

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 16908 et 16909 : Souches 06 et 03 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 LCPE¹ lorsqu'il est fabriqué en vue d'être introduit dans l'environnement partout au Canada. Par conséquent, la fabrication des souches 06 et 03 d'une espèce de *Bacillus* à cette fin peut être effectuée après le 16 octobre 2012, qui correspond au dernier jour du délai d'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 06 et 03 d'une espèce de *Bacillus*

Déclarant : Choisy Laboratories Ltd.

Date de la décision : 16 octobre 2012

Utilisation proposée : Biodégradation des résidus organiques et désodorisation dans des milieux commerciaux et industriels

IDENTIFICATION / HISTORIQUE DE LA SOUCHE

Les micro-organismes déclarés sont des bactéries isolées de l'environnement d'origine naturelle. La souche 06 (DSN 16908) et la souche 03 (DSN 16909) ont été obtenues en 2002 à partir d'échantillons environnementaux prélevés respectivement dans les régions de Louiseville (Québec) et de Trois-Rivières (Québec). Le nom précis de l'espèce n'a pas été divulgué à la demande de l'entreprise. Les souches 06 et 03 ont été choisies en fonction de leur capacité à exprimer des métabolites utiles et à exercer des caractères métaboliques clés, ainsi que de leur croissance et de leur sporulation efficaces dans la fermentation industrielle et de leur capacité à rester viables pendant un stockage prolongé et à germer efficacement. On a déterminé que les souches déclarées appartenaient au genre *Bacillus* en fonction de leurs caractéristiques morphologiques, physiologiques, biochimiques et génotypiques. Les cellules végétatives des souches 06 et 03 sont des bacilles vagiles, gram positives, ayant un métabolisme aérobie et apparaissant individuellement ou par paires. Les conditions permissives de croissance comprennent des températures entre 10 °C et 50 °C, un pH de 5 à 10 et de 0 % à 10 % (p/v) de NaCl. La souche 06 se distingue de la souche 03 par différents profils d'utilisation des glucides établis à l'aide de bandelettes d'analyse des glucides API 50 CH. Les deux seront fabriquées au

¹ 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.

Canada sous forme de préparations liquides de spores pour utilisation dans des produits destinés à la désodorisation et à la dégradation des déchets dans divers dispositifs industriels tels que les fosses septiques, les boîtes de graisse, les poubelles, les compacteurs, les camions à ordures, les salles de bains, les pièges à déchets d'hydrocarbures et les eaux usées des industries agroalimentaires.

EXAMEN DES DANGERS

Danger Environnemental

Les souches 06 et 03 appartiennent à une espèce bactérienne remarquablement diversifiée pouvant croître dans de nombreux environnements, y compris dans des milieux terrestres et aquatiques, et qui est naturellement présente sur les produits frais. Cette espèce omniprésente peut former des spores résistantes en réponse à des facteurs de stress environnementaux, et elle 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. Parmi les espèces de *Bacillus*, elle n'est pas reconnue comme un pathogène absolu des insectes ou d'autres animaux et n'est pas taxonomiquement apparentée à des pathogènes connus des plantes (Logan and de Vos, 2009).

Les souches 06 et 03 ne contiennent pas de plasmides et ne devraient pas être une source de gènes pour des caractéristiques pathogènes ou une résistance aux antibiotiques. Bien qu'il se peut que les micro-organismes déclarés incorporent de l'ADN par transmission horizontale de gènes, ce potentiel n'est pas plus grand que pour toutes les autres souches naturellement présentes dans l'environnement.

Des analyses documentaires ont confirmé que, pour les utilisations proposées et potentielles, les souches 06 et 03 ne présentent pas de risques pour les plantes et les animaux terrestres et aquatiques. Par conséquent, le risque que les organismes déclarés causent des effets défavorables sur l'environnement, sur sa conservation ou sur sa diversité biologique a été jugé faible.

Danger pour la santé humaine

Les souches 06 et 03 d'une espèce de *Bacillus* appartiennent à une espèce de *Bacillus* qui est classé comme organisme de niveau 1 de biosécurité et qui n'est pas considéré comme un agent pathogène absolu connu chez l'humain. Malgré son omniprésence, lorsqu'une exposition fréquente aux membres de cette espèce est susceptible de se produire, on ne dénombre aucun cas documenté d'infection chez un humain en bonne santé causée par cette espèce. Les données d'essais provenant d'études animales utilisant des souches de substitution acceptables n'indiquent pas de toxicité, d'infectiosité ou de pathogénicité. Comme la plupart des micro-organismes, les souches 06 et 03 ont le potentiel d'agir comme sensibilisants cutanés modérés, mais aucun incident d'hypersensibilité n'a été signalé au cours de la mise au point des produits, et rien n'indique que ces espèces soient capables de provoquer des effets indésirables plus graves sur le système immunitaire. Les épreuves de sensibilité aux antibiotiques ont révélé que les souches déclarées sont sensibles à certains 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 06 et 03 d'une espèce de *Bacillus* aient des effets indésirables sur la population générale. Leur risque pour la santé humaine a donc été jugé comme faible.</embacillus<>

EAMEN DES ASPECTS LIÉS À L'EXPOSITION

L'exposition aux micro-organismes déclarés peut se produire lors de la fabrication ou de l'utilisation des produits finis. Les souches 06 et 03 d'une espèce de *Bacillus* seront fabriquées par un procédé de fermentation discontinue, puis concentrées et stockées sous forme liquide au siège social du déclarant à Louiseville, au Québec. L'installation est conforme aux normes de niveau de confinement 1 pour la production à grande échelle de micro-organismes, énoncées dans les Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire de l'Agence de la santé publique du Canada (3e édition, 2004). 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.

Des procédures opérationnelles normalisées sont en place à chaque étape de préparation du matériel, de fermentation, d'emballage et de stérilisation après la fermentation. Les solutions et les produits finis seront préparés et manipulés dans des conditions stériles par des employés dûment formés, afin que des procédures de biosécurité soient appliquées en tout temps. Le système de fermentation est équipé d'un filtre en amont et en aval pour minimiser la contamination de l'air. Les déchets solides seront désinfectés chimiquement ou stérilisés à l'autoclave avant d'être éliminés. Les déchets liquides seront dirigés vers un bac de rétention et ensuite chimiquement ou thermiquement désinfecté avant d'être éliminés dans le réseau d'égout municipal. Les locaux de fabrication sont entourés par des gouttières de drainage qui dirigent les déchets liquides dans le réservoir de rétention, empêchant ainsi des déversements importants directs dans le réseau d'égout municipal. Par conséquent, le procédé de fabrication est peu susceptible d'entraîner la dissémination dans l'environnement des micro-organismes déclarés.

Les souches 06 et 03 sont la propriété exclusive du déclarant et ne seront incorporées que dans les produits de l'entreprise, qui seront vendus uniquement sous la marque commerciale « Choisy ». Les produits pourront être utilisés toute l'année. La méthode et fréquence d'application variera en fonction de l'utilisation prévue. Certains peuvent être pulvérisés manuellement sur des surfaces ou automatiquement dans des contenants. D'autres produits 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. Des applications répétées sont recommandées afin de favoriser la formation et le maintien d'une microflore concurrentielle bénéfique. L'arrêt de l'utilisation des produits réduirait au fil du temps les concentrations des souches 06 et 03 sur les sites d'application et permettrait à la flore microbienne autochtone de se rétablir naturellement.

Voici des exemples d'autres utilisations potentielles de bactéries similaires aux souches déclarées : agent de lutte biologique contre les bactéries phytopathogènes en agriculture ainsi que production de biomolécules pour une utilisation dans la décontamination des sols, biorestauration, biodégradation et traitement des eaux usées (Issazadeh *et al.*, 2011; Prasad and Manjunath, 2011).

Exposition environnementale

Compte tenu des utilisations prévues et potentielles, l'exposition aux souches 06 et 03 d'une espèce de *Bacillus* peut se produire par inhalation, par contact cutané ou oculaire et par ingestion. Elles sont susceptibles de survivre et de se disperser lors de leur rejet, mais

uniquement à l'état de spore et lorsqu'elles ne sont pas biologiquement actives. Les concentrations des souches augmentent à la suite de l'utilisation des produits ou d'un rejet accidentel, mais elles diminueront progressivement au fil du temps, à mesure que les spores entrent dans un état végétatif et que la flore microbienne autochtone se rétablit naturellement (Kokalis-Burelle *et al.*, 2006). Tous les organismes vivants qui entrent en contact avec l'espèce déclarée auront probablement déjà été en contact avec l'espèce, étant donné son omniprésence dans la nature. Compte tenu de la capacité des souches 06 et 03 d'une espèce de *Bacillus* à former des spores et de leur utilisation potentielle dans un large éventail d'activités, le potentiel d'exposition environnementale à celles-ci est donc considéré comme moyen.

Exposition humaine

Le type d'exposition le plus susceptible de se produire est par voies cutanée ou respiratoire, bien qu'une exposition par voie oculaire ou orale ne soit pas exclue. Selon les analyses documentaires effectuées, rien n'indique que l'espèce soit associée à la flore microbienne typique des humains ou qu'elle puisse pénétrer la peau intacte de personnes en bonne santé; l'espèce n'est pas connue comme agent pathogène des plaies. Il est possible que des personnes à proximité soient exposées par les voies respiratoires à une nébulisation fine ou à une pulvérisation lors de l'application de produits dans des zones publiques. Le taux d'exposition dépendra du volume, de la concentration, du taux de pulvérisation et de la proximité de ces personnes à la source de l'application. L'exposition des voies respiratoires suite aux utilisations proposées devrait être faible à moyenne. L'exposition humaine aux espèces déclarées 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. D'après les utilisations proposées dans les produits de nettoyage commerciaux et d'autres utilisations potentielles, l'exposition humaine aux souches 06 et 03 d'une espèce de *Bacillus* résultant de la manipulation et de l'application de produits contenant les micro-organismes déclarés est donc considérée comme faible à moyenne.

CONCLUSION DE L'ÉVALUATION DES RISQUES / DECISIONS RÉGLEMENTAIRE

Les souches 06 et 03 d'une espèce de *Bacillus* sont des isolats d'origine naturelle d'une espèce de bactérie omniprésente dans la nature. Cette espèce n'est pas reconnue comme un agent pathogène connu chez les humains, les animaux ou les plantes. Les micro-organismes déclarés seront fabriqués au Canada dans une installation conforme à l'exigence de niveau de confinement 1 pour la production à grande échelle, afin d'être utilisés comme composants dans divers produits commerciaux et industriels 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 de risques que les souches 06 et 03 d'une espèce de *Bacillus* ne devraient pas avoir d'effet nocif sur l'environnement ou la santé humaine au Canada, conformément à l'article 64 de la LCPE.

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

DOCUMENTS DE RÉFÉRENCE

Veillez noter que cette liste de références est partielle pour des raisons de confidentialité.

Issazadeh, K., Majid, M.R., Pahlaviani, K. et Massiha, A. (2011). Bioremediation of toxic heavy pollutants by *Bacillus* spp. Isolated from Guilan Bay sediments, North of Iran. *Int. Proc. Chim Bio. Environ. Eng.* 18, 67-71.

Kokalis-Burelle, N., Kloepper, J.W. et Reddy, M.S. (2006). Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms. *Appl. Soil Ecol.* 31, 91-100.

Logan, N.A. et de Vos, P. (2009). Genus I: *Bacillus*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2e Ed. Volume Three, The Firmicutes. De Vos, P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K. H., et Whitman, W.B. eds., (New York : Springer) p. 21-128.

Prasad, M.P., et Manjunath, K. (2011). Comparative study on biodegradation of lipid-rich wastewater using lipase producing bacterial species. *Indian J. Biotechnol.* 10, 121-124.