémolysine alpha des staphylocoques - Se fixe à la surface des cellules et s'assemble en pores transmembranaires oligomères menant à la perméation et à la lyse cellulaire.	- Protéine hémolytique - L'hémolysine II est en mesure de lyser différents types de cellules eucaryotes. L'activité hémolytique sur les érythrocytes de lapin a une valeur CH₅₀ de 1,64 µg/L (CH₅₀ : concentration d'hémolysine nécessaire pour atteindre 50 % de lyse des érythrocytes). - Présente une activité cytolytique sur les érythrocytes humains et de lapin. Les érythrocytes bovins et murins sont moins sensibles à HlyII.	(Andreeva et coll. 2006; Andreeva et coll. 2007; Miles et coll. 2002)

Facteur	Caractéristiques structurales	Dose toxique et effets	Références
Hémolysine III (Hly-III)	Hémolyse formant des pores présentant un diamètre fonctionnel de 3-3,5 nm environ.	- Protéine hémolytique - Les trois étapes de l'hémolyse : i) fixation thermodépendante des monomères de Hly-III sur la membrane des érythrocytes; ii) formation thermodépendante de pores transmembranaires par les multiples molécules de l'hémolysine; iii) lyse des érythrocytes indépendante de la température.	(Baida et Kuzmin 1995; Baida et Kuzmin 1996)
Céréolysine O (CLO)	- Toxine formant des pores de la famille des cytolytases fixant au cholestérol (CBC) - Réaction croisée avec la streptolysine O	- Protéine hémolytique - Cause une désorganisation de la membrane cytoplasmique et des organites intracellulaires. - Activé par le thiol, instable à la chaleur et peu sensible à la protéolyse. - Rôle pathogène dans l'infection extraintestinale. - Les CBC sont létales pour les animaux et fortement lytiques envers les cellules eucaryotes, incluant les érythrocytes.	(Alouf 2000; Granum 1994)
Hydrolase de phosphatidylinosol (PIH)	Le phosphatidylinosol (PI) hydrolysé à la phospholipase C et les ancres membranaires au PI contenant du glycane, qui sont des éléments structuraux importants d'une classe de protéines membranaires.	Aucune activité hémolytique	(Granum 1994; Beecher et Wong 2000)
Sphingomyélinase (SMase)	Sphingomyéline fortement spécifique hydrolysée à la phospholipase C hautement spécifique afin de produire de la céramide et de la phosphocholine.	- La SMase a lysé des érythrocytes de ruminants (46-53 % de SM). - Présente une activité hémolytique auprès des érythrocytes de mammifères et hémolyse les érythrocytes ovins avec ou sans choc froid. - Les données pour la lyse sont de 222 HD⁵⁰/unité pour les érythrocytes ovins et de 27,8 HD⁵⁰/unité pour les érythrocytes humains (HD⁵⁰ : dilution enzymatique la plus élevée causant la lyse de 50 % des érythrocytes).	(Beecher et Wong 2000; Fujii et coll. 2004; Ikezawa et coll. 1980)
Phospholipase hydrolysant préférentiellement la phosphatidylcholine	- Phospholipase C hydrolysant la phosphatidylcholine, la phosphatidyléthanolamine et la	- L'action coopérative avec SMase est nécessaire pour lyser les érythrocytes porcins et humains (22-31 % PC et 28-25 % SM). - Inhibe la lyse des érythrocytes ovins par HBL et exalte le patron d'hémolyse discontinu.	(Beecher et coll. 2000; Beecher et Wong 2000; Granum 1994)

Facteur	Caractéristiques structurales	Dose toxique et effets	Références
(PC-PLC)	phosphotidylcholine - L'enzyme pourrait être capable de se fixer à une interface membranaire même s'il y a peu ou pas de substrat spécifique. - Il existe peu d'information publiée sur la fixation du PL-PLC.	- Deuxième contributeur en importance à la toxicité rétinienne. - Le PC-PLC est exprimé par la grande majorité des isolats.	

Tableau E-3 : Liste des enzymes causant des dommages et produites par *B. cereus*

Enzyme	Caractéristiques structurales	Dose toxique et effets	Références
Toxine d'ADP-ribosylation (ADP-ribosyl-transférase)	Inconnues	- Exo-enzyme - Membre du groupe de transférases similaires à C3 qui ribosylent la petite protéine Rho qui fixe la GTP. - Produite par l'isolat clinique <i>Bacillus cereus</i> 2339.	(Just et coll. 1992)
Protéine végétative insecticide (VIP)	- Composée de VIP1, un composant de fixation à la cellule, et de VIP2, un ADP-ribosyltransférase qui cible l'actine. - Appartient à la famille des toxines bactériennes binaires, ressemblant aux toxines clostridiales mammifères de la famille C2 et aux toxines iota.	- VIP2 exerce ses effets d'intoxication intracellulaire en modifiant l'actine et en empêchant sa polymérisation. - Propriétés insecticides sur la chrysomèle et la chrysomèle occidentale des racines du maïs.	(Barth et coll. 2004; Jucovic et coll. 2008)

Annexe F : Pathogénicité de *B. cereus* pour les invertébrés et les vertébrés

Détails des expériences mentionnées à la section 1.1.3.2. Les tableaux suivants présentent des renseignements spécifiques sur les invertébrés et les vertébrés.

Tableau F-1 : Essais en laboratoire de pathogénicité de *B. cereus* pour les insectes

Organismes	Conditions expérimentales	Souches de <i>B. cereus</i> utilisées	Résultats	Référence
Sphinx du tabac (<i>Manduca sexta</i>) Larves au cinquième stade larvaire Sexe non précisé Objectif : Modèle d'infection chez l'insecte afin de caractériser le rôle du gène régulateur <i>fur</i> réagissant au fer dans la virulence de <i>B. cereus</i>	- Injection unique de cellules végétatives (compartiment non précisé) 20 larves par groupe de dose	569 WT 569 Δfur	- Valeur DL₅₀ du WT = 1 859 UFC (1 142-2 774) IC de 95 % - Valeur DL₅₀ du Δfur = 4 932 UFC (3 609-6 912) IC de 95 % - Virulence réduite pour le mutant <i>B. cereus</i> 569 Δfur. - Le mutant Δfur exprime les sidérophores de façon constitutive et accumule le fer à l'échelle intracellulaire à un niveau trois fois supérieur à celui de WT.	(Harvie et coll. 2005)
Fausse teigne de la cire (<i>Galleria mellonella</i>) Larves au dernier stade larvaire Sexe non précisé Objectif : Étude des propriétés opportunistes des souches acristalifères de <i>B. thuringiensis</i> (Bt) et de <i>B. cereus</i> et du rôle du gène <i>plcR</i> , un régulateur pléiotrope des facteurs extracellulaires.	- Co-ingestion par gavage - Injection intrahémocélisque - 10 μL de suspension de spores par larve pour les deux méthodes - Pour le gavage, les spores étaient associées à des toxines cristallines (Cry1C) - Utilisation de 30 larves pour chaque dose et pour chaque méthode	ATCC 14579	- Mortalité observée après 2 jours - Très faible (> 10 %) avec les cristaux ou les spores seuls - Mortalité d'environ 70 % causée par la co-ingestion de 10⁶ spores avec une quantité sous-létale (1 μg) de toxine Cry1C - Patron de synergisme clair entre les spores de <i>B. cereus</i> et la toxine de <i>B. thuringiensis</i>.	(Salamitou et coll. 2000)
Fausse teigne de la cire (<i>Galleria mellonella</i>) Larves au 2 ^e et au 5 ^e stade larvaire Objectif : Déterminer si la fausse teigne de	- Infection orale - Ingestion libre : Au 2^e stade larvaire de mélanges de 50 % de pollen avec 50 % d'eau contenant 10⁸ spores/mL seules ou avec 2 μg de Cry1C - Gavage : Au 5^e stade	Souches diarrhéiques ATCC 14579 : D6 (F4370/ 75) D23 (F284/78) D17 (1651-00) D19 (NvH391/ 98) D24 (F352/90)	- Mortalité observée pour l'ingestion libre : 2 $\pm$ 2 % pour les spores de ATCC 14579 seule; 5 $\pm$ 5 % pour la toxine Cry1C seulement; de 12 $\pm$ 7 % (D24) à 57 $\pm$ 20 % (D23) pour la co-ingestion de toxine Cry1C. - Mortalité observée pour le gavage : 0 % (D19) à 8 $\pm$ 6 %	(Fedhila et coll. 2010)

Organismes	Conditions expérimentales	Souches de <i>B. cereus</i> utilisées	Résultats	Référence
la cire (<i>Galleria mellonella</i>) peut fonctionner comme modèle d'infection orale pour l'humain et les agents pathogènes entomo-bactériens.	larvaire, utilisation d'un micro-injecteur, 5×10^5 – 1×10^6 spores ou cellules végétatives par larve, avec (2 – 3 µg) et sans toxine Cry1C.		(D23) sans toxine; 10 ± 8 % (D19) à 50 ± 13 % (D23) en co-ingestion. - Ces résultats démontrent un effet de synergie. - La faible virulence de D19 (10 %) était imprévue puisqu'il s'agit d'un élément reconnu pour sa virulence élevée en tant qu'agent pathogène humain. - Les valeurs de mortalité des insectes ne sont pas en corrélation avec le potentiel pathogène des souches bactériennes.	
Fausse-arpenteuse du chou (<i>Trichoplusia ni</i>) Âgées de 1 à 8 jours. Larves en santé d'une culture souche. Objectif : Test de pathogénicité dans le but de caractériser la cause non virale de la mort des larves dans une étude sur le NPV.	- Test de pathogénicité par ingestion libre d'un aliment contaminé. - Suspension déposée à la pipette à la surface d'un aliment artificiel fraîchement préparé dans une coupelle en plastique d'une once. - Bactérie, virus ou combinaison (3 groupes d'essai) - 50 larves par dose	Isolat de larves mortes ou moribondes	- La cause de la mort et les symptômes ont été attribués à <i>B. cereus</i> selon les critères de A. Krieg's key 1970. - La dose la plus élevée, $7,2 \times 10^8$ cellules, a entraîné une mortalité de 100 % en 11 jours. - Taux de mortalité de 69 % et 50 %, chez les larves exposées à $3,6$ et $1,8 \times 10^8$ cellules. - 70 à 100 % des larves sont mortes en moins de 10 jours. - Les symptômes étaient identiques à ceux observés chez les larves à partir desquelles les isolats originaux ont été prélevés : les larves ont cessé de s'alimenter, ont paralysé, les téguments ont noirci et les larves sont mortes. - Les larves d'un jour semblent plus sensibles que les larves de 2 à 8 jours. - Les cultures de <i>B. cereus</i> d'une journée créent une mortalité plus importante et plus rapide que les cultures de 2, 3 ou 20 jours. - La combinaison des deux pathogènes entraîne une mortalité légèrement plus élevée que l'un ou l'autre des agents pathogènes employé seul, mais sans qu'il y ait d'effet de synergie. - La pathogénicité de <i>T. ni</i> n'est associée à aucune toxine	(To et coll. 1975)

Organismes	Conditions expérimentales	Souches de <i>B. cereus</i> utilisées	Résultats	Référence
			démontrable.	
Ver à soie 5 ^e stade larvaire Objectif : Purification et identification d'une bactérie exotoxine du sol, la sphingomyélinase C.	- Injection dans l'hémolymphe à travers la surface dorsale. - 0,05 mL d'une culture nocturne ou d'un surnageant de culture. - Dilutions doubles de sphingomyélinase purifiée. - Deux vers à soie pour chaque dose de culture ou de surnageant de culture. - Cinq vers à soie pour chaque dose de toxine.	ATCC 14579 25 colonies distinctes, dont 16 ont causé la mort des vers à soie. 9 souches de <i>Bacillus</i> non désignées isolées du sol.	- Des 25 isolats distincts, 16 ont causé la mort des vers à soie. - 5 des 16 surnageants de culture ont tué des vers à soie. Ces cinq souches ont été identifiées comme des membres de l'espèce <i>Bacillus</i> (séquences 16 S ARNr). - La toxine purifiée à partir d'un isolat a été identifiée comme de la sphingomyélinase C de <i>B. cereus</i>. - Sphingomyélinase C provenant de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i>; DL₅₀ de 0,7 µg.	(Usui et coll. 2009)
Blatte germanique (<i>Blattella germanica</i>) Adultes mâles Objectif : Purification et caractérisation de la toxicité pour les insectes de la sphingomyélinase C produite par <i>B. cereus</i> .	- Injection dans l'abdomen. - 2 µL de surnageant acellulaire ou de solution d'échantillon de protéine. - Utilisation de 5 blattes pour chaque dose.	ATCC 14579 Isolé à partir de mandibules de larves de fourmis-lions, <i>Myrmeleon bore</i>, au dernier stade larvaire; produit des facteurs insecticides lorsque cultivé en aérobie.	- Symptômes observés 10 minutes après l'injection. - Dose paralysante minimale (DPM) à laquelle au moins quatre ou cinq insectes ont été paralysés. - DPM de 262 ± 29 ng protéine/insecte. - L'activité insecticide a été annulée par chauffage à 100 °C et par traitement à la protéinase K. - La sphingomyélinase C produite par <i>B. cereus</i> peut tuer les insectes rapidement à faible dose. - Les facteurs insecticides produits par <i>B. cereus</i> peuvent aider à l'activité de capture de proies des fourmis-lions. - L'effet insecticide de la sphingomyélinase C est dû à son action sur le système nerveux.	(Nishiwaki et coll. 2004)
Blattes <i>Leucophaea maderae</i>	Défi intrahémocèlique	4 souches comprenant : B1 et NCIB 3329	- B1 a été la plus pathogène. - NCIB 3329 a été la moins pathogène.	(Rahmet-Alla et Rowley 1989)
Scolyte de l'orme (<i>Scolytus scolytus</i>) Larves au 5 ^e stade larvaire Recueillies dans des billots d'orme infesté. Objectif : Études pour un agent de contrôle	- Larves en suspension dans une solution de 8 × 10⁵ cellules/mL pendant 1 heure.	11796	- Observation pendant plus de 21 jours. - Après correction pour mortalité naturelle : 63,6 % des 40 larves ont été tuées. - Le groupe-témoin a eu un taux de mortalité de 17,5 % (corrigé à 0 %) pour 40 larves.	(Jassim et coll. 1990)

Organismes	Conditions expérimentales	Souches de <i>B. cereus</i> utilisées	Résultats	Référence
biologique du vecteur de la maladie hollandaise de l'orme				
Dendroctone méridional du pin (<i>Dendroctonus frontalis</i>) au stade larvaire	Inoculation orale	Non spécifiée	Les souches isolées à partir de scolytes morts étaient pathogènes.	(Moore 1972)
Anthonome du cotonnier (<i>Anthonomus grandis</i>) Noctuelle africaine du coton (<i>Spodoptera littoralis</i>) Puceron noir des fèves (<i>Aphis fabae</i>)	Méthode d'ingestion libre de surnageant.	Non spécifiée	- 4 des 575 souches étaient toxiques pour <i>A. grandis</i> (taux de mortalité de 85 à 100 %). - 5 des 270 souches ont produit un taux de mortalité de 41 à 97 % pour <i>A. fabae</i>. - Aucun effet sur <i>S. littoralis</i>.	(Perchat et coll. 2005)
Larves de papillon (<i>Galleria mellonella</i>) – dernier stade	- 30 larves ont été divisées en groupes de 10 individus à 15 °C pour chaque traitement. - Des suspensions de 5 µL de bactéries végétatives (1,2 à $2,2 \times 10^5$ UFC) ont été injectées par voie intrahémocœlique dans la base de la dernière fausse patte de gauche de chaque larve.	- <i>B. cereus</i> NVH 0075-95 WT - ΔnheBC, Δsph, ΔnheBCΔsph - Mutant de complémenta-tion ΔnheBCΔsph comPplc	- La survie a été déterminée chaque jour, sur une période de 7 jours. - Le pourcentage de larves vivantes diminuait plus rapidement dans le groupe WT. - La mortalité était grandement réduite chez le mutant de suppression <i>sph</i> et une inactivation additionnelle de <i>nheB/nheC</i> réduisait davantage la mortalité des larves.	(Doll et coll. 2013)

Tableau F-2 : Essais en laboratoire de pathogénicité de *B. cereus* pour les crustacés

Organisme	Conditions expérimentales	Souches de <i>B. cereus</i> utilisées	Résultats	Référence
Cladocère – nouveau-né (<i>Daphnia magna</i>)	Concentration finale 10^4 à 10^6 UFC/mL en dilutions progressives de culture contenant chacun un individu fraîchement né (âge de 24 heures).	BD170 EH2 <i>B. subtilis</i> exprimant un gène introduit d'hémolysine II de <i>B. cereus</i> , <i>hlyII</i> <i>B. cereus</i> VKM B-771.	- La mort des animaux est survenue en 8 à 16 jours. - Diminution de la fécondité.	(Sineva et coll. 2009)
<i>Litopenaeis vannamei</i> (crevette) et <i>Artemia</i> (crevette)	Organismes exposés à 10^4 à 10^8 UFC/mL	<i>B. cereus</i> WPD	Activité hémolytique, activité de la lipase et mortalité élevée.	(Velmurugan et coll. 2015)

Tableau F-3 : Infection par *B. cereus* signalée chez les insectes dans leur milieu naturel

Organisme	Conditions	Souche	Symptômes	Référence
<i>Pectinophora gossypiella</i> Larves	- Au cours de deux saisons de repos, le taux de larves malades portant des lésions cutanées brunes a été de 4,1 % et de 1,7 %. - Le taux de larves mortes portant des lésions cutanées brunes a été de 2 % et de 0,4 %.	Non spécifiée	- Lorsque ces larves ont été conservées en laboratoire, plusieurs d'entre elles sont mortes dans un délai de 8 à 45 jours. - <i>B. thuringiensis</i> var. <i>finitimus</i> et <i>B. cereus</i> ont été isolés à partir de ces larves, mais non des larves en santé ou des larves mortes ne présentant pas les lésions. - La diminution de la virulence au fil de l'avancement de la période de repos peut indiquer que les larves qui sont atteintes par la maladie plus tard peuvent être ou devenir plus résistantes à ses effets.	(Abul Nasr et coll. 1978)
Hannetons <i>Anomala dimidiata</i>	Pupez atrophie	WGSPB-2 (MTCC 7182)	La souche a été en mesure d'infecter les insectes et de causer un taux de mortalité de 92 % et de 67 % respectivement chez les larves au deuxième stade larvaire d' <i>Anomala dimidiata</i> et de <i>Holotrichia seticolis</i> .	(Selvakumar et coll. 2007)
Hannetons <i>Anomala dimidiata</i> et <i>Holotrichia seticollis</i>	Jusqu'à un cinquième de la population a affiché des symptômes d'infection bactérienne	WGSPB-2	Parmi les 27 isolats bactériens testés sur <i>A. dimidiata</i> , la souche présentant la plus forte toxicité a été <i>B. cereus</i> .	(Sushil et coll. 2008)

Tableau F-4 : Essais en laboratoire de pathogénicité de *B. cereus* pour les mammifères

Organismes	Conditions expérimentales	Souches de <i>B. cereus</i> utilisées	Résultats	Référence
Cobaye <i>Cavia porcellus</i>	Injection (compartiment non précisé)	- ATCC 21 - N. R. Smith N° 156	Les cobayes sont morts uniquement lorsque les souches ont été sous-cultivées.	(Clark 1937)
Cobaye <i>Cavia porcellus</i>	Injection intradermique de filtrats de culture (0,05 mL).	- B-4ac utilisé pour l'épreuve biologique cutanée. - 24 autres souches de <i>B. cereus</i> ont été testées.	Les souches B-4ac et 21 ont produit des réactions nécrotiques entourées d'une inflammation au site d'injection.	(Glatz et Goepfert 1973)

Organismes	Conditions expérimentales	Souches de <i>B. cereus</i> utilisées	Résultats	Référence
Lapin néo-zélandais blanc <i>Oryctolagus cuniculus</i> Anse iléale ligaturée (modèle expérimental d'empoisonnement alimentaire)	6 boucles d'essai par lapin	22 souches différentes désignées	- Accumulation rapide de 3 à 20 mL de liquide couleur paille, souvent sanglant. - Réponse positive pour 19 des 22 souches. - Réponse constamment positive pour les lapins plus jeunes. - La plupart des lapins présentant au moins une anse positive sont morts dans les 10 heures suivant la chirurgie.	(Spira et Goepfert 1972)
Lapin néo-zélandais blanc <i>Oryctolagus cuniculus</i>	Injection intradermique de 0,05 mL de filtrat de culture acellulaire.	11 souches de <i>B. cereus</i> (y compris B-4ac, connue pour être positive dans l'anse iléale et dans le test biologique cutané du cobaye.)	- La zone de bleuissement représentant l'augmentation de la perméabilité vasculaire variait de 4 à 100 mm² pour la souche B-4ac. - 9 des 10 autres variétés ont produit une réaction vasculaire positive.	(Glatz et coll. 1974)
Lapin hollandais <i>Oryctolagus cuniculus</i> (mâles)	- 0,1 ou 0,3 mL en injection intramusculaire dans le flanc. - 0,15 mL en injection sous-cutanée. - Concentration 10² cellules/mL	Variante négative de la lécithinase SV1	- Présence d'abcès indiquant une réaction inflammatoire. - Présence de nodules sous la peau avec fibres nécrotiques et fibrose en périphérie. - Calcification observée dans 80 % des animaux après 7 jours.	(Stretton et Bulman 1975)
Lapin	Injection intradermique	- 50 des 136 souches isolées de produits laitiers. - 102 souches donnent un résultat positif pour les toxines extracellulaires.	Les 102 souches ont causé une perméabilité vasculaire dans la peau des lapins.	(Christiansson et coll. 1989)
Lapin <i>Oryctolagus cuniculus</i> Anse iléale ligaturée (modèle expérimental d'empoisonnement alimentaire)	3 entérotoxines dans des filtrats concentrés de cultures acellulaires.	- Souche isolée d'un incident ayant causé de la diarrhée chez des singes. - Souche isolée de riz brut n'ayant pas produit de symptômes chez les	- Bien que 11 souches seulement aient été testées plus de 2 fois, 2 seulement de ces 11 souches ont présenté une probabilité > 50 % de donner un résultat positif sur des essais répétés. - Accumulation de fluide dans l'anse iléale des lapins pour deux souches. - Une souche a provoqué une	(Turnbull 1976)

Organismes	Conditions expérimentales	Souches de <i>B. cereus</i> utilisées	Résultats	Référence
		singes alimentés. - Souches isolées d'un abcès au cerveau (2141/74, sérotype 11) - B-4ac	perturbation grave de la muqueuse iléale.	
Lapin néo-zélandais blanc adulte <i>Oryctolagus cuniculus</i>	- Test de toxicité rétinienne <i>in vitro</i> : Mesure de la libération cytotytique de lactico-déshydrogénase (LDH) chez les animaux traités avec des toxines de <i>B. cereus</i> (600 ng/mL HBL_{eq}). - Modèle d'endophtalmie stérile <i>in vivo</i> : injection intravitréale d'exotoxine pure ou brute.	MGBC 145	- Les boutons rétiens traités avec CET ou HBL se sont complètement désagrégés en cellules et en débris de cellules et se sont effondrés au moment d'être enlevés. - Dans un délai de 4 heures, tous les yeux ayant reçu $\geq 0,8$ μg d'exotoxine brute affichaient des signes marqués d'exsudation, d'œdème conjonctival et d'hyperémie. - Avec 1-4 μg, absence totale ou quasi totale de reflet rétinien, hémorragie vitréale, chémosis hémorragique de la conjonctive et opacité cornéenne. - Réponse plus légère à des doses faibles.	(Beecher et coll. 1995a)
Lapin <i>Oryctolagus cuniculus</i> Anse iléale ligaturée (modèle expérimental d'empoisonnement alimentaire)	3 composants purifiés de HBL.	F837/76	Cause de l'accumulation de fluide et les trois éléments doivent être présents ensemble pour causer une activité maximale.	(Beecher et coll. 1995b)
Lapin néo-zélandais blanc <i>Oryctolagus cuniculus</i> (2 à 3 kg)	Injection intravitréale dans les yeux de <i>B. cereus</i> (log 2,06 UFC) viable ou de surnageant acellulaire.	MGBC145	- Inflammation intraoculaire et réduction de la réponse rétinienne après 3 heures. - Décollement de la rétine et plissement et perturbation de la couche photoréceptrice après 9 heures. - À 18 heures, les yeux affichent une inflammation maximale, y compris des tissus périoculaires. - L'injection de surnageant de culture produit des résultats similaires.	(Callegan et coll. 1999)

Organismes	Conditions expérimentales	Souches de <i>B. cereus</i> utilisées	Résultats	Référence
Souris <i>Mus musculus</i> Lignée namru albino (âgées de 6 à 9 semaines)	- Injection intrapéritonéale et sous-cutanée. - 4 dilutions injectées. - Formes végétatives et spores testées.	- NRS 201 - NRS 232 - NRS 1256	- Une quantité de 10 à 100 fois plus élevée de spores a été nécessaire pour causer la mort des souris. - La mort survient après les injections intrapéritonéales, mais non après les injections sous-cutanées. - Les injections sous-cutanées ont produit une lésion nécrotique ouverte.	(Lamanna et Jones 1963)
Souris <i>Mus musculus</i>	Injection intrapéritonéale ou sous-cutanée (0,25 mL) d'une suspension (500×10^6 UFC/mL)	Aucune désignation de la souche fournie.	- Maladie aiguë létale à dose élevée, en moins de 6 heures dans presque tous les cas. - La gravité de la maladie dépend de la dose. - La dose minimale causant un taux de mortalité de 84 à 100 % était d'environ $2,2 \times 10^7$ bacilles. - Les doses plus faibles entraînaient une maladie plus bénigne et parfois des ulcères nécrosants de la peau au site d'injection.	(Burdon et coll. 1967)
Souris <i>Mus musculus</i> Souris ICR (adulte)	Injection intraveineuse de filtrat de culture	183 souches isolées de produits laitiers.	Des 11 isolats présentant une forte activité d'hémolysine, 3 ont tué les souris.	(Wong et coll. 1988)
Souris <i>Mus musculus</i>	Injection intraveineuse de 8 µg d'hémolysine II purifiée.	FS-1	Décès en moins de 2 minutes.	(Shinagawa et coll. 1991a)
Souris <i>Mus musculus</i>	Test de perméabilité vasculaire, réaction de nécrose intestinale et test de létalité sur des souris.	116 souches	Bonne corrélation de la production de nécrose de la peau avec les tests intestinaux et le test d'accumulation de fluide.	(Turnbull et coll. 1979)
Souris <i>Mus musculus</i> Lignée BALB/c Femelles âgées de 5 semaines Objectif : Étude des propriétés opportunistes d'une mutation de <i>B. thuringiensis</i> et de <i>B. cereus</i> , et du rôle du gène <i>plcR</i> .	- Instillation nasale de l'inoculum par inhalation - 50 µL de la suspension (spores ou cellules végétatives). - Mortalité observée après 24 heures.	- ATCC 14579 - ATCC 14579 $\Delta plcR$	- 10^8 spores par souris ont produit un taux de mortalité de 100 % pour les deux souches. - 5×10^7 spores par souris ont produit un taux de mortalité de 90 % et de 22 %, respectivement. - 10^7 spores par souris ont produit un taux de mortalité de 90 % et de 0 %, respectivement. - 6×10^6 cellules végétatives par souris ont produit un taux de mortalité de 100 % et de 0 %, respectivement.	(Salamitou et coll. 2000)

Organismes	Conditions expérimentales	Souches de <i>B. cereus</i> utilisées	Résultats	Référence
			- La souche ATCC 14579 présente des facteurs additionnels, non régulés par PlcR, qui peuvent potentialiser ses propriétés opportunistes. - Décès rapide de l'hôte si des doses fortes de cellules sporulées ou végétatives sont utilisées.	
Souris <i>Mus musculus</i> Lignée BALB/c	Exposition endotrachéale	ATCC 14579	- L'exposition aux spores a des effets négligeables. - Exposition aux cellules végétatives; expérience interrompue après 4 heures en raison de la gravité des symptômes. - Cytokines pyrogènes élevées. - Infiltration des granulocytes pulmonaires. - Marqueurs de réponse en phase aiguë.	(Tayabali et coll. 2010)
Singes <i>Macaca mulatta</i> Lignée rhésus Objectif : Déterminer l'utilité des macaques rhésus pour modéliser l'entéropathogénicité de <i>B. cereus</i> .	- Gavage administré par sonde stomacale. - 3 types de matériaux donnés en nourriture : cultures entières, filtrats de cultures stériles ou toxines précipitées purifiées. - Des tests d'accumulation de fluide dans l'anse iléale de lapins et de perméabilité des capillaires de la peau aussi effectués.	- B-4ac (isolé à partir d'une flambée d'intoxication alimentaire). - 6 autres souches (isolées à partir des flambées associées au riz).	- Diarrhée déclenchée par les 3 matières d'essai dans un délai de 35 à 150 minutes après l'administration. - Variations considérables dans la sensibilité des différents macaques. - Environ 50 % des macaques ont présenté une réaction positive. - Aucun vomissement n'a été observé. - 4 des 6 souches non désignées ont donné des résultats positifs pour la diarrhée - B-4ac cultivé sur du riz a induit la diarrhée chez 3 des 6 macaques, mais aucun vomissement. - Corrélation directe entre la capacité de causer de l'accumulation de fluides dans les anses iléales de lapin, altération de la perméabilité des capillaires de la peau et capacité d'induire la diarrhée chez les macaques. - La diarrhée est causée par la synthèse et l'extraction d'une toxine par des cellules	(Goepfert 1974)

Organismes	Conditions expérimentales	Souches de <i>B. cereus</i> utilisées	Résultats	Référence
			en croissance logarithmique.	
Singes <i>Macaca mulatta</i> Sexe non précisé Jeune de lignée rhésus d'environ 3 kg. Objectif : Tenter de confirmer que les éclosions d'origine alimentaire étaient causées par <i>B. cereus</i> et de déterminer la participation d'un nouveau matériau entérotoxique.	- Gavage au tube avec du riz contaminé, homogénéisé - Dans la nourriture, environ 10^{10} organismes viables. - Dans le bouillon, environ 10^{11} organismes. - De plus, l'accumulation de fluide iléal a été mesurée avec des filtrats de 12 à 15 fois plus concentrés.	- 4810/73 (isolée à partir de vomi). - 4433/73 (isolée à partir de pain de viande mis en cause dans une éclosion d'intoxication alimentaire). - 2532B/74 (isolée à partir de riz).	- Activité émétique : début des vomissements en moins de 5 heures. - Diarrhée : présence de selles liquides ou molles en moins de 24 heures. - Seules les cultures sur riz peuvent causer des vomissements. - 10 des 24 macaques ont montré des vomissements positifs dus à la souche 4810/73. - L'image bactériologique reflète avec exactitude les quantités dans le matériau donné en alimentation. - Une distinction claire existe entre les souches causant les vomissements et la diarrhée. - La différence entre les activités des deux premières souches est renforcée par le test d'anse iléale du lapin.	(Melling et coll. 1976)
Singes <i>Macaca mulatta</i> Lignée rhésus – 6-8 kg	- Administration intragastrique. - Céréulide purifiée. - Facteur de vacuolisation partiellement purifié.	- <i>B. cereus</i> n° 35, produit des entérotoxines, mais pas de facteurs de vacuolisation. - <i>B. cereus</i> n° 55, isolé à partir d'une éclosion. Produit des facteurs de vacuolisation, mais pas d'entérotoxines.	- Pour le céréulide à 14 000 unités, les 3 singes ont montré des vomissements en 2-4 heures. - Pour le facteur partiellement purifié à 30 000 unités, 1 des 2 singes a montré des vomissements après 6 heures. - Pour le facteur partiellement purifié à 36 000 unités, les 2 singes ont montré des vomissements après 2 et 4 heures. - Démontre que le facteur de vacuolisation HEP-2 est un céréulide du type toxine émétique. - Ces toxines peuvent causer des vomissements chez les singes.	(Shinagawa et coll. 1995)
Souris <i>Mus musculus</i> Lignée CR 20-24 g.	- Injection intraveineuse. - Céréulide purifié. - Facteur de vacuolisation partiellement purifié.	- <i>B. cereus</i> n° 35, produit des entérotoxines, mais pas de facteurs de vacuolisation.	- Aucune létalité n'a été observée pour 100-500 unités des 2 substances. - Létalité constatée pour plus de 1 000 unités de toxine.	(Shinagawa et coll. 1995)

Organismes	Conditions expérimentales	Souches de <i>B. cereus</i> utilisées	Résultats	Référence
		- <i>B. cereus</i> n° 55, isolé à partir d'une éclosion. Produit des facteurs de vacuolisation, mais pas d'entérotoxines.		
Moutons et bovins (jeunes femelles)	- Injection intraveineuse. - $5,1 \times 10^5$ organismes chez les brebis - Génisses : - Groupe 1 : 8×10^6 organismes. - Groupe 2 : 8×10^5 organismes. - Groupe 3 : 8×10^3 organismes	Souches isolées à partir d'un fœtus bovin avorté.	- 4 agneaux morts avortés entre 3 et 8 jours après l'inoculation. - Les animaux des groupes 1 et 2 ont avorté de veaux morts entre 7 et 12 jours après l'inoculation. - Les animaux du groupe 3 ont eu des veaux normaux à terme. - Agneaux et veaux : Degrés divers de changement autolytique, ascite sanguinolente, hydrothorax, hydropéricarde et œdème sous-cutané. - Les membranes fœtales étaient hyperthémiées et œdémateuses. - <i>B. cereus</i> a été isolé en cultures pures à partir des tissus des brebis, des agneaux et des veaux morts.	(Wohlgemuth et coll. 1972b)
Lapins et souris	Entérotoxine purifiée	FM-1	- Perméabilité vasculaire chez le lapin. - Létale pour les souris. - Cause de l'accumulation de fluide dans l'anse iléale ligaturée des souris.	(Shinagawa et coll. 1991b)
Souris et chats	Injection intraveineuse d'entérotoxine purifiée	96	- Dose létale minimale de 300 µg par souris. - Une dose de 70 à 80 µg/kg causait des vomissements chez les chats.	(Gorina et coll. 1975)

Tableau F-5 : Infections par *B. cereus* des vertébrés dans leurs milieux naturels

Organisme	Conditions	Souche de <i>B. cereus</i> utilisée	Symptômes	Référence
Bovins laitiers <i>Bos taurus</i> Objectif :	- Injection en quarts d'un	Aucune spécifiée	- Certaines des vaches affectées ont développé	(Schiefer et coll. 1976)

Organisme	Conditions	Souche de <i>B. cereus</i> utilisée	Symptômes	Référence
Décrire la pathologie de la mammite bovine à <i>B. cereus</i> .	produit antibiotique commercial contaminé. - 8 troupeaux laitiers et un total de 80 vaches touchées.		une mammite aiguë en moins de 24 heures, dans la plupart des cas peu de temps après le vêlage. - Sang aqueux qui ne coagule pas. - Œdème sous-cutané marqué sur le pis. - De nombreuses zones rouge foncé bien délimitées étaient réparties sur l'ensemble des quartiers touchés. - Hypertrophie marquée des ganglions lymphatiques supramammaires. - Poumons modérément œdémateux et emphysémateux. - Rate hypertrophiée, rouge foncé et turgescence. - Glandes mammaires : cloisons interstitielles œdémateuses, thrombose aiguë des veines et des canaux lymphatiques. - Présence d'érythrocytes dans le tissu interstitiel. - Lymphadénie aiguë dans des sections des ganglions supramammaires avec foyers de nécrose et un nombre élevé de cellules inflammatoires. - Présence de nécrose hypoxique centrolobulaire dans le foie. - L'examen des tissus rénaux a révélé la présence de coulées d'hémoglobine dans les tubules. - La présence de thrombus hyalins était évidente dans les capillaires des glomérules et à la jonction cortico-médullaire. - L'examen des poumons a révélé l'épaississement des cloisons alvéolaires dû à l'œdème. Les capillaires alvéolaires étaient engorgés de sang et plusieurs présentaient des thrombus hyalins.	

Organisme	Conditions	Souche de <i>B. cereus</i> utilisée	Symptômes	Référence
Bétail Sexe et âge variés.	3 cas d'avortements signalés.	Aucune désignation de souche fournie.	- Nécropsie, examen microbiologique et histopathologique effectué sur chacun des fœtus. - Conclusions de la nécropsie : poumons atélectasiques, fermes et rouge foncé; pleurite, péricardite et péritonite fibrineuses; foie jaune, deux fois la taille normale; ganglions lymphatiques hypertrophiés et congestionnés. - Conclusions de l'examen microbiologique : <i>B. cereus</i> a été le seul microorganisme isolé à partir du contenu gastrique et des tissus. - Conclusions de l'examen histopathologique : vasculite, œdème, inflammation et nécrose dans l'espace intercotylédonaire; hyperplasie de la rate; foie congestionné.	(Wohlgemuth et coll. 1972a)
Bovins laitiers <i>Bos taurus</i> (femelles adultes)	Quartiers inoculés avec <i>B. cereus</i> .	Aucune désignation de souche fournie.	- Apparition de mammite aiguë, suivie d'une atrophie et de la cessation de la production de lait.	(Horvath et coll. 1986)
Bovins laitiers <i>Bos taurus</i> (femelles adultes)	- Présence accidentelle de mammite à <i>B. cereus</i> dans plusieurs troupeaux utilisés dans des essais d'efficacité d'un produit proposé pour le traitement des vaches tarées. - Injection dans les quartiers d'un produit expérimental contenant 500 mg de cloxacilline dans l'huile d'arachide et 3 % de base monostéarate. - Injection délibérée chez 151 vaches tarées.	Aucune désignation de souche fournie (isolation à partir du produit expérimental et des quartiers).	- Développement d'une mammite nécrotique chez 5 vaches au vêlage. - Développement d'une mammite clinique dans 15 autres quartiers infectés, principalement au vêlage ou durant la lactation. - Seulement 26 des 184 vaches et 37 des 735 quartiers exposés ont été infectés. - Le nombre d'organismes dans les quartiers infectés varie fortement et est souvent faible. - Le nombre d'organismes dans chaque fiole de produit était faible et toutes les fioles n'étaient pas contaminées.	(Jasper et coll. 1972)

Organisme	Conditions	Souche de <i>B. cereus</i> utilisée	Symptômes	Référence
	- Injection par inadvertance à 33 vaches en lactation.			
Bovins laitiers <i>Bos taurus</i> Femelles adultes	11 vaches présentant une mammite aiguë entre 1963 et 1973.	Aucune indiquée	<i>B. cereus</i> a été isolé chez 1 vache.	(Inui et coll. 1979)
Bovins laitiers Holstein <i>Bos taurus</i> (femelles adultes) Objectif : Thérapie antibiotique utilisant la cloxacilline dans le cadre d'un programme de santé du troupeau.	- Programme antibiotique entrepris chez 67 vaches; administration par perfusion de l'antibiotique durant la période de tarissement ou la période de lactation, ou les deux. - 129 vaches sur un troupeau de 140 têtes.	Aucune désignation de la souche fournie (isolat tiré du lait de vaches infectées).	- Mammite aiguë grave chez 62 des 67 vaches perfusées avec la cloxacilline. - L'examen post-mortem de l'une des vaches a révélé des glandes mammaires de couleur écarlate entourées de matière gélatineuse et remplies de fluide séroanguinolent; les ganglions lymphatiques mammaires présentaient une apparence mouillée et étaient entourés de matière gélatineuse. - Vaches en lactation : les 33 vaches perfusées ont développé une mammite dans un délai de 1 à 30 jours. - La maladie découle habituellement de l'injection de <i>B. cereus</i> dans la citerne de la mamelle lors du traitement de la mammite ou d'une autre cause. - Des cas d'inflammation nécrotique et de mammite aiguë avec symptôme de généralisation ont été rapportés. - Une quantité très faible de <i>B. cereus</i> peut produire des effets pathogènes importants.	(Perrin et coll. 1976)
Bovins laitiers <i>Bos taurus</i> Chèvre <i>Capra hircus</i> (femelles adultes)	- Des tissus parés d'un animal affecté ont été préparés pour le découpage. - Tests de toxine avec perméabilité vasculaire de peau de lapin et réaction nécrotique.	Aucune désignation de la souche fournie.	Ferme 1 - 3 cas de mammite très aiguë en une semaine. - Une vache est morte en moins de 24 heures. - Aucune réponse au traitement aux antibiotiques. - Le deuxième animal présentait une	(Jones et Turnbull 1981)

Organisme	Conditions	Souche de <i>B. cereus</i> utilisée	Symptômes	Référence
	- 28 vaches et 1 chèvre, réparties sur 4 fermes.		température sous la normale et un pis gonflé et froid; l'animal est mort en moins de 24 heures. - Reins et pis d'un rouge profond, présence de sang dans le pelvis, foie congestionné et présence de caillots blancs de grande taille et de liquide teinté de sang dans la citerne de mamelle. - La troisième vache nouvellement vèlée a développé une mammite deux jours après la mise bas, et elle venait de recevoir un traitement antibiotique. Ferme 2 : - Les symptômes étaient bénins; faible réponse au traitement aux antibiotiques. Ferme 3 : - Une vache couchée suite à une fièvre vitulaire a soudainement développé une mammite suraiguë et est morte. - Le deuxième cas est celui d'une vache nouvellement vèlée. La présence de <i>B. cereus</i> a été constatée dans le pis. Ferme 4 : - Une vache est morte d'une mammite aiguë le matin suivant une coupure à une mamelle. Bactériologie : - Organismes présents dans les matières fécales des animaux affectés et non affectés à des niveaux de 10^5-10^6 UFC/g. - 10^2-10^3 UFC/g cellules de <i>B. cereus</i> par g ont été recueillies dans des drêches de brasserie et 10^4-10^5 cellules lorsqu'une détérioration était survenue. - <i>B. cereus</i> a été isolée à 17 autres occasions dans des cultures pures provenant de lait de	

Organisme	Conditions	Souche de <i>B. cereus</i> utilisée	Symptômes	Référence
			mammite. Histopathologie : - Lésion, cloison interstitielle œdémateuse et contenant des érythrocytes. - Présence de thrombus dans les veines. - Nécrose des cellules alvéolaires. Test de perméabilité : - Un seul des 19 isolats de mammite et des isolats environnementaux affichait une activité toxique forte dans le test de perméabilité vasculaire de la peau du lapin.	
Bovins laitiers <i>Bos taurus</i> (femelles adultes)	Mammite bovine	- 1820/77 - 1419/77 - 1414/77 - 1589/77 - 624/76	- 1820/77 : Décès - 1419/77, 1414/77 et 1589/77 : 2 décès. - 624/76 : Données non disponibles.	(Turnbull et coll. 1979)
Perroquet <i>A. hyacinthinus</i> (1 individu), <i>Diopsittaca nobilis</i> (1 individu), <i>Ara severa</i> (1 individu) et <i>A. ararauna</i> (9 individus)	Exposition aiguë, septicémie bactérienne généralisée causant la mort soudaine.	Souches indiquées non disponibles (les isolats ont été perdus et n'ont pu être présentés aux fins de caractérisation moléculaire).	- Aucun symptôme clinique de maladie avant la mort. - La nécropsie a révélé des zones importantes d'hémorragie pulmonaire, de congestion hépatique, d'entérite hémorragique et de congestion du cardia.	(Godoy et coll. 2012)

Annexe G : Flambées épidémiques causées par *B. cereus*

Tableau G-1 : Épidémies non gastro-intestinales sélectionnées, causées par *B. cereus* et rapportées dans la littérature

Année	Lieu	Type d'infection	Référence
2010	Hôpital universitaire national (Singapour)	Pendant le pic de la flambée, 171 patients ont été touchés. Des cas de bactériémie ont été signalés dans 146 cas (dont 51 chez des patients immunodéprimés, 57 chez des patients munis de dispositifs à demeure et 39 chez des patients classés dans les deux catégories). Une atteinte tissulaire profonde a été constatée chez 20 patients.	(Balm et coll. 2012)
2010	Hôpital de soins tertiaires pour enfants (Aurora, Colorado)	Trois patients ont reçu des hémocultures positives pour <i>B. cereus</i> . On a déterminé que des tampons de préparation à l'alcool non stériles avaient été la source de l'infection.	(Dolan et coll. 2012)
2006	Hôpital universitaire médical Jichi (Japon)	Onze patients ont développé une bactériémie par <i>B. cereus</i> entre janvier et août 2006 (Sasahara et coll. 2011). Le linge à la machine à laver et les draps d'hôpital étaient fortement contaminés par <i>B. cereus</i> , qui a été également isolé dans les canalisations d'injection par intraveineuse.	(Sasahara et coll. 2011)
2005	Hôpital universitaire Kyushu (Japon) Unité de soins intensifs néonataux	Une bactériémie a été détectée chez trois nouveau-nés en raison de méthodes de nettoyage inefficaces; la charge bactérienne dans l'environnement a augmenté et s'est répandue dans l'établissement par l'air circulant dans le système de ventilation (Shimono et coll. 2012).	(Shimono et coll. 2012)
2004	Géorgie (États-Unis), programme militaire universitaire	94/660 cadets dont le cuir chevelu présentait des lésions causées par <i>B. cereus</i> , non prurigineuses et semblables à l'impétigo. Facteurs potentiels d'infection : coupe de cheveux, mauvaise hygiène, lotion solaire, exposition au sol et à l'eau.	(CDC 2005)
1998	Amsterdam (Pays-Bas) Unité de soins intensifs néonataux	Trois nouveau-nés ont développé une série d'infections sanguines envahissantes causées par <i>B. cereus</i> entre janvier et août 1998. L'un est mort et les deux autres ont recouvré la santé. Il a été constaté que 35 nouveau-nés étaient colonisés par ce microorganisme. Les vecteurs d'infection du microorganisme étaient des ballons contaminés utilisés pour la ventilation manuelle.	(Van Der Zwet et coll. 2000)

Tableau G-2 : Épidémies d'intoxication alimentaire rapportées liées à *B. cereus*^a

Année	Pays	Étiologie (information additionnelle)	Cas
2002	Australie	Riz	37
2004	Australie	Pomme de terre et sauce (restaurant d'une chaîne nationale de restauration rapide)	6
2006	Australie	Poulet (cuit)	14

Année	Pays	Étiologie (information additionnelle)	Cas
2007	Australie	Asperges en sauce à la crème (un homme de 81 ans est décédé 12 heures après les avoir consommées)	3
2003	Belgique	Salade de pâtes (entreposée à 14 °C. Maladie grave et décès de 1 enfant)	5
2004	Belgique	Pâtes	50
2005	Belgique	Riz	6
2006	Belgique	Produits laitiers	70
1999	Canada	Salade de pommes de terre (repas préparé par un restaurateur inexpérimenté dans les services de traiteur et le contrôle de la température)	25
2005	Danemark	Poulet	4
2005	Danemark	Pizza	16
2004	Finlande	Sauce (confirmé dans les restes; refroidissement et réchauffement inadéquats, conservation inadéquate; sauce aux champignons)	5
2004	Finlande	Gâteau (présence confirmée dans les restes; gâteau étagé)	10
2005	Finlande	Œufs (œufs au beurre)	2
2005	Finlande	Casserole au jambon (porc, assiettes diverses)	20
2005	Finlande	Petits fruits (importés de Pologne)	15
2005	Finlande	Macaroni au fromage	18
2005	Finlande	Soupe à la viande	9
2007	France	Fines herbes et épices (école/maternelle)	146
2006	Inde	Riz	140
2000	Japon	Lait pasteurisé (quatre tonnes de produits laitiers ont été rappelées parce que des enquêteurs ont trouvé <i>B. cereus</i> dans des bouteilles de lait)	3
2001	Japon	Gâteaux au riz contenant de la confiture de fèves (maternelle – produit qui avait été conservé plus longtemps qu'à l'habitude à la température de la pièce)	335
2007	Jordanie	Produits laitiers (distribués dans le cadre du programme de nutrition scolaire du gouvernement)	51
2004	Norvège	Poulet (présence confirmée dans les restes)	19
2005	Norvège	Chili (cantine en milieu de travail)	6
2005	Norvège	Ragoût	22
2005	Norvège	Riz	3
2005	Norvège	Pizza	3
2005	Royaume-Uni	Céréales pour nourrissons	2
1995	États-Unis	Riz	21
1996	États-Unis	Sauce marinera	22
1997	États-Unis	Farce	400
1997	États-Unis	Poulet, BBQ	3
1997	États-Unis	Chaudrée de fruits de mer et de maïs	2
1997	États-Unis	Riz, frit ^b	4

Année	Pays	Étiologie (information additionnelle)	Cas
1997	États-Unis	Riz, frit ^b	4
1997	États-Unis	Riz, frit	19
1997	États-Unis	Porc, BBQ	33
1998	États-Unis	Crevettes	118
1998	États-Unis	Riz, frit	6
1998	États-Unis	Dinde, rôti de bœuf	19
1998	États-Unis	Riz, frit	7
1998	États-Unis	Sandwich sous-marin	25
1998	États-Unis	Viande	19
1998	États-Unis	Riz, frit	11
1998	États-Unis	Riz, frit	4
1999	États-Unis	Salade de chou	8
1999	États-Unis	Riz, frit	4
1999	États-Unis	Pommes de terre en purée, avec sauce	4
1999	États-Unis	Riz	32
1999	États-Unis	Riz	4
1999	États-Unis	Sandwich au bœuf	2
2000	États-Unis	Lait de riz	2
2000	États-Unis	Riz frit	18
2000	États-Unis	Riz	15
2000	États-Unis	Riz frit	10
2000	États-Unis	Saumon	3
2000	États-Unis	Tacos	4
2000	États-Unis	Salade	3
2001	États-Unis	Trempeur au babeurre et aux grains de poivre	10
2001	États-Unis	Riz frit	5
2001	États-Unis	Riz frit	17
2001	États-Unis	Salade de légumes, salade à base de laitue	3
2002	États-Unis	Poulet	11
2002	États-Unis	Poulet	3
2002	États-Unis	Riz frit	8
2002	États-Unis	Riz frit aux œufs	2
2002	États-Unis	Pizza à la viande	6
2002	États-Unis	Poulet frit	4
2002	États-Unis	Poulet, assiette diverse	8
2003	États-Unis	Pommes de terre frites	42
2003	États-Unis	Poulet, assiette diverse	8
2004	États-Unis	Chow mein au poulet	3
2004	États-Unis	Poulet	11
2004	États-Unis	Pizza au fromage, à la viande et aux légumes	4
2004	États-Unis	Poulet et pâtes (assiette diverse)	2
2004	États-Unis	Riz frit	26
2004	États-Unis	Mets chinois	2
2005	États-Unis	Tacos (viande)	27
2005	États-Unis	Sauce tzatziki	4
2006	États-Unis	Céréales	2
2006	États-Unis	Pâtes (lo mein)	2
2006	États-Unis	Crêpes	2
2006	États-Unis	Riz frit au porc	5
2006	États-Unis	Rôti de porc	20
2006	États-Unis	Poulet au four	5
2006	États-Unis	Steak de côte de choix	3

Année	Pays	Étiologie (information additionnelle)	Cas
2006	États-Unis	Riz à l'espagnole	4
2007	États-Unis	Riz frit aux légumes	16
2007	États-Unis	Riz frit	3

^a Renseignements gracieusement transmis par Judy Greig, microbiologiste/épidémiologiste en salubrité des aliments, Laboratoire de lutte contre les zoonoses d'origine alimentaire, Agence de la santé publique du Canada.

^b Flambées épidémiques distinctes.