

**Résumé de l'évaluation des risques réalisée en vertu du  
Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)  
Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999)  
DSN 16596 et 16597 : Souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus***

**Décision réglementaire**

En vertu de la partie 6 de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999)* [LCPE] et de son *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)* [RRSN (O)], le ministre de l'Environnement et le ministre de la Santé ont évalué les renseignements concernant l'organisme déclaré et ont déterminé qu'il n'est pas soupçonné d'être nocif pour l'environnement canadien ni pour la santé humaine aux termes de l'article 64 de la LCPE<sup>1</sup> lorsqu'il est importé en vue d'être introduit dans l'environnement partout au Canada. Par conséquent, la fabrication des souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* à cette fin peut être effectuée après le 17 mars 2012, qui correspond au dernier jour du délai de l'évaluation.

**Annexe du RRSN (O) 1 :** Fabrication de micro-organismes en vue de leur introduction dans l'environnement partout au Canada

**Identification de l'organisme :** Souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus*

**Déclarant :** Choisy Laboratories Ltd.

**Date de la décision :** 17 mars 2012

**Utilisation proposée :** Composants dans des produits industriels et commerciaux pour la désodorisation et la dégradation des déchets

**IDENTIFICATION/HISTORIQUE DE LA SOUCHE :**

Les micro-organismes déclarés sont des bactéries d'origine naturelle appartenant au genre *Bacillus*, qui comprenait 11 sous-groupes phylogénétiques et 142 membres en 2012 (Bergey et Boone, 2009). Comme les espèces au sein du genre *Bacillus* présentent une grande diversité de caractéristiques physiologiques, une approche polyphasique comportant des analyses morphologiques, biochimiques, métaboliques et génotypiques a servi à identifier les souches déclarées. Les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* sont des bacilles vagiles, gram positives et forment des spores apparaissant individuellement ou par paires et dont le métabolisme est aérobie; le nom précis de l'espèce n'a pas été divulgué à la demande de l'entreprise. Elles peuvent croître à des températures allant de 10 °C à 50 °C, et leur croissance est optimale entre 28 °C et 37 °C. De plus, les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* ont une gamme d'halotolérance variant de 0 % à 10 % et une gamme de pH se situant entre 5 et 10.

Les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* ont été isolées à partir d'échantillons environnementaux prélevés dans la région de Louiseville, au Québec, en 2003. Elles ont été

---

<sup>1</sup> Conformément à l'article 64 de la LCPE, est toxique toute substance qui pénètre ou peut pénétrer dans l'environnement en une quantité ou concentration ou dans des conditions de nature à : a) avoir, immédiatement ou à long terme, un effet nocif sur l'environnement ou sur la diversité biologique; b) mettre en danger ou risquer de mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie; c) constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaine.

sélectionnées pour leur capacité à exprimer des métabolites utiles et à exercer des caractéristiques métaboliques clés, ainsi que pour leur capacité à germer, à croître et à sporuler lors de procédés de fermentation industriels. Les deux souches seront fabriquées au Canada en vue d'être utilisées dans des produits de biodégradation et de désodorisation.

## **EXAMEN DES DANGERS**

### **Danger environnemental**

Les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* font partie d'une espèce bactérienne remarquablement diversifiée pouvant croître dans de nombreux environnements distincts, dont les milieux terrestres et aquatiques. Cette espèce omniprésente peut former des spores résistantes en réponse à des facteurs de stress environnementaux, et existe sous forme de spores dans la plupart des conditions, permettant ainsi à l'organisme de se disperser par le vent et par l'eau.

Bien que les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* ne contiennent pas de plasmides, il est possible que les souches incorporent de l'ADN par transmission horizontale de gènes, dans le cadre d'une transduction, d'une conjugaison ou d'une transformation. Les études mentionnent des cas de transmission horizontale de gènes se produisant parmi les membres de l'espèce; rien n'indique cependant qu'une telle transmission ait des effets nocifs. Le risque que les souches déclarées acquièrent des gènes codant des facteurs de virulence n'est pas plus grand que pour toute autre souche des espèces d'origine naturelle.

Aucun signe de pathogénicité ou de toxicité significative n'a été signalé pour différentes souches de l'espèce proposée pour diverses utilisations dans d'autres territoires de compétence. En outre, les ouvrages scientifiques fournissent un grand nombre de données probantes indiquant une très faible probabilité que l'espèce ait des effets défavorables sur l'environnement, et il est généralement accepté que cet organisme n'est pas préoccupant. Cela étant, des dérogations ont été accordées pour les données concernant les effets des micro-organismes sur les espèces végétales, invertébrées et vertébrées, aux termes de l'alinéa 106(8)(a) de la LCPE. Le risque que les organismes déclarés aient des effets nocifs sur l'environnement, sur sa conservation ou sur sa diversité biologique a par conséquent été jugé comme faible.

### **Danger pour la santé humaine**

Les souches 01 et 02 appartiennent à une espèce de *Bacillus* qui n'est pas considérée comme un agent pathogène connu chez l'humain, qui ne possède pas de gènes codant des facteurs de virulence et qui ne produit pas des enzymes extracellulaires la prédisposant à causer des infections chez l'humain. Cependant, l'espèce est omniprésente et a parfois été isolée à partir du foyer de drainage d'une plaie, de prothèses, et de patients immunodéprimés. Néanmoins, les données de substitution sur d'autres souches naturelles de l'espèce ne font état d'aucun effet toxicologique important lors des essais de toxicité aiguë par voie orale, par voie pulmonaire et par voie cutanée, et d'aucun signe d'irritation et d'hypersensibilité de la peau et des yeux. De plus, l'analyse documentaire réalisée et les données fournies par le déclarant n'indiquent en rien que les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* ont des propriétés allergènes différentes de celles des souches de l'espèce déjà utilisées commercialement.

Comme aucune donnée probante n'indique un potentiel pathogène pour les souches déclarées, des dérogations ont été accordées aux termes de l'alinéa 106(8)(a) de la LCPE pour les données des essais de pathogénicité qui sont valides pour des micro-organismes apparentés de nature anthropopathogène. En outre, il ressort d'épreuves de sensibilité aux antibiotiques que les micro-organismes déclarés sont sensibles à une variété d'antibiotiques d'importance clinique. Des options de traitement seraient donc disponibles dans le cas improbable d'une infection. On ne s'attend pas à ce que les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* causent des effets nocifs sur la population générale. Par conséquent, leur risque pour la santé humaine a été jugé comme faible.

## **EXAMEN DES ASPECTS LIÉS À L'EXPOSITION**

Les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* sont la propriété exclusive de Laboratoires Choisy Ltd. (Louiseville, au Québec) et seront incorporées comme composants dans une variété de produits finis contenant d'autres espèces de bactéries. Le procédé de fabrication est conforme aux exigences relatives à un niveau de confinement 1 pour la production à grande échelle énoncées dans les Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire de l'Agence de la santé publique du Canada (3e édition, 2004). Les solutions des souches et les produits finis seront préparés et manipulés dans des conditions stériles par des employés dûment formés, afin que des procédures de biosécurité appropriées soient appliquées en tout temps. Des procédures opérationnelles normalisées sont en place à chaque étape de la préparation du matériel, de la fermentation, de l'emballage et de la stérilisation après la fermentation. Chaque lot fera l'objet de contrôles d'identification, de contamination et de quantification dans le cadre d'un programme d'assurance de la qualité.

L'appareil de fermentation est équipé d'un filtre en amont et en aval pour éviter la contamination de l'air. Les déchets solides sont désinfectés chimiquement ou stérilisés à l'autoclave avant d'être éliminés. Les déchets liquides seront transférés dans une cuve de rétention contenant 12 % d'hypochlorite de sodium et désinfectés pendant au moins 24 heures avant d'être rejetés dans le réseau d'égout municipal. Les filtres à air seront nettoyés par immersion de 2 à 16 heures dans une solution à 40 % d'isopropanol, puis ils seront séchés à la chaleur à une température de 40 °C à 50 °C et stérilisés dans un autoclave. Les locaux de l'usine de fabrication sont entourés par des gouttières de drainage. Ces gouttières sont dirigées vers le réservoir de rétention et empêchent tout déversement important de pénétrer directement dans l'égout municipal. Il est peu probable qu'un rejet non intentionnel de micro-organismes déclarés survienne dans l'environnement de micro-organismes déclarés à partir de l'usine de fabrication.

Les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* seront rejetées dans l'environnement lors de l'utilisation des produits, mais uniquement dans des lieux déterminés et seulement en cas de besoin. Les procédés d'application des produits peuvent varier en fonction de l'utilisation envisagée. Certains produits seront pulvérisés directement sur les surfaces, d'autres seront injectés au moyen d'un système de distribution dans les siphons de renvoi de graisses et d'hydrocarbures ou dans les eaux usées de l'industrie agroalimentaire pour les désodoriser, et d'autres encore seront déversés directement dans le lieu d'utilisation.

Comme les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* ont été déclarées à l'annexe 1, leur emploi à d'autres fins est possible. D'autres utilisations potentielles des souches 01 et 02 d'une espèce de

*Bacillus* comprennent la production de biosurfactants et d'enzymes utilisés dans la biorestauration, dans la biotransformation et dans le traitement des eaux usées (Sammai *et al.*, 2011; Plaza *et al.*, 2008; Brooksbank *et al.*, 2007). Les autres habitats potentiels d'introduction ne doivent pas être très différents de l'habitat naturel des souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus*, car elles sont des isolats environnementaux.

### **Exposition environnementale**

Compte tenu des utilisations prévues et potentielles, l'exposition aux souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* peut se produire par inhalation, par contact cutané ou oculaire et par ingestion. Les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* ont le potentiel de survivre et de se disperser, mais seulement à l'état de spore et lorsqu'elles ne sont pas biologiquement actives. Bien que les populations des souches déclarées peuvent augmenter en raison de l'utilisation du produit et du rejet accidentel, on prévoit une réversion naturelle des espèces aux niveaux des populations de référence, en raison de la compétition avec les autres bactéries déjà présentes sur le lieu d'introduction. Tous les organismes vivants qui entrent en contact avec les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* auront probablement déjà été en contact avec d'autres souches de cette espèce de *Bacillus*, car elle est omniprésente dans la nature. Compte tenu de la capacité des souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* à former des spores et de leur utilisation potentielle dans un large éventail d'activités, le risque d'exposition environnementale à celles-ci est donc considéré comme moyen.

### **Exposition humaine**

L'exposition aux souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* lors de la fabrication et de l'utilisation des produits pourrait éventuellement se produire par les quatre voies principales (cutanée, pulmonaire, oculaire et orale). Cependant, l'exposition directe et occasionnelle la plus probable aurait lieu par voie cutanée ou par inhalation. L'espèce n'est pas reconnue comme un agent pathogène des plaies, et rien n'indique qu'elle peut pénétrer une peau intacte. L'exposition par inhalation à une nébulisation ou à une pulvérisation est possible lors de l'utilisation des produits; toutefois, l'ampleur de l'exposition dépendra de l'utilisation prévue, du volume, de la concentration, de la vitesse d'aérosolisation des particules et de la proximité de la source d'application. L'exposition peut être réduite au minimum par l'utilisation adéquate d'équipement de protection individuelle. L'exposition aux souches déclarées est également possible si l'utilisation des produits entraîne la contamination des surfaces et la formation de biofilms. L'exposition humaine aux souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* ne devrait pas survenir dans les milieux naturels, car les populations des souches déclarées introduites dans le sol devraient diminuer en raison de la microbiostase. Comme leur utilisation est prévue dans le cadre d'applications commerciales et industrielles, l'exposition de la population générale résultant de la formulation, de la manipulation et de l'application de produits contenant les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* est considérée comme faible à moyenne.

### **CONCLUSION DE L'ÉVALUATION DES RISQUES/DÉCISION RÉGLEMENTAIRE**

Les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* sont des isolats environnementaux qui appartiennent à une espèce bactérienne se retrouvant partout. L'espèce n'est pas reconnue comme agent pathogène des plantes, des animaux ou de l'humain et n'est pas considérée comme

organisme préoccupant. Les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* seront fabriquées dans une installation au Canada, conformément aux exigences du niveau de confinement 1 pour la production à grande échelle, et elles seront incorporées à divers produits commerciaux à des fins de biodégradation et de désodorisation. En se basant sur les considérations ci-dessus liées aux risques et à l'exposition, Environnement Canada et Santé Canada ont conclu dans leurs évaluations des risques que les souches 01 et 02 d'une espèce de *Bacillus* ne sont pas susceptibles d'avoir un effet nocif sur l'environnement ou sur la santé humaine au Canada, conformément à l'article 64 de la LCPE.

Selon ces évaluations des risques, les substances sont admissibles à l'ajout à la Liste intérieure.

## **DOCUMENTS DE RÉFÉRENCE**

**Veillez noter que cette liste de documents de référence est partielle pour des raisons de confidentialité.**

Bergey, D.H., et Boone, D.R. (2009). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Springer Verlag.

Brooksbank, A.M., Latchford, J.W. et Mudge, S.M. (2007). Degradation and modification of fats, oils and grease by commercial microbial supplement. *World J. Microb. Biot.* 23, 977-985.

Plaza, G.A., Jangid, K., Lukasik, K., Nalecz-Jawecki, G., Berry, C.J. et Brigmon, R.L. (2008). Reduction of petroleum hydrocarbons and toxicity in refinery wastewater by bioremediation. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 81, 329-333.

Sammai, A., Sobhon, V. et Maneerat, S. (2011). Molasses as a whole medium for biosurfactants production by *Bacillus* strains and their application. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 165, 315-335.