

Évaluation préalable finale de la souche ATCC 14581 de *Bacillus megaterium*

**Environnement et Changement climatique Canada
Santé Canada**

février 2018

No de cat. : En14-314/2018F-PDF
ISBN 978-0-660-24728-1

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

On demande seulement :

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

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

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le ministre de l'Environnement 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 une évaluation préalable de la souche ATCC 14581 de *Bacillus megaterium*.

La souche ATCC 14581 de *Bacillus megaterium* est une bactérie Gram positif qui possède des caractéristiques en commun avec d'autres souches de cette espèce. *B. megaterium* peut être présente dans des milieux terrestres ou aquatiques, en association avec des plantes, des animaux ou l'homme en tant que contaminant des aliments ou d'environnements créés par l'homme. Comme d'autres espèces de *Bacillus*, *B. megaterium* est capable de former des spores à parois épaisses, qui peuvent survivre dans des milieux hostiles et pauvres en éléments nutritifs. Cet organisme peut aussi créer des biofilms, lui permettant de persister et de survivre dans des conditions sous-optimales. Diverses caractéristiques de *B. megaterium* permettent de l'utiliser dans le traitement des eaux usées, la biorestauration et la biodégradation, le nettoyage et la désodorisation, le traitement des canalisations et des fosses septiques, ainsi que pour la production d'enzymes et de substances chimiques.

B. megaterium peut avoir des effets bénéfiques ou nocifs sur les plantes terrestres. Au Canada, la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* n'est pas reconnue comme nuisible aux plantes et, en fait, a été rapporté comme rhizobactérie stimulant la croissance végétale. Même si *B. megaterium* ou ses métabolites secondaires peuvent avoir des effets nocifs sur certaines espèces d'invertébrés dans le contexte de recherches expérimentales sur leur potentiel de lutte biologique, la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* n'a eu aucun effet sur un invertébré terrestre. Aucun effet sur des plantes, des invertébrés ou des vertébrés aquatiques ou sur des vertébrés terrestres n'a été rapporté dans la littérature scientifique.

En dépit de la vaste distribution de *B. megaterium* dans l'environnement, l'infection d'humains causée par *B. megaterium* est très rarement signalée. Aucun effet nocif sur la santé humaine n'a été attribué à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium*. La souche ATCC 14581 de la Liste intérieure (LIS) ne possède pas de gènes responsables d'entérotoxine, parfois associés à d'autres souches de *B. megaterium*. Les épreuves de sensibilité aux antibiotiques, réalisés par les chercheurs de Santé Canada, ont montré que, dans les rares cas d'infection, des antibiotiques cliniquement pertinents sont efficaces contre cette souche.

La présente évaluation tient compte des caractéristiques susmentionnées de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* en ce qui a trait aux effets sur l'environnement ou la santé humaine dus à l'utilisation de produits de consommation ou commerciaux et dans des procédés industriels visés par la LCPE, y compris les rejets dans l'environnement provenant de circuits de déchets et l'exposition humaine accidentelle dans les milieux de l'environnement. Afin de mettre à jour les renseignements sur les utilisations actuelles de ce microorganisme, le gouvernement a lancé une enquête pour la collecte de renseignements obligatoire en vertu de l'article 71 de la LCPE, 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 indique que de 10 000 à

100 000 kg de produits contenant la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* ont été importés ou fabriqués au Canada en 2008. Les utilisations signalées comprennent des produits ou des activités dans les secteurs commerciaux, industriels et de la consommation.

D'après les renseignements disponibles, il est conclu que la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* 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 14581 de *B. megaterium* 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

Sommaire	ii
Introduction	vii
Décisions prises par d'autres juridictions canadiennes ou internationales	viii
Au Canada	viii
Au niveau international	viii
1. Évaluation du danger	1
1.1 Caractérisation de <i>Bacillus megaterium</i>	1
1.1.1 Identification taxinomique et historique de la souche	1
1.1.2 Propriétés biologiques et écologiques	6
1.1.2.1 Présence naturelle	6
1.1.2.2 Paramètres de croissance	7
1.1.2.3 Survie et persistance	8
1.1.2.4 Contrôle biologique	8
1.1.2.5 Biosorption des métaux et biodégradation	9
1.1.2.6 Résistance aux antibiotiques, aux métaux et aux agents chimiques	9
1.1.2.7 Caractéristiques pathogènes et toxigènes	12
1.1.3 Effets	13
1.1.3.1 Environnement	13
1.1.3.2 Santé humaine	16
1.2 Gravité du danger	16
2. Évaluation de l'exposition	17
2.1 Sources d'exposition	17
2.2 Caractérisation de l'exposition	19
2.2.1 Environnement	19
2.2.2 Santé humaine	20
3. Caractérisation des risques	21
4. Conclusion	21
Références	23
Annexes	36
Annexe A : Métabolisme de la souche ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i>	36
Annexe B : Caractéristiques de <i>B. megaterium</i> – analyse des esters méthyliques d'acide gras (EMAG)	37
Annexe C : Caractéristiques de croissance de la souche ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i>	38
Annexe D : Profils de sensibilité aux antibiotiques des souches de <i>B. megaterium</i> rapportés dans la littérature	39

Liste des tableaux

Tableau 1-1 : Morphologies de colonies de la souche ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i> ...	2
Tableau 1-2 : Différentiation de <i>B. megaterium</i> , de <i>B. cereus</i> et de <i>B. subtilis</i>	3
Tableau 1-3 : Caractéristiques morphologiques et biochimiques permettant de distinguer la souche ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i> de deux souches de <i>B. megaterium</i> capables de solubilisation du phosphate	3
Tableau 1-4 : Quelques souches industrielles de <i>B. megaterium</i> dont le génome a fait l'objet d'un séquençage complet.....	6
Tableau 1-5 : Contrôle biologique de <i>B. megaterium</i>	9
Tableau 1-6 : Concentration minimale inhibitrice (CMI, µg/mL) de la souche ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i> en utilisant la plaque Sensititre GPN3F en milieu liquide	10
Tableau 1-7 : Concentration minimale inhibitrice (CMI; µg/ml) de la souche ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i> en utilisant la plaque Sensititre BOPO6F en milieu liquide	10
Tableau 1-8 : Sensibilité de souches de <i>B. megaterium</i> à des agents désinfectants	11
Tableau 1-9 : Activité de stimulation de la croissance par <i>B. megaterium</i> chez les plantes terrestres.....	14
Tableau A-1 : Épreuves métaboliques pour la souche ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i> .	36
Tableau B-1 : Identification de la souche ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i> à l'aide de MIDI	37
Tableau C-1 : Densité optique (500 nm) de la souche ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i> après une période de croissance de 24 heures dans un milieu liquide à diverses températures ^a	38
Tableau D-1 : Profil de sensibilité aux antibiotiques de <i>B. megaterium</i> , <i>B. cereus</i> et <i>B. subtilis</i> déterminé par zone d'inhibition moyenne (mm).....	39
Tableau D-2 : Profil de sensibilité aux antibiotiques de <i>B. megaterium</i> (Bm), <i>B. cereus</i> (Bc) et <i>B. subtilis</i> (Bs) déterminé par zone d'inhibition (mm)	39
Tableau D-3 : Profil de sensibilité aux antibiotiques de souches de <i>B. megaterium</i> (Bm), <i>B. cereus</i> (Bc) et <i>B. subtilis</i> (Bs) déterminé par concentration minimale inhibitrice (mg/L) et interprétation des résultats	39

Liste des Figures

Figure 1-1 : Arbre phylogénétique dérivé à l'interne en utilisant les séquences géniques de l'ARNr 16S de la souche ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i> et des séquences identifiées lors de recherches bibliographiques	5
---	---

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 en fonction des critères de l'article 64 de la LCPE¹ s'ils présentent ou peuvent présenter un risque pour l'environnement ou la santé humaine. Cette souche a été inscrite sur la Liste intérieure en vertu du paragraphe 25 (1) de la LCPE 1988, puis en vertu du paragraphe 105 (1) de la LCPE 1999, car elle a été fabriquée ou importée au Canada entre le 1^{er} janvier 1984 et le 31 décembre 1986.

La présente évaluation préalable tient compte de renseignements sur les risques tirés du domaine public et de données de recherche non publiées produites par des chercheurs de Santé Canada² et d'Environnement et Changement climatique Canada³, ainsi que des commentaires d'examineurs scientifiques. Les renseignements sur l'exposition proviennent du domaine public et de renseignements soumis suite à un avis publié le 3 octobre 2009 en vertu de l'article 71 de la LCPE dans la Partie I de la Gazette du Canada. Pour obtenir plus de précisions sur la méthode d'évaluation des risques suivie, veuillez consulter le document « 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 document, les données spécifiques à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* inscrite sur la Liste intérieure sont indiquées comme telles. Lorsqu'aucune donnée spécifique à la souche n'était disponible, des données de substitution provenant de recherches bibliographiques ont été utilisées. S'il y avait lieu, les recherches bibliographiques sur cet organisme portaient également sur ses synonymes ainsi que sur ses noms communs et 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 Google Scholar), de recherches sur le Web et de termes clés de recherche pour l'identification des risques pour la santé humaine ou l'environnement. Des données relevées jusqu'en juin 2015 ont été prises en compte pour la présente évaluation préalable.

¹ La détermination de la conformité à l'un ou plusieurs des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE est basée sur une évaluation des risques pour l'environnement et/ou la santé humaine dus une 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 stipulés dans le *Règlement sur les produits dangereux*, qui fait partie du cadre réglementaire du Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT) pour les produits destinés à être utilisés au travail, et elle n'empêche pas non plus une telle évaluation.

² Recherches réalisées par le Bureau des sciences de la santé environnementale et de la recherche de Santé Canada.

³ Recherche réalisées par la Division d'écotoxicologie et de la santé faunique d'Environnement et Changement climatique Canada.

Décisions prises par d'autres juridictions canadiennes ou internationales

Au Canada

Selon la liste des parasites réglementés par le Canada, *B. megaterium* n'est pas un organisme considéré nuisible pour les plantes ni comme une espèce envahissante. Cet organisme a été inscrit, en vertu de la Loi sur la protection des végétaux, sur la liste des « Organismes qui ne requièrent aucun permis d'importation de la Division de la protection des végétaux » de l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) (ACIA 2011, ACIA 2014).

B. megaterium est actuellement classé dans le Groupe de risque 1 (faible risque pour l'individu ou la collectivité) tant pour l'homme que pour les animaux (Agence de la santé publique du Canada [ASPC], communication personnelle).

Au niveau international

L'Institut fédéral de santé et sécurité au travail de l'Allemagne a classé *B. megaterium* dans le « Groupe de risque 1 » (BAuA 2010, Commission européenne 2010) et ceci s'applique aussi à la souche ATCC 14581.

Aucune autre mention concernant une décision ayant trait à *B. megaterium* par des organismes internationaux⁴ n'a été notée.

⁴ Les agences et organismes gouvernementaux ayant fait l'objet d'une recherche incluent les suivants : Environmental Protection Agency des États-Unis (EPA); Food and Drug Administration des États-Unis (FDA); Animal and Plant Health Inspection Services des États-Unis (APHIS); American Biological Safety Association (ABSA); Organisation mondiale de la santé (OMS); ministère de la santé de l'Australie; Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA); Agence européenne pour la sécurité et la santé au travail; European Food Standards Agency; Comité mixte FAO/OMS d'experts sur les additifs alimentaires.

1. Évaluation du danger

1.1 Caractérisation de *Bacillus megaterium*

1.1.1 Identification taxinomique et historique de la souche

1.1.1.1 Taxonomie

Nom binomial : *Bacillus megaterium*

Classification taxinomique

Règne :	Bactérie
Embranchement :	Firmicutes
Classe :	Bacilles
Ordre :	Bacillales
Famille :	Bacillaceae
Genre :	<i>Bacillus</i>
Espèce :	<i>Bacillus megaterium</i> de Bary 1884 (Orrell 2015, Skerman et coll. 1980)
Souche :	ATCC 14581 (souche type)

Synonymes : *Bacillus megatherium* (Buchanan et coll. 1951), *Bacillus fructosus* (USDA 2014a) et *Bacillus megaterium* de Bary 1884 (Euzéby et Tindall 2004). À un moment donné, il a été envisagé d'utiliser « *B. carotarum* » comme synonyme de *B. megaterium*, mais cette option a été rejetée (Logan et Berkeley 1984).

Autres désignations de souche type équivalentes : BCRC 10608, CCM 2007, CCUG 1817, CIP 66.20, DSM 32, HAMBI 2018, IAM 13418, JCM 2506, KCTC 3007, LMG 7127, NBRC 15308, NCCB 75016, NCIMB 9376, NCTC 10342, NRIC 1710, NRRL B-14308, VKM B-512, *Bacillus* sp. JP44SK2, *Bacillus* sp. OS42, CCRC 10608 et IFO 15308 (ATCC, 2014, Verslyppe et coll. 2014).

Historique de la souche

B. megaterium a reçu son nom de De Bary en 1884. Toutefois, la culture originale n'étant plus disponible, la souche « Ford 19 » qui a été fournie aux collections de cultures est devenue la nouvelle culture type, obtenant les numéros d'accès ATCC 14581, NCIB 9376 et NCTC 10342 (Lapage et coll. 1967, Smith et coll. 1964, Sneath et Skerman 1966). Elle est passée de Ford (souche 19) à T. Gibson (souche 1060), à R.E.Gordon et, enfin, à ATCC (DSMZ 2014). La source originale à partir de laquelle la souche ATCC 14581 a été isolée est inconnue (Allen et coll. 1983).

1.1.1.1 Identification phénotypique et profil biochimique

La souche *B. megaterium* ATCC 14581 présente des cellules en forme de bâtonnets d'une longueur de 2 à 5 µm et de 1,2 à 1,5 µm de diamètre (Willeke et coll. 1996). Les

spores de *B. megaterium* ont une taille allant de $0,5 \times 1,0 \mu\text{m}$ à $1,0 \times 14,8 \mu\text{m}$, et ont fréquemment une forme de massue (Drucker et Whittaker 1971).

La morphologie d'une colonie de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium*, observée par des chercheurs de Santé Canada, correspondait à celle signalée par l'American Type Culture Collection (Tableau 1-1).

Tableau 1-1 : Morphologies de colonies de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium*

Caractéristique	Croissance sur une gélose nutritive après 24 heures à 30 °C ^a	Croissance sur une gélose nutritive après 48 heures à 30 °C ^a	Croissance sur une gélose TSB ^b après 24 heures à 37 °C ^a	Croissance sur une gélose TSB après 48 heures à 37 °C	Croissance sur le milieu ATCC 3 (gélose nutritive) après 24 heures à 30 °C ^c
Forme	Irrégulière	Irrégulière	Irrégulière	Irrégulière	Circulaire ou irrégulière
Diamètre (mm)	2-3	2-3	4	4	Non disponible
Marge	Entière	Entière	Entière	Entière	Entière
Élévation	Convexe	Convexe	Convexe	Convexe	Convexe
Couleur/pigment	Non disponible	Jaune doré	Non disponible	Jaune doré	Non disponible
Texture	Lisse et luisante ou mucoïde	Butyreuse	Lisse et luisante ou mucoïde	Butyreuse	Lisse et luisante ou mucoïde
Opacité	Opaque	Opaque	Opaque	Opaque	Opaque

^a Données générées par le Bureau de la science de la santé environnementale et de la recherche, Santé Canada

^b TSB, bouillon trypticase soya

^c Description d'ATCC (ATCC 2013)

Dans la littérature scientifique, la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* exhibe aussi des similitudes avec des membres du groupe de *B. subtilis* (Logan et Berkeley 1984). Elles sont semblables en termes de mobilité électrophorétique des spores (White et coll. 2012), de position des spores, d'activité de la lactase, de réaction de la lécithovitelline et d'hydrolyse de la gélatine (Logan et Berkeley 1984). D'autres épreuves métaboliques ont été réalisés par les chercheurs de Santé Canada (Annexe A).

B. megaterium (y compris la souche ATCC 14581) présente aussi des ressemblances avec le groupe de *B. cereus*, qui inclut les agents pathogènes pour les humains et les animaux *B. cereus* et *B. anthracis* (Beesley et coll. 2010) et le pathogène pour des insectes *B. thuringiensis*. Bien que la plupart des souches de *B. megaterium* soient strictement aérobies, la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* peut croître dans un environnement anaérobie, comme les membres du groupe *B. cereus* (Beesley et coll. 2010, Xiang et coll. 2011). *B. megaterium*, tout comme les membres du groupe *B. cereus*, possède des cellules plus grosses ($> 1,0 \mu\text{m}$ de longueur) et, en raison de ressemblances antigéniques de la capsule antiphagocitaire, peut aussi être confondue avec *B. anthracis* (Beesley et coll. 2010).

Lorsqu'un plus grand nombre de caractéristiques phénotypiques sont comparées, une tendance qui émerge permet de différencier clairement *B. megaterium* du groupe de

B. subtilis ou du groupe de *B. cereus*. Il est possible de distinguer *B. megaterium* des deux groupes d'espèces en utilisant le système API basé sur des méthodes biochimiques et des différences dans l'utilisation du substrat (Logan et Berkeley 1984, Product sheet 2004). D'après les résultats de 139 observations, l'analyse de 600 souches de *Bacillus* a montré que les souches de *B. megaterium* formaient un groupe restreint et étaient éloignées des souches du groupe de *B. subtilis* (Logan et Berkeley 1984).

Il est possible de différencier *B. megaterium* des membres des groupes de *B. cereus* et de *B. subtilis* en se basant sur leurs caractéristiques morphologiques, biochimiques et moléculaires (Tableau 1-2). Les chercheurs de Santé Canada ont aussi utilisé l'analyse des esters méthyliques d'acide gras (EMAG) pour confirmer l'identité de la souche inscrite sur la LIS (Annexe B). La teneur en guanine-cytosine (% G+C) de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* est plus importante que celle des souches types de *B. anthracis* et *B. thuringiensis* et peut être utilisée pour différencier ces espèces (Logan et De Vos 2009).

Tableau 1-2 : Différentiation de *B. megaterium* de *B. cereus* et *B. subtilis*^a

Caractéristique	Souche ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>
Longueur des bâtonnets > 1,0 µm	+	+	-
Croissance anaérobie	+	+	-
Croissance à 50 °C	-	-	+
Réaction de Voges-Proskauer	-	-	+
Réaction à la lécithovitelline	-	+	-
Épreuve de fermentation au glucose ^b	A ⁻ G ⁺	A ⁺ G ⁻	A ⁺ G ⁻
Épreuve de fermentation au lactose ^b	A ⁻ G ⁺	A ⁻ G ⁻	A ⁻ G ⁻
Épreuve de fermentation au mannitol ^b	A ⁻ G ⁺	A ⁻ G ⁻	A ⁺ G ⁻
Teneur en G+C (%) de la souche type	37,2 ^c	36,2	42,9

+, indique une réaction positive

-, indique une réaction négative

^a Données du tableau tirées de Logan et De Vos (2009), Slepecky et Hemphill (2006), Beesley et coll. (2010), Radhika et coll. (2011), Xiang et coll. (2011), et de chercheurs de Santé Canada (communication personnelle)

^b A⁻G⁺, résultat négatif en présence d'acide, résultat positif en présence de gaz; A⁺G⁻, résultat positif en présence d'acide, résultat négatif en présence de gaz; A⁻G⁻, résultat négatif en présence d'acide, résultat négatif en présence de gaz

La souche ATCC 14581 de *B. megaterium* peut être différenciée d'autres souches de *B. megaterium* grâce à plusieurs caractéristiques morphologiques et biochimiques (Tableau 1-3).

Tableau 1-3 : Caractéristiques morphologiques et biochimiques permettant de distinguer la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* de deux souches de *B. megaterium* capables de solubilisation du phosphate

Caractéristique	ATCC 14581	DSM 3228	QW10-11 ^a
Coloration de la colonie ^b	Pâle	Pâle	Couleur chamois
Morphologie cellulaire ^b	Forme elliptique	Forme elliptique	Ligne ^c
Disposition cellulaire ^b	Courte chaîne	Seule, en paires	Chaîne
Taille de la cellule (µm) ^b	1,2-1,5 × 2,0-5,0	1,8-2,6 × 6,0	0,8 × 30-100
Motilité ^b	+ ^d	+	-
Morphologie de la spore ^b	Forme elliptique	Forme elliptique	Forme ronde
Croissance anaérobie ^b	+	-	-
Peptonisation du lait ^b	-	+	+
Hydrolyse de la caséine ^b	+	+	-
Réduction du nitrate ^b	+	+	-
Tolérance au NaCl ^b	7 %	5 %	15 %

+, indique une réaction positive

-, indique une réaction négative

^a Les cellules QW10-11 ont été cultivées dans un milieu hypersalin et s'y sont adaptées (NaCl à 10 % [p/v]).

^b Renseignements tirés de Xiang et coll. (2011).

^c Les cellules s'étirent sans se diviser. Les auteurs ont attribué cette morphologie à des modifications physiologiques nécessaires pour s'adapter au milieu de croissance hypersalin.

^d Xiang et coll. (2011) et Logan et De Vos (2009) ont rapporté que la souche type était mobile. Cependant, cette caractéristique n'a pas été observée par les chercheurs de Santé Canada.

1.1.1.2 Identification moléculaire

En dépit des différences phénotypiques susmentionnées, les méthodes moléculaires montrent une étroite relation entre *B. megaterium* et les groupes de *B. cereus* et de *B. subtilis*. Lors d'une étude, 51 espèces de *Bacillus* ont été disposées en cinq groupes phylogénétiquement distincts, basés sur une comparaison de leurs séquences géniques de l'ARNr 16S. La souche ATCC 14581 de *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. anthracis* et *B. subtilis* sont regroupés ensemble (Ash et coll. 1991). L'étroite relation entre *B. megaterium* et les espèces des groupes de *B. cereus* et de *B. subtilis* basée sur la phylogénie de l'ARNr 16S, suggère que la transmission horizontale de gènes pourrait être en grande partie responsable des différences phénotypiques entre ces espèces (Eppinger et coll. 2011). Les chercheurs de Santé Canada ont utilisé des séquences géniques de l'ARNr 16S pour analyser la relation phylogénétique entre la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* et d'autres espèces de *Bacillus* (figure 1-1). La souche ATCC 14581 de *B. megaterium* inscrite sur la LIS n'a pas été observée former un

groupe ni avec le groupe *B. subtilis* ni avec le groupe de *B. cereus* pathogène.

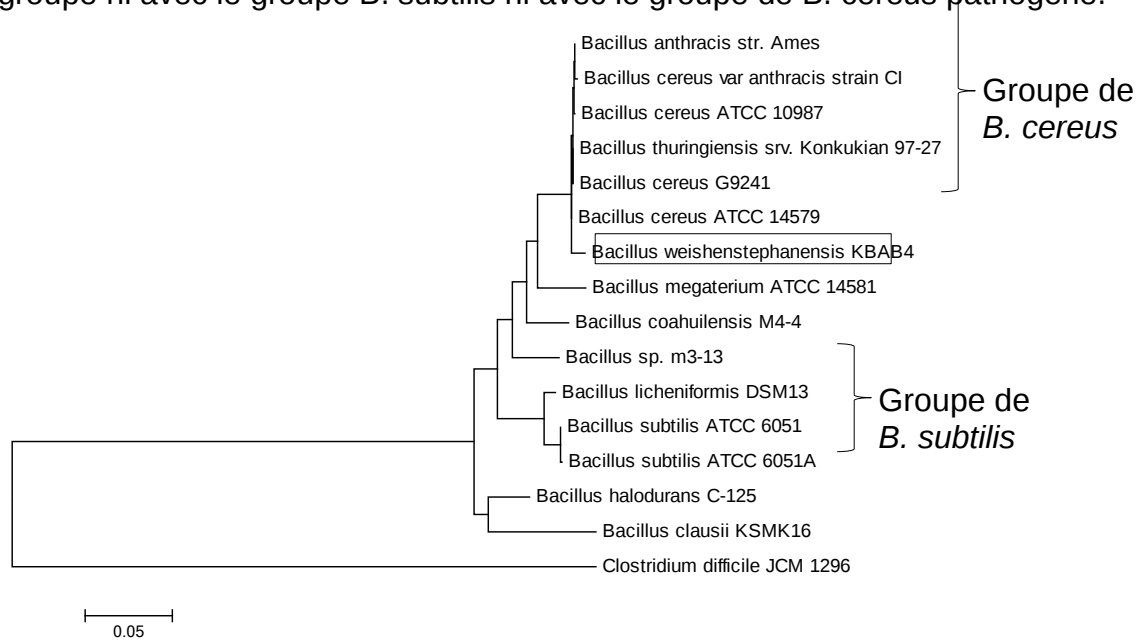


Figure 1-1 : Arbre phylogénétique dérivé à l'interne⁵ en utilisant les séquences géniques de l'ARNr 16S de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium*, et des séquences identifiées lors de recherches bibliographiques

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour distinguer *B. megaterium* d'autres espèces de *Bacillus*, dont *B. cereus* et *B. subtilis*, telles que des analyses d'ADN polymorphe aléatoirement amplifié (Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD)) (Quingming et Zongping 1997) et la spectroscopie de résonance Raman dans l'ultraviolet (RRUV) (Lopez-Diez et Goodacre 2004). Pour certaines souches de *B. megaterium*, dont la souche ATCC 14581, il existe des génomes dont le séquençage est complet et qui peuvent être potentiellement utilisés pour déterminer des caractéristiques génotypiques marquantes entre les souches (tableau 1-4).

⁵ Bureau de la science de la santé environnementale et de la recherche de Santé Canada.

Tableau 1-4 : Quelques souches industrielles de *B. megaterium* dont le génome a fait l'objet d'un séquençage complet

Souche	Numéro d'accès	Paires de bases (Mb)	Nombre de plasmides	Teneur en G+C (%)	Référence
Souche ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i>	JJMH000000000	5,7	6	37	Arya et coll. 2014, Rosso et Vary 2005, Vary et coll. 2007
<i>B. megaterium</i> de Bary 1884	JMQB000000000	5,6	Non disponible	37,7	Daligault et coll. 2014
Souche QM B1551 de <i>B. megaterium</i>	CP001983	5,1	7	38,2	Eppinger et coll. 2011
Souche DSM319 de <i>B. megaterium</i>	CP001982	5,1	0	38,2	Eppinger et coll. 2011
Souche WSH-002 de <i>B. megaterium</i>	CP003017	4,14	3	39,1	Liu et coll. 2011

Plasmides au sein du genre *Bacillus*

Les plasmides sont relativement rares parmi les espèces de *Bacillus* (Yoshimura et coll. 1983). Cependant, les souches de *B. megaterium* sont riches en plasmides, en contenant généralement quatre ou plus (Slepecky et Hemphill 2006). La souche 216 de *B. megaterium* contient 10 plasmides et la souche QM B1551 a 7 plasmides stables réunissant 11 % de l'ADN cellulaire total. Bien que les plasmides de la souche QM B1551 portent des enzymes de codage des gènes et des protéines pour l'exportation des métaux lourds, le transport, des porteurs d'acyle, des facteurs sigma, des stérols, des activités redox, la mobilisation, la sporulation et la germination, les gènes portés par les plasmides ne semblent pas nécessaires à la croissance. Lors d'une étude, une souche modifiée de QM B1551, de laquelle sept de ses plasmides avaient été éliminés, a exhibé une croissance similaire à celle du type sauvage dans des conditions de laboratoire (Kieselburg et coll. 1984, cas examiné dans Vary et coll. 2007).

Parmi ses plasmides, la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* renferme un plasmide de 12 kb, ce qui la différencie de neuf autres souches de *B. megaterium* (Rosso et Vary 2005, Vary et coll. 2007).

1.1.2 Propriétés biologiques et écologiques

1.1.2.1 Présence naturelle

En tant qu'espèce, *B. megaterium* est généralement considérée ubiquiste et est observée dans divers habitats, parmi les quels :

- l'eau douce et l'eau salée (Allen et coll. 1983, Rusterholtz et Mallory 1994, Kong et coll. 2010), ainsi que le sol (Smalla et coll. 2001, Taupp et coll. 2005, Sakurai et coll. 2007);
- la rhizosphère de plantes (Srinivasan et coll. 1996, Smalla et coll. 2001, Sakurai et coll. 2007, Aballay et coll. 2011, Xiang et coll. 2011, Kavamura et coll. 2013) et

d'autres sites associés à des plantes, dont les ovules et les graines (Mundt et Hinkle 1976, Cottyn et coll. 2001), les feuilles (Ercolani 1978, Purkayastha et Bhattacharyya 1982, Araújo et coll. 2001, West et coll. 2010), les racines (Liu et Sinclair 1993, McInroy et Kloepper 1995, Srinivasan et coll. 1996, Surette et coll. 2003, West et coll. 2010) et les tiges (McInroy et Kloepper 1995, West et coll. 2010);

- en association avec des animaux (Osborn et coll. 2002, Barbosa et coll. 2005, Hillesland et coll. 2008, Bulushi et coll. 2010) et des humains (Weber et coll. 1988, Rowan et coll. 2001, Dib et coll. 2003, Beesley et coll. 2010, Subbiya et Mahalakshmi 2012);
- les tas de compost (Perestelo et coll. 1989), les déchets en traitement (Srinath et coll. 2002, Raj et coll. 2007, Priya et coll. 2014), les milieux de croissance sans sol (Welbaum et coll. 2009), l'intérieur du granite (Fajardo-Cavazos et Nicholson 2006), les conduits d'air (Lushniak et Mattorano 1994), le tabac à mâcher (Rubinstein et Pedersen 2002), les surfaces de bois (Austin et coll. 1979), le carton doublure (Namjoshi et coll. 2010) et comme contaminant des aliments (Kurtzman et coll. 1971, López and Alippi 2009, Rowan et coll. 2001, Yossan et coll. 2006).

1.1.2.2 Paramètres de croissance

Les souches de *B. megaterium*, y compris ATCC 14581, croissent dans diverses conditions de températures, allant d'une température de croissance minimale située 3 et 10 °C jusqu'à une température de croissance maximale située entre 40 et 45 °C, avec une température de croissance optimale de 37 °C. Bien que la croissance de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* n'ait pas été observée à 50 °C (tableau 1-2), des variants thermophiles stricts sont capables de croissance à 55 °C (Ståhl et Olsson 1977), d'autres variants exhibant une température de croissance maximale allant jusqu'à 73 °C (Rilfors et coll. 1978). *B. megaterium* est capable de survivre dans un bouillon nutritif pendant 28 jours à la température ambiante. Cependant, lorsque la température a été élevée à 48 °C, une baisse de l'ordre de 1 log des unités formant des colonies (UFC) a été observée (Velineni et Brahmaprakash 2011). Les chercheurs de Santé Canada ont mesuré la densité optique de cultures de souches ATCC 14581 de *B. megaterium* pendant 24 heures dans divers milieux liquides à diverses températures (Annexe C). Des observations ont montré que la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* se développait bien dans un milieu TBS à 28 °C, mais qu'à cette température sa croissance était limitée dans un milieu de culture mammalienne contenant du sérum. Par contre, à mesure que la température s'élevait, la croissance augmentait légèrement dans la plupart des milieux contenant du sérum, mais diminuait dans les milieux TBS.

La souche ATCC 14581 de *B. megaterium* se développe mal dans les milieux minimaux et requiert des suppléments de L-thréonine et de L-valine, que la croissance ait lieu en présence de glucose ou de glycérol à 30 ou 37 °C (White 1972). La croissance la plus rapide a été observée à 30 °C avec du glycérol. La souche ATCC 14581 de *B. megaterium* se développe bien dans le milieu n° 3 de l'ATCC à un pH de $6,8 \pm 0,2$ (ATCC 2013).

1.1.2.3 Survie et persistance

La persistance de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* dans les microcosmes du sol a été étudiée (Providenti et coll. 2009). Les résultats de cette étude indiquent qu'une concentration initiale de 1×10^4 UFC/g de sol diminue jusqu'à la limite de détection de 1×10^2 UFC/g de sol au bout de 105 jours. *B. megaterium* serait aussi probablement capable de survivre à une concentration plus faible sous forme de spores.

B. megaterium peut commencer à produire des spores en réponse à un appauvrissement en éléments nutritifs (Brown et Hodges 1974). La formation d'endospores permet aux espèces de *Bacillus* de persister pendant de longues périodes dans des conditions de sécheresse et de résister à des températures élevées, au rayonnement ultraviolet et à des désinfectants chimiques. Les spores des espèces de *Bacillus* peuvent résister à des températures d'environ 45 °C supérieures à celle à laquelle les cellules végétatives le peuvent (Coleman et coll. 2010). Les spores de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* sont aussi relativement résistantes à la lumière ultraviolette, comparativement à d'autres espèces de *Bacillus* testées (Fajardo-Cavazos et Nicholson 2006, Newcombe et coll. 2005).

Les conditions dans lesquelles *B. megaterium* commence à produire des spores pourraient affecter la résistance de ces spores à diverses conditions (Soper et coll. 1976, Khoury et coll. 1987). Par exemple, des spores soumises à un gel étaient plus sensibles à des traitements d'inactivation au chlore et à la lumière ultraviolette que celles n'ayant pas subi de gel (Gao et coll. 2007, Soper et coll. 1976). Il est aussi important de noter que les spores de différentes souches de *B. megaterium* peuvent se comporter de manière différente de celle de la souche ATCC 14581 (Dr Rebekka Biedendieck, boursière postdoctorale, Technische Universität Braunschweig, communication personnelle).

Les spores de *B. megaterium* ont exhibé une meilleure survie dans l'eau de rivière stérile que dans de l'eau de rivière brute (non stérilisée) (López et coll. 1995), suggérant que la prédation peut limiter la persistance des spores dans cet environnement. Cependant, les spores peuvent mieux survivre à la prédation que les cellules végétatives. Contrairement aux spores, les cellules végétatives de *B. megaterium* ne résistent pas au passage à travers le système digestif du nématode *Caenorhabditis elegans* (Laaberki et Dworkin 2008).

1.1.2.4 Contrôle biologique

B. megaterium produit des composés antimicrobiens, tels que les bactériocines mégacine A et mégacine C, qui ont un intérêt potentiel dans le contrôle biologique de pathogènes bactériens et de champignons (Tersch et Carlton 1983). Le cytochrome P-450 de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* (précisément CYP102A1) peut oxyder (c.-à-d. dégrader) les molécules de signalisation du quorum, les N-acyl homosérine lactones, produites par d'autres microorganismes, lui offrant un avantage concurrentiel (Chowdhary et coll. 2007). Certaines activités de contrôle biologique

observées dans des conditions expérimentales chez des isolats de *B. megaterium* sont mentionnées dans le tableau 1-5.

Tableau 1-5 : Contrôle biologique de *B. megaterium*

Espèces végétales hôtes	Organisme pathogène (maladie)	Référence
Tomate	<i>Ralstonia solanacearum</i> (flétrissement bactérien)	Nguyen et coll. 2011
Chou	<i>Plasmodiophora brassica</i>	Gao et Xu 2014
Jute	<i>Colletotrichum corchori</i>	Purkayastha et Bhattacharyya 1982
Colza oléagineux	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Hu et coll. 2013
Semences de blé et de maïs	Charbons	Kollmorgen 1976, examen dans Hosford 1982
Grains d'arachide	<i>Aspergillus flavus</i>	Kong et coll. 2010
Pomme	<i>Venturia inaequalis</i> (tavelure du pommier sur les feuilles et les fruits)	Poleatewich et coll. 2012

1.1.2.5 Biosorption des métaux et biodégradation

B. megaterium est capable d'augmenter la biodisponibilité des métaux dans les sols contaminés, dont celle du bore, du plomb et du cadmium (Esringu et coll. 2014). Une souche de *B. megaterium* isolée dans un sol forestier a réussi à solubiliser le fer, le manganèse et le cuivre provenant de phosphogypse, un produit résiduaire de la production d'engrais à partir de roche phosphatée (Ștefănescu et coll., 2011).

Certaines souches de *B. megaterium* sont capables de bioaccumulation des métaux, dont celle du cobalt, du manganèse, du nickel, du zinc, de l'uranium, de l'aluminium et du cadmium (Selenska-Pobell et coll. 1999, Rajkumar et coll. 2013). Une étude a montré une bioaccumulation de 32 mg Cr/g (poids sec) chez *B. megaterium* (Srinath et coll. 2002). Il a été rapporté que des souches de *B. megaterium* modérément halotolérantes réduisaient le sélénite (SeIV) en sélénium élémentaire rouge moins toxique (Mishra et coll. 2011).

En plus de réactions avec des métaux, *B. megaterium* peut dégrader des composés organiques, y compris l'herbicide atrazine (Marecik et coll. 2008).

1.1.2.6 Résistance aux antibiotiques, aux métaux et aux agents chimiques

Bien qu'une souche de *B. megaterium* isolée dans un milieu hospitalier au Nigéria se soit montrée résistante à 70 % des antibiotiques auxquels elle avait été soumise (Atata et coll. 2013), *B. megaterium* est généralement sensible à un plus vaste spectre d'antibiotiques que *B. cereus*, tout en étant moins universellement sensible que *B. subtilis* (Larsen et coll. 2014, Reva et coll. 1995, Sadiq et Ali 2013, Annexe D).

Les chercheurs de Santé Canada⁶ ont déterminé la concentration inhibitrice minimale d'antibiotiques contre la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* en suivant la méthode de microdilution de bouillon TREK Sensititre (Thermo Scientific) réalisée en milieu liquide (tableau 1-6 et tableau 1-7). Globalement, la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* a été inhibée par de nombreux antibiotiques testés.

Tableau 1-6 : Concentration minimale inhibitrice (CMI, µg/mL) de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* en utilisant la plaque Sensititre GPN3F en milieu liquide

Antibiotique ^a	Point de rupture (CMI en µg/mL) ^a	Résultats (CMI en µg/mL) ^a	Interprétation de la CMI ^a
Érythromycine	S ≤ 0,5, I 1-4, R ≥ 8	≤ 0,25	Sensible
Clindamycine (0,12-2)	S ≤ 0,5, I 1-2, R ≥ 4	>2	Intermédiaire
Synercid (quinupristine-dalfopristine)	S ≤ 1, I 2, R ≥ 4	2	Intermédiaire
Daptomycine	S ≤ 1, R ND	1	Sensible
Vancomycine	S ≤ 2, I 4-8, R ≥ 16	≤ 1	Sensible
Tétracycline	S ≤ 4, I 8, R ≥ 16	≤ 2	Sensible
Ampicilline	S ≤ 0,25, R ≥ 0,5	> 16	Résistant
Gentamicine	S ≤ 4, I 8, R ≥ 16	≤ 2	Sensible
Rifampicine	S ≤ 1, I 2, R ≥ 4	≤ 0,5	Sensible
Lévofloxacine	S ≤ 2, I 4, R ≥ 8	≤ 0,25	Sensible
Linézolide	S ≤ 4, R ND	2	Sensible
Pénicilline	S ≤ 0,12, R ≥ 0,25	≥ 8	Résistant
Ciprofloxacine	S ≤ 1, I 2, R ≥ 4	≤ 0,5	Sensible
Triméthoprimé/sulfaméthoxazole	S ≤ 2/38, R ≥ 4/76	≤ 0,5/9,5	Sensible
Ceftriaxone	S ≤ 8, I 16-32, R ≥ 64	≤ 8	Sensible
Gatifloxacine	S ≤ 2, I 4, R ≥ 8	≤ 1	Sensible
Oxacilline + 2 % NaCl	S ≤ 2, R ≥ 4	≤ 0,25	Sensible

ND = renseignements non disponibles; S = sensible; I = intermédiaire; R = résistant

^a Les points de rupture et les résultats de l'interprétation des CIM ont été déterminés selon les critères du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI M45-A2, et VET01-S2) (CLSI, 2012; CLSI, 2013)

Tableau 1-7 : Concentration minimale inhibitrice (CMI, µg/mL) de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* en utilisant la plaque Sensititre BOPO6F en milieu liquide

Antibiotique	Point de rupture (CMI en µg/mL) ^a	Résultats (CMI en µg/mL)	Interprétation de la CMI ^a
Ceftiofur	S ≤ 2, I 4, R ≥ 8	≤ 0,25	Sensible
Gentamicine	S ≤ 4, I 8, R ≥ 16	≤ 1	Sensible
Florfenicol	R ≥ 16 ^b	4	Sensible
Tiamulin	R ≥ 32	≥ 32	Résistant
Chlortétracycline	ND	≤ 0,5	ND
Oxytétracycline	R ≥ 16	≤ 0,5	Sensible
Pénicilline	S ≤ 0,12, R ≥ 0,25	≥ 8	Résistant
Ampicilline	S ≤ 0,25, R ≥ 0,5	>16	Résistant

⁶ Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale, Santé Canada.

Danofloxacin	ND	≤ 0,12	ND
Néomycine	ND	≤ 4	ND
Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	R ≥ 4/76	≤ 2/38	Sensible
Spectinomycine	ND	32	ND
Tartrate de tylosine ^c	S ≤ 0,25, R ≥ 32	≤ 0,5	Sensible
Tulathromycine	R ≥ 64	8	Sensible
Tilmicosine	R ≥ 32	≤ 4	Sensible
Clindamycine	S ≤ 0,5, I 1-2, R ≥ 4	≥ 16	Résistant
Sulfadiméthoxine	ND	< 256	ND
Enrofloxacin	R ≥ 4	≤ 0,12	Sensible

ND = renseignements non disponibles; S = sensible; I = intermédiaire; R= résistant

^a Les points de rupture et les résultats de l'interprétation des CIM ont été déterminés selon les critères du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI M45-A2, et VET01-S2) (CLSI, 2012; CLSI, 2013)

^b Kehrenberg et Schwarz 2006

^c Scott et coll. 2010

Les souches de *B. megaterium* sont aussi sensibles à un certain nombre de méthodes de désinfection (tableau 1-8).

Tableau 1-8 : Sensibilité de souches de *B. megaterium* à des agents désinfectants

Souche	Agent	Concentration/ effet	Référence
ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i>	Peptides d'extraction de l'amande de palme	CIM : 150 à 300 µg/mL	Tan et coll. 2011
ATCC 9885 de <i>B. megaterium</i> (spores)	Lysozyme	Réduction de 91 % de la densité optique à 50 µg/mL	Suzuki et Rode 1969
ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i> (spores)	Lysozyme	Réduction de 1 % de la densité optique à 50 µg/mL	Suzuki et Rode 1969
<i>B. megaterium</i>	Éthanol	L'éthanol à 90 % (v/v) cause une réduction ou l'absence de la croissance de colonie et une réduction de la survie des spores	Thomas 2012
<i>B. megaterium</i> (spores)	CO ₂ à pression élevée	58 atm et 60 °C pendant 30 h ont produit une réduction de l'ordre de 7 log du nombre de cellules viables (UFC)	Enomoto et coll. 1997
<i>B. megaterium</i> (spores)	Plasma atmosphérique froid ^a	> réduction de l'ordre de 6 log des UFC après 90 minutes d'exposition	Shimizu et coll. 2014
<i>B. megaterium</i> (spores)	Ozone	Concentration seuil létale : 0,19 mg/L (durée d'exposition : 5 minutes)	Broadwater et coll. 1973
ATCC 8245 de <i>B. megaterium</i>	Rayonnement gamma	La résistance est proportionnelle à la densité des spores	Salih 2001
ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i> (division	NO, NO ₂	Non affectée par des concentrations allant	Mancinelli et McKay 1983

active de la culture)		jusqu'à 1,9 ppm (NO) ou ≤ 5,5 ppm (NO ₂)	
-----------------------	--	---	--

^a Le plasma atmosphérique froid est un gaz ionisé ayant un potentiel de décontamination, qui peut être obtenu à partir de divers gaz comme l'hélium, l'argon ou l'azote (Hoffmann et coll. 2013)

Des phages lytiques ont été utilisés pour le contrôle d'espèces du groupe de *B. cereus*. Le phage lytique vB_BceM_Bc431v3 infecte toutes les souches de *B. cereus*, *B. anthracis*, *B. licheniformis*, *B. thuringiensis* et *B. weihenstephanensis*, ainsi que la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* (El-Arabi et coll. 2013).

1.1.2.7 Caractéristiques pathogènes et toxigènes

Certaines souches de *B. megaterium* possèdent des caractéristiques des espèces pathogènes de *Bacillus*, associées à la virulence, telle que l'adhérence et l'envahissement, la production de toxines et de métabolites secondaires, la formation de biofilm et l'hémolyse.

Les chercheurs de Santé Canada ont vérifié la séquence génomique complète de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* (n° d'entrée JJMH00000000.1 de la GenBank; Arya et coll. 2014) en suivant une variété de stratégies de recherche (recherches de nucléotides et de protéines). Ils n'ont trouvé aucun gène de facteur virulence majeur. Une autre étude de la séquence génomique complète de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* qui figure dans GenBank (CP009920.1, CP009916.1-CP009919.1 et CP009921.1) a donné les mêmes résultats.

1.1.2.7.1 Adhérence et envahissement

Il a été rapporté que *B. megaterium* isolée du miel adhérait et envahissait les cellules Caco-2 de l'épithélium de l'intestin chez l'homme, et le surnageant des cultures épuisées conduisait au détachement et à la nécrose des cellules Caco-2 (López et coll. 2013). Il a été montré que, bien qu'une souche de *B. megaterium* isolée d'une préparation de lait pour nourrissons ne soit pas cytotoxique, elle exhibait une capacité d'adhérence semblable à celle d'une souche de *Listeria monocytogenes*, ainsi qu'une certaine capacité d'envahissement (Rowan et coll. 2001). Il n'existe pas de preuve indiquant que la souche inscrite sur la LIS est capable d'adhérer à des cellules mammaliennes et de les envahir.

1.1.2.7.2 Toxines

Il a été déterminé qu'une souche clinique de *B. megaterium*, associée à la sepsie et à la fièvre, produisait l'entérotoxine hémolysine BL (HBL) (Rowan et coll. 2001). La présence de gènes entérotoxigènes *cytK*, *bceT* ainsi que ceux associés aux complexes HBL et NHE a été rapportée au sein de souches de *B. megaterium* isolées du miel (López et Alippi 2010, López et coll. 2013, López et Alippi 2009). Des recherches sur la séquence annotée du génome n'ont pas permis d'identifier des gènes de toxines connus ou opérons associés avec *cytK*, *bceT*, HBL ou NHE dans la souche ATCC 14581 de *B. megaterium*.

1.1.2.7.3 Autres métabolites

Chez des plantes inoculées avec des souches pathogènes de *B. megaterium*, l'enzyme pectolytique et l'enzyme cellulolytique étaient présentes, causant la désintégration et l'effondrement des tissus envahis (Abdel-Monaim et coll. 2012). Comparativement à d'autres espèces de *Bacillus*, l'activité de la xylanase et de la cellulase de deux souches de *B. megaterium* isolées d'un sol africain a été rapportée faible (Larsen et coll. 2014). Il n'existe aucune preuve suggérant que la souche inscrite sur la LIS soit en mesure de produire ces enzymes.

1.2.7.4 Formation de biofilm

Bien que les cellules de *B. megaterium* produisent un polymère de polysaccharide à base de glucose, qui peut contribuer à la formation d'un biofilm (Gandhi et coll. 1997, Welbaum et coll. 2009), deux isolats de sol de *B. megaterium* n'ont pas formé de biofilm (Larsen et coll. 2014). On ignore si la souche inscrite sur la LIS produit un biofilm.

1.2.7.5 Hémolyse

Une activité hémolytique a été mise en évidence chez 77 % des 53 souches de *B. megaterium* isolées de miel argentin (surtout du type bêta hémolytique), et 10 % de celles-ci ont généré un profil hémolytique discontinu associé typiquement à une activité d'entérotoxine. En outre, une activité de coagulase a été observée chez 74 % des souches (López et Alippi 2009). Aucune activité hémolytique n'a été observée chez la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* par les chercheurs de Santé Canada.

1.1.3 Effets

1.1.3.1 Environnement

1.1.3.1.1 Plantes

Il a été rapporté que certaines souches de *B. megaterium* sont pathogènes pour les plantes terrestres (Shark et coll. 1991), causant la brûlure bactérienne ou taches blanches sur le feuillage et les épis de blé (ministère de la Santé et du Vieillessement de l'Australie 2005, Hosford 1982, USDA 2014b). *B. megaterium* nuit à l'arbre ornemental subtropical *Radermachera sinica* (Li et coll. 2014), chez lequel son rôle pathogène a été confirmé par une réinfection expérimentale de plantes saines. Il a été rapporté que *B. megaterium* serait l'un des agents responsables du suintement muqueux et du dépérissement de la cime de certaines espèces d'arbres, surtout les ormes et les peupliers (Université de l'Illinois 1999). Six souches de *B. megaterium* ont été isolées chez des lupins malades et réinoculées dans des plantes saines qui se sont amollies en prenant une coloration gris-brun et affaissées par la suite (Abdel-Monaim et coll. 2012). Il est bon de noter que l'orge, le blé, le tournesol, la lampourde glouteron, l'épinard et 13 espèces de légumineuses ont été soumis aux deux souches les plus pathogènes et qu'aucun effet n'a été rapporté à l'exception des feuilles de la féverole qui ont présenté de petites taches nécrotiques (Abdel-Monaim et coll. 2012).

Les chercheurs d'Environnement et Changement climatique Canada ont étudié les effets chez la fétuque rouge (*Festuca rubra*) après une exposition à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* (Environnement Canada 2005). Des réplicats ont été effectués dans des récipients en polypropylène de 1 L contenant $500,0 \pm 0,5$ g de sol humide inoculé au début de l'étude avec $3,48 \times 10^8$ UFC de souche ATCC 14581 de *B. megaterium*. Au niveau de l'émergence, de la longueur des pousses et des racines et de masse, aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les plantes exposées et des plantes de référence 32 jours après l'inoculation initiale.

B. megaterium a aussi des effets bénéfiques chez les plantes terrestres à titre de rhizobactérie stimulant la croissance végétale (tableau 1-9). *B. megaterium* solubilise le phosphore (Sandeep et coll. 2011, Sadiq et Ali 2013, Xiang et coll. 2011) et minéralise l'azote organique (Sakurai et coll. 2007), rendant ainsi les éléments nutritifs du sol disponibles pour les plantes (Armada et coll. 2014, Hu et coll. 2013, Kieselburg et coll. 1984). Cet organisme produit aussi des hormones de croissance végétales (auxines), dont l'acide indole-3-acétique et des enzymes stimulent la croissance (Armada et coll. 2014, Sadiq et Ali 2013, Shaharoona et coll. 2006).

Tableau 1-9 : Activité de stimulation de la croissance par *B. megaterium* chez des plantes terrestres

Souche	Espèce traitée ou point d'isolement	Activité et mécanisme de stimulation de la croissance	Référence
ATCC 14581 de <i>B. megaterium</i>	<i>Withania somnifera</i> (plante médicinale)	Mécanisme non rapporté	Saikia et coll. 2013
<i>B. megaterium</i> A6	Colza oléagineux	Solubilisation du phosphate	Hu et coll. 2013
<i>B. megaterium</i> -GC, sous-groupe A	Tomate et concombre	Poids moyen du fruit plus élevé et possibilité d'augmenter la croissance, le rendement et le contenu minéral (mécanisme non rapporté)	Dursun et coll. 2010
<i>B. megaterium</i> en combinaison avec <i>Arthrobacter chorophenolicus</i> et <i>Enterobacter</i>	Blé	Hauteur, rendement en grain, rendement en paille et tets accrus (mécanisme non rapporté)	Kumar et coll. 2014
<i>B. megaterium</i>	Tomate	Mécanisme non rapporté	Porcel et coll. 2014
<i>B. megaterium</i>	Ruta (plante médicinale)	Mécanisme non rapporté	Patil et coll. 2013
<i>B. megaterium</i>	<i>Trifolium repens</i>	Production d'hormones de stimulation comme l'acide indole-3-acétique	Armada et coll. 2014
<i>B. megaterium</i>	Isolé de la rhizosphère et de l'intérieur de la racine de <i>Phaseolus vulgaris</i>	Production d'acide indole-3-acétique; rôle possible dans la nodulation sur les racines	Srinivasan et coll. 1996
Deux souches de <i>B. megaterium</i>	Isolées de la rhizosphère du maïs	Production d'auxine et activité de la 1-aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase (ACC désaminase)	Sadiq et Ali 2013, Shaharoona et coll. 2006

Une recherche bibliographique exhaustive n'a pas permis d'identifier d'effets nocifs de *B. megaterium* ou de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* sur les plantes aquatiques.

1.1.3.1.2 Invertébrés

Des effets nocifs de *B. megaterium* sur des invertébrés terrestres ont été observés lors d'expériences visant à explorer son potentiel comme agent de contrôle biologique. En voici plusieurs exemples.

- 10 % de mortalité chez des larves du papillon nocturne (*Hylesia metabus*) au cinquième stade larvaire inoculé avec $3-4 \times 10^7$ UFC de *B. megaterium* isolée de larves du papillon nocturne au quatrième stade larvaire (Osborn et coll. 2002).
- Effets antagonistes chez des nématodes parasites, y compris *Xiphinema index* (Aballay et coll. 2011), *Meloidogyne graminicola* (Padgham et Sikora 2007) et *Meloidogyne incognita* (Saikia et coll. 2013) : chez *M. graminicola*, *B. megaterium* a réduit la pénétration du nématode et la formation de galles dans les racines du riz, ainsi que la migration de *M. graminicola* vers la rhizosphère dans la mesure de 60 % comparativement aux œufs non exposés aux bactéries.
- Effets antagonistes chez des charançons (*Rhynchophorus ferrugineus*) et des papillons nocturnes (*Dendrolimus pini* (L)) (Bertone et coll. 2011, Hardin et Suazo 2012).
- Les métabolites secondaires de *B. megaterium* ont tué des larves de moustique (*Aedes aegypti*), mais n'étaient pas toxiques pour l'homme (Radhika et coll. 2011).
- Des isolats de *B. megaterium* ont tué des pucerons (*Aphis pomi* De Geer) (Askoy et Ozman-Sullivan 2008).

Les chercheurs d'Environnement et Changement climatique Canada ont étudié les effets chez les collemboles nivicoles (*Folsomia candida*) après une exposition à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* (Environnement Canada 2005). Des bocaux ont été remplis de 30g de sol humide et inoculé avec $9,28 \times 10^7$ UFC de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* 24 heures avant le début de l'étude. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les traitements en ce qui concerne la survie moyenne des adultes ou la production moyenne de juvéniles, 28 jours après l'inoculation initiale.

Une recherche bibliographique exhaustive n'a pas permis d'identifier de rapports indiquant que *B. megaterium* avait des effets nocifs sur des invertébrés aquatiques, à l'exception de la larve de moustique susmentionnée. Cependant, il a été rapporté que cet organisme agissait comme agent de stimulation de la croissance lorsqu'il était ajouté aux aliments pour crevettes (Olmos et coll. 2011, Yuniarti et coll., 2013).

1.1.3.1.3 Vertébrés

Une recherche bibliographique exhaustive n'a pas permis d'identifier de rapports indiquant que *B. megaterium* avait des effets nocifs sur des vertébrés aquatiques ou terrestres. Cependant, cet organisme a été ajouté à des aliments pour poissons à titre d'agent de stimulation de la croissance (Parthasarathy et Ravi 2011). En outre, la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* a été mentionnée avec d'autres bactéries dans

un brevet visant à réduire le syndrome de compression des vertèbres chez les salmonidés (Aubin et coll. 2006).

1.1.3.2 Santé humaine

En dépit de sa présence importante dans l'environnement, il est rare que des infections chez l'homme soient attribuées à *B. megaterium*. Lorsque cet organisme a été associé à une infection, il n'a pas toujours été possible de déterminer avec certitude si les isolats cliniques étaient des pathogènes opportunistes ou des contaminants (Beesley et coll. 2010). Aucun renseignement sur la participation de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* à des effets nocifs pour la santé humaine n'a été identifié.

Une souche de *B. megaterium* a été associée à la fièvre et à la sepsie chez un patient duquel elle a été isolée (Rowan et coll. 2001). Dans une étude de 89 espèces de *Bacillus* isolées d'hémocultures associées à une bactériémie significative, 13 d'entre elles étaient *B. megaterium* (Weber et coll. 1988). *B. megaterium* a été isolée d'un œil infecté dans un cas de kératite lamellaire 2 semaines après une chirurgie de l'œil (Ramos-Esteban et coll. 2006). *B. megaterium* a aussi contribué à l'infection d'une couronne dentaire (Subbiya et Mahalakshmi 2012) que l'on croyait associée à sa capacité de sécréter de la collagénase.

Dans des isolats cliniques, *B. megaterium* a été prise pour *B. anthracis*. Dans un cas, un *Bacillus* non mobile et non hémolytique, isolé d'une hémoculture et soupçonné d'être *B. anthracis*, était en fait *B. megaterium* (Dib et coll. 2003). Dans un autre cas, une infection cutanée causée par *B. megaterium* chez un jeune patient immunocompétent a été prise pour un cas d'anthrax cutané (Duncan et Smith 2011). L'infection a été traitée avec succès avec de la ciprofloxacine. Des cultures de *B. megaterium* peuvent être distinguées de celles de *B. anthracis* au moyen des caractéristiques dont nous avons discuté précédemment (1.1.1.1 Identification phénotypique et profil biochimique et 1.1.1.2 Identification moléculaire). Cependant, des méthodes microbiologiques cliniques standards utilisées pour un diagnostic préliminaire pourraient ne pas permettre de les différencier (Beesley et coll. 2010, Dib et coll. 2003).

Les espèces de *Bacillus*, y compris les souches de *B. megaterium*, isolées de produits du tabac ont été associées à des infections, des inflammations pulmonaires, des sensibilités allergiques, ainsi qu'à une exsudation plasmatique et à un dysfonctionnement des tissus de la bouche (Rooney et coll. 2005, Rubinstein et Pedersen 2002).

1.2 Gravité du danger

1.2.1 Environnement

Le potentiel de risques posés à l'environnement par la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* est considéré faible car, en dépit de l'ubiquité de *B. megaterium*, aucun effet nocif n'a été signalé au niveau de la population dans l'environnement.

B. megaterium peut avoir des effets tant bénéfiques que nocifs sur les plantes terrestres. Au Canada, la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* n'est pas reconnue comme nuisible aux plantes et, en fait, a été rapportée agir comme rhizobactérie stimulant la croissance végétale. Aucun effet nocif n'a été rapporté chez les plantes exposées à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium*, comme l'indiquent des études réalisées par des chercheurs d'Environnement et Changement climatique Canada. Bien que *B. megaterium* ou ses métabolites secondaires puissent nuire à certaines espèces d'invertébrés dans des conditions de contrôle biologique, la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* inscrite sur la LIS n'a pas causé d'effets nocifs lors de tests sur l'invertébré terrestre *Folsomia candida*. Aucun effet nocif n'a été observé sur des plantes, des invertébrés ou des vertébrés aquatiques ni sur des vertébrés terrestres. Une stimulation de la croissance a été observée chez des invertébrés aquatiques (crevettes) et des vertébrés aquatiques (poissons) nourris avec *B. megaterium* comme supplément alimentaire. Bien que la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* soit utilisée au Canada depuis plusieurs décennies, aucun rapport dans la littérature ne lui attribue d'effets nocifs sur l'environnement.

1.2.2 Santé humaine

Le potentiel de risques posés par la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* aux humains est considéré faible car, en dépit de sa large distribution dans l'environnement, l'infection d'humains causée par *B. megaterium* est très rarement rapportée. Aucun effet nocif sur l'homme n'a été attribué à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium*, et il n'a pas été montré que cette souche porte des gènes d'entérotoxines parfois associés à d'autres souches de *B. megaterium*. Les épreuves de sensibilité aux antibiotiques réalisées par des chercheurs de Santé Canada ont montré que, dans les cas improbables d'infection, les antibiotiques cliniquement pertinents sont efficaces contre cette souche.

Les risques liés à l'utilisation de microorganismes en milieu de travail devraient être classés en fonction du Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT)⁷.

2. Évaluation de l'exposition

2.1 Sources d'exposition

La présente évaluation tient compte de l'exposition à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* due à son ajout délibéré à des produits commerciaux ou à des produits de consommation et à son utilisation dans des procédés industriels au Canada.

⁷ La détermination de la conformité à l'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 une 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 des critères spécifiés dans le *Règlement sur les produits dangereux* faisant partie du cadre réglementaire du Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT), ni n'empêche une telle évaluation.

La souche ATCC 14581 de *B. megaterium* a fait l'objet d'une demande d'inscription sur la LIS à des fins d'utilisation dans des produits commerciaux ou de consommation.

Les réponses à un questionnaire facultatif envoyé en 2007 à un sous-ensemble d'entreprises de biotechnologie ainsi que les renseignements obtenus d'autres programmes fédéraux réglementaires et non réglementaires indiquent que la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* était utilisée à des fins commerciales en 2006.

Le gouvernement a procédé à une collecte obligatoire de renseignements en vertu de l'article 71 de la LCPE, 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). L'avis émis 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 14581 de *B. megaterium*, seule ou dans un mélange ou un produit. Entre 10 000 et 100 000 kg de produits contenant la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* ont été importés ou fabriqués au Canada en 2008 afin d'être utilisés pour diverses applications commerciales, industrielles ou de consommation.

La souche ATCC 14581 de *B. megaterium* peut être achetée auprès de l'ATCC. Étant donné qu'elle est inscrite sur la Liste intérieure (LIS), elle peut être utilisée au Canada, en vertu de la LCPE, sans avis préalable et pourrait s'avérer un choix judicieux à des fins de commercialisation. Une recherche dans le domaine public (Internet, bases de données sur des brevets, FS, etc.) a mis en évidence les applications suivantes à des fins commerciales, industrielles et de consommation d'autres souches de *B. megaterium*. Ces applications représentent des utilisations possibles de la souche inscrite sur la LIS, étant donné que la souche ATCC 14581 est susceptible de posséder des caractéristiques (modes d'action) observées chez d'autres souches de *B. megaterium* commercialisées. La croissance sur le marché des produits « plus verts » à base de micro-organismes pour les applications tant commerciales que de consommation pourrait contribuer à augmenter l'exposition humaine directe à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium*, en raison d'applications potentielles dans de tels produits (Spök et Klade 2009).

À savoir :

- comme organisme de production ou de modification pour une variété de produits biochimiques et de biopolymères (Kieselburg et coll. 1984, Honorat et coll. 1990, Shark et coll. 1991, examiné dans Vary 1994, Xu et coll. 1997, Schallmeyer et coll. 2004, Biedendieck et coll. 2007, Shimizu et coll. 2007, Obruca et coll., 2009, Muffler et coll. 2011, Hastings et coll. 2013, Mohammed et coll. 2014);
- à des fins de contrôle biologique (Branly et Atkins 2001, Product sheet 2004, Chowdhary et coll. 2007, Drahos et Petersen 2010);
- à des fins de biodégradation (Saxena et coll. 1987, Quinn et coll. 1989, Bianchi et coll. 2008, Marecik et coll. 2008, Singh et coll. 2013);
- à des fins de biorestauration (Esringu et coll. 2014);
- à des fins de traitement des eaux usées (Bianchi et coll. 2007);

- dans les produits commerciaux de nettoyage et de désodorisation pour l'entretien de canalisations et de fosses septiques (Calfarme 2010, Vandini et coll. 2014);
- pour la précipitation de la calcite afin d'améliorer la résistance du béton modifié en ajoutant des cendres volantes (Achal et Pan 2011, Dhami et coll. 2013, Soon et coll. 2014);
- à des fins de biolixiviation ou de « biohydrométallurgie » (Vasanthakumar et coll. 2013);
- à des fins de biosynthèse rapide de nanoparticules d'argent (Saravanan et coll. 2011);
- comme biomarqueur (Lillehoj et Ciegler 1970, Garvey et coll. 2013, Verma et coll. 2013);
- comme additif alimentaire en aquaculture (Aubin et coll. 2006) et comme probiotique (Barbosa et coll. 2005, Olmos et coll. 2011, Parthasarathy et Ravi 2011, Yuniarti et coll. 2013);
- pour la production d'agents aromatiques alimentaires (Taupp et coll. 2005);
- comme adjuvant modulateur du système immunitaire chez la souris (Ruiz-Bravo et coll. 1981).

2.2 Caractérisation de l'exposition

2.2.1 Environnement

D'après la large gamme d'utilisations déclarées en réponse à un avis publié en vertu de l'article 71, l'exposition dans l'environnement à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* devrait se situer à un niveau moyen.

L'importance de l'exposition dans l'environnement à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* dépendra de la nature, de la quantité, de la durée et de la fréquence des utilisations ainsi que de la persistance et de la survie de la souche dans le milieu où elle est rejetée. Il a été démontré que la concentration des cellules végétatives de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* introduites dans le sol avait diminué de deux ordres de grandeur en 105 jours (Providenti et coll. 2009). Il est peu probable que de grandes quantités de cellules végétatives restent dans l'eau ou dans 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 14581 de *B. megaterium* résistent mieux à des conditions défavorables que les cellules végétatives. Il est peu probable que les populations de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* survivent en tant que cellules végétatives dans le sol et l'eau, étant donné qu'elles ont peu d'avantages concurrentiels par rapport aux populations présentes naturellement et qu'elles seraient sujettes à la prédation et à la concurrence sur le plan des éléments nutritifs par la flore indigène. Les spores de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* persisteront probablement dans l'environnement et pourraient même s'y accumuler.

L'exposition aquatique à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* devrait être la plus importante pour les organismes à proximité d'applications directes dans des écosystèmes aquatiques à des fins de traitement des eaux. Les espèces aquatiques peuvent aussi être exposées à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* en raison de son introduction dans les eaux usées suite à l'utilisation de produits commerciaux ou de consommation et au ruissellement associé à des applications terrestres.

L'exposition terrestre à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* due à son rejet lors d'applications agricoles, de biodégradation, de biorestauration ou de biolixiviation devrait avoir lieu à proximité de sites traités.

L'exposition aquatique ou terrestre à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* due aux rejets par des installations de production d'enzymes ou de produits biochimiques devrait être limitée en utilisant de bons procédés de fabrication (par exemple, respecter les règlements municipaux et provinciaux sur les eaux usées).

2.2.2 Santé humaine

En se basant sur la large gamme d'utilisations déclarées en réponse à un avis publié en vertu de l'article 71, l'exposition humaine à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* devrait se situer à un niveau moyen. Elle devrait être la plus élevée lors de l'utilisation directe de produits de consommation contenant des spores ou des cellules viables. La manipulation et l'application de tels produits devrait entraîner une exposition directe de la peau et l'inhalation de gouttelettes d'aérosol ou de spores soulevées dans l'air. L'ingestion fortuite après une utilisation sur ou près de surfaces de préparation alimentaire et le contact avec les yeux constituent des voies d'exposition secondaires possibles. La croissance sur le marché de produits « plus verts » à base de microorganismes pourrait contribuer à une augmentation de l'exposition humaine directe à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium*, qui a des applications potentielles dans ces produits (Spök et Klade 2009).

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 produits agricoles ou de biodégradation. Le degré d'exposition fortuite dépendra du mode d'application, du volume appliqué et de la proximité des tierces personnes du site de l'application. En général, l'exposition devrait être faible pour de telles applications.

L'exposition humaine indirecte à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* rejetée dans l'environnement suite à son utilisation pour le traitement de l'eau, des applications agricoles ou de biodégradation devrait également se produire à proximité des sites traités, mais devrait être moins importante que l'exposition directe due à l'utilisation de ces organismes dans des produits de consommation. Le contact humain avec des plans d'eau traités avec la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* (p. ex., dans le cadre d'activités récréatives) pourrait mener fortuitement à une exposition de la peau et des yeux ainsi qu'à une ingestion. Cependant, la dilution de ces produits devrait réduire de façon significative l'exposition comparativement à celle due à l'utilisation de produits de

consommation. L'activité humaine sur des sols récemment traités avec la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* pourrait conduire au soulèvement de spores dans l'air, qui pourraient conduire à une inhalation ou une exposition de la peau et des yeux. Cependant, une telle exposition devrait être faible comparativement à celle due à l'utilisation directe de produits de consommation.

Au cas où des spores de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* pénétreraient dans les sources d'eau de stations municipales de traitement de l'eau potable après un rejet faisant suite à des utilisations 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.

3. Caractérisation des risques

Dans la présente évaluation, le risque est caractérisé selon un paradigme qui veut qu'un danger et l'exposition à ce danger sont tous deux nécessaires 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 au sujet de l'exposition due aux utilisations actuelles.

Le danger représenté par la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* est estimé faible tant pour l'environnement que pour la santé humaine. En se basant sur la large gamme d'utilisations rapportées de cette souche, l'exposition dans l'environnement et l'exposition des humains à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* est estimée d'un niveau moyen. Le risque associé aux utilisations actuelles est donc aussi estimé faible pour l'environnement et la santé humaine.

La détermination du risque posé par les utilisations actuelles est suivie en tenant compte du danger estimé et des futures expositions prévisibles (découlant de nouvelles utilisations).

La souche ATCC 14581 de *B. megaterium* a des propriétés qui la rendent propre à une utilisation toute une gamme de produits, et il y a des raisons d'envisager de nouvelles utilisations de cette souche. En particulier, la demande croissante sur le marché pour des produits de nettoyage « plus verts » à base de microorganismes pourrait contribuer à augmenter l'exposition humaine à la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* en raison de son application possible dans ces produits (Spök et Klade 2009, Vandini et coll. 2014). Toutefois, le risque posé par de futures utilisations prévisibles devrait également être faible, compte tenu du faible danger associé à cette souche.

4. Conclusion

Compte tenu de tous les éléments de preuve contenus dans la présente évaluation préalable, il est conclu que la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* 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 donc que cette substance ne satisfait pas aux critères de l'article 64 de la LCPE.

Références

- Aballay, E., Martensen, A., et Persson, P. (2011). Screening of rhizosphere bacteria from grapevine for their suppressive effect on *Xiphinema index* Thorne & Allen on in vitro grape plants. *Plant Soil* 347, 313-325.
- Abdel-Monaim, M.K., Gabr, M.R., El-Gantiry, S.M., Shaat, M.N., et El-Bana, A.A. (2012). *Bacillus megaterium*, a new pathogen on lupine plants in Egypt. *J Bacteriol Res* 4, 24-32.
- Achal, V., et Pan, X. (2011). Characterization of urease and carbonic anhydrase producing bacteria and their role in calcite precipitation. *Curr Microbiol* 62, 894-902.
- ACIA. (2011). Organismes qui ne requièrent aucun permis d'importation de la Division de la protection des végétaux
- ACIA. (2014). Parasites réglementés par le Canada.
- Allen, D., Austin, B., et Colwell, R. (1983). Numerical taxonomy of bacterial isolates associated with a freshwater fishery. *J Gen Microbiol* 129, 2043-2062.
- Araújo, W.L., Jr, W.M., Aguilar-Vildoso, C.I., Barroso, P.A., Saridakis, H.O., et Azevedo, J.L. (2001). Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. *Can J Microbiol* 47, 229-236.
- Armada, E., Portela, G., Roldán, A., et Azcón, R. (2014). Combined use of beneficial soil microorganism and agrowaste residue to cope with plant water limitation under semiarid conditions. *Geoderma* 232-234, 640-648.
- Arya, G., Petronella, N., Crosthwait, J., Carrillo, C.D., et Shwed, P.S. (2014). Draft Genome Sequence of *Bacillus megaterium* Type Strain ATCC 14581. *Genome Announc* 2, e01124-14.
- Ash, C., Farrow, J.A.E., Wallbanks, S., et Collins, M.D. (1991). Phylogenetic heterogeneity of the genus *Bacillus* revealed by comparative analysis of small-subunit-ribosomal RNA sequences. *Lett Appl Microbiol* 13, 202-206.
- Askoy, H.M., et Ozman-Sullivan, S.K. (2008) Isolation of *Bacillus Megaterium* from *Aphis pomi* (Homoptera: Aphididae) and Assessment of Its Pathogenicity. *J Plant Pathol* 90, 449-452.
- ASPC. (2014). Fiches techniques santé-sécurité : agents pathogènes, et évaluation des risques. Agence de la santé publique du Canada.
- Atata, R.F., Ibrahim, Y.K.E., Giwa, A., et Akanbi II, A.A.A. (2013). Antibiotics resistance profile of bacterial isolates from surgical site and hospital environment in a university teaching hospital in Nigeria. *JMMS* 4, 181-187.
- ATCC. (2013). Product sheet: *Bacillus megaterium* (ATCC® 14581™). ATCC 1-2.
- ATCC. (2014). American Type Culture Collection : *Bacillus megaterium* de Bary (ATCC® 14581™). <http://atcc.org/Products/All/14581.aspx>
- Aubin, J., Labbe, L., Gatesoupe, J.F., et Lebrun, L. (2006). Publication de demande de brevet américain : Use of bacilli bacteria in order to produce a composition for the

prevention of vertebral compression syndrome in salmonids. US Patents 10/562, 204, 1-11.

Austin, B., Allen, D., Zachary, A., Belas, M., et Colwell, R. (1979). Ecology and taxonomy of bacteria attaching to wood surfaces in a tropical harbor. *Can J Microbiol* 25, 447-461.

Australian Government Department of Health and Ageing. (2005). The Biology and Ecology of Bread Wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.) in Australia.

Barbosa, T.M., Serra, C. R., Ragione, R.M.L., Woodward, M.J., et Henriques, A.O. (2005). Screening for *Bacillus* isolates in the broiler gastrointestinal tract. *Appl Environ Microbiol* 71, 968-978.

BAuA. (2010). Technical Rules for Biological Agents: Classification of Prokaryotes (Bacteria and Archaea) into Risk Groups. Fed Inst Occupational Safety Health TRBA 466

Bédard, J., et Lefebvre, G.M. (1989). L-alanine and inosine enhancement of glucose triggering in *Bacillus megaterium* spores. *Can J Microbiol* 35, 760-763.

Beesley, C.A., Vanner, C.L., Helsel, L.O., Gee, J.E., et Hoffmaster, A.R. (2010). Identification and characterization of clinical *Bacillus* spp. isolates phenotypically similar to *Bacillus anthracis*. *FEMS Microbiol Lett* 313, 47-53.

Berkeley, R.C.W., Logan, N.A., Shute, L.A., et Capey, A.G. (1984). Identification of *Bacillus* Species. *Methods Microbiol* 16, 291-328.

Bertone, C., Michalak, P., et Roda, A. (2011). New Pest Response Guidelines . Red Palm Weevil *Rynchophorus ferrugineus*.

Bianchi, G., Benedusi, M., et Altheimer, L. (2007). Waste water treatment. CIP0 CA 2629217.

Bianchi, G., Benedusi, M., et Altheimer, L. (2008). Bag for the collection of organic waste and method for its manufacturing. WIPO Patent Application WO/2008/135845 Kind Code : A1.

Biedendieck, R., Yang, Y., Deckwer, W.D., Malten, M., et Jahn, D. (2007). Plasmid system for the intracellular production and purification of affinity-tagged proteins in *Bacillus megaterium*. *Biotechnol Bioeng* 96, 525-537.

Branly, K., et Atkins, R. (2001). Agricultural compositions containing bacteria.

Broadwater, W.T., Hoehn, R.C., et King, P.H. (1973). Sensitivity of three selected bacterial species to ozone. *Appl Microbiol* 26, 391-393.

Brown, M.R.W., et Hodges, N.A. (1974). Growth and sporulation characteristics of *Bacillus megaterium* under different conditions of nutrient limitation. *J Pharm Pharmac* 26, 217-227.

Buchanan, R. E., Breed, R. S., St. John-Brooks, R. (1951). "Opinion 1. The Correct Spelling of the Specific Epithet in the Species Name *Bacillus Megaterium* De Bary 1884: Approved by the Judicial Commission of the International Committee on Bacteriological Nomenclature". *Int B Bact Nomencl T* 1, 35–36.

- Bulushi, I.M.A., Poole, S.E., Barlow, R., Deeth, H.C., et Dykes, G.A. (2010). Speciation of Gram-positive bacteria in fresh and ambient-stored sub-tropical marine fish. *Int. J Food Microbiol* 138, 32-38.
- Calfarme. (2010). Calfarme Waterless Urinal Cleaner & Deodorizer/Drain & Septic System Maintainer.
- Chowdhary, P.K., Keshavan, N., Nguyen, H.Q., Peterson, J.A., González, J.E., et Haines, D.C. (2007). *Bacillus megaterium* CYP102A1 oxidation of acyl homoserine lactones and acyl homoserines. *Biochemistry (N. Y.)* 46, 14429-14437.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2012). Method for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; Approved Guideline- Second Edition M45-A2:30 no.18. 30
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2013). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; second informational supplement, VET01-S2. CLSI Document VET01-S2.
- Coleman, W.H., Zhang, P., Li, Y.Q., et Setlow, P. (2010). Mechanism of killing of spores of *Bacillus cereus* and *Bacillus megaterium* by wet heat. *Lett Appl Microbiol* 50, 507-514.
- Commission européenne. (2010). Directive 2000/54/CE du Parlement européen et du Conseil du 18 septembre 2000 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail (septième directive particulière au sens de l'article 16, paragraphe 1, de la directive). CE 54.
- Cottyn, B., Regalado, E., Lanoot, B., Cleene, M.D., Mew, T.W., et Swings, J. (2001). Bacterial populations associated with rice seed in the tropical environment. *Phytopathology* 91, 282-292.
- Daligault, H.E., Davenport, K.W., Minogue, T.D., Bishop-Lilly, K.A., Broomall, S.M., Bruce, D.C., Chain, P.S., Coyne, S.R., Frey, K.G., Gibbons, H.S., et coll. (2014). Twenty Whole-Genome *Bacillus* sp. Assemblies. *Genome Announc* 2, e00958.
- de Bary, A. (1884). *Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozen und Bakterien*. Wilhelm Engelmann, Leipzig, 500.
- Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen (DSMZ). (2014). *Bacillus megaterium* de Bary 1884. http://www.dsmz.de/catalogues/details/culture/DSM-32.html?tx_dsmzresources_pi5%5BreturnPid%5D=304
- Dhami, N.K., Reddy, M.S., et Mukherjee, A. (2013). Biomineralization of calcium carbonate polymorphs by the bacterial strains isolated from calcareous sites. *J Microbiol Biotechn* 23, 707-714.
- Dib, E.G., Dib, S.A., Korkmaz, D.A., Mobarakai, N.K., et Glaser, J.B. (2003). Nonhemolytic, nonmotile gram-positive rods indicative of *Bacillus anthracis*. *Emerg Infect Dis* 9, 1013-1015.
- Drahos, D., et Petersen, S. (2010). Methods, compositions and systems for controlling fouling of a membrane. US Patents 12/942, 610, 1-27.

- Drucker, D.B., et Whittaker, D.K. (1971). Microstructure of colonies of rod-shaped bacteria. *J Bacteriol* 108, 515-525.
- Duncan, K.O., et Smith, T.L. (2011). Primary cutaneous infection with *Bacillus megaterium* mimicking cutaneous anthrax. *J Am Acad Dermatol* 65, e60-1.
- Dursun, A., Ekinici, M., et Donmez, M.F. (2010). Effects of Foliar Application of Plant Growth Promoting Bacterium on Chemical Contents, Yield and Growth of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) and Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Pak J Bot* 42, 3349-3356.
- EFSA (European Food Safety Authority). (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-Arabi, T.F., Griffiths, M.W., She, Y.M., Villegas, A., Lingohr, E.J., et Kropinski, A.M. (2013). Genome sequence and analysis of a broad-host range lytic bacteriophage that infects the *Bacillus cereus* group. *Virology* 48, 422-434.
- Enomoto, A., Nakamura, K., Hakoda, M., et Amaya, N. (1997). Lethal effect of high-pressure carbon dioxide on a bacterial spore. *J Ferment Bioeng* 83, 305-307.
- Environnement Canada. (2005). An Assessment of the Pathogenicity and/or Toxicity of *Bacillus licheniformis*, *B. megaterium*, *B. amyloliquefaciens*, *B. polymyxa*, *Paenibacillus polymyxa*, *B. circulans*, and *B. subtilis* on Terrestrial Organisms in Soil. Environnement Canada 1-30.
- Eppinger, M., Bunk, B., Johns, M.A., Edirisinghe, J.N., Kutumbaka, K.K., Koenig, S.S., Creasy, H.H., Rosovitz, M.J., Riley, D.R., Daugherty, S., et coll. (2011). Genome sequences of the biotechnologically important *Bacillus megaterium* strains QM B1551 and DSM319. *J Bacteriol* 193, 4199-4213.
- Ercolani, G. (1978). *Pseudomonas savastanoi* and other bacteria colonizing the surface of olive leaves in the field. *J Gen Microbiol* 109, 245-257.
- Esringu, A., Turan, M., Gunes, A., et Rustu, M. (2014). Roles of *Bacillus megaterium* in Remediation of Boron, Lead, and Cadmium from Contaminated Soil. *Commun Soil Sci Plant Anal* 45, 1741-1759.
- Euzéby, J.P., et Tindall, B.J. (2004) Valid publication of new names or new combinations: making use of the Validation Lists. *ASM News*. 70, 258-259.
- Ewing, D. (1971). Streptomycin resistance in *Bacillus megaterium*. *Mutat Res* 12, 315-319.
- Fajardo-Cavazos, P., et Nicholson, W. (2006). *Bacillus* endospores isolated from granite: close molecular relationships to globally distributed *Bacillus* spp. from endolithic and extreme environments. *Appl Environ Microbiol* 72, 2856-2863.
- Gandhi, H.P., Ray, R.M., et Patel, R.M. (1997). Exopolymer production by *Bacillus* species. *Carbohydr Polym* 34, 323-327.

- Gao, W., Smith, D., et Li, Y. (2007). Effects of Freezing on the Survival of *Escherichia coli* and *Bacillus* and Response to UV and Chlorine After Freezing. *Water Environ Res* 79, 507-513.
- Gao, Y., et Xu, G. (2014). Development of an Effective Nonchemical Method against *Plasmodiophora brassicae* on Chinese Cabbage. *Int J Agron* 2014, 1-5.
- Garvey, M., Clifford, E., O'Reilly, E., et Rowan, N.J. (2013). Efficacy of Using Harmless *Bacillus* Endospores to Estimate the Inactivation of *Cryptosporidium parvum* Oocysts in Water. *J Parasitol* 99, 448-452.
- Ghosh, S., et Setlow, P. (2009). Isolation and characterization of superdormant spores of *Bacillus* species. *J Bacteriol* 191, 1787-1797.
- Gordon, R., Haynes, W., et Pang, C. (1973). The genus *Bacillus*. US Department of Agriculture Handbook 109-126.
- Gouvernement du Canada. (2009). Loi sur les agents pathogènes humains et les toxines. (L.C. 2009, ch. 24).
- Hardin, J., et Suazo, A. (2012). New Pest Response Guidelines. *Dendrolimus Pine Moths*. USDA (Département de l'agriculture des États-Unis), 1-200.
http://www.aphis.usda.gov/import_export/plants/manuals/emergency/downloads/dendrolimus.pdf.
- Hastings, W.J., Ritter, M.A., Chamakura, K.R., et Everett, G.F.K. (2013). Complete Genome of *Bacillus megaterium* Siphophage Staley. *Genome Announcements* 1, 10.1128/genomeA.00864-13.
- Hillesland, H., Read, A., Subhadra, B., Hurwitz, I., McKelvey, R., Ghosh, K., Das, P., et Durvasula, R. (2008). Identification of aerobic gut bacteria from the kala azar vector, *Phlebotomus argentipes*: a platform for potential paratransgenic manipulation of sand flies. *Am J Trop Med Hyg* 79, 881-886.
- Hoffmann, C., Berganza, C., et Zhang, J. (2013). Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology. *Med GasRes* 3, 21-9912-3-21.
- Honorat, A., Monot, F., et Ballerini, D. (1990). Synthesis of L-alanine and L-valine by enzyme systems from *Bacillus megaterium*. *Enzyme Microb Technol* 12, 515-520.
- Hosford, R.M. (1982). White blotch incited in wheat by *Bacillus megaterium* pv. *cerealis*. *Phytopathology* 72, 1453-1459.
- Hu, X., Roberts, D.P., Xie, L., Maul, J.E., Yu, C., Li, Y., Zhang, S., et Liao, X. (2013). Development of a biologically based fertilizer, incorporating *Bacillus megaterium* A6, for improved phosphorus nutrition of oilseed rape. *Can J Microbiol* 59, 231-236.
- Kavamura, V.N., Santos, S.N., Silva, J.L., Parma, M.M., Avila, L.A., Visconti, A., Zucchi, T.D., Taketani, R.G., Andreote, F.D., et Melo, I.S. (2013). Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. *Microbiol Res* 168, 183-191.
- Kehrenberg, C., Schwarz, S. 2006. Distribution of florfenicol resistance genes *fexA* and *cfr* among chloramphenicol-resistant *Staphylococcus* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 50, 1156-1163

- Khoury, P.H., Lombardi, S.J., et Slepecky, R.A. (1987). Perturbation of the Heat Resistance of Bacterial Spores by Sporulation Temperature and Ethanol. *Curr Microbiol* 15, 15-19.
- Kieselburg, M.K., Weickert, M., et Vary, P.S. (1984). Analysis of Resident and Transformant Plasmids in *Bacillus megaterium*. *Nat Biotechnol* 2, 254-259.
- Kong, Q., Shan, S., Liu, Q., Wang, X., et Yu, F. (2010). Biocontrol of *Aspergillus flavus* on peanut kernels by use of a strain of marine *Bacillus megaterium*. *Int J Food Microbiol* 139, 31-35.
- Kumar, A., Maurya, B.R., et Raghuwanshi, R. (2014). Isolation and characterization of PGPR and their effect on growth, yield and nutrient content in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biocatal Agri Biotechnol* 3, 121-128.
- Kurtzman, C.P., Rogers, R., et Hesseltine, C.W. (1971). Microbiological spoilage of mayonnaise and salad dressings. *Appl Microbiol* 21, 870-874.
- Laaberki, M., et Dworkin, J. (2008). Death and survival of spore-forming bacteria in the *Caenorhabditis elegans* intestine. *Symbiosis* 46, 95-100.
- Lapage, S.P., Hill, L.R., Midgley, J., et Shelton, J.E. (1967). Annotations from the NCTC on the List of Type and Reference Strains of Bacteria, Sneath et Skerman 1966. *Int J Syst Bacteriol* 17, 93-103.
- Larsen, N., Thorsen, L., Kpikpi, E.N., Stuer-Lauridsen, B., Cantor, M.D., Nielsen, B., Brockmann, E., Derkx, P.M., et Jespersen, L. (2014). Characterization of *Bacillus* spp. strains for use as probiotic additives in pig feed. *Appl Microbiol Biotechnol* 98, 1105-1118.
- Li, Y.L., Zhou, Z., et Yuan, Y.C. (2014). First Report of a Leaf Spot of *Radermachera sinica* in China Caused by *Bacillus megaterium*. *Plant Dis* 98, 1425.
- Lillehoj, E.B., et Ciegler, A. (1970). Aflatoxin B1 induction of lysogenic bacteria. *Appl Microbiol* 20, 782-785.
- Liu, L., Li, Y., Zhang, J., Zou, W., Zhou, Z., Liu, J., Li, X., Wang, L., et Chen, J. (2011). Complete genome sequence of the industrial strain *Bacillus megaterium* WSH-002. *J Bacteriol* 193, 6389-6390.
- Liu, Z., et Sinclair, J.B. (1993). Colonization of soybean roots by *Bacillus megaterium* B 153-2-2. *Soil Biol Biochem* 25, 849-855.
- Logan, N.A., et Berkeley, R.C.W. (1984). Identification of *Bacillus* strains using the API system. *J Gen Microbiol* 130, 1871-1882.
- Logan, N.A., et De Vos, P. (2009) Genus I. *Bacillus*. Dans *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, deuxième édition, Volume 3 : The Firmicutes, P. De Vos, G.M. Garrity, D. Jones, N.R. Krieg, W. Ludwig, F.A. Rainey, K.-H. Shleifer et W.B. Whitman, dir. de publ. (Springer Dordrecht Heidelberg London New York), p. 21-127.
- López, A.C., et Alippi, A.M. (2009). Diversity of *Bacillus megaterium* isolates cultured from honeys. *LWT-Food Sci. Technol.* 42, 212-219.

- López, A.C., et Alippi, A.M. (2010). Enterotoxigenic gene profiles of *Bacillus cereus* and *Bacillus megaterium* isolates recovered from honey. *Rev Argent Microbiol* 42, 216-225.
- López, A.C., Minnaard, J., Perez, P.F., et Alippi, A.M. (2013). In vitro interaction between *Bacillus megaterium* strains and Caco-2 cells. *Int Microbiol* 16, 27-33.
- López, N.I., Floccari, M.E., Steinbüchel, A., García, A.F., et Mébdez, B.S. (1995). Effect of poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) content on the starvation-survival of bacteria in natural waters. *FEMS Microbiol Ecol* 16, 95-102.
- Lopez-Diez, E.C., et Goodacre, R. (2004). Characterization of microorganisms using UV resonance Raman spectroscopy and chemometrics. *Anal Chem* 76, 585-591.
- Lushniak, B., et Mattorano, D. (1994). Health Hazard Evaluation Report. n° 93-0928
- Marecik, R., Króliczak, P., Czaczyk, K., Białas, W., Olejnik, A., et Cyplik, P. (2008). Atrazine degradation by aerobic microorganisms isolated from the rhizosphere of sweet flag (*Acorus calamus* L.). *Biodegradation* 19, 293-301.
- McInroy, J.A., et Kloepper, J.W. (1995). Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. *Plant Soil* 173, 337-342.
- Mishra, R.R., Prajapati, S., Das, J., Dangar, T.K., Das, N., et Thatoi, H. (2011). Reduction of selenite to red elemental selenium by moderately halotolerant *Bacillus megaterium* strains isolated from Bhitarkanika mangrove soil and characterization of reduced product. *Chemosphere* 84, 1231-1237.
- Mohammed, Y., Lee, B., Kang, Z., et Du, G. (2014). Development of a two-step cultivation strategy for the production of vitamin B12 by *Bacillus megaterium*. *Microb Cell Fact* 13, 102-112.
- Muffler, K., Leipold, D., Scheller, M., Haas, C., Steingroewer, J., Bley, T., Neuhaus, H.E., Mirata, M.A., Schrader, J., et Ulber, R. (2011). Biotransformation of triterpenes. *Process Biochem* 46, 1-15.
- Mundt, J.O., et Hinkle, N.F. (1976). Bacteria within ovules and seeds. *Appl Environ Microbiol* 32, 694-698.
- Namjoshi, K., Johnson, S., Montello, P., et Pullman, G.S. (2010). Survey of bacterial populations present in US-produced linerboard with high recycle content. *J Appl Microbiol* 108, 416-427.
- Newcombe, D.A., Schuerger, A.C., Benardini, J.N., Dickinson, D., Tanner, R., et Venkateswaran, K. (2005). Survival of spacecraft-associated microorganisms under simulated martian UV irradiation. *Appl Environ Microbiol* 71, 8147-8156.
- Nguyen, M.T., Ranamukhaarachchi, S.L., et Hannaway, D.B. (2011). Efficacy of Antagonist Strains of *Bacillus megaterium*, *Enterobacter cloacae*, *Pichia guilliermondii* and *Candida ethanolica* against Bacterial Wilt Disease of Tomato. *J Phytopathol* 3, 1-10.
- NLDCB. (2013). Canadian Biosafety Standards and Guidelines (CBSG) for Facilities Handling Human and Terrestrial Animal Pathogens, Prions, and Biological Toxins (Normes et lignes directrices canadiennes sur la biosécurité destinées aux installations qui manipulent des pathogènes pour l'homme et les animaux terrestres, des

prions et des toxines biologiques) : Première édition. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/index-fra.php>

Obruca, S., Marova, I., Melusova, S., et Ondruska, V. (2009). Production of polyester-based bioplastics by *Bacillus megaterium* grown on waste cheese whey substrate under exogenous stress. *New Biotechnol* 25S, S257.

Olmos, J., Ochoa, L., Paniagua-Michel, J., et Contreras, R. (2011). Functional feed assessment on *Litopenaeus vannamei* using 100% fish meal replacement by soybean meal, high levels of complex carbohydrates and *Bacillus* probiotic strains. *Mar Drugs* 9, 1119-1132.

Orrell, T. (2015). ITIS Global: The Integrated Taxonomic Information System (version Mar 2015). Dans : Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 23 juin 2015 (Roskov Y., Abucay, L., Orrell, T., Nicolson, D., Kunze, T., Culham, A., Bailly, N., Kirk, P., Bourgoin, T., DeWalt, R.E., Decock, W., De Wever, A., dir. de publ.). Ressource numérique à www.catalogueoflife.org/col. Species 2000 : Naturalis, Leiden (Pays-Bas)

Osborn, F., Berlioz, L., Vitelli-Flores, J., Monsalve, W., Dorta, B., et Lemoine, V.R. (2002). Pathogenic effects of bacteria isolated from larvae of *Hylesia metabus* Crammer (Lepidoptera : Saturniidae). *J Invertebr Pathol* 80, 7-12.

Padgham, J.L., et Sikora, R.A. (2007). Biological control potential and modes of action of *Bacillus megaterium* against *Meloidogyne graminicola* on rice. *Crop Prot* 26, 971-977.

Parthasarathy, R., et Ravi, D. (2011). Probiotic bacteria as growth promoter and biocontrol agent against *Aeromonas hydrophila* in *Catla catla* (Hamilton, 1922). *Indian J Fish* 58, 87-93.

Patil, H.S.R., Naik, T.V., Avin, B.R.V., et Sayeswara, H.A. (2013). Isolation and molecular characterization of *Bacillus megaterium* isolated from various agro climatic zones of Karnataka and its effect on medicinal plant *Ruta gladiolus*. *Curr Res Microbiol Biotechnol* 1, 173-182.

Perestelo, F., Falcón, M.A., Pérez, M.L., Roig, E.C., et de la Fuente Martin, G. (1989). Bioalteration of kraft pine lignin by *Bacillus megaterium* isolated from compost piles. *J Ferment Bioeng* 68, 151-153.

Poleatewich, A.M., Ngugi, H.K., et Backman, P.A. (2012). Assessment of Application Timing of *Bacillus* spp. to Suppress Pre- and Postharvest Diseases of Apple. *Plant Dis* 96, 211-220.

Porcel, R., Zamarreno, A.M., Garcia-Mina, J.M., et Aroca, R. (2014). Involvement of plant endogenous ABA in *Bacillus megaterium* PGPR activity in tomato plants. *BMC Plant Biology* 14, 36-2229-14-36.

Priya, J.D., Divakar, K., Prabha, M.S., Selvam, G.P., et Gautam, P. (2014). Isolation, purification and characterisation of an organic solvent-tolerant Ca²⁺-dependent protease from *Bacillus megaterium* AU02. *Appl Biochem Biotechnol* 172, 910-932.

Product sheet. (2004). Turf Pro USA - Liquid Products, Class A, Non-pathogenic, *Bacillus* spores Added. http://www.turfprousa.com/bacillus_sproes_added_2004a.html.

- 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.
- Purkayastha, R., et Bhattacharyya, B. (1982). Antagonism of micro-organisms from jute phyllosphere towards *Colletotrichum corchori*. *T Brit Mycol Soc* 78, 509-513.
- Quingming, Y., et Zongping, X. (1997). Rapid Classification of *Bacillus* Isolates Using RAPD Technique. *Univ. Wuhan J Nat Sci* 2, 105-109.
- Quinn, J.P., Peden, J.M.M., et Dick, R.E. (1989). Carbon-phosphorus bond cleavage by Gram-positive and Gram-negative soil bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol* 31, 283-287.
- Radhika, D., Ramathilaga, A., Prabu, C.S., et Murugesan, A. (2011). Evaluation of larvicidal activity of soil microbial isolates (*Bacillus* and *Acinetobacter* Sp.) against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) - the vector of Chikungunya and Dengue. *Proc Int Acad Ecol Environ Sci* 1, 169-178.
- Raj, A., Reddy, M.K., Chandra, R., Purohit, H.J., et Kapley, A. (2007). Biodegradation of kraft-lignin by *Bacillus* sp. isolated from sludge of pulp and paper mill. *Biodegradation* 18, 783-792.
- Rajkumar, M., Ma, Y., et Freitas, H. (2013). Improvement of Ni phytostabilization by inoculation of Ni resistant *Bacillus megaterium* SR28C. *J Environ Manage* 128, 973-980.
- Ramos-Esteban, J.C., Servat, J.J., Tauber, S., et Bia, F. (2006). *Bacillus megaterium* delayed onset lamellar keratitis after LASIK. *J Refract Surg* 22, 309-312.
- Reva, O.N., Vyunitskaya, V.A., Reznik, S.R., Kozachko, I.A., et Smirnov, V.V. (1995). Antibiotic susceptibility as a taxonomic characteristic of the genus *Bacillus*. *Int J Syst Bacteriol* 45, 409-411.
- Rilfors, L., Wieslander, A., et Stahl, S. (1978). Lipid and protein composition of membranes of *Bacillus megaterium* variants in the temperature range 5 to 70 degrees C. *J Bacteriol* 135, 1043-1052.
- Rooney, A.P., Sewzey, J.L., Wicklow, D.T., et McAtee, M.J. (2005). Bacterial Species Diversity in Cigarettes Linked to an Investigation of Severe Pneumonitis in U.S. Military Personnel Deployed in Operation Iraqi Freedom. *Curr. Microbiol.* 51, 46-52.
- Rosso, M.L., et Vary, P.S. (2005). Distribution of *Bacillus megaterium* QM B1551 plasmids among other *B. megaterium* strains and *Bacillus* species. *Plasmid* 53, 205-217.
- 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.
- Rubinstein, I., et Pedersen, G.W. (2002). *Bacillus* species are present in chewing tobacco sold in the United States and evoke plasma exudation from the oral mucosa. *Clin Diagn Lab Immunol* 9, 1057-1060.

- Ruiz-Bravo, A., Kouwatli, K., Cienfuegos, G.A.d., et Ramos-Cormenzana, A. (1981). Immunomodulation in mice by *Bacillus megaterium* and its dependence on culture conditions. *Immunol Lett* 3, 39-43.
- Rusterholtz, K., et Mallory, L. (1994). Density, activity, and diversity of bacteria indigenous to a karstic aquifer. *Microb Ecol* 28, 79-99.
- Sadiq, A., et Ali, B. (2013). Growth and yield enhancement of *Triticum aestivum* L. by rhizobacteria isolated from agronomic plants. *Aust J Crop Sci* 7, 1544-1550.
- Saikia, S.K., Tiwari, S., et Pandey, R. (2013). Rhizospheric biological weapons for growth enhancement and *Meloidogyne incognita* management in *Withania somnifera* cv. Poshita. *Biol Control* 65, 225-234.
- Sakurai, M., Suzuki, K., Onodera, M., Shinano, T., et Osaki, M. (2007). Analysis of bacterial communities in soil by PCR-DGGE targeting protease genes. *Soil Biol Biochem* 39, 2777-2784.
- Salih, F. (2001). Prediction of growth of *Bacillus megaterium* spores as affected by gamma radiation dose and spore load. *J Appl Microbiol* 91, 176-181.
- Sandeep, C., Raman, R.V., Radhika, M., Thejas, M.S., Patra, S., Gowda, T., Suresh, C.K., et Mulla, S.R. (2011). Effect of inoculation of *Bacillus megaterium* isolates on growth, biomass and nutrient content of Peppermint. *J Phytol* 3, 19-24.
- Saravanan, R., Dhachinamnorthi, D., Renuga, G., et Senthilkumar, K. (2011). Production of L-asparaginase from *Pectobacterium carotovorum* (MTCC 14288) and *Bacillus eirculanc* (MTCC 490). *Res J Pharm Technol* 4, 1323-1327.
- Saxena, A., Zhang, R.W., et Bollag, J.M. (1987). Microorganisms capable of metabolizing the herbicide metolachlor. *Appl Environ Microbiol* 53, 390-396.
- Schallmeyer, M., Singh, A., et Ward, O.P. (2004). Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. *Can J Microbiol* 50, 1-17.
- Scott, B.A., Mortensen, J.E., McKeever, T.M., Logas, D.B., et McKeever, P.J. 2010 Efficacy of tylosin tartrate on canine *Staphylococcus intermedius* isolates in vitro. *Vet Ther* 11:E1-7
- Selenska-Pobell, S., Panak, P., Miteva, V., Boudakov, I., Bernhard, G., et Nitsche, H. (1999). Selective accumulation of heavy metals by three indigenous *Bacillus* strains, *B. cereus*, *B. megaterium* and *B. sphaericus*, from drain waters of a uranium waste pile. *FEMS Microbiol Ecol* 29, 59-67.
- Shaharoona, B., Bibi, R., Arshad, M., Zahir, Z.A., et Zia-Ul-Hassan. (2006). 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC)-deaminase rhizobacteria extenuates ACC-induced classical triple response in etiolated pea seedlings. *Pak J Bot* 38, 1491-1499.
- Shark, K.B., Smith, F.D., Harpending, P.R., Rasmussen, J.L., et Sanford, J.C. (1991). Biolistic transformation of a procaryote, *Bacillus megaterium*. *Appl Environ Microbiol* 57, 480-485.
- Shimizu, K., Nakamura, H., et Ashiuchi, M. (2007). Salt-inducible bionylon polymer from *Bacillus megaterium*. *Appl Environ Microbiol* 73, 2378-2379.

- Shimizu, S., Barczyk, S., Rettberg, P., Shimizu, T., Klaempfl, T., Zimmermann, J.L., Hoeschen, T., Linsmeier, C., Weber, P., Morfill, G.E., et Thomas, H.M. (2014). Cold atmospheric plasma - A new technology for spacecraft component decontamination. *Planet Space Sci* 90, 60-71.
- Shimura, J., Kiraki, K., et Garrity, G.M. (2006). Bacteriology Insight Orienting System : BIOS. <http://www.catalogueoflife.org/info/ac>.
- Singh, N., Kumar, N., Raghu, H., Sharma, P., Singh, V., Khan, A., et Raghav, N. (2013). Spore inhibition-based enzyme substrate assay for monitoring of aflatoxin M1 in milk. *Toxicol Environ Chem* 95, 765-777.
- Skerman, V.B.D., McGowan, V., Sneath, P.H.A. (1980). Approved list of bacterial names. *Int J Syst Bacteriol* 30, 225-420.
- Slepecky, R.A. et Hemphill, H.E. (2006). Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., et Stackebrandt, E., dir. de publ. (Berlin : Springer) 530-562.
- Smalla, K., Wieland, G., Buchner, A., Zock, A., Parzy, J., Kaiser, S., Roskot, N., Heuer, H., et Berg, G. (2001). Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. *Appl Environ Microbiol* 67, 4742-4751.
- Smith, N., Gibson, T., Gordon, R.E., et Sneath, P. (1964). Type cultures and proposed neotype cultures of some species in the genus *Bacillus*. *J Gen Microbiol* 34, 269-272.
- Sneath, P.H.A., et Skerman, V.B.D. (1966). A List of Type and Reference Strains of Bacteria. *Int J Syst Bacteriol* 16, 1-133.
- Soon, N.W., Lee, L.M., Khun, T.C., et Ling, H.S. (2014). Factors Affecting Improvement in Engineering Properties of Residual Soil through Microbial-Induced Calcite Precipitation. *J Geotech Geoenviron Eng* 140.
- Soper, C.J., Whistler, J.M., et Davies, D.J. (1976). The response of bacterial spores to vacuum treatments. II. Germination and viability studies. *Cryobiology* 13, 71-79.
- Spök, A., et Klade, M. (2009). Environmental, Health and Legal Aspects of Cleaners Containing Living Microbes as Active Ingredients. *IFZ* 1-17
- Srinath, T., Verma, T., Ramteke, P.W., et Garg, S.K. (2002). Chromium (VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria. (Science for Environmental Technology). *Chemosphere* 48, 427-435.
- Srinivasan, M., Holt, F.B., et Petersen, D.J. (1996). Influence of indoleacetic-acid-producing *Bacillus* isolates on the nodulation of *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium etli* under gnotobiotic conditions. *Can J Microbiol* 42, 1006-1014.
- Ståhl, S., et Olsson, O. (1977). Temperature range variants of *Bacillus megaterium*. *Arch Microbiol* 113, 221-229.
- Ștefănescu, I.A., Gavrilă, L., et Mocanu, R. (2011). Evaluation of the solubilization ability of two strains of *Bacillus megaterium* for heavy metals from residual phosphogypsum. *Rom Biotech Lett* 16, 6513-6522.

- Subbiya, A., et Mahalakshmi, K. (2012). *Bordetella avium* and *Bacillus megaterium* in Endodontic Infection. *Indian J Multidiscip Dent.* 2, 411-414.
- Surette, M.A., Sturz, A.V., Lada, R.R., et Nowak, J. (2003). Bacterial endophytes in processing carrots (*Daucus carota* L. var. *sativus*): their localization, population density, biodiversity and their effects on plant growth. *Plant Soil* 253, 381-390.
- Suzuki, Y., et Rode, L.J. (1969). Effect of lysozyme on resting spores of *Bacillus megaterium*. *J Bacteriol* 98, 238-245.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., et Kumar, S. (2013). MEGA6 : Molecular evolutionary genetic analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30, 2725-2729.
- Taupp, M., Harmsen, D., Heckel, F., et Schreier, P. (2005). Production of natural methyl anthranilate by microbial N-demethylation of N-methyl methyl anthranilate by the topsoil-isolated bacterium *Bacillus megaterium*. *J Agric Food Chem* 53, 9586-9589.
- Tersch, M.A.V., et Carlton, B.C. (1983). Megacinogenic plasmids of *Bacillus megaterium*. *J Bacteriol* 155, 872-877.
- Thomas, P. (2012). Long-term survival of *Bacillus* spores in alcohol and identification of 90% ethanol as relatively more spori/bactericidal. *Curr Microbiol* 64, 130-139.
- Tiwari, R.P., Dham, C.K., Bhalla, T.C., Saini, S.S., et Vadehra, D.V. (1985). Mechanism of action of aflatoxin B1 in *Bacillus megaterium*. *Appl Environ Microbiol* 49, 904-907.
- Université de l'Illinois. (1999). Bacterial Wetwood and Slime Flux of Landscape Trees. Integrated Pest Management RPD No. 656.
- USDA (Département de l'agriculture des États-Unis). (2014a). Thesaurus : *Bacillus megaterium*.
<http://agclass.nal.usda.gov/mtwdk.exe?k=default&l=60&w=14543&n=1&s=5&t=2>.
- USDA (Département de l'agriculture des États-Unis). 2014 b GrainGenes Species Report : *Bacillus megaterium* pv. *cerealis*.
- USEPA. (2014). Substance Details - *Bacillus megaterium*.
- van Veen, J.A., van Overbeek, L.S., et van Es, J.D. (1997). Fate and activity of microorganisms introduced into soil. *Microbiol Mol Biol Rev* 61, 121-135.
- Vandini, A., Temmerman, R., Frabetti, A., Caselli, E., Antonioli, P., Balboni, P.G., Platano, D., Branchini, A., et Mazzacane, S. (2014). Hard Surface Biocontrol in Hospitals Using Microbial-Based Cleaning Products. *PLOS One* 9, 1-13.
- Vary, P.S. (1994). Prime time for *Bacillus megaterium*. *Microbiology* 140, 1001-1013.
- Vary, P.S., Biedendieck, R., Fuerch, T., Meinhardt, F., Rohde, M., Deckwer, W.D., et Jahn, D. (2007). *Bacillus megaterium*--from simple soil bacterium to industrial protein production host. *Appl Microbiol Biotechnol* 76, 957-967.
- Vasanthakumar, B., Ravishankar, H., et Subramanian, S. (2013). Microbially induced selective flotation of sphalerite from galena using mineral-adapted strains of *Bacillus megaterium*. *Colloid Surface B.* 112, 279-286.

- Velineni, S., et Brahmaprakash, G. (2011). Survival and Phosphate Solubilizing Ability of *Bacillus megaterium* in Liquid Inoculants under High Temperature and Desiccation Stress. *J Agric Sci Technol* 13, 795-802.
- Verma, N., Singh, N.A., Kumar, N., Singh, V.K., et Raghu, H.V. (2013). Development of Field Level Chromogenic Assay for Aflatoxin M21 Detection in Milk. *Adv Dairy Res* 1, 1-8.
- Verslyppe, B., De Smet, W., De Baets, B., De Vos, P., et Dawyndt, P. (2014). StrainInfo introduces electronic passports for microorganisms. *Syst Appl Microbiol* 37, 42-50.
- Weber, D.J., Saviteer, S.M., Rutala, W.A., et Thomann, C.A. (1988). In vitro susceptibility of *Bacillus* spp. to selected antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 32, 642-645.
- Welbaum, G.E., Shen, Z., Watkinson, J.I., Wang, C., et Nowak, J. (2009). Priming soilless growing medium with disaccharides stimulated microbial biofilm formation, and increased particle aggregation and moisture retention during muskmelon transplant production. *J Am Soc Hort Sci* 134, 387-395.
- West, E.R., Cother, E.J., Steel, C. C., et Ash, G.J. (2010). The characterization and diversity of bacterial endophytes of grapevine. *Can J Microbiol* 56, 209-216.
- White, C.P., Popovici, J., Lytle, D.A., Adcock, N.J., et Rice, E.W. (2012). Effect of pH on the electrophoretic mobility of spores of *Bacillus anthracis* and its surrogates in aqueous solutions. *Appl Environ Microbiol* 78, 8470-8473.
- White, P.J. (1972). The nutrition of *Bacillus megaterium* and *Bacillus cereus*. *J Gen Microbiol* 71, 505-514.
- Willeke, K., Qian, Y., Donnelly, J., Grinshpun, S., et Ulevicius, V. (1996). Penetration of airborne microorganisms through a surgical mask and a dust/mist respirator. *Am Ind Hyg Assoc J* 57, 348-355.
- Xiang, W., Liang, H., Liu, S., Luo, F., Tang, J., Li, M., et Che, Z. (2011). Isolation and performance evaluation of halotolerant phosphate solubilizing bacteria from the rhizospheric soils of historic Dagong Brine Well in China. *World J Microb Biot* 27, 2629-2637.
- Xu, G., Mitchell, K.W., et Monticello, D.J. (1997). Process for demetalizing a fossil fuel.
- Yoshimura, K., Yamamoto, O., Seki, T., et Oshima, Y. (1983). Corrected Version Distribution of Heterogeneous and Homologous Plasmids in *Bacillus* spp. *Appl Environ Microbiol* 46, 1268-1275.
- Yossan, S., Reungsang, A., et Yasuda, M. (2006). Purification and Characterization of Alkaline Protease from *Bacillus megaterium* isolated from Thai Fish Sauce Fermentation Process. *ScienceAsia* 32, 377-383.
- Yuniarti, A., Guntoro, D., Maftuch, et Hariati, A. (2013). Response of Indigenous *Bacillus megaterium* Supplementation on the Growth of *Litopenaeus vannamei* (Boone), a New Target Species for Shrimp Culture in East Java of Indonesia. *J Basic Appl Sci* 3, 747-754.

Annexes

Annexe A : Métabolisme de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium*

Tableau A-1 : Épreuves métaboliques pour la souche ATCC 14581 de *B. megaterium*

Épreuve	Résultat
Catalase	Positif
Oxydase	Positif
Mobilité visuelle	Négatif le plus souvent, mais une certaine mobilité a été observée ^a
Hydrolyse de la caséine	Positif
Hydrolyse de la gélatine	Positif
Épreuve de réduction des nitrates	Gaz (négatif), nitrate à nitrite (négatif)
Hydrolyse de l'amidon	Positif
Hydrolyse de l'urée	Positif (48 heures)
Réaction en présence de jaune d'œuf	Négatif
Acide provenant du mannitol et du maltose	Réaction faible à 48 heures, résultat positif après 7 jours

^a Données générées par le Bureau de la science de la santé environnementale et de la recherche de Santé Canada

^b Les cellules étaient mobiles dans le sérum de veau fœtal à 37 °C; cependant, la bactérie n'était pas mobile quelques minutes après le retrait de l'étuve.

Annexe B : Caractéristiques de B. megaterium – analyse des esters méthyliques d'acide gras (EMAG)

Tableau B-1 : Identification de la souche ATCC 14581 de B. megaterium à l'aide de MIDI

Contexte	Fréquence	Indice de similarité	Premier choix
Contexte environnemental	16/16	0,816	Bacillus-megaterium-GC, sous-groupe A
Contexte clinique	10/10	0,884	Bacillus-megaterium

Les données générées par le Bureau de la science de la santé environnementale et de la recherche de Santé Canada indiquent la meilleure correspondance entre l'échantillon et les bases de données MIDI environnementales et cliniques, ainsi que l'indice de similarité du profil d'acide gras (moyenne de l'ensemble des correspondances) et le nombre de correspondances (nombre de correspondances/nombre total de tests, parenthèses). Pour obtenir des méthodes et des renseignements supplémentaires, veuillez consulter MIDI labs.

Annexe C : Caractéristiques de croissance de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium*

Tableau C-1 : Densité optique (500 nm) de la souche ATCC 14581 de *B. megaterium* après une période de croissance de 24 heures dans un milieu liquide à diverses températures

Milieu liquide	28 °C	32 °C	37 °C	42 °C
TSB ^a	0,26	0,20	0,23	0,12 ^b
FBS à 10 % ^c	0,16	0,14 ^d	0,14 ^d	0,09 ^d
FBS à 100 %	0,03 ^b	0,03	0,07 ^e	0,10
Sérum de mouton à 10 %	0,01 ^f	0,02	0,02	0,10
Sérum de mouton à 100 %	0,02	0,01	0,03	0,11 ^g
DMEM ^h avec FBS et glutamine	0,00	0,00	0,04 ^e	0,07 ⁱ

^a Données générées par le Bureau de la science de la santé environnementale et de la recherche de Santé Canada

^b TSB, bouillon trypticase soya

^c Longues chaînes observées au microscope

^d FBS, sérum de veau fœtal

^e Nombre important de bacilles observés au microscope

^f Spores/débris observés au microscope

^g Spores observées au microscope

^h Bacilles lysés observés au microscope

ⁱ DMEM, Dulbecco's Modified Eagle's Medium

^j Il semble y en avoir moins qu'au temps = 0 min (au microscope)

Annexe D : Profils de sensibilité aux antibiotiques des souches de *B. megaterium* rapportés dans la littérature

Tableau D-1 : Profil de sensibilité aux antibiotiques de *B. megaterium*, *B. cereus* et *B. subtilis* déterminé par zone d'inhibition moyenne (mm)

Antibiotique ^a	Quantité d'antibiotique par disque	<i>B. megaterium</i> ^b (mm)	<i>B. cereus</i> ^b (mm)	<i>B. subtilis</i> ^b (mm)
Oléandomycine	15 µg	15 ± 3	17 ± 2	20 ± 1
Oxacilline	10 µg	22 ± 2	7 ± 1	27 ± 2
Chloramphénicol	30 µg	22 ± 3	21 ± 3	25 ± 2
Ampicilline	10 µg	21 ± 3	7 ± 1	21 ± 2
Carbenicilline	25 µg	24 ± 2	7 ± 1	23 ± 2
Ristomycine	30 µg	16 ± 2	16 ± 1	18 ± 2
Tétracycline	30 µg	23 ± 3	17 ± 4	17 ± 3
Benzylpénicilline	10 unités	23 ± 2	7 ± 1	19 ± 3

^a Les seuils de sensibilité ne peuvent être déterminés à l'aide de la méthode de diffusion sur disque parce que les données qui existent actuellement sur ce genre sont limitées (CLSI 2013).

^b Résultats pour 10 souches de *B. megaterium*, 10 souches de *B. cereus* et 30 souches de *B. subtilis* (Reva et coll. 1995)

Tableau D-2 : Profil de sensibilité aux antibiotiques de *B. megaterium* (Bm), *B. cereus* (Bc) et *B. subtilis* (Bs) déterminé par zone d'inhibition (mm)^a

Souche	Érythromycine 15 µg/disque (mm)	Ampicilline 10 µg/disque (mm)	Oxytétracycline 30 µg/disque (mm)	Carbenicilline 100 µg/disque (mm)
Bm McR-8	24 (S) ^b	16 (S)	27 (S)	16 (S)
Bm ZmR-3	25 (S)	17 (S)	28 (S)	17 (S)
Bm ZmR-4	25 (S)	21 (S)	29 (S)	19 (S)
Bm ZmR-6	23 (S)	17 (S)	26 (S)	16 (S)
Bm OsR-3	25 (S)	20 (S)	28 (S)	19 (S)
Bc McR-3	25 (S)	0 (R)	19 (S)	0 (R)
Bs McR07	22 (I)	25 (S)	11 (R)	20 (S)

S, sensible; I, intermédiaire; R, résistante

A Données et interprétation de la sensibilité aux antibiotiques tirées de Sadiq et Ali 2013

Tableau D-3 : Profil de sensibilité aux antibiotiques de souches de *B. megaterium* (Bm) et de *B. subtilis* (Bs) déterminé par concentration inhibitrice minimale (mg/L) et interprétation des résultats^a

Antibiotique	Valeurs seuil ^b (<S, >R)	Bm 15538	Bm 15545	Bs 15511	Bs 15514	Bs 15541	Bs 15549
Gentamicine	4	0,5 (S) ^c	0,5 (S)	1 (S)	0,5 (S)	0,5 (S)	0,5 (S)
Kanamycine	8	2 (S)	2 (S)	2 (S)	2 (S)	2 (S)	2 (S)
Streptomycine	8	1 (S)	1 (S)	4 (S)	16 (R)	8 (I)	64 (R)
Tétracycline	8	1 (S)	0,5 (S)	0,25 (S)	0,25 (S)	4 (S)	4 (S)
Érythromycine	4	0,25 (S)	0,25 (S)	0,25 (S)	0,25 (S)	0,25 (S)	0,25 (S)
Clindamycine	4	16 (R)	16 (R)	1 (S)	2 (S)	1 (S)	2 (S)
Chloramphénicol	8	4 (S)	16 (R)	2 (S)	4 (S)	4 (S)	4 (S)
Ampicilline	NR ^d	0,25	0,25	0,03	0,03	0,03	0,03

Vancomycine	4	0,25 (S)	0,25 (S)	1 (S)	1 (S)	0,5 (S)	0,5 (S)
-------------	---	----------	----------	-------	-------	---------	---------

S, sensible; I, intermédiaire; R, résistante

^a Larsen et coll. 2014

^b Des souches avec des valeurs de CIM (mg/L) plus élevées que le seuil sont considérées résistantes (EFSA 2008)