

# Évaluation préalable finale de la souche ATCC 9500 de Bacillus circulans

**Environnement et Changement climatique Canada**

**Santé Canada**

**février 2018**

No de cat. : En14-311/2018F-PDF  
ISBN 978-0-660-24717-5

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](mailto:ec.enviroinfo.ec@canada.ca).

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le ministre de l'Environnement et Changement climatique, 2016.

Also available in English

## Sommaire

En vertu de l'article 74 b) de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999) (LCPE), la Ministre de l'Environnement et la Ministre de la Santé ont procédé à l'évaluation préalable de la souche ATCC 9500 de *Bacillus circulans*.

La souche ATCC 9500 de *Bacillus circulans* est une bactérie qui a des caractéristiques en commun avec d'autres souches de l'espèce *B. circulans*. C'est une bactérie productrice d'endospores présentes dans de nombreux milieux. Elle a été isolée dans des sols et l'eau de mer et observée en association avec des plantes et des animaux. *B. circulans* a des propriétés qui permettent potentiellement de l'utiliser en aquaculture, en biorestauration, en biodégradation, pour le traitement de l'eau ou des eaux usées, pour le nettoyage et le dégraissage des canalisations ainsi que pour la production d'enzymes.

Aucun effet nocif sur l'environnement n'a été attribué à la souche ATCC 9500 de *B. circulans*. Cependant, dans le contexte d'études expérimentales sur leur potentiel pour un contrôle biologique, certaines souches de *B. circulans* ont exhibé un potentiel d'effet pathogène sur des insectes et des nématodes lorsqu'elles étaient inoculées directement à ces derniers à forte concentration. Toutefois, l'espèce *B. circulans* n'est pas considérée être phytopathogène ni zoopathogène et, en dépit de sa large distribution dans l'environnement, il n'existe pas de preuve à l'effet que *B. circulans* a eu des effets nocifs sur des invertébrés terrestres au niveau de la population.

Aucune infection humaine n'a été attribuée à la souche ATCC 9500 de *B. circulans* et, en tant qu'espèce, *B. circulans* n'est pas connue comme étant pathogène pour les humains. En dépit de son ubiquité, il n'a été rapporté que quelques cas d'infection humaine causée par *B. circulans*, surtout chez des personnes présentant des problèmes de santé préexistants. La souche ATCC 9500 de *B. circulans* est sensible à différentes classes d'antibiotiques, dont des aminoglycosides, des glycopeptides, des fluoroquinolones de deuxième génération et des céphalosporines de troisième génération, qui peuvent être utilisés pour traiter les rares cas d'infection par cet organisme.

La présente évaluation tient compte des caractéristiques susmentionnées de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* ayant trait aux effets sur l'environnement et la santé humaine dus à son utilisation dans des produits commerciaux ou de consommation et dans des procédés industriels visés par la LCPE, dont les rejets dans l'environnement par des circuits de déchets et l'exposition humaine fortuite dans des milieux de l'environnement. Afin de mettre à jour les renseignements sur les utilisations actuelles de ce microorganisme, le gouvernement a lancé, en vertu de l'article 71 de la LCPE, une enquête pour la collecte obligatoire de renseignements dont l'avis a été publié dans la Partie I de la Gazette du Canada le 3 octobre 2009 (avis en vertu de l'article 71). Les renseignements soumis en réponse à cet avis indiquent que la souche ATCC 9500 de *B. circulans* a été utilisée dans des produits commerciaux ou de consommation à des

fins de biodégradation, de nettoyage et de dégraissage de canalisations, d'entretien de fosses septiques, ainsi que de traitement de déchets et d'eaux usées.

D'après les renseignements disponibles, il est conclu que la souche ATCC 9500 de *B. circulans* ne satisfait pas aux critères de l'alinéa 64 a) ou 64 b) de la LCPE, car elle ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou concentration ni dans des conditions qui ont ou peuvent avoir un effet nocif immédiat ou à long terme sur l'environnement ou sa diversité biologique ou qui constituent ou peuvent constituer un danger pour l'environnement essentiel à la vie. Il est aussi conclu que la souche ATCC 9500 de *B. circulans* ne satisfait pas aux critères de l'alinéa 64 c) de la LCPE, car elle ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou concentration ni dans des conditions qui constituent ou peuvent constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaine.

## Table des matières

<b>Sommaire</b> .....	ii
<b>Introduction</b> .....	viii
<b>Décisions de juridictions nationales ou internationales</b> .....	ix
Au niveau national	ix
Au niveau international	ix
<b>1. Évaluation du danger</b> .....	1
1.1 Caractérisation de la souche ATCC 9500 de <i>Bacillus circulans</i>	1
1.1.1 Identification taxinomique et historique de la souche	1
1.1.1.1 Caractéristiques phénotypiques et moléculaires	3
1.1.2 Propriétés biologiques et écologiques	7
1.1.2 Présence naturelle	7
1.1.3 Conditions de croissance	7
1.1.4 Formation de spores	8
1.1.5 Survie et persistance dans l'environnement	8
1.1.6 Résistance aux antibiotiques	10
1.1.2.6 Caractéristiques pathogènes et toxigènes	11
1.1.2.7 Transfert horizontal de gènes	12
1.1.7 Effets	13
1.1.3.1 Environnement	13
Plantes	13
1.1.3.2 Humains	18
1.2 Gravité du danger	19
1.2.1 Environnement	19
1.2.2 Santé humaine	19
<b>2. Évaluation de l'exposition</b> .....	20
2.1 Sources d'exposition	20
2.2 Caractérisation de l'exposition	22
2.2.1 Environnement	22
2.2.2 Humains	23
<b>3. Caractérisation des risques</b> .....	24
<b>4. Conclusion</b> .....	24

<b>Références</b> .....	26
<b>Annexes</b> .....	37
Annexe A : Croissance de la souche ATCC 9500 de <i>Bacillus circulans</i> à différentes températures	37
Annexe B : Caractéristiques de la souche ATCC 9500 de <i>Bacillus circulans</i> – Analyse des esters méthyliques d’acides gras (EMAG)	38
Annexe C : Analyse séquentielle génique de l’ARNr 16S de la souche de <i>Bacillus circulans</i> inscrite sur la LIS	40
Annexe D : Sensibilité aux antibiotiques de <i>Bacillus circulans</i>	41

## Liste des tableaux

Tableau 1-1 : Liste des désignations actuelles de la souche ATCC 9500 de <i>B. circulans</i> .....	3
Tableau 1-2 : Production d’acide différente pour distinguer <i>B. circulans</i> de trois autres espèces pathogènes de <i>Bacillus</i> (adapté de Logan et de Vos 2009) .....	4
Tableau 1-3 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI, µg/mL) de cellules végétatives de la souche ATCC 9500 de <i>B. circulans</i>	
Tableau A-1 : Croissance de la souche ATCC 9500 de <i>B. circulans</i> à différentes températures dans un milieu liquide après 24 heures .....	37
Tableau A-2 : Taille (en mm) des colonies de la souche ATCC 9500 de <i>B. circulans</i> sur des plaques de gélose de soja tryptique (GST) après 24 et 48 heures .....	37
Tableau B-1 : Identification MIDI de la souche ATCC 9500 de <i>B. circulans</i> .....	<b>Error!</b>
<b>Bookmark not defined.</b>	
Tableau C-1 : Correspondances pour la souche ATCC 9500 de <i>B. circulans</i> en ce qui concerne les séquences dans la banque complète de données relatives aux gènes de Microseq® v2.0 .....	40
Tableau D-1 : Sensibilité aux antibiotiques de <i>B. circulans</i> d’après des rapports sur des cas humains .....	41

## Liste des figures

Figure 1-1 : Liens phylogénétiques entre les espèces de <i>Bacillus</i> d’après l’alignement de la région codante de la séquence génique de l’ARN ribosomique 16S .....	6
Figure 1-2 : Persistance de la souche ATCC 9500 de <i>B. circulans</i> dans le sol, basée sur une analyse de PCR quantitative d’ADN extractible du sol (Can. J. Microbiol., 55, 1166-1175, avec autorisation de reproduction) .....	9
Figure 1-3 : Étude de transport vertical dans les microcosmes d’échantillons de sol en utilisant la souche ATCC 9500 de <i>B. circulans</i> (Can. J. Microbiol., 55, 1166-1175, avec autorisation de reproduction).....	9

Figure B-1 : Liens dans la base de données environnementale pour la souche ATCC 9500 de Bacillus circulans .....40

Figure B-2 : Liens dans la base de données cliniques pour la souche ATCC 9500 de Bacillus circulans.....41

Figure B-3 : Liens dans la base de données sur le bioterrorisme pour Bacillus circulans .....41

## Introduction

En vertu de l'alinéa 74 b) de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999) (LCPE), la Ministre de l'Environnement et du Changement Climatique et la Ministre de la Santé sont tenus de procéder à l'évaluation préalable des organismes vivants inscrits sur la Liste intérieure (LIS) et, en vertu de l'article 105 de cette loi, de déterminer si lesdits organismes présentent ou peuvent présenter un risque pour l'environnement ou la santé humaine (d'après les critères stipulés à l'article 64 de la LCPE)<sup>1</sup>. La souche ATCC 9500 de *B. circulans* a été inscrite sur la LIS en vertu du paragraphe 25(1) de la LCPE 1988 et en vertu du paragraphe 105(1) de la LCPE 1999, car elle a été fabriquée ou importée au Canada entre le 1<sup>er</sup> janvier 1984 et le 31 décembre 1986.

La présente évaluation préalable tient compte des renseignements sur les risques posés tirés du domaine public et de données de recherche non publiées générées par les chercheurs de Santé Canada<sup>2</sup> et d'Environnement et Changement climatique Canada<sup>3</sup>, ainsi que des commentaires d'examineurs scientifiques. Les renseignements sur l'exposition proviennent du domaine public et de renseignements soumis en vertu de l'avis en vertu de l'article 71 de la LCPE publié le 3 octobre 2009 dans la Partie I de la Gazette du Canada. Pour obtenir des précisions sur la méthode d'évaluation des risques suivie, veuillez consulter le document intitulé « 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 spécifiques à la souche ATCC 9500 de *B. circulans* inscrite sur la LIS sont indiquées comme telles. Lorsqu'aucune donnée spécifique à la souche n'était disponible, des données de substitution tirées de recherches bibliographiques ont été utilisées. Lorsqu'il y avait lieu, les recherches bibliographiques sur l'organisme étaient faites en utilisant ses synonymes, ses noms communs et des noms périmés. Dans chaque cas, les organismes de substitution sont identifiés au niveau taxinomique fourni par la source. Les recherches bibliographiques ont été effectuées à l'aide de bases de données de publications scientifiques (SCOPUS, CAB Abstracts et PubMed du NCBI), de recherches sur le Web et de termes-clés de recherche pour l'identification des dangers pour la santé humaine ou l'environnement. Les données relevées jusqu'en octobre 2014 ont été prises en compte pour le présent rapport d'évaluation préalable.

---

<sup>1</sup> La détermination de la conformité à un ou plusieurs des critères de l'article 64 de la LCPE est basée sur une évaluation des risques pour l'environnement et/ou la santé humaine dus à l'exposition dans l'environnement en général. Pour les humains, cela inclut, sans toutefois s'y limiter, les expositions dues à l'air, l'eau et l'utilisation de produits contenant ces substances. Une conclusion établie en vertu de la LCPE peut ne pas être pertinente pour une évaluation en fonction de critères définis dans le *Règlement sur les produits dangereux*, qui fait partie d'un cadre réglementaire du Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail, 2015 (SIMDUT 2015) pour les produits destinés à être utilisés au travail, ni n'empêche la tenue d'une telle évaluation.

<sup>2</sup> Tests réalisés par le Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale de Santé Canada.

<sup>3</sup> Tests réalisés par la Division de l'écotoxicologie et de la santé de la Faune d'Environnement et Changement climatique Canada.



## **Décisions de juridictions nationales ou internationales**

### **Au niveau national**

B. circulans n'est pas inscrit comme organisme associé à une maladie des animaux aquatiques à déclaration ou à désignation obligatoire en vertu de la Loi sur la santé des animaux, du Règlement sur les maladies déclarables ni du Règlement sur la santé des animaux par l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA 2014). Il n'est soumis à aucune exigence sur la santé des végétaux des programmes sur les espèces envahissantes et les programmes intérieurs menés en vertu de la Loi et du Règlement sur la protection des végétaux, et ne requiert aucun permis d'importation de la Division de la protection des végétaux (ACIA, communication personnelle).

B. circulans est considérée comme un organisme du groupe de risque 1 pour les humains et les animaux terrestres selon l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC, communication personnelle). Les agents biologiques du groupe de risque 1 sont ceux qui pourraient infecter une personne ou un animal, mais qui sont peu susceptibles de le faire. Ces agents biologiques posent un faible risque à la santé des personnes et/ou des animaux et un faible risque pour la santé publique, le bétail et la volaille.

### **Au niveau international**

B. circulans n'est inscrit à titre de pathogène humain dans aucune des bases de données internationales sur les agents pathogènes, compilées par l'American Biological Safety Association (ABSA 2014).

B. circulans est un organisme classé au niveau 1 de biosécurité selon le Center of Disease Control and Prevention (CDC) des États-Unis. Ce niveau convient à des travaux comportant la manipulation d'agents bien caractérisés auxquels on n'associe pas une propension constante à rendre malade des adultes en santé et qui présentent un danger potentiel minimal pour le personnel de laboratoire et l'environnement.

# 1. Évaluation du danger

## 1.1 Caractérisation de la souche ATCC 9500 de *Bacillus circulans*

### 1.1.1 Identification taxinomique et historique de la souche

**Nom binomial :** *Bacillus circulans*

#### **Classification taxinomique**

**Règne :** Bactéries

**Embranchement :** Firmicutes

**Classe :** Bacilles

**Ordre :** Bacillales

**Famille :** Bacillaceae

**Genre :** Bacille

**Espèce :** *Bacillus circulans* Jordan 1890 (listes approuvées de 1980)

**Souche ATCC 9500 inscrite sur la LIS**

**Nom périmé :** *Bacillus aporrhoeus*

#### **Historique de la souche**

La souche ATCC 9500 de *B. circulans* a été isolée par W. H. Fuller (Fuller et Norman 1943). Elle a été initialement ajoutée par N. R. Smith à l'American Type Culture Collection (ATCC 2014) et, par la suite, à la Belgian Co-ordinated Collection of Micro-organisms (avec le numéro d'accès LMG 14421) en 1994 (BCCM 2013). La souche ATCC 9500 de *B. circulans* a été inscrite dans un certain nombre d'autres souchothèques, comme il est indiqué au .



**Tableau 1-1 : Liste des désignations actuelles de la souche ATCC 9500 de B. circulans**

Souchothèque	Désignation de la souche
Bioresource Collection and Research Center, Food Industry Research and Development Institute, Taiwan	BCRC 11721
Korean Collection for Type Cultures, Genetic Resources Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejon, Corée du Sud	KCTC 1662
Belgian Co-ordinated Collections of Micro-organism-organisms (BCCM/LMG), Gand, Belgique	LMG 14421
Biological Resource Center, National Institute of Technology and Evaluation, Chiba, Japon	NBRC 13640
National Collection of Industrial Micro-organisms, Pune, Inde	NCIM 2234
National Collection of Industrial, Food and Marine Bacteria, Aberdeen, Écosse	NCIMB 9555
Agricultural Research Service Culture Collection, National Center for Agricultural Utilization Research, US Department of Agriculture, Peoria, IL, É.-U.	NRRL NRS-1108

### 1.1.1.1 Caractéristiques phénotypiques et moléculaires

Le genre *Bacillus* est vaste, il comprend 11 sous-groupes phylogénétiques et plus de 140 espèces (Mikkola et coll. 2000). La large gamme de niches exploitées par le genre reflète la grande diversité des modes de vie et des adaptations physiologiques parmi les espèces de *Bacillus* (Murray et coll. 1995).

Les cellules végétatives de *B. circulans* sont des bâtonnets Gram positif, mobiles, droits, arrondis aux extrémités, parfois légèrement profilés et courbés, avec un diamètre de 0,6 à 0,8 µm. Elles se présentent seules ou en paires, et parfois sous forme de chaînes courtes. Les endospores sont ellipsoïdales et reposent en position terminale ou sous-terminale dans un sporange gonflé (Logan et de Vos 2009). Les dimensions d'une spore sont de 0,5 à 0,7 µm sur 4 à 5 µm (Serraino et coll. 2011). Les protéines cristallines qui se forment autour des spores, telles que celles observées chez *Bacillus thuringiensis*, n'ont pas été rapportées chez *B. circulans* (Logan et de Vos 2009).

Le nom « *circulans* » provient d'une observation à faible grossissement, qui a mis en évidence que l'intérieur des colonies de l'isolat original se déplaçait de façon circulaire (examiné dans Nakamura et Swezey 1983a). Cependant, à peine 13 % des 61 souches de *B. circulans* observées ont présenté des micro-colonies en rotation et en migration qui s'étendaient (Logan et coll. 1985). La plupart des souches présentant des micro-

colonies mobiles et en expansion ont depuis été reclassées et attribuées à certaines espèces de *Paenibacillus* (examiné dans Gillespie et Hawkey 2006). La capacité de certaines souches à former des colonies mobiles avec ou sans déplacement circulaire dépend aussi de facteurs externes comme la gélose et les concentrations d'éléments nutritifs. Les colonies de *B. circulans* peuvent aussi se présenter sous la forme d'embranchements noués, mais seulement lorsqu'elles se développent sur des surfaces de gélose dure (Komoto et coll. 2003).

Dans le cas de la souche ATCC 9500 de *B. circulans*, le rapport d'analyse de l'ATCC décrit des colonies basses convexes présentant des marges irrégulières et une infrastructure allant de finement granulaire à opaque sur une gélose nutritive à 30 °C. La croissance dans un bouillon est légèrement turbide avec une sédimentation moyenne visqueuse (ATCC 2014). Lors de tests réalisés par Santé Canada, des colonies ont été décrites légèrement grises, translucides, entièrement rondes et plates sur une gélose de soja tryptique à 37 °C. Les tailles des colonies sont indiquées à l'annexe A Tableau 0-2).

*B. circulans* est capable de produire de l'acide sans gaz à partir d'une très vaste gamme d'hydrates de carbone, à l'exception du D-arabinose, du dulcitol, de l'érythritol, du D-fucose, du L-fucose, du L-sorbose, du D-tagatose et du L-xylose (Logan et de Vos 2009). Cette caractéristique peut être utilisée pour différencier *B. circulans* de pathogènes humains et de zoopathogènes connus du groupe de *B. cereus* (*B. anthracis*, *B. cereus* et l'agent pathogène des insectes, *B. thuringiensis* [Rasko et coll. 2005]), tel qu'indiqué dans le **Error! Reference source not found.** :

**Tableau 1-2 : Production d'acide différente pour distinguer *B. circulans* de trois autres espèces pathogènes de *Bacillus* (adapté de Logan et de Vos 2009)**

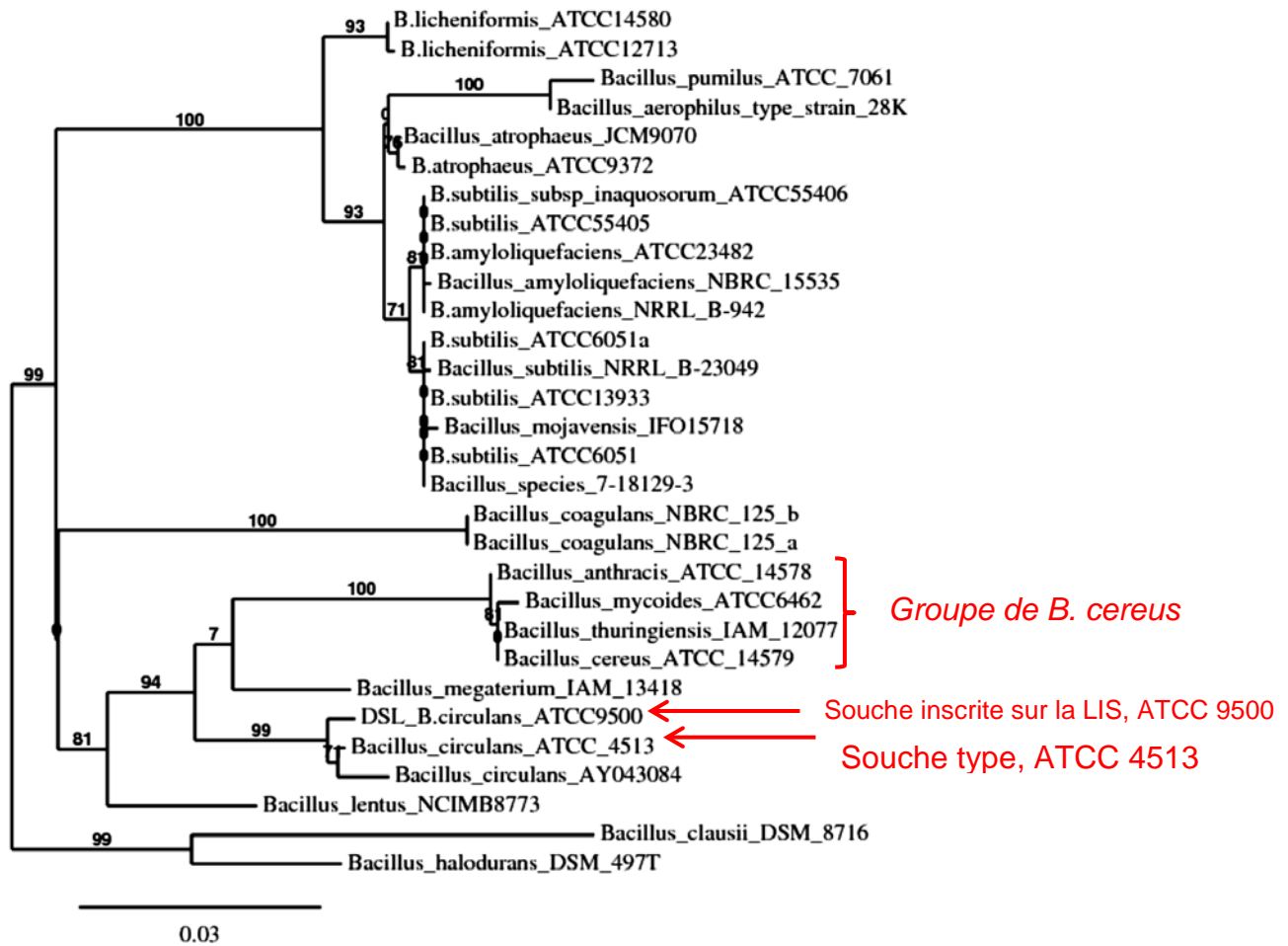
Substrat	<i>B. circulans</i>	<i>B. anthracis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. thuringiensis</i>
L-Arabinose	+	-	-	-
Galactose	+	-	-	-
Inuline	+	-	-	-
Lactose	+	-	-	-
Mélezitose	+	-	-	+
Mélibiose	+	-	-	-
Raffinose	+	-	-	-
Glycérol	+	-	+	+
D-Xylose	+	-	-	-
Xylitol	+	-	-	-
Méthyle $\alpha$ -D-mannoside	+	-	-	-
Méthyle $\beta$ -D-xyloside	+	-	-	-
méso-Inositol	+	-	-	-
D-Mannitol	+	-	-	-

+ = > 85 % de réaction positive; - = 0 à 15 % de réaction positive

La souche type de *B. circulans* (ATCC 4513) contient de l'acide anteiso-C<sub>15:0</sub> en tant que principal acide gras cellulaire (57,3 %), ainsi que les acides anteiso-C<sub>15:0 iso</sub> et anteiso-C<sub>17:0</sub> (10,0 et 3,4 % respectivement) (Shida et coll. 1997). L'analyse de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* par des chercheurs de Santé Canada indique que le profil d'acides gras est comparable à celui de la souche type (tel qu'indiqué dans Shida et coll. 1997), en ce sens que l'acide anteiso-C<sub>15:0</sub> est le principal acide gras cellulaire (36,7 à 46,22 %), suivi par l'acide anteiso C<sub>15:0 iso</sub> et l'acide anteiso C<sub>17:0</sub> (13,0 à 13,8 % et 2,3 à 3,0 % respectivement). L'analyse phylogénétique réalisée par des chercheurs de Santé Canada, basée sur les esters méthyliques d'acide gras en utilisant les bases de données MIDI environnementales et cliniques, a montré que la souche inscrite sur la LIS se rapproche étroitement d'un groupe diversifié de microorganismes non pathogènes, dont *Bacillus circulans* - GC, sous-groupe A (veuillez consulter l'annexe B, Figure B-1, Figure B-2 et **Error! Reference source not found.**). Elle montre aussi que *B. circulans* s'éloigne des bactéries d'importance clinique comme *B. anthracis*, *B. cereus* et les espèces de *Kocuria* (veuillez consulter l'annexe B, Figure B-2 et Figure B-3).

L'analyse phylogénétique réalisée par des chercheurs de Santé Canada, basée sur des séquences géniques de l'ARNr 16S (Figure 1-2), montre clairement que *B. circulans* forme un groupe éloigné de pathogènes humains et de zoopathogènes connus (*B. anthracis*, *B. cereus* et l'agent pathogène des insectes, *B. thuringiensis*). Elle révèle aussi que la souche ATCC 9500 inscrite sur la LIS et la souche type ATCC 4513 de *B. circulans* ont des liens étroits. De même, la séquence génique de l'ARNr 16S de la souche inscrite sur la LIS exhibe le degré d'homologie le plus élevé avec la séquence génique de l'ARNr 16S de la souche type, comparativement aux séquences dans la banque complète de données relatives aux gènes de Microseq® v2.0 (annexe C,

Tableau C-1).



**Figure 1-2 : Liens phylogénétiques entre les espèces de *Bacillus* d'après l'alignement de la région codante de la séquence génique de l'ARN ribosomique 16S**

Pendant de nombreuses années, *B. circulans* était une espèce mal définie, à l'origine traitée comme un complexe plutôt qu'une espèce, dont les membres présentaient une hétérogénéité phénotypique (Logan et de Vos 2009). Nakamura et Swezey (1983a) ont identifié au moins dix groupes d'ADN homologues au sein de ce taxon, qui présentent des profils biochimiques non identiques, suggérant que l'hétérogénéité phénotypique de l'espèce *B. circulans* n'était pas due à une variabilité inhérente de souches liées génétiquement, mais à une variabilité introduite par l'inclusion de microorganismes non apparentés génétiquement dans cette espèce (Nakamura et Swezey 1983a, Nakamura et Swezey 1983b).

La souche ATCC 9500 inscrite sur la LIS est l'une de neuf souches qui partagent une gamme de pourcentages de guanine et cytosine (% de G+C en mole) de 38,1 à 39 avec la souche type, ATCC 4513. Seulement un petit nombre des 123 souches testées (c.-à-d., 10 des 18 ayant un % de G+C en mole de 37 à 41), y compris la souche ATCC 9500, ont été jugées étroitement apparentées l'une avec l'autre et avec la

souche type, et présentaient une quantité minimale de variation phénotypique (Nakamura et Swezey 1983a).

En se basant sur l'analyse phylogénétique des esters méthyliques d'acide gras et de l'ARNr 16S et sur le pourcentage de G+C en mole, la souche type est considérée convenir comme souche de substitution lorsque des données spécifiques à la souche ne sont pas disponibles pour la souche inscrite sur la LIS. Cependant, il est reconnu que les souches étroitement liées peuvent acquérir différentes caractéristiques par transfert horizontal de gènes.

## **1.1.2 Propriétés biologiques et écologiques**

### **1.1.2.1 Présence naturelle**

*B. circulans* a été isolée dans des milieux tant aquatiques que terrestres et associée à des animaux et des plantes. L'espèce a été détectée dans de l'eau de mer (Das et coll. 2008), des sources hydrothermales (Boulenouar et coll. 2006), un site de schiste bitumineux (Dragutinovic et coll. 2012), le sol, des eaux d'égout et le système digestif d'insectes (Mukhopadhyay et coll. 2012). Elle a aussi été isolée du système digestif de poissons (Bairagi et coll. 2004, Kaynar et Beyatli 2009, Saha et coll. 2006), du contenu du système digestif de larves et d'abeilles domestiques adultes, ainsi que dans des échantillons de miel, qui font partie des microbiotes normaux de sources apicoles (Gilliam 1997, Alippi et coll. 2006, Reynaldi et coll. 2004), de *Scapharca broughtonii* à l'état frais (Su et coll. 2010), d'herbe (Logan et coll. 1985) et de la rhizosphère de plantes (Mehta et coll. 2010).

### **1.1.2.2 Conditions de croissance**

*B. circulans* est une bactérie chimioorganohétérotrophe qui utilise des monosaccharides, des disaccharides, des polysaccharides et des alcools polyhydroxylés comme sources de carbone, d'énergie et d'électrons (Dragutinovic et coll. 2012). Elle est facultativement anaérobie.

La souche type se développe à une température allant de 14 à 45 °C, un pH de 4 à 10 (la valeur optimale étant de 7) et à une teneur de chlorure de sodium de 8 % (NaCl) (Seiler et coll. 2013). L'ATCC suggère de mettre en culture la souche ATCC 9500 de *B. circulans* à 30 °C (ATCC 2014). Lors de tests réalisés par des chercheurs de Santé Canada, la souche ATCC 9500 de *B. circulans* a été cultivée à une température allant de 28 à 42 °C dans un bouillon de soja tryptique (BST) et sur une gélose de soja tryptique, mais non dans un milieu liquide avec un supplément de sérum plus représentatif d'un environnement hôte mammalien. Dans le BST, la température optimale de croissance était 37 °C (voir l'Annexe A, Tableau 0-1). La souche inscrite sur la LIS a aussi été cultivée dans de l'agar de soja tryptique (voir l'Annexe A, tableau A-2).



La capacité des cellules végétatives de croître dans une large gamme de températures, de pH et avec une concentration de sel de 8 %, ainsi que sur divers substrats, permet à *B. circulans* de se développer dans diverses niches.

### 1.1.2.3 Formation de spores

Comme d'autres spores de *Bacillus*, les spores de *B. circulans* peuvent résister à des conditions physiques et chimiques environnementales défavorables, telles que la chaleur, y compris les conditions de stérilisation standards de 121 °C pendant 20 minutes (Leifert et coll. 1989, Trick et Lingens 1985), le froid, la dessiccation, le rayonnement, les désinfectants, les antibiotiques et d'autres agents toxiques. En conséquence, elles possèdent une longévité extraordinaire, ce qui les rend ubiquistes et persistantes dans une variété d'environnements différents (Logan et de Vos 2009). Les spores demeurent à l'état dormant pendant de longues périodes et commencent à se développer quand les conditions deviennent appropriées à la croissance végétative.

### 1.1.2.4 Survie et persistance dans l'environnement

Dans une étude sur la persistance dans le sol, des cellules végétatives de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* ont pu être distinguées d'autres microorganismes dans un microcosme d'échantillon de sol intact, et ont été quantifiées à l'aide de la PCR quantitative ciblant des régions non codantes spécifiques de la souche du génome déterminé à partir du polymorphisme de longueur de fragments amplifiés (AFLP). Dans les premiers 3 cm de sol limoneux-sableux (pH = 5,0 et humidité relative de 22 et 80 %) inoculé avec la souche ATCC 9500 de *B. circulans* à des densités initiales de  $\sim 1 \times 10^6$  UFC/g de sol, un déclin de la souche a été observé à partir du 25<sup>e</sup> jour jusqu'à des concentrations proches de la limite de détection de  $\sim 1 \times 10^2$  UFC/g de sol ou inférieures à celle-ci (Figure 1-3). Lors d'une deuxième expérience, la concentration de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* a chuté sous la limite de détection au 14<sup>e</sup> jour après l'inoculation (données non rapportées) (Providenti et coll. 2009).

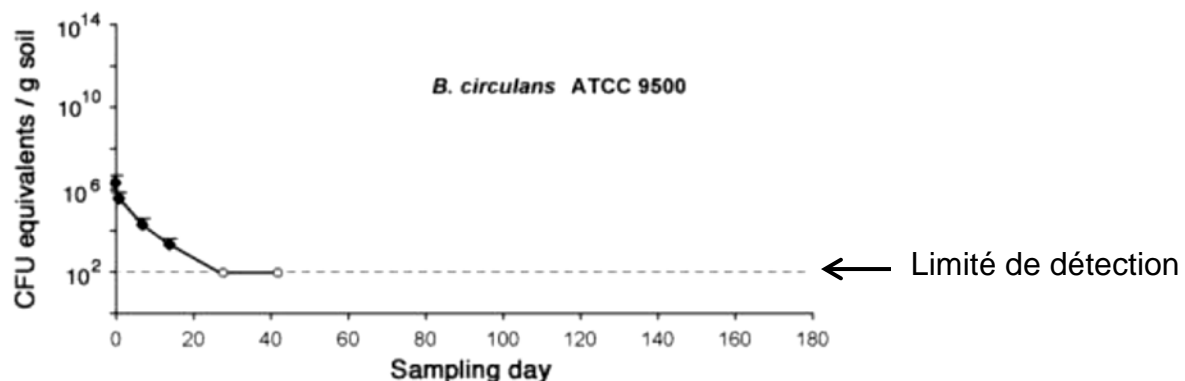


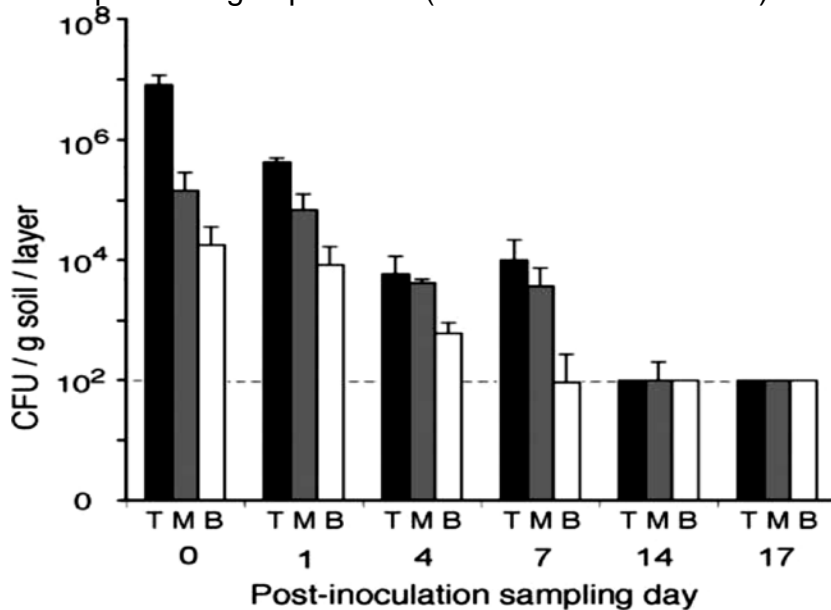
Figure 1-3 : Persistance de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* dans le sol, basée sur une analyse de PCR quantitative d'ADN extractible du sol (Can. J. Microbiol., 55, p. 1166-1175, avec autorisation de reproduction)

Légende pour la figure 1-2 :

CFU equivalents / g soil = Équivalent UFC par g de sol

Sampling day = Journée d'échantillonnage

Une autre expérience a été réalisée pour confirmer que le déclin rapide observé n'était pas attribuable à un transport vertical de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* vers des couches de sol plus profondes. La PCR quantitative appliquée aux couches de sol de 5 cm provenant du haut (H), du milieu (M) et du bas (B) des échantillons de sol a mis en évidence une dispersion verticale limitée des cellules inoculées à la surface d'une série d'échantillons de sol (Figure 1-4). Des échantillons ont été prélevés en fonction du temps, et la limite de détection qualitative de  $\sim 1 \times 10^2$  UFC par gramme de sol est représentée par une ligne pointillée (Providenti et coll. 2009).



**Figure 1-4 : Étude du transport vertical dans les microcosmes d'échantillons de sol en utilisant la souche ATCC 9500 de *B. circulans* (Can. J. Microbiol., 55, p. 1166-1175, avec autorisation de reproduction)**

Légendes de la figure 1-3 :

CFU / g soil / layer = UFC/g de sol/couche

T M B = H M B

Post-inoculation sampling day = journée d'échantillonnage après l'inoculation

De la journée d'inoculation au jour 7, la souche ATCC 9500 de *B. circulans* a été détectée principalement dans la couche supérieure (98 % du total des cellules le jour 0, et 73 % du total des cellules le jour 7). Les cellules ont été détectées dans les couches du milieu et du bas (respectivement 27 et  $< 0,6$  % du total) le jour 7. Au jour 14, les cellules n'ont été détectées que dans la couche du milieu à des concentrations proches de la limite de détection. Le jour 17, le nombre des cellules a chuté en dessous de la limite de détection dans toutes les couches. Les auteurs ont conclu que la tendance à la diminution du nombre de cellules observée lors des études sur la persistance dans le

sol semblait plutôt due à la mort des bactéries qu'à leur transport vers des couches plus profondes du sol. Les auteurs ont déclaré que les rapports indiquant une viabilité à long terme des spores de *Bacillus* étaient associés à des conditions de sécheresse du sol. Ainsi, ils ont attribué la viabilité limitée des cellules végétatives de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* observée lors de ces études à l'hydratation des échantillons de sol, qui étaient arrosés tous les 2 à 3 jours.

De manière générale, les populations microbiennes introduites dans le sol diminuent graduellement, peu importe la source de leur isolement original, en raison de l'hostilité des conditions biotiques ou abiotiques dans le sol (Van Veen et coll. 1997). Les facteurs biotiques incluent la prédation et l'antagonisme, les facteurs abiotiques comprennent le pH, la température et l'humidité inhospitaliers du sol, ainsi que la rareté des éléments nutritifs (Van Veen et coll. 1997). Il est peu probable que de grandes quantités de cellules végétatives persistent dans l'eau ou le sol en raison de la concurrence exercée par d'autres microorganismes (Leung et coll. 1995).

### 1.1.3 Résistance aux antibiotiques

Des profils de sensibilité aux antibiotiques variables ont été rapportés dans le cadre de cas d'infection par *B. circulans* (voir la section 1.1.3.2).

La sensibilité de *B. circulans* aux antibiotiques de plusieurs classes est spécifique de la souche. Ceci s'applique aux cas suivants :

- les antibiotiques de type bêta-lactame, ampicilline et pipéracilline (seules ou en combinaison avec le tazobactam) (Banerjee et coll. 1988, Castagnola et coll. 1997, Gurol et coll. 2007);
- céfazoline, une céphalosporine de première génération (Alebouyeh et coll. 2011, Fontana et coll. 1997);
- clindamycine (Gurol et coll. 2007);
- vancomycine (Banerjee et coll. 1988, Berry et coll. 2004, Castagnola et coll. 1997, Goudswaard et coll. 1995, Krause et coll. 1999, Gurol et coll. 2007).

Il a été démontré que *B. circulans* VR0709, une souche clinique résistante à la vancomycine, portait le gène *vanA*. Chez les entérocoques, le gène *vanA* se trouve généralement sur un transposon (Fontana et coll. 1997), mais chez *B. circulans* il est situé sur le chromosome (Ligozzi et coll. 1998), ce qui pourrait le rendre plus difficilement transférable à d'autres microorganismes. Aucun autre rapport ayant trait au gène *vanA* ou à la résistance à la vancomycine chez *B. circulans* n'a été trouvé dans la littérature scientifique. Étant donné que *B. circulans* n'agit que rarement comme agent pathogène et qu'il est sensible à un certain nombre d'antibiotiques (Fontana et coll. 1997), sa résistance à la vancomycine ne pose pas de défi thérapeutique majeur (Fontana et coll. 1997, Krčmery Jr et Sefton 2000).

Comme bon nombre de microorganismes, *B. circulans* est résistante aux antibiotiques qu'il produit et à ceux de la même classe. Certaines souches de *B. circulans* produisent

de la butirosine, un membre de la famille des néomycines des antibiotiques aminoglycosidiques, et sont résistantes à divers aminoglycosides grâce à l'activité de l'aminoglycoside-phosphotransférase (APH). De même, en tant qu'organisme producteur de circuline, *B. circulans* est résistante à la circuline ainsi qu'à l'antibiotique polymyxine (Storm et coll. 1977).

La souche ATCC 9500 de *B. circulans* a fait l'objet de tests avec un certain nombre d'antibiotiques de plusieurs classes, réalisés par des chercheurs de Santé Canada (Tableau 1-1).

**Tableau 1-1 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI, µg/mL) de cellules végétatives de la souche ATCC 9500 de *B. circulans***

Antibiotique	CMI (µg/mL) <sup>a</sup>	Sensible <sup>b</sup>	Sensibilité intermédiaire <sup>b</sup>	Résistant <sup>b</sup>	Interprétation de la CMI
Amoxicilline	0,37	ND	ND	ND	ND
Céfotaxime	3	≤ 8	16-32	≥ 64	Sensible
Ciprofloxacine	0,37	≤ 1	2	≥ 4	Sensible
Doxycycline	0,37	ND	ND	ND	ND
Érythromycine	3	≤ 0,5	1-4	≥ 8 (≥ 4 <sup>c</sup> )	Intermédiaire
Gentamicine	0,37	≤ 4	8	≥ 16 (≥ 4 <sup>c</sup> )	Sensible
Méropénem	0,37	ND	ND	ND	ND
Acide nalidixique	12	ND	ND	ND	ND
Triméthoprime	12	≤ 2	ND	≥ 4	Résistant
Vancomycine	0,37	≤ 4	ND	ND (≥ 4 <sup>c</sup> )	Sensible

ND = non disponible

<sup>a</sup> La méthode de test en milieu liquide BST-MTT a été utilisée pour déterminer les valeurs de CMI (Seligy et Rancourt 1999). Les valeurs correspondent à la concentration minimale inhibitrice (en µg/mL) pour la souche ATCC 9500 de *B. circulans* cultivée en présence de l'antibiotique pendant 24 h à 37 °C.

<sup>b</sup> Critères d'interprétation (CMI µg/mL; CLSI 2010)

<sup>c</sup> Critères d'interprétation (CMI µg/mL; EFSA 2008)

### 1.1.2.6 Caractéristiques pathogènes et toxigènes

Pour qu'un microorganisme soit un agent pathogène microbien efficace, il doit pouvoir adhérer aux surfaces cellulaires de l'hôte, envahir ses tissus et éliminer ses défenses. Lors d'une étude, certains isolats de *B. circulans* étaient parfois capables d'adhérer aux lignées cellulaires Hep-2 et Caco-2 ou de les envahir, tandis que d'autres en étaient complètement incapables (Rowan et coll. 2001).

L'activité cytotoxique, qui fait référence à l'action destructive d'un microorganisme ou de ses produits et aux dommages structurels et métaboliques ainsi causés aux cellules animales, pourrait faciliter l'invasion et est associé à la virulence (Rowan et coll. 2001, Kim et coll. 1998). Les surnageants de culture acellulaire de deux isolats cliniques et d'un isolat alimentaire de *B. circulans* associés à une intoxication alimentaire exhibaient une activité cytotoxique sur les lignées cellulaires épithéliales humaines Caco-2 et HEP-2 (Rowan et coll. 2001). L'analyse réalisée par des chercheurs de Santé Canada, qui

ont soumis à des tests des cellules végétatives de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* en présence de deux lignées cellulaires différentes (macrophages murins et du côlon humain), n'a montré aucune activité cytotoxique significative.

Les isolats de *B. circulans* exhibent divers niveaux d'hémolyse (Rowan et coll. 2001). Chez toutes les souches entérotogènes, une hémolyse bêta discontinue était apparente suivant l'incubation sur des plaques de gélose au sang de mouton (Phelps et McKillip 2002). Cependant, l'analyse de la souche de *B. circulans* inscrite sur la LIS par des chercheurs de Santé Canada n'a révélé aucune activité hémolytique.

La lécithinase est une enzyme bactérienne qui accroît la virulence en déstabilisant les membranes cellulaires de l'hôte (Todar 2012). Phelps et McKillip (2002) ont montré que toutes les souches de *B. circulans* testées avaient produit de la lécithinase sur une gélose au jaune d'œuf et à la polymyxine B, suggérant qu'il est également probable que l'enzyme soit produite par la souche ATCC 9500 inscrite sur la LIS.

Il a été rapporté que des souches de *B. circulans* associées à une intoxication alimentaire produisaient des toxines (Beattie et Williams 1999), dont certaines similaires à l'entérotoxine hémolysine BL (HBL) de *B. cereus* (Rowan et coll. 2001) et à l'entérotoxine non hémolytique (Nhe) (Phelps et McKillip 2002). En utilisant la PCR, il a été possible d'identifier la toxine diarrhéique BceT et les gènes Nhe dans des isolats alimentaires (Phelps et McKillip 2002) et le complexe de la toxine HBL n'a été identifié que dans des isolats cliniques de *B. circulans* (Rowan et coll. 2001, Phelps et McKillip 2002). Ces derniers résultats sont en accord avec la détection de l'entérotoxine HBL sécrétée dans des surnageants de culture de l'une des souches cliniques, en utilisant une épreuve d'agglutination passive inversée au latex (APIL) (Rowan et coll. 2001). D'après l'analyse indépendante de Santé Canada, la souche ATCC 9500 de *B. circulans* était négative pour les toxines HBL et Nhe en utilisant la trousse d'entérotoxine *Cereus* de Duopath<sup>MC</sup> (Merck Millipore) et négative pour l'entérotoxine diarrhéique de *Bacillus* en utilisant l'immuno-épreuve visuelle pour les pathogènes et les toxines Tecra<sup>MC</sup> 3M<sup>MC</sup>.

#### **1.1.2.7 Transfert horizontal de gènes**

Comme d'autres bactéries, la souche ATCC 9500 de *B. circulans* peut acquérir des gènes de virulence par transfert horizontal de gènes. Cependant, à l'exception d'un seul rapport citant la présence chez *B. circulans* de l'un des deux plasmides de virulence de *B. anthracis* (Luna et coll. 2006), le transfert horizontal de déterminants de virulence chez *B. circulans* n'a pas été observé. Des tests indépendants réalisés par des chercheurs de Santé Canada n'ont pas permis de détecter de plasmides de *B. anthracis* dans la souche ATCC 9500.

Avec l'exception probable de la lécithinase, la souche ATCC 9500 de *B. circulans* ne semble pas posséder les gènes de virulence qui pourraient être transmis à d'autres bactéries dans l'environnement. Étant donné que la lécithinase est déjà très répandue,

le transfert horizontal potentiel de l'activité de la lécithinase de la souche ATCC 9500 à d'autres bactéries n'est pas considérée représenter un danger supplémentaire.

### 1.1.3. Effets

#### 1.1.3.1 Environnement

##### Plantes

La bactérie *B. circulans* a été isolée dans le sol de la rhizosphère de *Halophila ovalis*, d'un type de plante marine, apparemment à titre de membre du microbiote normal où ses propriétés de solubilisation du phosphate pourraient être bénéfiques pour la plante en lui procurant un avantage nutritionnel (Ghosh et coll. 2012). Une recherche bibliographique exhaustive n'a pas permis de trouver d'autres rapports citant *B. circulans* en association avec des plantes aquatiques.

*B. circulans* peut avoir un effet bénéfique sur les plantes terrestres, car cette bactérie exerce une activité antimicrobienne sur des champignons phytopathogènes grâce à l'activité des enzymes glucanolytiques, chitinolytiques et protéolytiques. Les champignons touchés incluent *Verticillium dahliae*, *Phytophthora cactorum*, *Rhizoctonia solani* et *Sclerotinia sclerotiorum* (Berg et coll. 2002). *B. circulans* inhibe aussi la croissance mycélienne chez *Fusarium oxysporum*. Le traitement des semis de sorgho avec *B. circulans* ( $3 \times 10^9$  UFC par pot) a permis de réduire de 95,83 % le pourridié et la pourriture du collet causés par *F. oxysporum* dans des plants de sorgho de 4 semaines (Idris et coll. 2007). *B. circulans* WL-12 est capable de sécréter plusieurs chitinases (A1, A2, B1, B2, C et D) (examiné dans Mustafa A Alam et coll. 1995) et, lorsqu'elle est cultivée dans un milieu contenant des parois cellulaires de *Pyricularia oryzae* (l'agent pathogène de la pyriculariose du riz), elle produit de la  $\beta$ -1,3-glucanase, des  $\beta$ -1,6-glucanases et de la chitinase qui ont causé une lyse sélective des parois cellulaires de *P. oryzae* (Tanaka et Watanabe 1995). Il a aussi été démontré qu'une autre souche de *B. circulans* produisait des chitinases, avait une activité antibactérienne sur des bactéries tant Gram positif que Gram négatif, ainsi qu'une certaine activité antifongique sur des champignons unicellulaires (valeur de la CIM allant de 0,5 à 2  $\mu$ g/mL, pour tous les organismes testés) (Abada et coll. 2014).

*B. circulans* produit aussi une xylanase (BcX) ayant des propriétés d'hypersensibilisation potentielles chez des plantes. Cependant, le traitement in vitro des cellules de tabac (*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi) cultivées en suspension avec BcX n'a induit chez elles aucune hypersensibilité (Yano et coll. 1998).

Une étude en serre a montré que le filtrat de culture de *B. circulans* réduisait de 40,7 % le nombre moyen de lésions causées par le virus de la mosaïque de la tomate (ToMV) sur les feuilles de plants de tomate infectés (*Lycopersicon esculentum*) (Megahed et coll. 2013).

Les études suivantes ont montré que *B. circulans* stimulait la croissance végétale.

- L'inoculation de semences plantées de trèfle des prés (*Trifolium pretense*) avec *B. circulans*, à une concentration de  $3,44 \times 10^{10}$  UFC par pot, n'a produit aucun effet négatif sur l'émergence des semis ni sur la longueur ou la masse sèche des pousses ou des racines. Il a plutôt été observé que la longueur des racines et la masse des pousses des plantes traitées avec *B. circulans* étaient significativement supérieures à celles des plantes témoins (Chitty 2005).
- La souche MTCC 8983 de *B. circulans* a solubilisé efficacement le phosphate inorganique d'un bouillon de Pikovskaya, produisant 957,3 mg/L de phosphate soluble in vitro dans les 72 heures. Elle a aussi produit des substances qui protègent les plantes, telles que l'acide indole 3-acétique (jusqu'à 15,13 µg/mL) et des sidérophores, et a inhibé la croissance du champignon phytopathogène *Dematophora necatrix* de 46,57 % (Mehta et coll. 2010).
- Dans une enceinte protégée par un filet, soixante jours après avoir inoculé des semences de tomate avec *B. circulans* CB7, des augmentations remarquables de la germination des semences (22,32 %), de la longueur des pousses (15,91 %), de la longueur des racines (25,10 %), du poids sec des pousses (52,92 %), du poids sec des racines (31,4 %) et de la teneur en azote (18,75 %), en potassium (57,69 %) et en phosphore (22,22 %) de la biomasse des pousses ont été observées, comparativement à ceux de témoins. Des niveaux significativement plus élevés d'azote, de phosphore et de potassium ont aussi été observés dans le sol des plantes traitées comparativement à celui des témoins. La solubilisation du phosphate, la production d'auxine, de 1-aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase, de sidérophores, l'activité de la nitrogénase et l'antagonisme de *D. necatrix* ont contribué à stimuler la croissance végétale (Mehta et coll. 2014).
- L'inoculation de le blé (*Triticum aestivum* L.) avec *B. circulans* a significativement amélioré la colonisation des racines par le champignon mycorhizien à vésicules et arbuscules (VAM), le rendement en grain et en paille (2,261 g/pot par rapport à 2,060 g/pot) et l'absorption de l'azote (1,720 mg/pot par rapport à 1,330 mg/pot) et du phosphore (0,471 mg/pot par rapport à 0,371 mg/pot), comparativement à des témoins (Singh et Kapoor 1999).

En tant que contaminant, *B. circulans* peut avoir des effets nocifs sur les cultures de tissus végétaux (Leary et coll. 1986, Trick et Lingens 1985). Les études de culture de tissus et en serre suggèrent que *B. circulans* puisse être pathogène pour des dattiers : *B. circulans* isolée du tissu d'un cœur sain, du méristème de bourgeons végétatifs, du primordium de pousses, de la bractée d'une jeune branche et de frondes matures a été utilisée pour inoculer des œilletons sains de différents cultivars de dattiers et a causé des effets nocifs. À une concentration de  $10^5$  UFC par cal de palmier, *B. circulans* a causé une nécrose et une pourriture molle visqueuse et destructrice dans les cultures de tissus (Leary et coll. 1986). À une concentration de  $10^6$  UFC par plante, la majorité des semis de serre ont exhibé une nécrose qui est descendue le long du cotylédon, suivie d'un flétrissement (étude en serre, Leary et Chun 1989).

Étant donné l'hétérogénéité existant au sein de l'espèce *B. circulans*, on ignore jusqu'à quel point les propriétés observées dans d'autres souches de *B. circulans* le sont dans

celle inscrite sur la LIS. Cependant, la prise en compte de tous les effets attribués à l'espèce permet une compréhension du spectre des caractéristiques qui pourraient être attribuées à la souche inscrite sur la LIS (tant bénéfiques que nocives).

### **Invertébrés :**

Les invertébrés aquatiques *Daphnia magna* et *Artemia* ont été utilisés avec succès comme vecteurs vivants pour la transmission probiotique de *B. circulans* à des poissons dans le cadre d'un processus nommé bioencapsulation (Famarzi et coll. 2012a, Famarzi et coll. 2012b, Sahandi et coll. 2012). Aucun effet nocif sur les invertébrés bioencapsulés n'a été rapporté pendant la durée de l'étude (jusqu'à quatre semaines).

*B. circulans* isolée de la larve d'un moustique (*Culex quinquefasciatus*) a tué des larves de trois espèces de moustiques d'importance médicale. Comparativement à l'entomopathogène très virulent (souche 2362 de *B. sphaericus*), *B. circulans* était moins toxique pour *C. quinquefasciatus* (concentration létale médiane [CL<sub>50</sub>] de 854 par rapport à 17 947 spores/mL), et pour l'anophèle (*Anopheles gambiae*) (CL<sub>50</sub> de 2 268 par rapport à 14 447 spores/mL). Cependant, lors de tests avec le moustique de la fièvre jaune (*Aedes aegypti*), *B. circulans* s'est avéré 107 fois plus toxique que la souche 2362 de *B. sphaericus* (CL<sub>50</sub> de 13 739 par rapport à  $1,47 \times 10^6$  spores/mL) et aussi pathogène qu'un autre pathogène larvicide *B. thuringiensis* var. *israelensis* (données non indiquées) (Darriet et Hougard 2002).

Singer et coll. (1997) ont aussi étudié les effets toxicologiques de *B. circulans* sur des invertébrés aquatiques. En dépit de faiblesses méthodologiques, cette étude a clairement montré une forte activité molluscicide de la souche 42G1 de *B. circulans* chez la larve véligère au stade D de de la moule zébrée (*Dreissena polymorpha*), comparativement à quatre autres espèces de *Bacillus*, dont deux souches de *Bacillus alvei*. Lors de même étude, *B. circulans* a exhibé une activité biologique considérablement inférieure chez des escargots d'eau douce adultes (*Biomphalaria glabrata*), qui était comparable aux activités de deux souches de *B. alvei* et de la souche unique de *Bacillus brevis* testées.

Une recherche bibliographique exhaustive n'a pas permis de trouver d'autres rapports sur la souche inscrite sur la LIS ni sur d'autres souches de *B. circulans* en association avec des invertébrés aquatiques.

Des effets nocifs de *B. circulans* sur les invertébrés terrestres ont été observés dans le contexte d'études de contrôle biologique.

- Une épreuve expérimentale à laquelle ont été soumises des larves de taupin (*Agriotes lineatus*) au troisième stade larvaire, avec une pomme de terre trempée dans une suspension de la souche Ar1 de *B. circulans* à une concentration de  $1,8 \times 10^9$  UFC en tant que source alimentaire, a provoqué une mortalité de 100 % dans les dix jours (Danismazoglu et coll. 2012). Il a été montré qu'une autre souche de *B. circulans* tuait le plus souvent la larve d'un papillon de la



famille des pyralidés (*Locastra muscosalis*) au quatrième stade larvaire (Sharma et coll. 2006).

- La souche Ar1 de *B. circulans* appliquée à la mineuse des feuilles de noisetier (*Anoplus roboris*) adulte a produit une mortalité de 33 % dans les huit jours (Demir et coll. 2002).
- Une activité nématocide a été observée dans le cadre d'une expérience en serre avec des plants de tomate infestés par *Meloidogyne incognita* (auxquels on avait déjà inoculé 1 000 nématodes J2 vivants par pot). La souche KSB2 de *B. circulans* appliquée à une concentration de  $2 \times 10^8$  UFC par pot a réduit les populations de nématodes de façon significative : 67,4 % moins de juvéniles éclos par racine, 57,1 % moins de femelles par racine et 79,3 % moins de juvéniles par kg de sol ont été observés comparativement aux individus de référence négatifs, 30 jours après l'application de *B. circulans*. D'autres réductions, respectivement de 41,3, 41,25 et 57,8 %, ont été observées à 60 jours après l'inoculation (El-Hadad et coll. 2011).
- Une activité nématocide contre le nématode parasite du mouton, *Haemonchus contortus*, a aussi été observée. L'inoculation d'environ  $2 \times 10^8$  UFC/mL de *B. circulans* dans des matières fécales de mouton infestées a permis de réduire de façon significative le nombre de larves dans les fèces traitées (80,9 %,  $p > 0,05$ ) comparativement à un témoin négatif (Sinott et coll. 2012). De même, lors d'une autre étude, l'administration orale d'une suspension de spores de *B. circulans* à des agneaux infestés par *H. contortus*, à une concentration de  $2 \times 10^9$  UFC/jour pendant une période de 5 jours, a permis de réduire de façon significative (~87 %,  $p < 0,05$ ) le développement des larves chez les animaux traités (Sinott et coll. 2014).

*B. circulans* peut être bénéfique pour les abeilles domestiques. La bactérie a été isolée du miel (Alippi et Reynaldi 2004, Reynaldi et coll. 2004), du pollen recueilli sur les pattes (Gilliam 1979) et du système digestif d'ouvrières saines chez l'abeille domestique (examiné dans Gilliam 1979 et Gilliam 1997), où elle peut jouer un rôle dans la production et la préservation du pollen des abeilles. Elle inhibe aussi la croissance mycélienne d'*Ascosphaera apis*, le champignon qui cause l'ascosphérose chez la larve de l'abeille domestique (examiné dans Reynaldi et coll. 2004). *B. circulans* pourrait nuire indirectement à d'autres espèces d'abeilles. Il a été suggéré que la bactérie pourrait nuire aux populations d'abeilles coupeuses de feuilles de luzerne (*Megachile rotundata*) en raison de son interférence avec le développement de la larve en gâtant les provisions de la cellule-nid (Goerzen 1991).

Des chercheurs d'Environnement et Changement climatique Canada ont étudié des effets chez des collemboles nivicoles. Des collemboles nivicoles (*Folsomia candida*) adultes ont été soumis à des tests avec la souche inscrite sur la LIS (28 jours d'incubation en présence de  $2,45 \times 10^9$  UFC de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* par bocal). Ces tests n'ont pas entraîné de réduction significative du nombre d'adultes qui ont survécu ni du nombre total de juvéniles produits dans chaque unité testée, comparativement à des témoins négatifs (Chitty 2005).

## Vertébrés :

Il existe plusieurs rapports citant l'isolement de *B. circulans* à partir de la flore habituelle du système digestif de différentes espèces de poisson comme le rohu (d'après le résumé de Ghosh et coll. 2002), le tilapia et la carpe herbivore (souches non indiquées) (Saha et coll. 2006), où la bactérie peut avoir un effet probiotique, comme cela a été observé lors des études suivantes sur l'alimentation.

- Un supplément alimentaire pour animaux comportant la souche PB7 de *B. circulans* (isolée de l'intestin de *Catla catla*), à une concentration de  $2 \times 10^5$  cellules par 100 g de nourriture, est à l'origine d'un rendement de croissance significativement supérieur chez des alevins d'un an de *C. catla* en termes de gain de poids vif, de vitesse de croissance spécifique et de rapport d'efficacité des protéines. Les poissons ayant reçu une alimentation avec le supplément de *B. circulans* ont nettement mieux survécu au test avec le pathogène du poisson (*Aeromonas hydrophila*) que les témoins (survie de 96,66 % par rapport à 6,66 %) (Bandyopadhyay et Das Mohapatra 2009).
- Une formulation probiotique (comportant *B. circulans* et deux autres bacilles), bioencapsulée dans *Daphnia magna* offerte à des larves de l'esturgeon (*Acipenser percicus*) a permis de réduire de façon significative l'excrétion d'ammoniac et d'urée, d'augmenter la rétention des protéines et d'améliorer la résistance aux facteurs de stress, dont un pH, une salinité, une température ou une teneur en ammoniac extrême. Comparativement à des témoins, un pourcentage beaucoup plus élevé des poissons traités ont survécu (Faramarzi et coll. 2012b).
- D'autres études ont révélé des effets positifs significatifs chez la carpe (*Cyprinus carpio*) (Jafaryan et coll. 2011), la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) (Jafarian et coll. 2009), la carpe argentée (*Hypophthalmichthys molitrix*) (Adineh et coll. 2011) et la carpe herbivore (*Ctenopharyngodon idella*) (Sahandi et coll. 2012). Aucun effet nocif associé à la consommation de formulations probiotiques n'a été rapporté dans une quelconque de ces études.

Une recherche bibliographique exhaustive n'a pas permis de trouver d'autres rapports sur la souche inscrite sur la LIS ou d'autres souches de *B. circulans* associées à des vertébrés aquatiques.

Lors d'une étude par voie orale, des souris (ICR, mâles et femelles,  $n = 5/\text{sexe}$ ) ont reçu une simple inoculation soit du milieu de culture (groupe témoin) soit de bactéries *B. circulans* vivantes (souche inconnue;  $7,0 \times 10^8$  UFC/animal). Aucune mort, aucun signe clinique ni aucune réduction du poids corporel n'a été signalé durant la période d'observation de 14 jours (examiné dans FSANZ).

Étant donné l'hétérogénéité existant au sein de l'espèce *B. circulans*, on ignore jusqu'à quel point les propriétés observées dans d'autres souches de *B. circulans* se retrouvent dans la souche ATCC 9500 de *B. circulans*. Cependant, la prise en compte de tous les effets attribués à l'espèce permet une compréhension du spectre des caractéristiques

qui pourraient être attribuées à la souche inscrite sur la LIS (tant bénéfiques que nocives).

### 1.1.3.2 Humains

À l'exception de *B. cereus*, les infections causées par *Bacillus* chez les humains sont rares. Ces infections sont diverses et ont tendance à être observées chez des personnes immunodéprimées (Pennington et coll. 1976) ou en association avec des implants médicaux (Banerjee et coll. 1988) ou un traumatisme récent (Logan et coll. 1985). Peu de cas d'infection par *B. circulans* ont été rapportés, la plupart d'entre eux répondant à un traitement antimicrobien.

- Une bactériémie causée par *B. circulans* a été rapportée chez des patients atteints de cancer et qui souffrent de plusieurs problèmes de santé (Banerjee et coll. 1988).
- La souche RIGLD BC1 de *B. circulans* a été isolée du sang dans un cas de bactériémie chez une personne immunodéprimée atteinte de néphropathie en phase terminale. En dépit du traitement antimicrobien, le patient est décédé (Alebouyeh et coll. 2011).
- *B. circulans* a été citée comme cause possible d'infection dans un cas de méningite fatale chez un enfant (Boyette et Rights 1952). Cependant, l'identification de *B. circulans* comme l'agent infectieux n'a pas été complètement validée.
- *B. circulans* a été citée comme agent à l'origine d'infections associées à l'utilisation de sondes à demeure (Berry et coll. 2004, Fontana et coll. 1997, Roncoroni et coll. 1985). Dans d'autres cas, des sondes étaient soupçonnées être la voie d'entrée de *B. circulans* dans les organes du patient, comme dans un cas de cholécystite (Khatib et coll. 1995) et un cas d'infection paracardiaque après une greffe de cellules souches (Gurol et coll. 2007). Une contamination pendant une intervention chirurgicale comportant la greffe d'une valvule cardiaque mécanique a été associée à une endocardite chez un patient ayant des antécédents de remplacement de valvule cardiaque (Krause et coll. 1999).
- *B. circulans* a été isolée comme étant l'agent putatif dans des infections de plaie chez une patiente atteinte d'un carcinome ovarien malin après une hystérectomie abdominale totale (Logan et coll. 1985), dans un cas de cellulite du doigt chez une personne n'ayant pas d'autres problèmes de santé et ayant été mordue par une autre personne (Goudswaard et coll. 1995) et dans un cas d'endocardite chez une personne immunodéprimée (Gatermann et coll. 1991).
- *B. circulans* a été isolée dans au moins 13 cas d'endophtalmie après une chirurgie de la cataracte ou la pose d'un implant intraoculaire dans un hôpital au Canada en 1993 (CDC 1996). Dans la plupart des cas rapportés, les infections ont été attribuées à l'utilisation de solutions contaminées pendant l'intervention chirurgicale. Dans la majorité de ces cas, une vitrectomie a été pratiquée.

Étant donné l'hétérogénéité existant au sein de l'espèce *B. circulans*, on ignore jusqu'à quel point les propriétés observées chez d'autres souches de *B. circulans* se retrouvent

dans la souche ATCC 9500 de *B. circulans*. Cependant, la prise en compte de tous les effets attribués à l'espèce permet une compréhension du spectre des caractéristiques qui pourraient être attribuées à la souche inscrite sur la LIS (tant bénéfiques que nocives).

## **1.2 Gravité du danger**

### **1.2.1 Environnement**

Le danger potentiel de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* pour l'environnement est évalué faible étant donné qu'il n'existe pas de preuve suggérant, en dépit de sa vaste distribution dans l'environnement, que *B. circulans* est pathogène pour des plantes terrestres ou aquatiques ou des vertébrés au niveau de la population dans l'environnement. À l'inverse, il existe des preuves suggérant que *B. circulans* a des effets bénéfiques en tant que probiotique chez des poissons et comme rhizobactérie stimulant la croissance de plantes.

Les renseignements tirés de la littérature scientifique indiquent que certaines autres souches de *B. circulans* pourraient avoir un potentiel pathogène chez des invertébrés aquatiques ou terrestres. Cependant, les effets ont surtout été observés chez des insectes, des mollusques et des nématodes nuisibles traités directement avec des concentrations élevées de *B. circulans* dans le cadre d'études expérimentales sur le potentiel de la bactérie en matière de contrôle biologique.

Bien qu'il existe un manque de données spécifiques sur la pathogénicité/toxicité de la souche inscrite sur la LIS pour les invertébrés, la gravité globale du danger pour l'environnement que représente la souche ATCC 9500 de *B. circulans* est estimée faible étant donné les preuves à l'effet que cette souche ne possède pas de caractéristiques de virulence connues, d'après les études *in vitro* réalisées par des chercheurs de Santé Canada et le fait que la souche inscrite sur la LIS a été rejetée dans l'environnement canadien sans qu'aucun effet nocif n'ait été rapporté.

### **1.2.2 Santé humaine**

Le potentiel de danger pour les humains de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* est évalué faible car, en dépit de sa vaste distribution et de son historique d'utilisation dans les produits commerciaux ou de consommation, seuls quelques cas d'infection causée par *B. circulans* ont été rapportés. De plus, ces cas se limitent à des personnes prédisposées à une infection en raison de leur immunité compromise ou d'une maladie invalidante ou sont principalement associés à la pose d'implants médicaux contaminés ou à des défaillances des pratiques chirurgicales aseptiques. Dans la plupart des cas, un traitement antimicrobien a donné une réponse positive.

Aucune infection humaine n'a été spécifiquement attribuée à la souche ATCC 9500 de *B. circulans* inscrite sur la LIS. Lors de tests réalisés par des chercheurs de Santé Canada, aucune cytotoxicité ni aucune activité hémolytique n'a été observée *in vitro*

pour la souche ATCC 9500 de *B. circulans*. Pour les cas improbables d'infection causée par la souche ATCC 9500 de *B. circulans*, il existe des traitements aux antibiotiques disponibles.

Les dangers liés à l'utilisation des microorganismes en milieu de travail devraient être classés en vertu du Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT)<sup>4</sup>.

## 2. Évaluation de l'exposition

### 2.1 Sources d'exposition

La présente évaluation tient compte de l'exposition à la souche ATCC 9500 de *B. circulans* due à son utilisation dans des produits commerciaux ou de consommation ou à son utilisation dans des procédés industriels au Canada.

La souche ATCC 9500 de *B. circulans* a été inscrite sur la LIS en 1997, car elle a été fabriquée ou importée au Canada à des fins d'utilisation dans des produits commerciaux ou de consommation entre le 1<sup>er</sup> janvier 1984 et le 31 décembre 1986.

Des réponses à un questionnaire facultatif, envoyé en 2007 à un sous-groupe d'entreprises clés de biotechnologie au Canada, combinées à des renseignements obtenus d'autres programmes fédéraux réglementaires ou non réglementaires indiquent que jusqu'à 14 650 kg de produits contenant potentiellement la souche ATCC 9500 de *B. circulans* et que d'autres produits contenant jusqu'à un total de  $1,35 \times 10^{15}$  UFC de cette souche (formulation et concentration inconnues dans les deux cas) ont été importés ou fabriqués au Canada en 2006.

Le gouvernement a procédé à une collecte obligatoire de renseignements en vertu d'un avis publié dans la Partie I de la Gazette du Canada le 3 octobre 2009 en vertu de l'article 71 de la LCPE (avis en vertu de l'article 71). Cet avis en vertu de l'article 71 s'appliquait à toute personne qui, au cours de l'année civile 2008, avait fabriqué ou importé la souche ATCC 9500 de *B. circulans*, seule ou dans un mélange ou un produit. Les réponses ont indiqué qu'environ 153 kg de produits contenant la souche ATCC 9500 de *B. circulans* avaient été importés au Canada en 2008 à des fins commerciales ou de consommation.

La souche ATCC 9500 de *B. circulans* a des propriétés qui lui donnent un intérêt commercial pour diverses utilisations. Une recherche dans le domaine public a permis

---

<sup>4</sup> La détermination de la conformité à un ou plusieurs des critères de l'article 64 de la LCPE est basée sur une évaluation des risques potentiels pour l'environnement et/ou la santé humaine dus à une exposition dans l'environnement en général. Pour les humains, cela inclut, sans toutefois s'y limiter, les expositions dues à l'air, à l'eau et à l'utilisation de produits contenant ces substances. Une conclusion établie en vertu de la LCPE peut ne pas être pertinente pour une évaluation faite en fonction des critères spécifiés dans le le *Règlement sur les produits dangereux* faisant partie du cadre du Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT), ni n'empêche une telle évaluation.

d'identifier les applications commerciales, industrielles et de consommation suivantes pour d'autres souches de *B. circulans* d'origine naturelle.

La bactérie *B. circulans* est principalement utilisée comme organisme pour la production d'une variété d'enzymes (p. ex.  $\beta$ -amylases,  $\beta$ -galactosidase, cellulases, chitinases, cyclodextrine, glucanotransférases, protéases, xylanases et alginase) et de substances chimiques spéciales. En voici des exemples.

- Industries alimentaire, pharmaceutique et des cosmétiques (Comité scientifique de la Commission européenne 1997, Katase et coll. 2012, Napier 1978, CIPO Patent 1025383, Qi et Zimmermann 2005).
- Aquaculture (Saha et coll. 2006).
- Biorestauration et déchets biologiques (Patil et Chaudhari 2013).
- Blanchiment de la pâte à papier (examiné dans Dhillon et Khanna 2000, Dhillon et coll. 2000).
- Biodégradation des plumes et des poils d'animaux (Subba Rao et coll. 2009).
- Traitement du cuir (Subba Rao et coll. 2009).
- Formulations de détergent (Benkiar et coll. 2013).
- Traitement des eaux d'égout et des eaux usées, en particulier pour la souche inscrite sur la LIS (Bianchi et coll. 2009).

En dépit de l'intérêt pour la souche ATCC 9500 de *B. circulans* pour la production d'enzymes alimentaires, aucune enzyme obtenue grâce à cet organisme source n'a encore été approuvée au Canada.

*B. circulans* est aussi utilisée pour la production de composés antimicrobiens (Das et coll. 2008, Dion et coll. 1972, Epanand et Vogel 1999, Fujikawa et coll. 1965, Hayashi et coll. 1968, Murao et coll. 1974, Sogn 1976).

*B. circulans* pourrait potentiellement être utilisée pour coloniser un milieu particulier et jouer un rôle spécifique in situ dans les cas suivants :

- dégradation de composés organiques, dont le fluoranthène et des hydrocarbures chlorés (Kafilzadeh et coll. 2013);
  - lixiviation de minéraux et biosorption de métaux lourds (Dragutinovic et coll. 2012, Groudev 1987, Khanafari et coll. 2008, Pradhan et coll. 2006, Yilmaz 2003);
- composant d'une préparation bactérienne à des fins agricoles (brevet des États-Unis 5733355);
- test de performance de milieux, de colorants, de réactifs et de trousseaux d'identification et évaluation de procédures bactériologiques (Product Sheet A-1 2014);
- organisme de contrôle pour des procédures microbiologiques de diagnostic (Product Sheet A-2 2014);
- digesteur de déchets et produit pour détruire des odeurs à des fins d'utilisation dans des bacs à graisse, des canalisations, des postes de remontée, des fosses

septiques, des toilettes portatives et sur des surfaces odorantes (Product Sheet B 2014);

- restauration de l'eau de bassins (Product Sheet C 2011);
- probiotique dans des aliments pour l'aquaculture (Product Sheet D 2014).

Une augmentation récente du nombre de publications portant sur cet organisme reflète l'intérêt commercial grandissant porté à *B. circulans*.

## **2.2 Caractérisation de l'exposition**

### **2.2.1 Environnement**

En se basant sur les réponses à l'avis émis en vertu de l'article 71, l'exposition à la souche ATCC 9500 de *B. circulans* dans l'environnement devrait être d'un niveau moyen.

L'importance de l'exposition des espèces de l'environnement et de l'écosystème canadien à la souche ATCC 9500 de *B. circulans* dépendra de la nature de son utilisation et de sa persistance et de sa survie dans l'environnement où elle est rejetée.

Il a été montré qu'une concentration de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* de  $\sim 1 \times 10^4$  UFC/g introduite dans un sol chutait à un niveau proche de la limite de détection de  $\sim 1 \times 10^2$  UFC/g de sol, ou à un niveau inférieur à celle-ci, après seulement 25 jours (Providenti et coll. 2009). Il est peu probable que de grandes quantités de cellules végétatives persistent dans l'eau ou le sol en raison de la concurrence pour les éléments nutritifs (Leung et coll. 1995) et de la microbiostase, qui est un effet inhibiteur du sol, entraînant un déclin rapide des populations de bactéries introduites (van Veen et coll. 1997).

Les spores de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* résistent mieux à des conditions défavorables que les cellules végétatives. Dans des conditions de sécheresse, les spores de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* sont susceptibles de persister et de s'accumuler dans l'environnement.

Dans les écosystèmes aquatiques, l'exposition à la souche ATCC 9500 de *B. circulans* devrait être la plus importante pour les organismes vivant à proximité d'une application directe, comme le traitement de l'eau et aux endroits où des effluents d'eaux usées sont rejetés suite au nettoyage ou au dégraissage de canalisations de système de traitement de l'eau. L'importance de l'exposition dépendra du mode d'application, du volume et de la concentration des produits appliqués et de la proximité des espèces aquatiques au point de rejet.

De même, l'exposition des écosystèmes terrestres à la souche ATCC 9500 de *B. circulans* devrait être la plus importante dans l'environnement aux alentours de sites d'application directe, comme ceux de biodégradation ou de biorestoration de contaminants du sol. L'importance de l'exposition dépendra du mode d'application, du

volume et de la concentration des produits appliqués et de la proximité des espèces terrestres au point de rejet. Les spores pourraient être transportées dans l'atmosphère à partir de sols récemment traités avec la souche ATCC 9500 de *B. circulans* et pourraient être inhalées par des espèces de l'environnement, ce qui élargirait la zone où des espèces terrestres pourraient être exposées.

L'exposition due à un rejet de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* par des installations de production d'enzymes est possible, mais elle devrait être limitée en suivant de bons procédés de production. L'exposition d'espèces de l'environnement à des microorganismes sur à un rejet par une installation devrait être limitée.

### **2.2.2 Humains**

En se basant sur la large gamme d'utilisations rapportées lors de l'enquête en vertu de l'article 71, l'exposition des humains à la souche ATCC 9500 de *B. circulans* devrait être d'un niveau moyen.

L'exposition des humains à la souche ATCC 9500 de *B. circulans* devrait être la plus importante lors de l'utilisation directe de produits de consommation contenant des spores ou des cellules viables de cette souche. La manipulation et l'application de tels produits devraient conduire à une exposition directe à des gouttelettes d'aérosol ou des spores en suspension dans l'air par voie cutanée ou par inhalation. L'ingestion fortuite suite à une utilisation près de surfaces de préparation alimentaire, ou près de ces dernières, ou après un contact avec les yeux, constitue une voie d'exposition secondaire possible.

Les humains peuvent également être exposés en tant que tierces personnes pendant l'application commerciale de produits de nettoyage, de traitement de l'eau, de biodégradation ou de produits agricoles. Le degré d'exposition fortuite dépendra du mode d'application, du volume appliqué et de la proximité des tierces personnes au lieu de l'application. En général, l'exposition devrait être faible pour de telles applications.

L'exposition indirecte dans l'environnement à la souche ATCC 9500 de *B. circulans* suite à son utilisation pour le traitement de l'eau et d'eaux usées, la restauration de systèmes d'eau fermés ou à circulation lente, le nettoyage et le dégraissage de canalisations d'égout ou l'élimination de déchets provenant de la production d'enzymes devrait également se produire à proximité de tels sites, mais elle devrait être moins importante que l'exposition directe due à l'utilisation de cet organisme dans des produits de consommation.

Au cas où la souche ATCC 9500 de *B. circulans* entrerait dans les systèmes de traitement de l'eau potable suite à un rejet par des applications prévues ou potentielles, les procédés de traitement de l'eau potable (p. ex., coagulation, floculation, ozonisation, filtration et chloration) devraient éliminer efficacement ces microorganismes et, donc, limiter leur ingestion.



Le rejet de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* par des installations de production d'enzymes ou de produits chimiques pourrait survenir, mais devrait toutefois être limité en suivant de bonnes pratiques de production, dans le cadre desquelles des mesures devraient être prises pour réduire au minimum la probabilité de rejet de microorganismes.

La croissance sur le marché des produits « plus verts » à base de microorganismes peut contribuer à une augmentation de l'exposition humaine à la souche de *B. circulans* inscrite sur la LIS, qui a des applications potentielles dans ces produits.

### **3. Caractérisation des risques**

Dans la présente évaluation, le risque est caractérisé selon un paradigme pour lequel un danger et l'exposition à ce danger sont tous deux requis pour qu'il y ait un risque. La conclusion de l'évaluation des risques est basée sur le danger et sur ce qui est connu de l'exposition due aux utilisations actuelles.

Le danger que représente la souche ATCC 9500 de *B. circulans* a été estimé faible globalement pour l'environnement et pour la santé humaine. L'exposition environnementale et humaine à la souche ATCC 9500 de *B. circulans* est estimée être de niveau moyen, car des produits importés ont été déclarés lors de l'enquête menée en vertu de l'article 71. Néanmoins, en se basant sur l'estimation de faible danger, les risques associés aux niveaux actuels d'exposition à cet organisme sont estimés faibles.

La détermination du risque présenté par des utilisations actuelles est suivie par la prise en compte du danger estimé présenté par de futures expositions prévisibles (découlant de nouvelles utilisations). La souche ATCC 9500 de *B. circulans* a des propriétés utiles qui la rendent intéressante à des fins d'utilisation dans d'autres processus industriels ou des produits commerciaux ou de consommation. Si ces utilisations potentielles à des fins commerciales, industrielles ou de consommation de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* devait se matérialiser, le niveau d'exposition humaine et environnementale à ces souches pourrait augmenter. Toutefois, le risque posé par ces utilisations potentielles envisageables de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* demeure faible étant donné qu'il n'existe pas de preuves d'effets nocifs pour la santé humaine ou l'environnement au niveau de la population pour les espèces y vivant, en dépit des utilisations industrielles, environnementales et commerciales potentielles de la souche ATCC 9500 de *B. circulans*.

### **4. Conclusion**

Compte tenu de tous les éléments de preuve contenus dans la présente évaluation préalable, il est conclu que la souche ATCC 9500 de *B. circulans* ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou concentration ni dans des conditions qui :

- ont ou peuvent avoir un effet nocif immédiat ou à long terme sur l'environnement ou sa diversité biologique;
- constituent ou peuvent constituer un danger pour l'environnement essentiel à la vie;
- constituent ou peuvent constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaine.

Il est conclu que la souche ATCC 9500 de *B. circulans* ne satisfait à aucun des critères de l'article 64 de la LCPE.

## Références

- Abada, E.A., El-Hendawy, H.H., Osman, M.E., et Hafez, M.A. (2014). Antimicrobial activity of *Bacillus circulans* isolated from rhizosphere of *Medicago sativa*. *Life Sci. J.* 11, 641-652.
- ABSA. (2014). American Biological Safety Association: Bacteria Risk Groups. <http://my.absa.org> (examiné en octobre 2014).
- ACIA (2014). Base de données sur les maladies d'animaux aquatiques. <http://www.inspection.gc.ca/animaux/animaux-aquatiques/maladies/fra/1299156296625/1320599059508> (consultée en novembre 2014).
- Adineh, H., Jafaryan, H., Faramarzi, M., et Lashkar, M. (2011). The effects of mixture commercial live bakers' yeast and probiotic bacillus on growth and feeding performance and survival rate of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) larvae via bioencapsulated *Artemia urmiana* nauplii. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation International Journal of the Bioflux Society (AACL Bioflux)*. 4(3), 430-436.
- Alebouyeh, M., Gooran, O.P., Azimi-Rad, M., Tajbakhsh, M., Tajeddin, E., Jahani, S.S., Nazemalhosseini, M.E., et Zali, M.R. (2011). Fatal sepsis by *Bacillus circulans* in an immunocompromised patient. *Iran. J. Microbiol.* 3, 156-158.
- Alippi, A.M., et Reynaldi, F.J. (2006). Inhibition of the growth of *Paenibacillus* larvae the causal agent of American Foulbrood of honey bees by selected strains of aerobic spore forming bacteria isolated from apiarian sources. *J. Invertebr. Pathol.* 91, 141-146.
- ATCC. (2014). American Type Culture Collection. Renseignements généraux sur la souche ATCC 9500 de *Bacillus circulans*. <http://www.atcc.org/products/all/9500.aspx#generalinformation> (consulté en décembre 2014).
- Australian Food News. (2011). Product Recall : bacterial spoilage (*Bacillus circulans*) of Devondale brand UHT skim milk (2 litre Tetra Brick pack with a best before date of 05 June 2012-13 and a time code of between 6:08 and 7:08). <http://ausfoodnews.com.au/2011/10/31/spilt-milk.html> (consulté en juillet 2014).
- Bairagi, A., Ghosh, K.S., Sen, S.K., et Ray, A.K. (2004). Evaluation of the nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal, inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. *Aquacult. Res.* 35, 436-446.
- Bandyopadhyay, P., et Das Mohapatra, P.K. (2009). Effect of a probiotic bacterium *Bacillus circulans* PB7 in the formulated diets: on growth, nutritional quality and immunity of *Catla catla* (Ham.). *Fish Physiol. Biochem.* 35, 467-478.

Banerjee, C., Bustamante, C.I., Wharton, R., Talley, E., et Wade, J.C. (1988). Bacillus infections in patients with cancer. Arch. Intern. Med. 148, 1769-1774.

BCCM. (2013). Belgium Co-ordinated Collections of Micro-organisms. Strain Details for Bacillus circulans LMG 14421. <http://bccm.belspo.be/catalogues/lmg-search-results?FIRSTITEM=1&LIST1=STRNUM&TEXT1=14421&FIRSTITEM=1&LIST2=ALL+FIELDS&TEXT2=&FIRSTITEM=1&LIST3=STRNUM&TEXT3=&FIRSTITEM=1&LIST4=STRNUM&TEXT4=&FIRSTITEM=1&LIST5=STRNUM&TEXT5=&CONJ=OR&RANGE=20&B3=Run+Query> (consulté en avril 2014).

Beattie, S., et Williams, A. (1999). Detection of toxigenic strains of Bacillus cereus and other Bacillus spp. with an improved cytotoxicity assay. Lett. Appl. Microbiol. 28, 221-225.

Benkiar, A., Nadia, Z.J., Badis, A., Rebzani, F., Soraya, B.T., Rekik, H., Naili, B., Ferradji, F.Z., Bejar, S., et Jaouadi, B. (2013). Biochemical and molecular characterization of a thermo- and detergent-stable alkaline serine keratinolytic protease from Bacillus circulans strain DZ100 for detergent formulations and feather-biodegradation process. Int. Biodeterior. Biodegrad. 83, 129-138.

Berg, G., Roskot, N., Steidle, A., Eberl, L., Zock, A., et Smalla, K. (2002). Plant-dependent genotypic and phenotypic diversity of antagonistic rhizobacteria isolated from different Verticillium host plants. Appl. Environ. Microbiol. 68, 3328-3338.

Berry, N., Hassan, I., Majumdar, S., Vardhan, A., McEwen, A., et Gokal, R. (2004). Bacillus circulans peritonitis in a patient treated with CAPD. Peritoneal Dial. Int. 24, 488-489.

Bianchi, G., Benedusi, M., et Altheimer, S. (2009). Product for the Treatment of Wastewaters and Sewage. Brevet américain 2009/0017524 A1.

Boulenouar, N., Al-Quadani, F., et Akel, H. (2006) Effect of various combinations of growth temperature, pH and NaCl on intracellular activities of G6PDH and 6PGDH from four Bacillus strains isolated from Jordanian hot springs. J.Biol. Sciences 6(3), 586-590.

Boyette, D.P., et Rights, F.L. (1952). Heretofore undescribed aerobic spore forming Bacillus in child with meningitis. J. Am. Med. Assoc. 148, 1223-1224.

Castagnola, E., Conte, M., Venzano, P., Garaventa, A., Viscoli, C., Barretta, M. A., Pescetto, L., Tasso, L., Nantron, M., Milanaccio, C., et Giacchino, R. (1997). Broviac catheter-related bacteraemias due to unusual pathogens in children with cancer: case reports with literature review. Journal of Infection, 34(3), 215-218.

CDC. (1996). Outbreaks of Postoperative Bacterial Endophthalmitis Caused by Intrinsically Contaminated Ophthalmic Solutions -- Thaïlande, 1992, et Canada, 1993. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00042645.htm> (consulté en juin 2014).

Chitty, D. (2005). An Assessment of the Pathogenicity and/or Toxicity of *Bacillus licheniformis*, *B. megaterium*, *B. amyloliquefaciens*, *B. polymyxa*, *Peanibacillus polymyxa*, *B. circulans*, and *B. subtilis* on Terrestrial Organisms in Soil. Document préparé pour la Division des méthodes biologiques, Centre de technologie environnementale, Environnement Canada. Non publié 1-25.

CLSI. (2010). Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; Approved Guideline - Second Edition. Document CLSI M45-A2. Wayne, PA, Clinical and Laboratory Standard Institute.

Comité scientifique de la Commission européenne. (1997). Opinion on beta-cyclodextrin manufactured by the action of the enzyme cycloglycosyltransferase obtained from *Bacillus circulans* on partially hydrolysed starch. [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf\\_reports\\_41.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_41.pdf) (document consulté en juillet 2014).

Danismazoglu, M., Demir, İ., Sevim, A., Demirbag, Z., et Nalcacioglu, R. (2012). An investigation on the bacterial flora of *Agriotes lineatus* (Coleoptera: Elateridae) and pathogenicity of the flora members. *Crop Protection* 40, 1-7.

Darriet, F., et Hougard, J.M. (2002). An isolate of *Bacillus circulans* toxic to mosquito larvae. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 18, 65-67.

Das, P., Mukherjee, S., et Sen, R. (2008). Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans*. *J. Appl. Microbiol.* 104, 1675-1684. 28 ref.

Demir, I., Sezen, K., et Demirbag, Z. (2002). The first study on bacterial flora and biological control agent of *Anoplus roboris* (Suf., Coleoptera). *Journal of Microbiology-Seoul-* 40, 104-108.

Dhillon, A., et Khanna, S. (2000). Production of a thermostable alkali-tolerant xylanase from *Bacillus circulans* AB 16 grown on wheat straw. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 16, 325-327.

Dhillon, A., Gupta, J., et Khanna, S. (2000). Enhanced production, purification and characterisation of a novel cellulase-poor thermostable, alkalitolerant xylanase from *Bacillus circulans* AB 16. *Process Biochemistry* 35, 849-856.

Dion, H.W., Woo, P.W., Willmer, N.E., Kern, D.L., Onaga, J., et Fusari, S.A. (1972). Butirosin, a new aminoglycosidic antibiotic complex: isolation and characterization. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2, 84-88.

Dragutinovic, V., Vrvic, M.M., Swiecicka, I., Cvetkovic, O., Beric, T., et Stankovic, S. (2012). Characterisation of new *Bacillus circulans* strain isolated from Oil shale. *Food Technol. Biotechnol.* 50, 123-127.

EFSA. (2008). Technical guidance: Update of the criteria used in the assessment of bacterial resistance to antibiotics of human or veterinary importance. EFSA J. 732, 1-15.

El-Hadad, M., Mustafa, M., Selim, S.M., El-Tayeb, T., Mahgoob, A., et Aziz, N.H.A. (2011). The nematicidal effect of some bacterial biofertilizers on *Meloidogyne incognita* in sandy soil. Brazilian J. Microbiol. 42, 105-113.

Epand, R.M., et Vogel, H.J. (1999). Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action. Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes 1462, 11-28.

Faramarzi, M., Jafaryan, H., Roozbehfar, R., Jafari, M., et Biria, M. (2012 b). Influences of probiotic bacilli on ammonia and urea excretion in two conditions of starvation and satiation in Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) larvae. Global Veterinaria 8, 185-189. 40 ref.

Faramarzi, M., Jafaryan, H., Roozbehfar, R., Jafari, M., Rashidi, Y., et Biria, M. (2012a). Influences of probiotic bacilli via bioencapsulated *Daphnia magna* on resistance of Persian Sturgeon larvae against challenge tests. Global Veterinaria 8, 421-425. 22 ref.

Fontana, R., Ligozzi, M., Pedrotti, C., Padovani, E.M., et Cornaglia, G. (1997). Vancomycin-resistant *Bacillus circulans* carrying the *vanA* gene responsible for vancomycin resistance in enterococci (1). European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 16, 473-474.

FSANZ. (2009). Document à l'appui n°1. Risk and Technical Assessment Report. Beta-Galactosidase Derived from *Bacillus circulans* as A Processing Aid. [https://www.google.ca/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0CB0QFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.foodstandards.gov.au%2Fcode%2Fapplications%2Fdocuments%2FA1032\\_%2520AppR\\_SD1%2520.pdf&ei=S2aEVNqWENGsyAT0poKAAQ&usq=AFQjCNFL1ZbKXuGGY4UQ1G8BmkHn2UIAbg&bvm=bv.80642063,d.aWw](https://www.google.ca/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0CB0QFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.foodstandards.gov.au%2Fcode%2Fapplications%2Fdocuments%2FA1032_%2520AppR_SD1%2520.pdf&ei=S2aEVNqWENGsyAT0poKAAQ&usq=AFQjCNFL1ZbKXuGGY4UQ1G8BmkHn2UIAbg&bvm=bv.80642063,d.aWw) (document consulté en décembre 2014).

Fujikawa, K., Suketa, Y., Hayashi, K., et Suzuki, T. (1965). Chemical structure of circulin A. Cellular and Molecular Life Sciences 21, 307-308.

Fuller, W.H., et Norman, A.G. (1943). Cellulose Decomposition by Aerobic Mesophilic Bacteria from Soil: I. Isolation and Description of Organisms. J. Bacteriol. 46, 273-280.

Gatermann, S., Hollandt, H., Marre, R., Mitusch, R., et Djonalgic, H. (1991). Endocarditis caused by *Bacillus circulans*. Infection 19, 445-445.

Ghosh, K., Sen, S.K., et Ray, A.K. (2002). Characterization of Bacilli isolated from the gut of Rohu, *Labeo rohita*, fingerlings and its significance in digestion. Journal of Applied Aquaculture. 12, 33-42.

Ghosh, U., Subhashini, P., Dilipan, E., Raja, S., Thangaradjou, T., et Kannan, L. (2012). Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from seagrass rhizosphere soil. *J. Ocean Univ. China* 11, 86-92.

Gillespie, S.H., et Hawkey, P.M. (2006). *Principles and practice of clinical bacteriology*, Wiley Online Library.

Gilliam, M. (1979). Microbiology of pollen and bee bread: the genus *Bacillus*. *Apidologie* 10(3), 269-274.

Gilliam, M. (1997). Mini Review. Identification and roles of non-pathogenic micro-flora associated with honey bees. *FEMS Microbiol. Lett.* 155, 1-10.

Goerzen, D.W. (1991). Microflora associated with the alfalfa leafcutting bee, *Megachile rotundata* (Fab.) (Hymenoptera: Megachilidae) in Saskatchewan, Canada. *Apidologie* 22, 553-561.

Goudswaard, W., Dammer, M., et Hol, C. (1995). *Bacillus circulans* infection of a proximal interphalangeal joint after a clenched-fist injury caused by human teeth. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 14, 1015-1016.

Groudev, S. (1987). Use of heterotrophic micro-organisms in mineral biotechnology. *Acta Biotechnol.* 7, 299-306.

Gurul, Y., Kipritci, Z., Selcuk, N., Koc, Y., et Kocagoz, S. (2007). *Bacillus circulans* Paracardiac Infection in Non-Hodgkin Lymphoma-. *Prague Medical Report* 108, 19-22.

Hardy, A., Christmann, D., Feger, J.M., Pasquali, J.L., et Storck, D. (1986). État septique après artériographie. Du rôle d'un germe réputé non pathogène : *Bacillus licheniformis*. *Médecine Et Maladies Infectieuses* 16, 37-38.

Hayashi, K., Suketa, Y., et Suzuki, T. (1968). Chemical structure of circulin B. *Cellular and Molecular Life Sciences* 24, 656-657.

Herbert, C.J., Giles, I.G., et Akhtar, M. (1983). The sequence of an antibiotic resistance gene from an antibiotic-producing bacterium. Homologies with transposon genes. *FEBS Lett.* 160, 67-71.

Hibino, S. et Minami, Z. (1998). Bacterial preparation for agricultural use. Brevet américain 5733355.

Idris, H.A., Labuschagne, N., et Korsten, L. (2007). Screening rhizobacteria for biological control of *Fusarium* root and crown rot of sorghum in Ethiopia. *Biological Control* 40, 97-106.

- Jafarian, H.A., Taati, K.M., et Nazarpour, A.R. (2009). The study effect of probiotic bacillus on growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae via supplementation with meal of *Daphnia magna*. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 16, 39-47.
- Jafaryan, H., Taati, M.M., et Jafarzadeh, M. (2011). The enhancement of growth parameters in common carp (*Cyprinus carpio*) larvae using probiotic in rearing tanks and feeding by various *Artemia nauplii*. *AAFL Bioflux* 4, 511-518.
- Kafilzadeh, F., Amiri, P., Jahromi, A.R., et Mojoodi, N. (2013). Isolation and molecular identification of fluoranthene degrading bacteria from the mangrove sediments in South of Iran. *International Journal of Biosciences (IJB)* 3, 60-67.
- Katase, T., Hoshi, Y., Nagaya, M., Yamaguchi, S., Minoda, M., et Nakanishi, K. (2012). Beta-galactosidase derived from *Bacillus circulans*. *Brevet américain* 20120135468 A1.
- Kaynar, P., et Beyatli, Y. (2009). Determination of poly- beta -hydroxybutyrate production by *Bacillus* spp. isolated from the intestines of various fishes. *Fisheries Science* 75, 439-443.
- Khanafari, A., Eshghdoost, S., et Mashinchian, A. (2008). Removal of lead and chromium from aqueous solution by *Bacillus circulans* biofilm. *Iran. J. Environ. Health Sci. Eng.* 5, 195-200.
- Khatib, G., Dunan, M.O., et Pissas, A. (1995). Cholécystite à *Bacillus circulans*. *Médecine Et Maladies Infectieuses* 25, 1167-1168.
- Kim, H.S., Lee, D.W., Woo, S.D., Yu, Y.M., et Kang, S.K. (1998). Biological, immunological, and genetic analysis of *Bacillus thuringiensis* isolated from granary in Korea. *Curr. Microbiol.* 37, 52-57.
- Komoto, A., Hanaki, K.-., Maenosono, S., Wakano, J.Y., Yamaguchi, Y., et Yamamoto, K. (2003). Growth dynamics of *Bacillus circulans* colony. *J. Theor. Biol.* 225, 91-97.
- Krause, A., Gould, F.K., et Forty, J. (1999). Prosthetic heart valve endocarditis caused by *Bacillus circulans*. *J. Infect.* 39, 160-162.
- Krčméry Jr, V., et Sefton, A. (2000). Vancomycin resistance in Gram-positive bacteria other than *Enterococcus* spp. *Int. J. Antimicrob. Agents* 14, 99-105.
- Leary, J., et Chun, W. (1989). Pathogenicity of *Bacillus circulans* to seedlings of date palm (*Phoenix dactylifera*). *Plant Disease (É.-U.)*
- Leary, J.V., Nelson, N., Tisserat, B., et Allingham, E.A. (1986). Isolation of Pathogenic *Bacillus circulans* from Callus Cultures and Healthy Offshoots of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Appl. Environ. Microbiol.* 52, 1173-1176.



- Leifert, C., Waites, W., et Nicholas, J. (1989). Bacterial contaminants of micropropagated plant cultures. *J. Appl. Bacteriol.* 67, 353-361.
- Leung, K., Trevors, J.T., et Lee, H. (1995). Survival of and lacZ expression recombinant *Pseudomonas* strains introduced into river water microcosms. *Can. J. Microbiol.* 41, 461-469.
- Ligozzi, M., Cascio, G. L., et Fontana, R. (1998). vanA gene cluster in a vancomycin-resistant clinical isolate of *Bacillus circulans*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 42(8), 2055-2059.
- Logan, N.A., et de Vos, P. (2009). Genus I : *Bacillus*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2<sup>nd</sup> ed. Volume Three, The Firmicutes. De Vos, P., dir. de publ., (New York : Springer) p. 21-128.
- Logan, N.A., Old, D.C., et Dick, H.M. (1985). Isolation of *Bacillus circulans* from a wound infection. *J. Clin. Pathol.* 38, 838-839.
- Luna, V.A., King, D.S., Peak, K.K., Reeves, F., HeberleinLarson, L., Veguilla, W., Heller, L., Duncan, K.E., Cannons, A.C., Amuso, P., et Cattani, J. (2006). *Bacillus anthracis* virulent plasmid pX02 genes found in large plasmids of two other *Bacillus* species. *J. Clin. Microbiol.* 44, 2367-2377.
- Megahed, A.A., El-Dougdoug, K.A., Othman, B.A., Lashin, S.M., Ibrahim, M.A., et Sofy, A.R. (2013). Induction of resistance in tomato plants against Tomato mosaic tobamovirus using beneficial microbial isolates. *Pak. J. Biol. Sci.* 16, 385-390.
- Mehta, P., Chauhan, A., Mahajan, R., Mahajan, P., et Shirkot, C. (2010). Strain of *Bacillus circulans* isolated from apple rhizosphere showing plant growth promoting potential. *Curr. Sci.* 98(4), 538-542.
- Mehta, P., Walia, A., Kulshrestha, S., Chauhan, A., et Shirkot, C.K. (2014). Efficiency of plant growth-promoting P-solubilizing *Bacillus circulans* CB7 for enhancement of tomato growth under net house conditions. *J. Basic Microbiol.* 53, 1-12.
- Mikkola, R., Kolari, M., Andersson, M.A., Helin, J., et Salkinoja-Salonen, M.S. (2000). Toxic lactonic lipopeptide from food poisoning isolates of *Bacillus licheniformis*. *Eur. J. Biochem.* 267, 4068-4074.
- Mukhopadhyay, J., Braig, H.R., Rowton, E.D., et Ghosh, K. (2012). Naturally occurring culturable aerobic gut flora of adult *Phlebotomus papatasi*, vector of *Leishmania major* in the old world. *PLoS ONE* 7 (5), 1-10.
- Murao, S., Meyers, E., et Parker, W.L. (1974). Antibiotic EM-49. Brevet américain 3856938.

Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., et Pfaller, M.A. (1995). *Bacillus*. Dans *Manual of Clinical Microbiology*. ASM., 349-356.

Nakamura, L., et Swezey, J. (1983 [a]). Taxonomy of *Bacillus circulans* Jordan 1890: base composition and reassociation of deoxyribonucleic acid. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 33, 46-52.

Nakamura, L.K., et Swezey, J. (1983 [b]). Deoxyribonucleic acid relatedness of *Bacillus circulans* Jordan 1890 strains. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 33, 703-708.

Napier, E.J. (1978). Beta-amylase from *Bacillus circulans*. CIPO 1025383

NCBI Nucleotide. (1999). *Bacillus circulans* strain IAMI12462 DNA for 16S ribosomal RNA partial sequence. GenBank : D78312.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/D78312> (document consulté en mai 2014).

NCBI Nucleotide. (2012). *Bacillus circulans* gene for 16S rRNA, partial sequence, strain NBRC 13640. GenBank : AB680477.  
[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/359803329?report=genbank&log\\$=nucltop&blast\\_rank=1&RID=P7NPSBZ801R](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/359803329?report=genbank&log$=nucltop&blast_rank=1&RID=P7NPSBZ801R) (document consulté en mai 2014).

Patil, U., et Chaudhari, A. (2013). Production of Alkaline Protease by Solvent-Tolerant Alkaliphilic *Bacillus circulans* MTCC 7942 Isolated from Hydrocarbon Contaminated Habitat: Process Parameters Optimization. *International Scholarly Research Notices Biochemistry*, 2013, 1-10. Le volume et l'année ont le même nombre!

Pennington, J.E., Gibbons, N.D., Strobeck, J.E., Simpson, G.L., et Myerowitz, R.L. (1976). *Bacillus* species infection in patients with hematologic neoplasia. *J Am Med Assoc* 235, 1473-1474.

Phelps, R.J., et McKillip, J.L. (2002). Enterotoxin production in natural isolates of *Bacillaceae* outside the *Bacillus cereus* group. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 3147-3151.

Pradhan, N., Das, B., Gahan, C.S., Kar, R.N., et Sukla, L.B. (2006). Beneficiation of iron ore slime using *Aspergillus niger* and *Bacillus circulans*. *Bioresour. Technol.* 97, 1876-1879.

Product Sheet A-1. (2014). Thermo Fisher Scientific Inc. Thermo Scientific™ Remel™ *Bacillus circulans* ATCC® 61™, Culti-Loops™.  
<https://www.fishersci.com/shop/products/thermo-scientific-remel-bacillus-circulans-atcc-61-culti-loops/r4601216#?keyword=Thermo+Fisher+Scientific+Inc.Thermo+Scientific%26trade%3B+Remel%26trade%3B+Bacillus+circulans+ATCC%26reg%3B+61%26trade%3B%2C+Culti-Loops%26trade%3B> (document consulté en juillet 2014).

Product Sheet A-2. (2014). HARDY Diagnostics. *Bacillus circulans*, ATCC® 4516™, Lyfo Disk® (6 pellets per glass vial), ATCC Licensed Derivative®, by Microbiologics® [https://catalog.hardydiagnostics.com/cp\\_prod/product/05071-bacillus-circulans-atcc-4516-lyfo-disk-6-pellets-per-glass-vial-atcc-licensed-derivative-by-microbiologics-control-organisms---individuals](https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/product/05071-bacillus-circulans-atcc-4516-lyfo-disk-6-pellets-per-glass-vial-atcc-licensed-derivative-by-microbiologics-control-organisms---individuals) (consulté en juillet 2014).

Product Sheet B. (2014). Pro Chem Inc. : Liquid Bacterial Mixture (Alive Plus #2429) [http://procheminc.com/proddocs/ALIVE\\_PLUS\(12\).pdf](http://procheminc.com/proddocs/ALIVE_PLUS(12).pdf) (document consulté en juillet 2014).

Product Sheet C. (2011). AGRO-VET (INDIA) PVT.LTD: Bacterial Mixture (PROBAC-BC). <http://www.sdcaagrovet.com/probac-bc.html> (document consulté en juillet 2014).

Product Sheet D. (2014). BioZ Technologies : bacterial mixture used indifferent products intended as feed probiotics (aquaculture) or for maintenance of aquaculture ponds. [http://bioztech.com/Additional/AboutUs\\_probiotics\\_aquaculture\\_shrimpfarming\\_organic.html](http://bioztech.com/Additional/AboutUs_probiotics_aquaculture_shrimpfarming_organic.html) (document consulté en juillet 2014).

Providenti, M.A., Begin, M., Hynes, S., Lamarche, C., Chitty, D., Hahn, J., Beaudette, L.A., Scroggins, R., et Smith, M.L. (2009). Identification and application of AFLP-derived genetic markers for quantitative PCR-based tracking of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. released in soil. *Can. J. Microbiol.* 55, 1166-1175.

Qi, Q., et Zimmermann, W. (2005). Cyclodextrin glucanotransferase: From gene to applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66, 475-485.

Rasko, D.A., Altherr, M.R., Han, C.S., et Ravel, J. (2005). Genomics of the *Bacillus cereus* group of organisms. *FEMS Microbiol. Rev.* 29, 303-329.

Reynaldi, F.J., De Giusti, M.R., et Alippi, A.M. (2004). Inhibition of the growth of *Ascosphaera apis* by *Bacillus* and *Paenibacillus* strains isolated from honey. *Rev. Argent. Microbiol.* 36, 52-55.

Roncoroni, A., Rivas, M., Smayevsky, J., Bianchini, H., et Zucarro, G. (1985). Infection of a cerebrospinal fluid shunt system by *Bacillus circulans* and *Bacillus larvae*. *Rev. Argent. Microbiol.* 17, 157-163.

Rowan, N.J., Deans, K., Anderson, J.G., Gemmell, C.G., Hunter, I.S., et Chaithong, T. (2001). Putative virulence factor expression by clinical and food isolates of *Bacillus* spp. after growth in reconstituted infant milk formulae. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 3873-3881.

Ryu, J.H., et Beuchat, L.R. (2005). Biofilm formation and sporulation by *Bacillus cereus* on a stainless steel surface and subsequent resistance of vegetative cells and spores to

chlorine, chlorine dioxide, and a peroxyacetic acid-based sanitizer. *J. Food Prot.* 68, 2614-2622.

Saha, S., Roy, R.N., Sen, S.K., et Ray, A.K. (2006). Characterization of cellulase-producing bacteria from the digestive tract of tilapia, *Oreochromis mossambica* (Peters) and grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes). *Aquacult. Res.* 37, 380-388.

Sahandi, J., Jafariyan, H., Dehghan, M., Adineh, H., et Shohreh, P. (2012). Direct inoculation of *Bacillus* to rearing fish tanks effect on growth performance of two carp species fed with *Artemia* sp. *World Applied Sciences Journal* 20, 687-690. 20 ref.

Seiler, H., Wenning, M., Schmidt, V., et Scherer, S. (2013). *Bacillus gottheilii* sp. nov., isolated from a pharmaceutical manufacturing site. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63, 867-872.

Seligy, V.L. et Rancourt, J.M. (1999). Antibiotic MIC/MBC analysis of *Bacillus*-based commercial insecticides: use of bioreduction and DNA-based assays. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 22, 565-574.

Serraino, A., Giacometti, F., Piva, S., Florio, D., Pizzamiglio, V., et Zanoni, R.G. (2011). Isolation of glucosidase and phospholipase positive *Bacillus circulans* on ALOA medium. *Lett. Appl. Microbiol.* 53, 244-246.

Sharma, A., Verma, T., et Shirkot, C. (2006). *Bacillus circulans* a Promising Biocontrol Agent of *Locastra muscosalis* a Defoliating Pest. *Indian For.* 132, 1185-1188.

Shida, O., Takagi, H., Kadowaki, K., Nakamura, L.K., et Komagata, K. (1997). Transfer of *Bacillus alginolyticus*, *Bacillus chondroitinus*, *Bacillus curdlanolyticus*, *Bacillus glucoanolyticus*, *Bacillus kobensis*, and *Bacillus thiaminolyticus* to the genus *Paenibacillus* and emended description of the genus *Paenibacillus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47, 289-298.

Singer, S., Van Fleet, A., Viel, J., et Genevese, E. (1997). Biological control of the zebra mussel *Dreissena polymorpha* and the snail *Biomphalaria glabrata*, using Gramicidin S and D and molluscicidal strains of *Bacillus*. *J. Ind. Microbiol and Biotech.* 18, 226-231.

Singh, S., et Kapoor, K. (1999). Inoculation with phosphate-solubilizing micro-organisms and a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biol. Fertility Soils* 28, 139-144.

Sinott, M., de Castro, L., Leite, F., Gallina, T., De-Souza, M., Santos, D., et Leite, F. (2014). Larvicidal activity of *Bacillus circulans* against the gastrointestinal nematode *Haemonchus contortus* in sheep. *J. Helminthol.* 1-6.

Sinott, M.C., Cunha Filho, N.A., Castro, L.L.D., Lorenzon, L.B., Pinto, N.B., Capella, G.A., et Leite, F.P.L. (2012). *Bacillus* spp. toxicity against *Haemonchus contortus* larvae in sheep fecal cultures. *Exp. Parasitol.* 132, 103-108.

Sogn, J.A. (1976). Structure of the peptide antibiotic polypeptin. *J. Med. Chem.* 19, 1228-1231.

Somashekar, D., et Joseph, R. (1996). Chitosanases—properties and applications: a review. *Bioresour. Technol.* 55, 35-45.

Storm, D.R., Rosenthal, K.S., et Swanson, P.E. (1977). Polymyxin and related peptide antibiotics. *Annu. Rev. Biochem.* 46, 723-763.

Su, X., Yan, C., Bing, L., et Yiyin, S. (2010). Identification of bacteria from uncooked ark shells by using sherlock microbial identification system and 16S rRNA sequence analysis. *J. Food Safety.* 30, 785-792.

Subba Rao, C., Sathish, T., Ravichandra, P., et Prakasham, R.S. (2009). Characterization of thermo- and detergent stable serine protease from isolated *Bacillus circulans* and evaluation of eco-friendly applications. *Process Biochemistry* 44, 262-268.

Tanaka, H., et Watanabe, T. (1995). Glucanases and chitinases of *Bacillus circulans* WL-12. *J. Ind. Microbiol.* 14, 478-483.

Todar, K. (2012). *Todar's Online Textbook of Bacteriology* (document consulté en avril 2015).

Trick, I., et Lingens, F. (1985). Aerobic spore-forming bacteria as detrimental infectants in plant tissue cultures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 21, 245-249.

U.S Food and Drug Administration. (2009). Safety Alert: Recall of Nuby Gel Filled, Cottontails, and Playschool Teethers due to contamination by *Bacillus circulans*. <http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/ucm172712.htm> (document consulté en juillet 2014).

Van Veen, J.A., Van Overbeek, L.S., et Van Elsas, J.D. (1997). Fate and activity of micro-organisms introduced into soil. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61, 121-135.

Yano, A., Suzuki, K., Uchimiya, H., et Shinshi, H. (1998). Induction of hypersensitive cell death by a fungal protein in cultures of tobacco cells. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 11, 115-123.

Yilmaz, E.I. (2003). Metal tolerance and biosorption capacity of *Bacillus circulans* strain EB1. *Res. Microbiol.* 154, 409-415.

## Annexes

### Annexe A : Croissance de la souche ATCC 9500 de *Bacillus circulans* à différentes températures

Tableau 0-1 : Croissance de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* à différentes températures dans un milieu liquide après 24 heures

Milieu	28 °C	32 °C	37 °C (croissance optimale)	42 °C
BST	+	+	+	~
Sérum de veau fœtal à 10 % (SVF)	x	~	~	x
SVF à 100 %	x	x	x	x
DMEM (Dulbecco's modified eagle's medium) avec SVF et Glutamine	x	x	±	x

+ = densité optique (DO) > 0,2; ~ = DO < 0,2; ± = DO < 0,1; x = DO < 0,05

Tableau 0-2 : Taille (en mm) des colonies de la souche ATCC 9500 de *B. circulans* sur des plaques de gélose de soja tryptique (GST) après 24 et 48 heures

Période d'incubation	28 °C	30 °C	32 °C	37 °C	42 °C
24 h	1,5	0,1	1,5	2	2
48 h	3	0,5	2	5	4

## Annexe B : Caractéristiques de la souche ATCC 9500 de *Bacillus circulans* – Analyse des esters méthyliques d’acides gras (EMAG)

Tableau B-1 : Identification MIDI\* de la souche ATCC 9500 de *B. Circulans*

Bases de données	Indice de similarité du profil d’acides gras	Meilleure correspondance
Environnement	0,400 (8/8)	<i>Bacillus circulans</i> GC, sous-groupe A
Clinique	0,391 (6/9)	<i>Bacillus circulans</i> GC, sous-groupe A
	0,494 (3/9)	<i>Bacillus megaterium</i>

\* Les données générées par la Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs de Santé Canada donnent la meilleure correspondance entre l’échantillon et les bases de données MIDI environnementales et cliniques et l’indice de similarité du profil d’acides gras (moyenne de l’ensemble des correspondances) ainsi que le nombre de correspondances (nombre de correspondances/nombre total de tests entre parenthèses). Pour obtenir les méthodes et des détails supplémentaires, consultez le site [www.midilabs.com/fatty-acid-analysis](http://www.midilabs.com/fatty-acid-analysis). En règle générale, les échantillons qui se regroupent au sein d’une distance euclidienne de 2,5, 6 et 10 sont ceux qui proviennent respectivement de la même souche, de la même sous-espèce et de la même espèce.

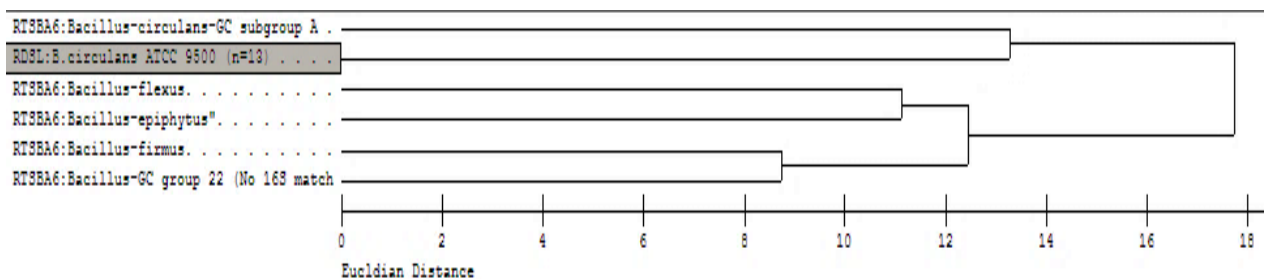
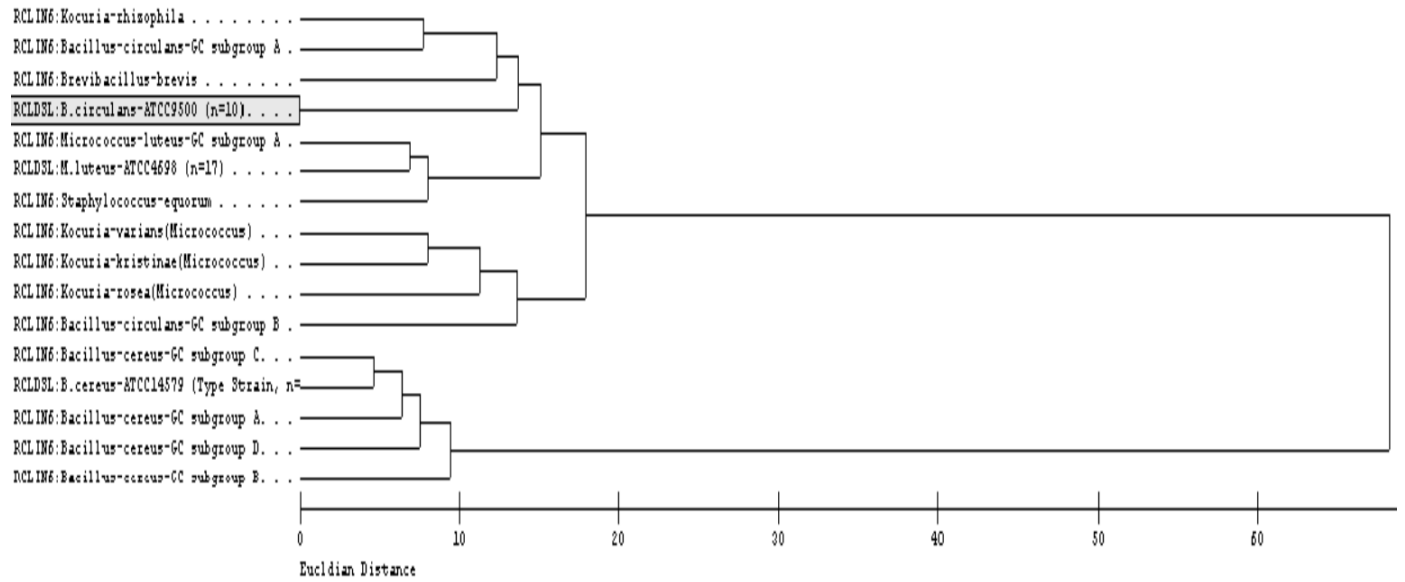
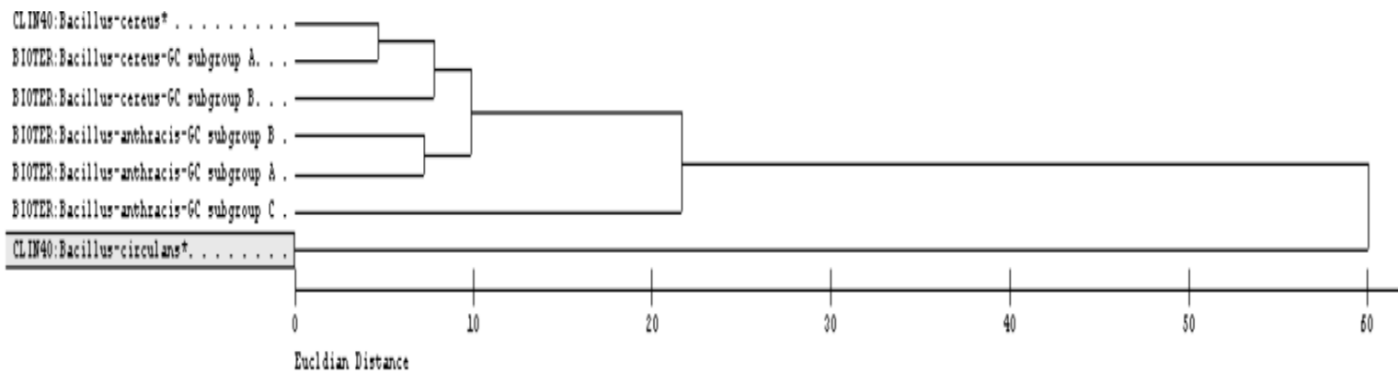


Figure B-1 : Liens dans la base de données environnementale pour la souche ATCC 9500 de *Bacillus circulans*



**Figure B-2 : Liens dans la base de données clinique pour la souche ATCC 9500 de Bacillus circulans**



**Figure B-3 : Liens dans la base de données sur le bioterrorisme pour Bacillus circulans**



## Annexe C : Analyse séquentielle génique de l'ARNr 16S de la souche de *Bacillus circulans* inscrite sur la LIS

Tableau C-1 : Correspondances pour la souche ATCC 9500 de *B. circulans* en ce qui concerne les séquences dans la banque complète de données relatives aux gènes de Microseq® v2.0<sup>1</sup>

Correspondance (%)	Entrée de séquence
99,38	<i>Bacillus circulans</i> ATCC=4513
96,61	<i>Bacillus firmus</i> ATCC=14575
96,47	<i>Bacillus niacini</i> DSM=2923
96,23	<i>Bacillus flexus</i> ATCC=49095
95,89	<i>Bacillus megaterium</i> ATCC=14581
95,86	<i>Bacillus horikoshii</i> DSMZ=8719
95,82	<i>Bacillus cohnii</i> ATCC=51227
95,49	<i>Bacillus lentus</i> ATCC=10840

<sup>1</sup> Les données sur la séquence génique de l'ARN ribosomique 16S ont été générées par la Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs de Santé Canada.

Les séquences géniques de l'ARNr 16S de la souche de *B. circulans* inscrite sur la LIS ont été comparées aux données de la banque Microseq® Full Gene Library v2.0 Sequence Match.

## Annexe D : Sensibilité aux antibiotiques de *Bacillus circulans*

Tableau D-1 : Sensibilité aux antibiotiques de *B. circulans* d'après des rapports sur des cas humains

Antibiotique	Résistant	Sensible	Référence
Ampicilline	Non	Oui	Alebouyeh et coll. 2011 Banerjee et coll. 1988 Gurol et coll. 2007
	Oui	Non	Fontana et coll. 1997
Azlocilline	Non	Oui	Banerjee et coll. 1988
Amikacine	Non	Oui	Berry et coll. 2004 Castagnola et coll. 1997 Fontana et coll. 1997
Amoxicilline	Non	Oui	Goudswaard et coll. 1995 Krause et coll. 1999
Amoxicilline/ clavulanate	Non	Oui	Fontana et coll. 1997
Aztréonam	Non	Oui	Alebouyeh et coll. 2011
Céfradine 1	Oui	Non	Goudswaard et coll. 1995
Céfazoline 1	Oui	Non	Alebouyeh et coll. 2011 Weber et coll. 1988 <sup>a</sup>
	Non	Oui	Fontana et coll. 1997
Ceftazidime 3	Oui	Non	Castagnola et coll. 1997 Weber et coll. 1988 <sup>a</sup>
Ceftiofur 3	Oui	Non	Alebouyeh et coll. 2011
Céfotaxime 3	Oui	Non	Berry et coll. 2004 Goudswaard et coll. 1995
Céfuroxime 2	Oui	Non	Goudswaard et coll. 1995 Fontana et coll. 1997
Chloramphénicol	Oui	Non	Berry et coll. 2004
Ciprofloxacin	Non	Oui	Berry et coll. 2004; Fontana et coll. 1997 Goudswaard et coll. 1995 Krause et coll. 1999 Gurol et coll. 2007 Weber et coll. 1988 <sup>a</sup>
Clindamycine	Oui	Non	Krause et coll. 1999 Fontana et coll. 1997
	Non	Oui	Gurol et coll. 2007
Co-trimoxazole	Non	Oui	Fontana et coll. 1997
Daptomycine (LY146032)	Oui	Non	Weber et coll. 1988 <sup>a</sup>
Érythromycine	Non	Oui	Berry et coll. 2004 Goudswaard et coll. 1995

<b>Antibiotique</b>	<b>Résistant</b>	<b>Sensible</b>	<b>Référence</b>
			Fontana et coll. 1997 Gurol et coll. 2007
Acide fusidique	Oui	Non	Krause et coll. 1999
Gentamicine	Non	Oui	Alebouyeh et coll. 2011 Banerjee et coll. 1988 Berry et coll. 2004 Fontana et coll. 1997 Krause et coll. 1999
Lévofloxacine	Non	Oui	Gurol et coll. 2007
Linezolide	Non	Oui	Gurol et coll. 2007
Imipénème	Non	Oui	Banerjee et coll. 1988 Berry et coll. 2004 Castagnola et coll. 1997 Weber et coll. 1988 <sup>a</sup>
Kanamycine	Non	Oui	Alebouyeh et coll. 2011
Méropénem	Oui	Non	Alebouyeh et coll. 2011
Méropénem-EDTA		Oui	Alebouyeh et coll. 2011
Méthicilline	Oui	Non	Alebouyeh et coll. 2011
Métronidazole	Oui	Non	Goudswaard et coll. 1995
Nétilmicine		Oui	Castagnola et coll. 1997 Fontana et coll. 1997
Oxacilline	Oui	Non	Castagnola et coll. 1997 Fontana et coll. 1997 Weber et coll. 1988 <sup>a</sup>
Pénicilline	Oui	Non	Alebouyeh et coll. 2011 Banerjee et coll. 1988 Berry et coll. 2004 Weber et coll. 1988 <sup>a</sup>
	Non	Oui	Goudswaard et coll. 1995 Gurol et coll. 2007
Pipéracilline	Non	Oui	Banerjee et coll. 1988 Castagnola et coll. 1997
	Oui	Non	Alebouyeh et coll. 2011
Pipéracilline/ tazobactam	Oui	Non	Alebouyeh et coll. 2011
	Non	Oui	Berry et coll. 2004
Rifampicine	Non	Oui	Krause et coll. 1999 Fontana et coll. 1997
Rifampine	Non	Oui	Gurol et coll. 2007
Sulfaméthoxazole	Non	Oui	Gurol et coll. 2007
Téicoplanine	Oui		Fontana et coll. 1997
	Non	Oui	Gurol et coll. 2007
Telcoplanine	Non	Oui	Castagnola et coll. 1997 Krause et coll. 1999

<b>Antibiotique</b>	<b>Résistant</b>	<b>Sensible</b>	<b>Référence</b>
Télitromycine	Non	Oui	Gurol et coll. 2007
Tétracycline	Non	Oui	Alebouyeh et coll. 2011
Ticarcline	Non	Oui	Banerjee et coll. 1988 Castagnola et coll. 1997
Tobramycine	Non	Oui	Castagnola et coll. 1997
Triméthoprim	Non	Oui	Krause et coll. 1999 Gurol et coll. 2007
Vancomycine	Non	Oui	Banerjee et coll. 1988 Berry et coll., 2004 Castagnola et coll. 1997 Goudswaard et coll. 1995 Krause et coll. 1999 Gurol et coll. 2007 Weber et coll. 1988 <sup>a</sup>
	Oui	Non	Alebouyeh et coll. 2011 Fontana et coll. 1997

<sup>a</sup> Les renseignements disponibles portent sur la souche type.