

Évaluation préalable de la souche

Bacillus cereus (ATCC 14579)

Environnement Canada

Santé Canada

Juillet 2013

SOMMAIRE

Conformément à l'alinéa 74 b) de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (1999) [LCPE (1999)], les ministres de l'Environnement et de la Santé ont procédé à une évaluation préalable d'une souche type de *Bacillus cereus* (*B. cereus*), soit ATCC 14579. Cette souche a été inscrite sur la Liste intérieure en vertu du paragraphe 105(1) de la LCPE (1999) parce qu'elle était manufacturée ou importée au Canada entre le 1^{er} janvier 1984 et le 31 décembre 1986 et a été introduite ou rejetée dans l'environnement sans avoir été soumise à des conditions fixées aux termes de cette loi ou de toute autre loi fédérale ou d'une loi provinciale.

Les souches de *B. cereus* sont généralement considérées comme ubiquistes et sont capables de s'adapter à de nombreuses niches terrestres et aquatiques et de s'y développer. Ces souches produisent des endospores qui assurent leur survie dans des conditions environnementales sous-optimales. Elles sont résistantes à une vaste gamme d'antibiotiques et de métaux lourds. Si les souches de *B. cereus* sont ubiquistes, c'est en partie à cause de leurs besoins nutritionnels minimaux et de leur capacité de croître à diverses températures et dans des milieux de pH différent. Plusieurs caractéristiques des souches de *B. cereus* les rendent attrayantes comme ingrédients actifs dans des produits commerciaux et de consommation, notamment les détergents et les dégraissants, les additifs utilisés pour la biodégradation et la biorestauration, et enfin dans des procédés industriels.

B. cereus ATCC 14579 est classé comme un agent zoopathogène appartenant au groupe de risque 2 par l'Agence canadienne d'inspection des aliments (Programme d'importation d'agents zoopathogènes). En règle générale, le groupe de risque 2 englobe tous les agents zoopathogènes qui peuvent causer des maladies mais qui, dans des circonstances normales, risquent peu de présenter un danger grave pour les organismes en santé dans l'environnement et pour lesquels existe des mesures efficaces de traitement et de prévention. Par exemple, *B. cereus* peut entraîner, chez les bovins, une mastite facilement traitable par l'utilisation d'antibiotiques à usage vétérinaire. Les ouvrages scientifiques ne font état d'aucun autre cas démontrant que *B. cereus* nuit à des organismes dans l'environnement au Canada. Des rapports scientifiques indiquent que *B. cereus* ATCC 14579 cause une réduction du taux de reproduction du collembole vinicole (un arthropode) et une diminution de la longueur des pousses et des racines de la fétuque rouge (une plante). Cependant, ces rapports découlent d'expériences réalisées dans des conditions spécifiques de laboratoire qui ne sont pas préoccupantes selon les scénarios d'exposition actuels.

B. cereus ATCC 14579 est classé comme un agent anthropopathogène du groupe de risque 2 par l'Agence de la santé publique du Canada. Des renseignements tirés d'ouvrages scientifiques indiquent que cette souche de *B. cereus* a un potentiel pathogène tant pour les personnes en santé que pour les groupes sensibles, soit les nourrissons et les personnes âgées, les sujets immunodéprimés et ceux atteints d'une maladie concomitante débilitante. *B. cereus* est un agent pathogène gastro-intestinal qui peut également causer d'autres types d'infections, notamment une endophtalmie et des infections cutanées. Comme il a déjà été mentionné, cette souche est résistante à plusieurs antibiotiques, ce qui peut dans certaines circonstances, compromettre l'efficacité du traitement des infections dues à *B. cereus*. *B. cereus* ATCC 14579 produit tout un éventail d'enzymes extracellulaires et de toxines qui jouent un rôle important dans la pathogénicité de ce micro-organisme chez les humains.

La présente évaluation prend en compte l'exposition humaine et environnementale à *B. cereus* ATCC 14579 découlant de son utilisation délibérée dans des produits commerciaux ou de consommation ou dans des procédés industriels au Canada. *B. cereus* ATCC 14579 a été inscrit sur la Liste intérieure à cause de son utilisation dans des produits commerciaux et de consommation. D'autres utilisations potentielles de cette souche de *B. cereus* sont rapportées dans le domaine public, notamment la biorestauration des systèmes aquatiques, la biodégradation des déchets organiques et inorganiques, la biolixiviation des métaux dans l'exploitation minière et la gestion des déchets, le traitement des boues d'épuration et d'autres applications dans l'industrie des pâtes et papiers et l'industrie textile.

Le gouvernement a lancé une enquête obligatoire pour la collecte de renseignements (Avis) en application de l'article 71 de la LCPE (1999), qui a été publiée dans la Partie I de la *Gazette du Canada* le 3 octobre 2009. Personne n'a signalé avoir importé ou fabriqué *B. cereus* ATCC 14579, sauf dans des quantités limitées à des fins de recherche universitaire et d'enseignement ainsi que pour des travaux de recherche et développement. Par conséquent, la probabilité d'exposition à cet organisme vivant au Canada découlant d'une activité commerciale et de consommation est faible. Il est donc proposé de conclure que *B. cereus* ATCC 14579 ne satisfait pas aux critères de l'alinéa 64a) ou b) de la LCPE (1999), car il ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité, à une concentration ou dans des conditions de nature à avoir, immédiatement ou à long terme, un effet nocif sur l'environnement ou sur la diversité biologique, ou à mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie. Il est également proposé de conclure que *B. cereus* ATCC 14579 ne satisfait pas aux critères de l'alinéa 64c) de la LCPE (1999), car il ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité, à une concentration ou dans des conditions de nature à constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaines.

Par conséquent, il est proposé que *B. cereus* ATCC 14579 ne rencontre aucun des critères établis dans l'article 64 de la LCPE 1999.

Compte tenu de la pathogénicité et de la toxicité de *B. cereus* ATCC 14579 pour les humains en santé et sensibles et certaines espèces non humaines sensibles, il se peut que *B. cereus* ATCC 14579 puisse remplir les critères établis dans l'article 64 de la Loi, si les activités de consommation, les activités commerciales ou industrielles reprennent. C'est pourquoi il est recommandé d'appliquer à cette substance les dispositions concernant une « Nouvelle activité » qui sont énoncées au paragraphe 106(3) de la Loi, ce qui assurera que toute importation ou manufacture de cet organisme vivant pour de nouvelles utilisations fera l'objet d'évaluations de risques pour l'environnement et la santé humaine, comme il est précisé à l'article 108 de la Loi, avant que ces organismes vivants ne puissent être réintroduites au Canada.

TABLE DES MATIÈRES

1. ÉVALUATION DU DANGER	7
1.1 Caractérisation	7
1.1.1 Identification taxinomique et historique de la souche	7
1.1.2 Transfert génétique	10
1.1.3 Caractéristiques pathogéniques et toxigéniques	11
1.1.3.1 Effets sur la santé humaine	13
1.1.3.2 Effets sur l'environnement	16
1.1.4 Autres caractéristiques écologiques	18
1.2 Gravité du danger.....	19
5. RÉFÉRENCES	26
ANNEXE 1A : Croissance de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i> dans un milieu liquide à 28 °C, 32 °C, 37 °C et 42 °C *	42
ANNEXE 1B : Caractéristiques de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i> - Croissance sur milieu solide*	43
ANNEXE 1C : Caractéristiques de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i> – analyse de l'ester méthylique d'acide gras (EMAG)*	44
ANNEXE 2 : Liens au sein du groupe <i>Bacillus cereus</i>.	45
ANNEXE 3 : Liste de certains éléments génétiques mobiles et des caractéristiques connexes du groupe <i>Bacillus cereus</i>.....	46
ANNEXE 4 : Encodage des gènes chromosomiques pour les toxines de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i> selon l'analyse par réaction en chaîne de la polymérase (PCR).....	48
ANNEXE 5 : Liste des toxines produites par <i>B. cereus</i>.....	49
ANNEXE 6A: Pathogénicité pour les invertébrés et les vertébrés	55
ANNEXE 6B : Pathogénicité de <i>B. cereus</i> pour les invertébrés et les vertébrés dans leur milieu naturel.....	72
ANNEXE 7A : Épidémies non gastrointestinales sélectionnées causées par <i>B. cereus</i> et rapportées dans les ouvrages scientifiques.	80
ANNEXE 7B : Éclosions d'intoxication alimentaire rapportées liées à <i>B. cereus</i>	80
ANNEXE 8 : Points à considérer pour les niveaux de gravité du danger, de l'exposition et des risques en vertu du « Cadre d'évaluation scientifique des risques liés aux micro-organismes réglementés en vertu de la <i>Loi canadienne sur la protection de l'environnement</i> (1999) de Santé Canada et d'Environnement Canada.	83

INTRODUCTION

Conformément à l'article 74 de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (1999) (LCPE [1999]), les ministres de l'Environnement et de la Santé sont tenus de procéder à l'évaluation préalable des organismes vivants inscrits sur la Liste intérieure des substances (LIS) afin de déterminer si lesdits organismes présentent ou sont susceptibles de présenter un risque pour l'environnement ou la santé humaine (d'après les critères énoncés à l'article 64 de la LCPE [1999]). Cet organisme vivant (*B. cereus* ATCC 14579) fut ajoutée sur la LIS en vertu de la section 105 de la LCPE 1999 parce qu'il était manufacturé or importé au Canada entre le premier janvier 1984 et le 31 décembre 1986 et a entré ou a été relachée dans l'environnement sans avoir été soumis à des conditions sous la LCPE 1999 ou toutes autres législations provinciales ou fédérales.

Les évaluations préalables étudient les renseignements scientifiques et tirent des conclusions en intégrant la méthode du poids de la preuve et le principe de précaution. La présente évaluation préalable a tenu compte des renseignements sur les dangers obtenus du domaine public ainsi qu'à partir des données de recherche non publiées et d'experts internes et externes. Les renseignements liés à l'exposition ont également été obtenus à partir du domaine public et des renseignements découlant de l'avis obligatoire relatif à l'article 71 de la LCPE (1999) publié le 3 octobre 2009 dans la Partie I de la *Gazette du Canada*. De plus amples précisions concernant la méthode d'évaluation des risques utilisée sont accessibles dans le « Cadre d'évaluation scientifique des risques liés aux micro-organismes réglementés en vertu de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (1999) » disponible sur Internet à l'adresse <http://www.ec.gc.ca/subsnouvelles-news/subs/default.asp?lang=Fr&n=120842D5-1>).

Les données propres à la souche de *B. cereus* ATCC 14579 inscrites à la LIS sont identifiées comme telles. Lorsqu'aucune donnée n'était disponible concernant cette souche particulière, des données de substitution provenant de recherches documentaires sur les souches de *B. cereus* et le genre *Bacillus* ont été utilisées. Les organismes de substitution ont été identifiés dans chaque cas au niveau taxinomique fourni par la source. Les renseignements recueillis jusqu'en septembre 2011 ont été pris en considération et inclus au présent rapport.

DÉNÉGATION DE RESPONSABILITÉ : La détermination de la conformité à l'un ou plusieurs des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE (1999) est basée sur une évaluation des risques pour l'environnement et/ou la santé humaine liés à l'exposition dans l'environnement en général. Pour les humains, cela inclut, sans toutefois s'y limiter, l'exposition par l'air, l'eau et l'utilisation de produits contenant la substance. Une conclusion établie en vertu de la LCPE 1999 peut ne pas être pertinente à une évaluation, qu'elle n'empêche pas non plus, par rapport aux critères définis dans le *Règlement sur les produits contrôlés*, qui fait partie d'un cadre réglementaire pour le Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT) pour les produits destinés à être utilisés au travail. Les personnes qui manipulent la souche *Bacillus cereus* ATCC 14579 dans leur milieu de travail (c.-à.-d. laboratoires et installations de recherche et de développement) doivent consulter leur représentant en matière de santé et sécurité au travail au sujet des pratiques de manutention sécuritaires, des lois et des exigences applicables en vertu du SIMDUT et des Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire.

1. ÉVALUATION DU DANGER

Une évaluation du danger permet de caractériser le micro-organisme et de déterminer ses effets nocifs potentiels sur la santé humaine et sur l'environnement, ainsi que l'étendue et la durée de ces effets. Les dangers peuvent être causés par le micro-organisme lui-même ou par son matériel génétique, ses toxines, ses métabolites ou ses composants structuraux.

1.1 Caractérisation

1.1.1 Identification taxinomique et historique de la souche

L'identification taxinomique exacte d'un micro-organisme est essentielle pour distinguer les espèces et les souches pathogènes de celles qui ne le sont pas. Il est souvent nécessaire d'utiliser une approche polyphasique combinant des méthodes microbiologiques classiques (comme les méthodes à base de culture) avec des outils moléculaires (comme le génotypage et l'analyse des acides gras).

Bacillus cereus est une bactérie Gram positif, optionnellement anaérobie, sporifère et vagile qui se présente sous forme de bâtonnet. Les spores de *B. cereus* sont ellipsoïdales, subterminales et ne gonflent pas le sporange. Les cellules de *B. cereus* tendent à se présenter en chaînes et la stabilité de ces chaînes détermine la forme de la colonie, qui peut varier d'une souche à l'autre (Logan et De Vos, 2009). Le tableau 1 présente une comparaison des morphologies de colonies de *B. cereus* de sources variées.

B. cereus (*sensu stricto*) est un membre du groupe *B. cereus*, qui comprend six espèces étroitement apparentées : *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. anthracis*, *B. weihenstephanensis*, *B. pseudomycoides* et *B. mycoides*. La différenciation des espèces au sein du groupe *B. cereus* est particulièrement complexe et une approche polyphasique est requise pour obtenir une identification claire.

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

Les caractéristiques phénotypiques résumées au tableau 2 donnent un aperçu des capacités métaboliques de *B. cereus* ATCC 14579 inscrite à la LIS (pour la liste complète des souches inscrites à la LIS, voir <http://www.ec.gc.ca/subsnouvelles-news/subs/default.asp?lang=Fr&n=C4E09AE7-1>) en comparaison des autres membres du groupe *B. cereus*. Les données générées par Santé Canada¹, notamment sur la croissance en milieu liquide à différentes températures (annexe 1A), sur la croissance sur un médium solide et tests biochimiques à des températures de 28 °C ou 37 °C (annexe 1B) et sur l'analyse de l'ester méthylique d'acide gras (EMAG) (annexe 1C) ont permis de confirmer l'identification au niveau de l'espèce. Il convient de noter que ces techniques ne peuvent servir à différencier la souche inscrite à la LIS d'autres souches de *B. cereus*. Les différences entre les données obtenues par le proposant (présentées au moment de la demande d'inscription à la LIS), par Santé Canada¹, l'ATCC, et le guide Bergey se situent dans la plage acceptable pour *B. cereus* et pourraient être dues aux variations des conditions de culture.

¹ Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale

L'analyse EMAG de la souche 14579 de *B. cereus* a montré de fortes similitudes avec *B. thuringiensis*, ce qui était à prévoir compte tenu de la similitude génétique entre les membres du groupe *B. cereus*.

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

Organisme	Source	Forme	Taille (en mm)	Marge	Élévation	Couleur	Texture (surface)	Opacité	Pigment
ATCC 14579	Proposant ¹	Irrégulière	N.D. ²	Érodée	Plate	N.D.	Mate	Opaque	N.D.
ATCC 14579	Santé Canada ³	Circulaire irrégulière	5-8	Ondulée	Plate	Crème	Humide	Opaque	Aucun
ATCC 14579	American Type Culture Collection ¹	Irrégulière	N.D.	Érodée	Plate	N.D.	Mate	Opaque	N.D.
<i>B. cereus (sensu stricto)</i>	Guide Bergey ⁴	Circulaire à irrégulière	2-7	Entière à ondulée, brûlée ou fimbriée	N.D.	Blanchâtre à crème	Mate ou granuleuse (lisse et humide)	Opaque	Rosâtre-brun, jaune diffusible ou jaune-vert fluorescence possible

1. Apparence sur gélose nutritive à 30 °C

2. N.D. : Non disponible

3. Apparence sur gélose TSB après sept jours de croissance à température de la pièce.

4. Apparence sur gélose au sang après 24-36 heures à 37 °C

Les méthodes génotypiques, comme le séquençage génomique complet (Ivanova *et al.*, 2003), le polymorphisme de longueur de fragments amplifiés (AFLP : amplified fragment length polymorphism) (Ticknor *et al.*, 2001), la détermination d'empreintes génétiques par rep-PCR (Cherif *et al.*, 2003), l'analyse ADN_r 16S et ADN_r 23S (Ash *et al.*, 1991), l'électrophorèse enzymatique multilocus (MLEE : multi-locus enzyme electrophoresis) (Ash et Collins 1992; Helgason *et al.*, 2000b), le typage génomique multilocus (MLST : multi-locus sequence typing) (Helgason *et al.*, 2004; Priest *et al.*, 2004; Tourasse *et al.*, 2006) et l'hybridation par inhibition et soustraction (SSH : suppression subtractive hybridization) (Radnedge *et al.*, 2003) ont été largement utilisées pour démontrer les liens phylogénétiques et comprendre les faibles variations génomiques entre les espèces du groupe *B. cereus*. La proximité génétique entre les membres du groupe *B. cereus* est si étroite que, d'un point de vue strictement phylogénétique, ils pourraient être considérés comme une seule et même espèce.

Les membres du groupe *B. cereus* sont habituellement divisés en trois variantes phylogénétiques : la variante I comprend *B. anthracis* et certaines souches de *B. cereus* et de *B. thuringiensis*, provenant principalement de sources cliniques; la variante II comprend *B. cereus* ATCC 14579 et plusieurs autres souches de *B. cereus*, mais est principalement composée de souches de *B. thuringiensis*, dont peu proviennent de sources cliniques; enfin, la variante III comprend les bactéries non pathogènes *B. mycoides* et *B. weihenstephanensis* (Didelot *et al.*, 2009; Helgason *et al.*, 2000b; Kolsto *et al.*, 2009; Priest *et al.*, 2004; Vassileva *et al.*, 2006) (voir l'annexe 2). Différentes lignées basées sur le typage MLST ont également émergé des variantes I et II. *B. cereus* ATCC 14579 appartient plus précisément à la lignée Tolworthi (Barker *et al.*, 2005; Priest *et al.*, 2004; Vassileva *et al.*, 2006).

Les analyses de séquences de l'ADNr 16S de la souche de *B. cereus* inscrite à la LIS, effectuées par Santé Canada², ont démontré une homologie à 100 % en comparaison de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* dans la base de données exclusive MicroSeq® ID et une homologie à plus de 99 % avec les autres membres du groupe *B. cereus* inclus dans la base de données (*B. thuringiensis* ATCC 33679 et ATCC 10792, *B. anthracis* Ames et *B. mycoides* ATCC 6462). Cet ensemble de données confirme que l'ADNr 16S provenant la souche inscrit sur la LIS obtenue de l'ATCC correspond à la séquence publiée de l'ADNr 16S de *B. cereus* ATCC 14579. Les séquences d'ADNr 16S de la souche de *B. cereus* inscrites à la LIS présentent également de grandes similitudes lorsqu'elles sont comparées aux séquences des souches de *B. cereus* publiées dans le NCBI.

Au cœur de l'identification des différents membres de *B. cereus* se trouve l'analyse des caractéristiques phénotypiques et des traits de pathogénicité et la présence d'éléments extrachromosomiques, qui reflètent leur spectre de virulence des espèces. Les éléments extrachromosomiques qui diffèrent entre les membres du groupe *B. cereus* sont présentés à l'annexe 3. Les plasmides qui déterminent les modèles de pathogénicité du groupe *B. cereus* comprennent les éléments pXO1 et pXO2 de *B. anthracis*, qui contiennent l'îlot de pathogénicité de l'anthrax, pBtoxis de *B. thuringiensis*, qui encode la protéine insecticide, et pCER270 de *B. cereus*, qui encode une toxine émétique. Les éléments extrachromosomiques peuvent aussi varier entre les souches d'une même espèce. Bien que la présence de pXO1 ait été constaté dans certaines souches de *B. cereus* comme G9241 et que d'autres portent pCER270, ces éléments extrachromosomiques ne sont pas caractéristiques de la souche ATCC 14579, qui ne contient qu'un seul élément extrachromosomique, pBClin15 (Ivanova *et al.*, 2003). Le plasmide pBClin15 ne contient aucun gène associé avec des traits de pathogénicité connus.

Tableau 2 : Différenciation de *B. cereus* des espèces étroitement apparentées du groupe *B. cereus*

Caractéristiques	<i>B. cereus</i> ATCC14579 ¹	<i>B. cereus</i> ²	<i>B. cereus</i> <i>Emetic biova</i> ² <i>r</i>	<i>B. anthracis</i> ²	<i>B. thuringiensis</i> ²	<i>B.</i> <i>weihenstephanensis</i> ²	<i>B. pseudomycoides</i> ²	<i>B. mycoides</i> ²
Motilité	+	+	+	-	+	+	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase	+	-	-	N.D.	-	N.D.	-	-
Réaction au jaune d'œuf	N.D.	+	+	+	+	+	+	+
Hydrolyse de la caséine	+	+	+	+	+	+	+	+
Hydrolyse de l'esculine	+	+	+	+	+	N.D.	N.D.	+
Hydrolyse de la gélatine	+	+	+	+	+	+	N.D.	+
Acide du glycogène	N.D.	+	-	+	+	+	N.D.	+
Acide de l'amidon	N.D.	+	-	+	+	+	N.D.	+

² Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale

Dégradation de la tyrosine	+	+	S.O.	-	+	+	+	d
Utilisation du citrate	+	+	+	d	+	+	d	d
Utilisation du propionate	+	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	-
Cristal parasporal	-	-	-	-	+	-	-	-
Réduction des nitrates	+	d	+	+	+	d	+	d
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	+
Désamination de la phénylalanine	N.D.	-	-	N.D.	-	-	N.D.	-

+ > 85 %; - 0-15 % positif; N.D. indique que les données ne sont pas disponibles; d, des souches différentes donnent des réactions différentes

1. Données du proposant

2. Selon des renseignements résumant le phénotype de plusieurs souches et provenant de différentes publications disponibles dans le guide Bergey (Logan et De Vos, 2009)

1.1.2 Transfert génétique

La transmission horizontale de gènes a été reconnue comme l'un des principaux mécanismes à l'origine de l'évolution des micro-organismes. Elle joue un rôle de premier plan dans la capacité de ces derniers à s'adapter aux nouveaux milieux par l'acquisition de caractères. Le groupe *B. cereus* est une population hautement dynamique et le transfert générique entre les membres du groupe est un mécanisme évolutionnaire important. Différents plasmides se retrouvent dans différentes souches de *B. cereus* (annexe 3) et certains abritent des gènes liés à la pathogénicité ou à l'adaptation environnementale (Helgason *et al.*, 2000a; Hoffmaster *et al.*, 2004; Rasko *et al.*, 2005; Rasko *et al.*, 2007). En général, ces plasmides sont présents en petit nombre de copies et ne sont pas autotransmissibles, mais ils peuvent être mobilisés avec l'aide d'autres plasmides portant des homologues d'éléments clés d'un système de sécrétion conjugatif (Van der Auwera et Mahillon, 2005). La transduction (transfert génétique horizontal assisté par phage) est un mécanisme de transfert génétique potentiellement important dans l'environnement naturel. Le bactériophage CP-51, un phage transducteur généralisé pour *B. cereus*, *B. anthracis* et *B. thuringiensis*, assiste la transduction de l'ADN plasmidique (Ruhfel *et al.*, 1984). Le seul plasmide trouvé dans *B. cereus* ATCC 14579 est le plasmide linéaire pBClin15 (Ivanova, 2003), qui ressemble étroitement au phage Bam35 phage, un virus bactérien commun (Stromsten *et al.*, 2003), mais aucun événement de transduction n'a été associé à pBClin15 dans les ouvrages scientifiques.

Les séquences d'insertion (IS : insertion sequence) sont un autre type d'élément mobile pouvant être impliqué dans le transfert génétique horizontal. Les éléments IS sont composés de séquences répétées inverses apposées à un gène de transposase (De Palmenaer *et al.*, 2004) et leur présence a été constatée dans différents membres du groupe *B. cereus*. IS231 est l'un de ces éléments. Des variantes d'IS231 ont été répertoriées dans les chromosomes et les plasmides des membres du groupe *B. cereus*, incluant *B. cereus* ATCC 14579 (De Palmenaer *et al.*, 2004). IS231 a été impliqué dans la translocation de cassettes d'insertion mobiles pouvant contenir certains gènes impliqués dans la résistance aux antibiotiques ou l'adaptation à l'environnement (Chen *et al.*, 1999; De Palmenaer *et al.*, 2004). La variante d'IS231 identifiée dans *B. cereus* ATCC 14579 se compose de deux gènes putatifs, dont l'un est à 60 % identique à un haloacide dehalogénase et l'autre est à 55 % identique à un acétyltransférase.

Des introns du groupe II ont aussi été identifiés dans le génome des membres du groupe *B. cereus* (chromosome et plasmides), incluant une copie de la souche ATCC 14579. Même s'ils ne contiennent aucun gène de pathogénicité, ce sont des rétro-éléments autoépisseurs mobiles impliqués dans le transfert génétique (Tourasse et Kolsto, 2008). D'autres éléments peuvent faciliter le transfert génétique peuvent aussi être présents chez *B. cereus*. Økstad *et al.* (2004) ont identifié un élément répété d'ADN spécifique au groupe *B. cereus* group, *bcr1*. Cet élément est présent en 54 copies chez *B. cereus* 14579 et possède les caractéristiques d'un élément mobile. Par conséquent, *bcr1* pourrait être impliqué dans le transfert génétique horizontal au sein du groupe *B. cereus*. De plus, l'analyse génomique complète de la séquence de *B. cereus* ATCC 14579 (Ivanova *et al.*, 2003) a révélé la présence de 28 gènes de transposases, qui pourraient être impliqués dans le transfert génétique horizontal (Kolsto *et al.*, 2009).

Le transfert génétique est possible et pourrait augmenter le potentiel de risque de *B. cereus*, comme cela s'est produit lorsque la souche G9241 a acquis l'îlot de pathogénicité de l'anthrax du plasmide pXO1 de *B. anthracis*. Cependant, la présence de cellules végétatives semble essentielle pour la conjugaison (Santos *et al.*, 2010). Puisque *B. anthracis* existe naturellement dans l'environnement principalement à l'état de spores dormants dans et que ses cellules végétatives survivent mal hors de l'hôte, l'acquisition des plasmides de *B. anthracis* avec les autres membres du groupe *B. cereus* est extrêmement rare et peut être limitée aux régions où l'anthrax est endémique ou à tout le moins qu'ils y soient plus communs (Hoffmaster *et al.*, 2006). De plus, la croissance de *B. anthracis* à l'extérieur d'un hôte entraîne habituellement une perte de virulence (examiné dans Dragon et Rennie, 1995). En laboratoire, le transfert conjugal d'un plasmide insecticide de *B. thuringiensis* à *B. anthracis* a été observé à un ratio variant de $6,9 \times 10^{-4}$ à $1,9 \times 10^{-7}$, mais aucun isolat *B. anthracis* naturellement insecticide n'a encore été rapporté (Yuan *et al.*, 2010). La conjugaison des plasmides pAW63 et pXO16 de *B. thuringiensis* à une souche de *B. cereus* et entre des souches de *B. thuringiensis* a été rapportée dans des matrices alimentaires en laboratoire (Van der Auwera *et al.*, 2007). Le transfert conjugal du plasmide pHT73- EM^R de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* à *B. cereus* ATCC 14579 présente une fréquence de $1,1 \pm 0,90 \times 10^{-9}$ sur filtre de nitrocellulose et n'a pas été détectée sur un bouillon LB ou sur les larves de *Bombyx mori* (Santos *et al.*, 2010). Alors, il est donc possible que *B. cereus* ATCC 14579 acquière des plasmides de virulence de parents pathogéniques; la probabilité de ce phénomène est négligeable et n'est pas plus élevée que pour les formes naturelles de *B. cereus*. La souche inscrite à la LIS ne contient pas de plasmides porteurs de facteurs de virulence, de sorte qu'elle ne peut être impliquée dans la conjugaison de transfert de facteurs de virulence vers d'autres bactéries dans l'environnement.

1.1.3 Caractéristiques pathogéniques et toxigéniques

On attribue la capacité de la *B. cereus* de causer des infections chez les humains et les espèces non humaines à un large éventail de mécanismes, y compris l'attachement, l'invasion, le contournement des mécanismes de défense des organismes hôtes et les dommages infligés aux cellules de ces derniers.

B. cereus peut causer des intoxications alimentaires et différentes infections opportunistes et nosocomiales. *B. cereus* peut causer deux types d'intoxication alimentaire, le premier entraînant des vomissements par l'action de la toxine émétique céréulide et l'autre causant la diarrhée par l'action de différentes entérotoxines (Granum 2001; Kotiranta *et al.*, 2000; Stenfor Arnesen *et al.*, 2008). La céréulide est une toxine peptidique qui doit être présente dans les aliments ingérés pour causer des vomissements (Agata *et al.*, 2002). La présence

de cellules vivantes n'est pas nécessaire pour causer le syndrome de vomissement. Dans le cas du syndrome de diarrhée, on ne sait pas clairement si les entérotoxines sont présentes dans les aliments ou si elles sont produites dans l'intestin grêle par la bactérie. Cependant, les entérotoxines sont instables à un pH >4 et peuvent être dégradées par la pepsine, la trypsine et la chymotrypsine (Granum, 1994), de sorte qu'il est plus probable qu'elles soient produites dans l'intestin grêle. Cinq toxines ont été proposées comme causes potentielles du syndrome diarrhéique : HBL, NHE, BceT, EntFM et CytK, mais trois d'entre elles seulement (HBL, NHE et CytK) ont été associées à des flambées épidémiques d'origine alimentaire (Agata *et al.*, 1995a; Lund *et al.*, 2000; Lund et Granum 1997; Stenfors Arnesen *et al.*, 2008; Schoeni et Lee Wong, 2005).

La souche ATCC 14579 de *B. cereus* produit plusieurs toxines différentes, incluant des entérotoxines (hémolysine BL [HBL], une entérotoxine non hémolytique [Nhe], des hémolysines (hémolysine II [HlyII] et III [HlyIII]) et du phospholipase C (PLC), dont trois variantes sont reconnues : phosphatidylinositol hydrolase (PIH), phosphatidylcholine hydrolase (PC-PLC) et sphingomyélinase (SMase) (voir l'annexe 4) (Ivanova *et al.*, 2003). Les données obtenues par Santé Canada par l'analyse PCR ont confirmé la présence de *hbl*, *p/c* et *hly-III* dans les chromosomes de la souche ATCC 14579 (Seligy *et al.*, 2004). Le gène de codage de la toxine émétique est situé sur un plasmide, pCER270, qui n'est pas portée par la souche inscrite à la LIS (ATCC 14579) la rendant peu susceptible de produire de la céréulide (Hagglom *et al.*, 2002). La phospholipase C et les hémolysines produites par *B. cereus* sont des toxines nécrotiques qui imitent les effets de certaines toxines staphylococciques ou clostridiales, entraînant des infections non gastrointestinales envahissantes (Turnbull et Kramer, 1983).

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

Les autres facteurs de virulence spécifiques à *B. cereus* comprennent les protéases, notamment les métalloprotéases (Cadot *et al.*, 2010; Guillemet *et al.*, 2010) et d'autres enzymes de dégradation jouent un rôle dans l'établissement et le développement des infections et contournent le système immunitaire de l'hôte (annexe 5). Certains de ces facteurs ont été impliqués dans des infections chez les humaines et des cibles non humaines (voir les annexes 6A et 6B). Le facteur de transcription PlcR est vu comme un facteur de virulence puisqu'il est impliqué dans l'expression de la plupart des facteurs de virulence connus chez *B. cereus*, incluant HBL, Nhe, CytK, PLCs et plusieurs protéases de la souche inscrite à la LIS et qu'il peut être en partie responsable de la variabilité de la virulence parmi les souches de *B. cereus* (Gohar *et al.*, 2008). La capacité de *B. cereus* ATCC 14579 de croître de façon optimale à une température de 37 °C, comme le montre l'annexe 1A, représente aussi une préoccupation du point de vue de la santé humaine.

Les données produites par Santé Canada³ à partir de *B. cereus* ATCC 14579 (cellules et filtrats de culture) montrent une activité cytotoxique envers une lignée cellulaire du cancer du côlon chez l'humain et une lignée cellulaire macrophage chez la souris à 37 °C conforme aux résultats obtenus par d'autres laboratoires. De même, la souche ATCC 14579 présente une cytotoxicité élevée pour la lignée cellulaire Vero lorsqu'elle est cultivée à 37 °C et à 15 °C en milieu BHIG (L. P. Stenfors Arnesen, comm. pers.⁴) Linbäck *et al.*, (1999) démontre l'effet cytopathogène de *B. cereus* ATCC 14579 (surnageant) sur des cellules Vero et la forte activité hémolytique sur les globules rouges ovins, dans les deux cas à 37 °C. Bien que la cytotoxicité soit évidente dans ces études, les résultats varient selon la température de croissance.

En raison de la forte similitude génétique entre les membres du groupe *B. cereus*, les isolats cliniques qui partagent les toxines dont on sait qu'elles sont présentes dans la souche ATCC 14579 sont considérés comme des bons substituts pour caractériser les dangers potentiels pour la santé humaine de la souche ATCC 14579 tant qu'il est reconnu que des souches de *B. cereus* ATCC 14579 diffèrent des souches fortement pathogènes du groupe *B. cereus* car elle ne porte pas les plasmides de virulence associés au syndrome émétique ou à l'anthrax (Didelot *et al.*, 2009; Helgason *et al.*, 2000b; Kolsto *et al.*, 2009; Rasko *et al.*, 2005; Vassileva *et al.*, 2006). *B. cereus* 14579 peut aussi être distinguée des souches hautement pathogènes du groupe *B. cereus* par sa séquence génomique et sa position phylogénétique dans la variante II du groupe *B. cereus*, lequel comprend la majorité des isolats de *B. thuringiensis* (Priest *et al.*, 2004) qui inclut également les isolats cliniques (Barker *et al.*, 2005; Hoffmaster *et al.*, 2008), alors que les souches géniques fortement pathogènes (les souches de *B. anthracis* et les souches émétiques de *B. cereus*) sont regroupées dans la variante I. Récemment, Guinebretière *et al.*, (2008) ont proposé une nouvelle classification du groupe *B. cereus* basée sur l'AFLP. Cette nouvelle classification comprend sept groupes, tous sont associés à une plage particulière de température de croissance et à un potentiel de pathogénicité. Selon cette classification, la souche ATCC 14579 appartient au Groupe IV, qui comprend les souches de *B. cereus* et *B. thuringiensis* qui croissent à 37 °C et qui sont impliquées dans l'intoxication alimentaire (Guinebretière *et al.*, 2008; Guinebretière *et al.*, 2008).

1.1.3.1 Effets sur la santé humaine

Les maladies gastrointestinales sont les infections les plus communément associées à *B. cereus*. Chez les individus en santé, les symptômes sont généralement bénins, mais les complications peuvent conduire à des maladies plus graves et même à la mort (Ginsburg, 2003; Girish *et al.*, 2003; Lund *et al.*, 2000; Shiota 2010; Dierick *et al.*, 2005). Des éclosions de troubles intestinaux dus à *B. cereus* ont été signalées dans le monde entier (annexe 7B). On lui attribue entre 1 % et 33 % des cas d'intoxication alimentaire (Anonymous, 2005) avec des degrés de gravité variés. Le nombre véritable de cas est probablement sous-estimé, puisque la plupart des maladies d'origine alimentaire sont sous-déclarées. Au Canada, les maladies reliées à *B. cereus* ne sont pas à déclaration obligatoire et les éclosions épidémiques font l'objet d'une enquête par l'unité de soins de santé locale (J Greig, comm. pers.). Une seule éclosion de maladie d'origine alimentaire a été signalée pour cette espèce

³ Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale

⁴ Lotte Pia Stenfors Arnesen, professeure agrégée et chef du laboratoire de microbiologie alimentaire de l'École de science vétérinaire de Norvège (NVH), Département de la salubrité des aliments et des infections, Oslo, Norvège.

(J. Greig, comm. pers.⁵, McIntyre *et al.*, 2008). On n'a signalé aucune infection acquise en laboratoire jusqu'ici.

B. cereus cause différentes maladies non gastrointestinales (examinées dans Bottone, 2010; Drowbnieski, 1993). Les éclosions non gastrointestinales de *B. cereus* (annexe 7A) sont moins fréquentes et la plupart d'entre elles sont identifiées comme éclosions nosocomiales. L'endophtalmie est une infection grave causée par l'introduction de la bactérie dans les yeux après un traumatisme ou une chirurgie. Des cas d'endophtalmie ou de panophtalmie à *B. cereus* ont été rapportés dans les travaux scientifiques (Al-Jamali *et al.*, 2008; Altiparmak *et al.*, 2007; Chan *et al.*, 2003; Martinez *et al.*, 2007; Tobita et Hayano, 2007; Zheng *et al.*, 2008). Parmi les organismes qui infectent les yeux, *B. cereus* présente l'un des cours de l'infection qui évoluent le plus rapidement (Brinton *et al.*, 1984) et est l'un des plus destructeurs (Levin et D'Amico, 1991; Parke 1986; Pflugfelder et Flynn, 1992). Une expérience menée sur des lapins par Callegan *et al.*, 2003 a montré une endophtalmie reproductible causée par la souche ATC 14579. Malgré une intervention énergique menée avec des médicaments ou une intervention chirurgicale, l'endophtalmie à *B. cereus* entraîne habituellement une migration des bactéries à travers l'oeil, une progression remarquablement rapide et une réponse inflammatoire intraoculaire grave, entraînant la perte fonctionnelle de la vue en 24 à 48 heures (Davey et Tauber, 1987; Vahey et Flynn, 1991).

B. cereus peut causer une variété d'infections de la peau et des tissus mous, incluant la cellulite (Dancer *et al.*, 2002; Latsios *et al.*, 2003) et la cellulite nécrosante (Darbar *et al.*, 2005; Hutchens *et al.*, 2010; Sada *et al.*, 2009). Les infections des blessures, principalement chez des personnes par ailleurs en bonne santé, ont été signalées après un traumatisme, une chirurgie ou des brûlures (Crane et Crane 2007; Dubouix *et al.*, 2005; Moulder *et al.*, 2008; Pillai *et al.*, 2006; Ribeiro *et al.*, 2010; Shimoni *et al.*, 2008; Stansfield et Caudle, 1997). L'utilisation de cathéters a souvent été associée aux infections à *B. cereus* (Crane et Crane, 2007; Flavelle *et al.*, 2007; Koch et Arvand, 2005; Monteverde *et al.*, 2006; Ruiz *et al.*, 2006; Srivaths *et al.*, 2004).

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

Certains cas de méningo-encéphalite à *B. cereus* (Evreux *et al.*, 2007; Lebessi *et al.*, 2009; Lequin *et al.*, 2005; Manickam *et al.*, 2008; Puvabanditsin *et al.*, 2007) et de bactériémie (Girisch *et al.*, 2003; Hilliard *et al.*, 2003; John *et al.*, 2007; Tuladhar *et al.*, 2000; Van Der Zwet *et al.*, 2000) ont été signalés chez des nouveau-nés. La méningo-encéphalite néonatale causée par *B. cereus* est rare, mais le taux de mortalité en est élevé. Les cas d'infection peuvent souvent être retracés à des équipements ou appareils médicaux.

Certains cas de pneumonie à *B. cereus* ont été rapportés. Les infections pulmonaires dues à *B. cereus* sont rares en comparaison de celles attribuées à *B. anthracis*, mais peuvent être tout aussi dangereuses pour la vie des personnes immunodéficientes. Les personnes touchées sont en majorité des travailleurs des métaux et des personnes immunodéficientes, qui sont plus sensibles aux infections. Avashia *et al.*, (2007) signalent le cas de deux

⁵ Judy Greig, microbiologiste/épidémiologiste, Laboratoire de lutte contre les zoonoses d'origine alimentaire, Agence de la santé publique du Canada

travailleurs des métaux, en bonne santé, décédés des suites d'une pneumonie causée par *B. cereus*. Un autre décès, dans une région où l'anthrax est naturellement présent chez les herbivores, a aussi été signalé chez un travailleur des métaux (Hoffmaster *et al.*, 2006). Cependant, dans tous ces cas, la présence du plasmide pX01 (mais non du plasmide pX02) a été constatée dans tous les échantillons de *B. cereus* et la voie d'exposition supposée était l'inhalation. Des cas de pneumonie à *B. cereus* chez des patients cancéreux ont été rapportés par Frankard *et al.*, (2004), Fredrick *et al.*, (2006), Katsuya *et al.*, (2009), et Sotto *et al.*, (1995). Dans la plupart des cas, la voie de l'infection était inconnue, mais liée aux infections existantes de *B. cereus* chez les patients. Dans tous les cas, sauf un, l'infection a entraîné le décès.

Deux études menées avec des souris BALB/c ont démontré que l'inhalation de *B. cereus* ATCC 14579 à l'état de spores ou à l'état végétatif avait des effets négatifs. Salimatou *et al.*, (2000) ont rapporté que 90 % des souris mourraient dans un délai de 24 heures suivant l'instillation nasale de 10^7 spores, tandis que toutes mourraient après l'administration de 6×10^6 cellules végétatives. La cause du décès n'a pas été déterminée mais ne semblait pas dépendre de la croissance des bactéries chez les souris. Des défauts dans l'étude rendent ses résultats questionnables. L'expérience a été menée une seule fois, et aucun résultat n'a été présenté pour des souris de contrôle. L'instillation d'un volume élevé de la dose, pourrait avoir causé la mort par asphyxie et hémorragie pulmonaire Tayabali *et al.*, (2010). ne rapportent aucun effet toxicologique chez des souris BALB/c exposées à 10^7 spores de *B. cereus* ATCC 14579, une semaine après l'instillation endotrachéale. Les souris présentaient cependant des symptômes graves apparentés au syndrome de choc (léthargie, apparence de gibbosité, fourrure soulevée et détresse respiratoire) quatre heures après l'exposition à 10^5 ou 10^6 de cellules végétatives. Une augmentation du niveau de cytokine inflammatoire a été observée dans le sang et les poumons, mais toutes les souris ne présentaient pas de réponse, ce qui résulte en un écart type élevé. Les tests ont révélé une réponse intermédiaire des cytokines après une exposition à 10^4 et une absence de réponse aux niveaux d'exposition plus faibles des cellules végétatives (10^2 et 10^3) (A. Tayabali, comm. pers.). Comparativement à l'étude Salimatou, l'étude Tayabali était mieux contrôlée et mieux normalisée sur la production de spores et de cellules végétatives. Une étude préliminaire sur la méthodologie a également été effectuée afin de limiter les effets de la procédure d'instillation sur les résultats finaux.

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

Les rapports cliniques démontrent que la gravité des infections de *B. cereus* présentaient une corrélation importante avec la capacité de synthétiser les toxines (Beecher *et al.*, 2000; Ghelardi *et al.*, 2002) et dépend de la compétence immunitaire de l'hôte ainsi que de la virulence du microbe. Tel qu'il a été mentionné à la section 1.1.3, les gènes encodant pour l'hémolysine BL, l'entérotoxine non hémolytique (Nhe), les hémolysines (hémolysine II et III) et la phospholipase C (hydrolase de phosphatidylinositol, hydrolase de phosphatidylcholine et sphingomyélinase) sont présents chez *B. cereus* ATCC 14579, mais il n'existe pas de données sur l'expression et le niveau des toxines ou des facteurs de virulence. L'hémolysine

Il et les métalloprotéases InHA1 et NprA peuvent aussi servir d'indicateurs de pathogénicité (Cadot *et al.*, 2010), cependant il est impossible de prédire quelles souches de *B. cereus* sont en mesure de causer des maladies intestinales basé seulement sur la présence de ces facteurs de virulence, puisqu' il ne s'agit pas de toutes les souches contenant ces facteurs de virulence qui induisent des effets néphastes (anonyme, 2005).

Le traitement des infections à *B. cereus* chez l'humain est entravé par la résistance aux médicaments antimicrobiens. Les tests de sensibilité aux antibiotiques montrent que la résistance de *B. cereus* aux différents antibiotiques varie largement entre les souches (Bernhard *et al.*, 1978; Weber *et al.*, 1988). La plupart des souches de *B. cereus* produisent de la bêta-lactamase et sont par conséquent considérées résistantes aux agents antimicrobiens à base de bêta-lactamines (Coonrod *et al.*, 1971). La plupart des souches de *B. cereus* sont résistantes à la pénicilline, à la pénicilline semi-synthétique, à la céphalosporine (Stretton et Bulman, 1975; Weber *et al.*, 1988), à l'ampicilline, à la colistine, à la polymyxine, à la kanamycine, à la tétracycline, à la bacitracine et à la céphaloridine (Bernhard *et al.*, 1978; Wong *et al.*, 1988). Mols *et al.*, 2007 ont rapporté que *B. cereus* ATCC 14579 était résistante aux antibiotiques ciblant les parois cellulaires, comme la céfazoline, le kétoprofène et le moxalactame. Même avec le régime antibiotique approprié, la documentation scientifique présente des exemples d'infections à *B. cereus* réfractaires conduisant à un résultat fatal (Musa, 1999; Tuladhar, 2000). Les tests de susceptibilité aux antibiotiques menés par Santé Canada sur dix catégories d'antibiotiques a démontré que *B. cereus* ATCC 14579 présentait une résistance élevée à l'amoxycilline, à l'aztréonam et au triméthoprim, une sensibilité intermédiaire au céphotaxime et à l'acide nalidixique mais qu'elle est sensible à la doxycycline, à l'érythromycine, à la gentamicine et à la vancomycine (tableau 3).

Tableau 3 : Concentrations inhibitrices minimales (CIM)¹ pour *B. cereus* ATCC 14579

Antibiotique	ATCC 14579
Amoxicilline	> 24 µg/mL
Aztréonam	> 24 µg/mL
Céfotaxime	> 12 µg/mL
Doxycycline	< 0,37 µg/mL
Érythromycine	< 0,37 µg/mL
Gentamicine	1,5 µg/mL
Acide nalidixique	6 µg/mL
Triméthoprim	> 24 µg/mL
Vancomycine	1,5 µg/mL

1. Travaux menés selon la méthode d'essai liquide TSB-MTT (Seligy *et al.*, 1997). Les valeurs rapportées s'appuient sur un minimum de trois expériences indépendantes. Les valeurs correspondent à la concentration inhibitrice minimale (en µg/mL) pour la souche de *B. cereus* ATCC 14579 (20 000 UFC/puit) cultivées en présence de l'antibiotique pendant 72 h à 37 °C.

1.1.3.2 Effets sur l'environnement

En tant qu'espèce, *B. cereus* est reconnue comme un pathogène du groupe de risque 2 par le Programme de l'importation des zoonoses pathogènes de l'Agence canadienne d'inspection des aliments. En général, un agent pathogène du groupe de risque 2 consiste en tout agent pathogène pouvant causer des maladies, mais qui, en temps normal, ne devrait pas constituer un grave danger pour les organismes dans l'environnement. Il existe des mesures curatives et préventives efficaces et le risque de propagation est limité.

Cependant, *B. cereus* peut avoir une gamme d'effets sur les espèces non humaines, selon l'hôte et le mode d'exposition. Certains exemples comprennent la diarrhée (singes), la mastite (bovins), l'inflammation (lapins) et la mort (différents organismes) (voir les annexes 6A et 6B). Excluant la mastite, toutes les données ont été obtenues à partir d'études expérimentales. Dans les paragraphes ci-dessous, les études ayant utilisé la souche ATCC 14579 de *B. cereus* sont indiquées par un astérisque.

Quatre des cas portaient sur la mastite chez les bovins, mortelle dans certains cas (Annexe 6B). On sait cependant qu'un traitement approprié permet aux animaux de survivre à une telle infection (Schiefer *et al.*, 1976). Deux cas portaient sur des invertébrés et indiquaient que l'isolat WGPSB-2 de *B. cereus* présentait un certain potentiel comme agent de lutte biologique contre les hannetons (Selvakumar *et al.*, 2007; Sushil *et al.*, 2008). Un certain nombre d'études expérimentales (menées hors de ce qu'on considère comme le milieu naturel) ont utilisé *B. cereus* dans une variété d'organismes qui incluent des invertébrés (insectes lépidoptères*, blattes* et coléoptères, et crustacés) et des mammifères (cobayes, lapins, souris*, bovins, singes et chats). Les modes d'exposition comprenaient notamment l'ingestion libre et le gavage, l'injection (intraveineuse, intrahémocèlique, intracélomique, intradermique, intravitréenne, intrapéritonéale, sous-cutanée), l'instillation nasale ou l'exposition cutanée à des cultures ou des surnageants acellulaires.

Les objectifs des études étaient variés et comprenaient entre autres la caractérisation du rôle de gènes spécifiques dans la virulence, l'étude des propriétés opportunistes de *B. cereus*, la pertinence d'organismes spécifiques comme modèle d'infection orale pour les bactéries entomopathogènes, l'étude des agents pathogènes naturels pour différents ravageurs, des essais de pathogénicité dans le but de caractériser les causes de décès larvaire, la purification et l'identification d'une exotoxine bactérienne du sol, et des modèles de pathogénicité humaine pour *B. cereus*.

Les résultats des études mentionnées ci-dessus varient aussi selon les organismes, les souches de *B. cereus* et les modes d'exposition. Dans plusieurs des études sur les invertébrés lépidoptères, la toxine cristalline insecticide (Cry1C) de *B. thuringiensis* a été coadministrée avec les spores de *B. cereus* ATCC 14579. Les spores de *B. cereus* ont contribué de façon synergétique à la mortalité dans ces études, alors que la mortalité en l'absence de Cry1C était faible. Malgré tout, une souche spécifique de *B. cereus* a été identifiée comme agent pathogène des lépidoptères selon les postulats de Koch dans *Trichoplusia ni*, et il a été démontré que la sphingomyélinase* de *B. cereus* était toxique pour les vers à soie et les blattes. Les larves de scolyte de l'orme en suspension dans une culture de *B. cereus* ont affiché un taux de mortalité de 63,6 %. *B. cereus* est aussi pathogène en inoculation orale pour les larves de dendroctone méridional du pin et affiche des degrés divers de toxicité et de mortalité en ingestion libre pour l'anthronome du cotonnier et le puceron noir des fèves (mais non pour la noctuelle africaine du coton). Les puces d'eau exposées à des cultures de *B. cereus* sont mortes en huit à seize jours. Des tests de pathogénicité et de toxicité sur des espèces invertébrées ont été effectués dans les laboratoires d'Environnement Canada. Les résultats de tests de toxicité chronique de *B. cereus* ATCC 14579 chez l'espèce invertébrée *Folsomia candida* (le collembole nivicole) n'a pas montré d'effet sur la mortalité chez l'adulte, mais a résulté en une diminution de leur reproduction à une concentration de 10^8 ufc/g sol. (Princz, 2010).

Chez les vertébrés, des effets ont été rapportés par différentes sources, incluant une inflammation nécrotique au site d'injection sous-cutanée, de l'accumulation de liquide dans un modèle d'anse iléale de lapin, une augmentation de la perméabilité vasculaire, la

présence d'abcès ou de nodules après l'injection intradermale, une calcification et une ulcération nécrotique de la peau après l'injection intramusculaire chez les lapins, de la diarrhée après l'ingestion chez les singes, des avortements spontanés chez les bovins et les ovins ayant reçu des doses élevées par injection intraveineuse et de la mortalité chez les souris. Les détails de ces expériences sont présentés dans l'annexe 6A. Compte tenu de l'information disponible, il convient de noter que les effets pathogéniques signalés en annexe 6A ne sont pas attendus chez le biote dans l'environnement naturel puisque les modes d'administration contournent les barrières physiques naturelles ou que les concentrations de bactérie utilisées sont plus élevées que celles attendues dans l'environnement naturel.

Des essais de pathogénicité et de toxicité de *B. cereus* ATCC 14579 sur des végétaux ont également été effectués dans les laboratoires d'Environnement Canada. Des essais menés sur *Festuca rubra* (fétuque rouge) ont démontré une diminution significative de la longueur de la pousse (réduction de 21 % comparativement au témoin), de la longueur des racines (réduction de 28 %) et de la masse sèche des racines (réduction de 42 %), mais aucun effet sur la masse sèche de la pousse en comparaison au contrôle (Princz, 2012). Malgré les effets néfastes observés chez la fétuque rouge à la concentration utilisée, cette souche n'est pas soupçonnée d'être un pathogène végétal franc ou d'être utilisée à la même concentration dans des applications industrielles ou de consommation aux végétaux.

1.1.4 Autres caractéristiques écologiques

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

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

La formation d'un biofilm est en général associée à la pathogénicité et à une augmentation de la résistance aux agents antimicrobiens. L'espèce *B. cereus* est réputée d'avoir la capacité de former des biofilms; cependant, aucune formation de biofilm n'a été observée pour *B. cereus* ATCC 14579 après incubation d'une culture en phase exponentielle à une densité optique (600 nm) de 0,01 dans un milieu LB sur une plaque microlitre de

polychlorure de vinyle de 96 puits durant 72 heures à 30 °C, alors que la formation d'un biofilm a été observée dans les mêmes conditions pour la souche *B. cereus* ATCC 10987 (Auger *et al.*, 2006). Dans une autre étude, *B. cereus* ATCC 14579 a formé des biofilms sur un milieu Y1 après 24 heures à 20 °C et 30 °C, mais le biofilm s'est dispersé après 48 heures (Wijman *et al.*, 2007). Les auteurs de cette étude ont conclu que la formation de biofilm était fortement dépendante du temps d'incubation, de la température et du milieu, de même que de la souche utilisée.

Il a été démontré que *B. cereus* ATCC 14579 est en mesure de produire une substance inhibitrice de type bactériocine fortement active contre les espèces de *Bacillus* qui lui sont étroitement apparenté (Risoen *et al.*, 2004). Cependant, aucun article ou rapport de recherche publié n'indique que *B. cereus* ATCC 14579 est dommageable pour le biote microbien dans l'environnement au niveau des populations (pour les fins de l'évaluation, ce terme désigne un nombre significatif d'organismes de la même espèce habitant un territoire donné).

B. cereus est très probablement impliqué dans le cycle des nutriments biogéochimiques, puisqu'il produit une large gamme d'enzymes extracellulaires et qu'il peut croître sur des matières organiques en décomposition (Borsodi *et al.*, 2005). Par conséquent, il est en mesure de jouer un rôle dans la décomposition et le recyclage des matières organiques du sol, lorsqu'il apparaît dans un état végétatif; cependant, c'est principalement à l'état de spores qu'il est le plus répandu dans le sol. *B. cereus* est également capable de réduire les nitrates en nitrites et en ammonium et peut donc jouer un rôle dans le cycle de l'azote (Andersson, 1995).

1.2 Gravité du danger

La **gravité du danger pour l'environnement** que représente la souche *B. cereus* ATCC 14579 est estimée **moyenne**⁶. Les considérations qui peuvent mener à une conclusion de danger moyen comprennent le fait que le microorganisme soit considéré comme un agent pathogène opportuniste, qu'il mène à certains effets néfastes mais réversibles, à moyen terme, et que des traitements efficaces ou des mesures d'atténuation soient disponibles. *B. cereus* est reconnu comme un pathogène du groupe de risque 2 par le Programme de l'importation des zoonoses pathogènes de l'Agence canadienne d'inspection des aliments. De tels agents pathogènes, sous certaines conditions peuvent prédisposer l'hôte à l'infection, entraîner une série de symptômes qui affaiblissent l'hôte et peuvent aller jusqu'à tuer ce dernier. Dans les cas ayant fait l'objet d'études, comme les infections causées par *B. cereus* en milieu agricole (mastite chez les bovins), le traitement aux antibiotiques a permis la survie des animaux infectés. En règle générale, en l'absence de conditions faisant que l'hôte est prédisposé à l'infection (ce qui peut inclure les voies d'exposition invasives), il est peu probable que l'infection se produise. Cette interprétation est cohérente avec l'observation selon laquelle aucune preuve n'existe dans les ouvrages scientifiques laissant entendre que des effets écologiques nocifs existeraient au niveau de la population.

La **gravité du danger pour la santé humaine** que représente la souche *B. cereus* ATCC 14579 est estimée **moyenne**⁶. Les considérations menant à une conclusion de danger moyen comprennent : 1) la limitation des études de cas dans les ouvrages scientifiques aux sous-populations vulnérables(c.-à-d., sévèrement immunodéficientes) ou sont rares, localisés et rapidement guéris chez les humains en bonne santé; 2) le potentiel

⁶ Voir l'annexe 8.

de transmission à d'autres être humains est faible; 3) les effets chez les modèles animaux de laboratoire ne sont pas mortels et sont limités à l'exposition invasive (p. ex., instillation trachéale) ou sont bénins et disparaissent rapidement par eux-mêmes.

Les renseignements provenant des ouvrages scientifiques indiquent que ce micro-organisme présente un potentiel pathogène tant chez les personnes en bonne santé que chez les personnes immunodéficientes. L'Agence de la santé publique du Canada considère *B. cereus* comme un agent anthropopathogène appartenant au groupe de risque 2. *B. cereus* produit une grande variété d'enzymes et de toxines extracellulaires qui représentent des facteurs importants de sa pathogénicité chez les humains sensibles et les sujets en bonne santé. La vaste majorité des maladies reliées à *B. cereus* chez les humains en santé sont bénignes, se résolvent d'elles-mêmes et sont habituellement traitables. Il existe certains rapports faisant état de décès consécutifs à des infections à *B. cereus* chez l'humain; cependant, les souches impliquées dans ces cas contiennent des plasmides de virulence importants qui ne sont pas présents dans *B. cereus* ATCC 14579. Il n'existe aucune information à l'effet que la souche ATCC 14579 ait la capacité de répandre et d'acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques; cependant, le traitement des infections causées par *B. cereus* ATCC 14579 pourrait être ralenti par sa résistance à plusieurs médicaments antimicrobiens (voir le tableau 3).

2. ÉVALUATION DE L'EXPOSITION

Une évaluation de l'exposition détermine les mécanismes par lesquels un micro-organisme est introduit dans un milieu récepteur (section 2.1) et estime qualitativement ou quantitativement l'ampleur, la probabilité, la fréquence, la durée ou l'étendue de l'exposition humaine et environnementale (section 2.2). L'exposition au micro-organisme lui-même, à son matériel génétique, à ses toxines, métabolites ou composantes structurales est évaluée dans cette section.

2.1 Sources de l'exposition

B. cereus est très répandu dans l'environnement. Il abonde dans la nature et est capable de survivre et de se développer dans une multitude d'environnements, notamment dans le sol, la poussière aéroportée, l'eau, les sédiments ou les végétaux et les matières en décomposition. (Logan and De Vos 2009; Stenfors Arnesen *et al.*, 2008). Les espèces humaines et non humaines sont régulièrement exposées à *B. cereus*. La présente section a cependant pour but de caractériser l'exposition à la souche figurant sur la LIS, *B. cereus* ATCC 14579, qui découle de son ajout délibéré dans des produits commerciaux ou de consommation ou de son utilisation dans des procédés industriels au Canada.

B. cereus, comme espèce, présente des propriétés qui peuvent la rendre commercialement attrayante dans diverses industries. *B. cereus* ATCC 14579 a été inscrit sur la LIS à cause de son utilisation passé dans des produits commerciaux et de consommation. Une recherche du domaine public (internet, bases de données sur les brevets) révèle une multitude d'utilisations potentielles, notamment dans la transformation des aliments, les produits pharmaceutiques, la transformation des pâtes et papiers et des textiles, la production de produits biochimiques et d'enzymes, la biorestauration et la biodégradation, la biolixiviation et la bioprospection minière, le traitement des eaux usées municipales et industrielles. Certaines souches de *B. cereus* ont été utilisées dans des applications agricoles comme probiotiques pour le bétail (p. ex. Lodemann *et al.* 2008) et comme agents de lutte antiparasitaire microbiens (Lodemann *et al.* 2008).

En 2009, le gouvernement a lancé une enquête obligatoire pour la collecte de renseignements (Avis) en application de l'article 71 de la LCPE 1999, enquête qui a été publiée dans la *Gazette du Canada*, Partie I, le 3 octobre 2009 (ci-après appelée l'« Avis »). L'Avis s'appliquait à toute personne qui, au cours de l'année civile 2008, avait fabriqué ou importé *B. cereus* ATCC 14579, seul, en mélange ou en produit. Quiconque remplissait ces exigences pour la déclaration des renseignements était tenu légalement de transmettre une réponse. Les répondants devaient fournir des renseignements sur le secteur industriel, les utilisations et les noms commerciaux associés aux produits contenant cette souche, de même que sur la quantité et la concentration de la souche importée fabriquée durant l'année civile 2008. Aucune activité commerciale de consommation associée à *B. cereus* ATCC 14579 n'a été signalée en réponse à cet Avis. *B. cereus* ATCC 14579 fut rapporté seulement en très petite quantité pour les activités de Recherche et Développement et d'enseignement.

2.2 Caractérisation de l'exposition

La caractérisation de l'exposition est basée sur les activités qui furent rapportées dans l'Avis (activités de R et D et d'enseignement). Comme *B. cereus* ATCC 14579 est un anthropopathogène et un zoopathogène appartenant au groupe de risque 2, des mesures pour réduire l'exposition humaine et environnementale découlant de son utilisation dans les laboratoires de recherche et d'enseignement ont été prises en vertu des *Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire* de l'ASPC et les *Normes sur le confinement des installations vétérinaires* de l'ACIA. Ces lignes directrices spécifient notamment, l'aménagement spécifique des laboratoires, pratiques opérationnelles et exigences physiques. Par exemple, tout le matériel doit être confiné et est décontaminé avant d'être éliminé ou réutilisé de façon à prévenir la libération d'un agent infectieux, et l'équipement pour l'intervention en cas d'urgence et pour la décontamination doit être facilement accessible et maintenu en bon état de façon à pouvoir être utilisé immédiatement et efficacement. Les procédures prévues pour l'expédition de *B. cereus* ATCC 14579 doivent également respecter les exigences fixées dans la *Loi sur le transport des marchandises dangereuses* et son règlement d'application. Ces mesures visent à prévenir toute exposition humaine ou environnementale à cet organisme. Pour les applications signalées en réponse à l'Avis, il est attendu que l'exposition des humains et de l'environnement à *B. cereus* ATCC 14579 soit faible.

2.2.1 Environnement

L'**exposition environnementale** à la souche *B. cereus* ATCC 14579 estimée **faible**⁷ si l'on se fie aux réponses reçues à l'Avis, lesquelles indiquent que cette souche n'est plus utilisée dans les produits commerciaux ou de consommation ni dans les procédés industriels au Canada.

Néanmoins, divers scénarios d'exposition environnementale ont été envisagés au cas où les activités de consommation, les activités commerciales ou industrielles impliquant *B. cereus* ATCC 14579 reprendraient.

L'ampleur de l'exposition d'espèces non humaines à ce micro-organisme dépendra de la persistance et de la survie de *B. cereus* ATCC 14579 dans l'environnement. Des données de tests de persistance de *B. cereus* ATCC 14579 dans le sol agricole ont été obtenues par Environnement Canada. Après l'inoculation de cellules vivantes dans le sol, des échantillons

⁷Voir l'annexe 8

ont été prélevés à divers moments, et la présence d'ADN de *B. cereus* ATCC 14579 a été recherchée par AFLP PCR spécifique. L'ADN de cette souche a été détectée jusqu'à 127 jours suivant l'inoculation (Xiang *et al.*, 2010). La présence de cellules vivantes n'a pas été testée. Une autre étude menée par West *et al.*, 1985 rapporte que l'inoculation de sol sec naturel (non autoclavé) avec 10^4 spores de *B. cereus* mène à l'augmentation de la population à plus de 10^5 au cours de la durée de l'expérience (64 jours). Ce qui s'aligne avec le fait que les spores peuvent se maintenir dans l'environnement et sont résistants à certains facteurs qui normalement causent le déclin des cellules végétales suite à une inoculation artificielle. Par conséquent, il est raisonnable de penser que le relâchement répété de spores de *B. cereus* dans l'environnement naturel pourrait mener à l'augmentation du nombre des spores qui se maintiendrait dans ces environnements.

B. cereus est un micro-organisme persistant qui est fréquemment isolé des environnements naturels. Cependant, les études des ouvrages scientifiques qui contiennent des données sur les niveaux des populations sont très limitées. Une étude (Tucker and McHugh, 1991) a montré que dans différents sols contenant différentes populations florales, *B. cereus* peut atteindre une concentration de 6×10^4 ufc/g de sol. En outre, aucun rapport pertinent sur la persistance environnementale des toxines produites par *B. cereus* n'a été retrouvé. Bien qu'une introduction d'une grande quantité de *B. cereus* ATCC 14579 dans l'environnement pourrait entraîner des concentrations plus élevées de *B. cereus* que les taux ambiants, il est peu probable qu'un grand nombre de cellules végétatives persistent dans l'eau et le sol en raison de la compétition (Leung *et al.* 1995) et de la microbiostase (van Veen *et al.* 1997), un effet inhibiteur du sol, entraînant la baisse rapide des populations de bactéries introduites. Les spores de *B. cereus* risquent néanmoins de persister et de s'accumuler dans l'environnement comme indiqué plus haut. Aucun rapport documentant l'élimination de spores après une contamination environnementale n'a été retrouvé dans la littérature scientifique.

Les scénarios d'exposition potentiels sont développés à partir des utilisations antérieures et probable dans le futur comme décrites dans la section 2.1 *Sources de l'exposition*. Les utilisations passées et futures risquent de conduire à l'introduction de *B. cereus* ATCC 14579 dans les écosystèmes aquatiques et terrestres. Par exemple, l'utilisation de *B. cereus* ATCC 14579 dans le traitement des eaux usées ou sa décharge dans les rejets industriels comme la transformation des pâtes et papiers et des textiles, la production de produits biochimiques et d'enzymes, pourrait mener à l'introduction de *B. cereus* ATCC 14579 dans les écosystèmes aquatiques. Dans le même ordre d'idées, son utilisation en biorestauration et biodégradation ainsi que dans les probiotiques pour le bétail et comme agents de lutte antiparasitaire microbiens pourraient mener à son introduction dans les écosystèmes terrestres.

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

2.2.2 Humains

L'**exposition des humains** à *B. cereus* ATCC 14579 est estimée **faible**, si l'on se fie aux réponses à l'Avis, lesquelles indiquent que cette souche n'est plus utilisée dans les produits commerciaux et de consommation ni dans les procédés industriels au Canada.

Néanmoins, divers scénarios d'exposition pour les êtres humains ont été envisagés au cas où les activités de consommation, les activités commerciales ou industrielles impliquant *B. cereus* ATCC 14579 reprendraient. Ces scénarios se basent sur des utilisations antérieures et futures probables décrites dans la Section 2.1 *Sources d'exposition*. L'exposition en milieu de travail à *B. cereus* ATCC 14579 n'est pas prise en compte dans la présente évaluation⁸.

Une exposition est à prévoir durant l'utilisation directe et l'application de produits commerciaux et de consommation contenant *B. cereus* ATCC 14579. Des contacts cutanés et oculaires, l'ingestion accidentelle et l'inhalation de gouttelettes ou de particules aérosolisées sont des voies probables d'exposition directe des utilisateurs et des observateurs. L'usage de ces produits dans les zones de préparation des aliments pourrait entraîner une contamination des surfaces et des aliments au moment de l'application de ces produits. Des lacunes subséquentes dans les bonnes pratiques de manipulation des aliments pourraient permettre à *B. cereus* ATCC 14579 de proliférer dans les aliments et entraîner l'ingestion d'un grand nombre de cellules.

L'exposition humaine peut également survenir plus loin dans le temps par rapport au moment de l'application. Suite à son utilisation, on s'attend à ce que *B. cereus* ATCC 14579 demeure viable et établisse des communautés au site d'accumulation de matière organique (par ex., les comptoirs, les éviers, les drains, les séparateurs de graisses et les broyeurs de déchets de cuisine). À partir de ces réservoirs, des aérosols contenant *B. cereus* ATCC 14579 pourraient contaminer les surfaces et les aliments. Comme mentionné ci-dessus, des lacunes subséquentes dans les bonnes pratiques de manipulation des aliments pourraient permettre aux organismes de proliférer dans les aliments et entraîner l'ingestion d'un grand nombre de cellules menant au développement d'effets néfastes.

Certaines applications pourraient contribuer à l'introduction de *B. cereus* ATCC 14579 dans les plans d'eau, tel que décrit à la Section 2.2.1. L'exposition humaine à la souche via l'environnement devrait cependant être faible. En outre, les procédés de traitement de l'eau potable devraient éliminer efficacement ces micro-organismes et limiter leur ingestion par l'eau potable.

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

⁸AVERTISSEMENT : La détermination de la conformité à un ou plusieurs des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE 1999 est basée sur une évaluation des risques potentiels pour l'environnement et/ou la santé humaine associés aux expositions dans l'environnement. Pour les humains, cela inclut, sans toutefois s'y limiter, les expositions par l'air, l'eau et l'utilisation de produits contenant ces substances. Une conclusion établie en vertu de la LCPE 1999 peut n'avoir rien à voir avec une évaluation basée sur les critères de risque définis dans le *Règlement sur les produits contrôlés*, qui fait partie d'un cadre réglementaire pour le Système d'information sur les matières dangereuses au travail (SIMDUT) pour les produits destinés à être utilisés au travail et elle n'empêche pas qu'une telle évaluation soit faite. Les personnes qui manipulent *B. cereus* ATCC 14579 au travail devraient consulter leur représentant en santé et sécurité au travail au sujet des pratiques de manipulation sécuritaire, des lois et règles applicables dans le cadre du SIMDUT et des *Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire*.

3. CARACTÉRISATION DES RISQUES

D'après le niveau actuel d'exposition qui a été déduit des réponses à l'Avis et peu importe les dangers potentiels pour la santé humaine ou pour l'environnement canadien, le risque pour la santé des humains et l'environnement associé à l'exposition à la souche *B. cereus* ATCC 14579 figurant sur la LIS est estimé **faible**⁹.

La reprise des activités d'importation, de fabrication ou d'utilisation de *B. cereus* ATCC 14579 pourrait néanmoins entraîner une augmentation du niveau d'exposition humaine et environnementale, telle que décrite dans la Section 2.2.2, ce qui contribuerait à accroître cette estimation du risque. Concernant l'importation et la manufacture future et en prenant en considération les applications connues et potentielles de *B. cereus* ATCC 14579 dans différentes industries, l'exposition environnementale pourrait changer.

Les espèces non-humaines devraient être principalement exposées à *B. cereus* ATCC 14579 par l'eau et le sol. Plus particulièrement, les espèces terrestres et aquatiques pourraient entrer en contact avec cet organisme suite à sa libération lors d'activités industrielles ou de manufacture. Les applications associées à sa libération dans les environnements terrestres pourraient devenir problématiques puisqu'il a été démontré que des concentrations élevées (10^7 - 10^8 ufc/g de sol sec) de *B. cereus* ATCC 14579 peuvent causer des effets néfastes chez le collembole nivicole et la fétuque rouge et qu'il y a un manque d'information sur les effets néfastes potentiels de *B. cereus* sur les espèces aquatiques.

Dans l'éventualité où les activités de consommation, commerciales ou industrielles reprenaient et menaient à l'augmentation de l'exposition environnementale à *B. cereus* ATCC 14579, le risk associé aux effets néfastes pourrait augmenter. Il est par conséquent recommandé que toutes nouvelles activités associées à cet organisme soient évaluées pour s'assurer que toute nouvelle application ne présentera pas de nouveaux risques.

Le risque pour la santé humaine dépendra de la voie d'exposition. Parmi toutes les voies identifiées, l'exposition par ingestion est des plus préoccupantes puisque que *B. cereus* est principalement un pathogène gastro-intestinal. *B. cereus* ATCC 14579 produit d'important facteurs des virulence (p. ex. enzymes extracellulaires et toxines) impliqués dans les maladies gastro-intestinales. La dose infectieuse de *B. cereus* varie, selon des rapports, entre 10^2 et 10^8 ufc par gramme d'aliments ou d'eau et tout aliment contenant des concentrations de *B. cereus* qui dépassent 10^3 à 10^5 cellules ou spores par gramme est reconnu impropre à la consommation ((Anonyme, 2005; Hagglomet *et al.* 2002; StenforsArnesen *et al.* 2008). L'utilisation de produits contenant *B. cereus* ATCC 14579 dans des zones de préparation d'aliments pourrait entraîner la contamination des aliments, et des lacunes subséquentes dans les bonnes pratiques de manipulation des aliments pourraient contribuer à la prolifération de bactéries. Le réchauffage répété et la réfrigération inappropriée causent particulièrement des problèmes dans le cas des bactéries sporogènes comme *B. cereus*, parce que les spores ne sont pas inactivés durant le réchauffage, ce qui permet aux cellules végétatives de germer, se multiplier et de re-sporuler entre les cycles de chauffage. Le nombre de cellules viables dans les aliments augmente exponentiellement, pour finalement atteindre un niveau pouvant entraîner des infections gastro-intestinales chez les humains.

Le contact cutané et le contact oculaire sont d'autres voies potentielles d'exposition, mais ils moins probables d'entraîner des effets néfastes. Des infections de plaies par *B. cereus* ont été

⁹ Voir annexe 8

documentées chez des sujets autrement en bonne santé. Cependant, de telles infections sont rares et il n'y a pas d'indication que *B. cereus* ATCC 14579 pourrait pénétrer la peau intacte pour causer une infection dermique. Comme la peau est une barrière naturelle à l'envahissement du corps humain par les microbes, les infections risquent de survenir uniquement si la peau est endommagée par des abrasions ou des brûlures (Dubouix *et al.* 2005). De même, bien que *B. cereus* soit hautement virulent dans les yeux, une infection n'est probable que dans les cas de lésion oculaire antérieure.

L'inhalation de cellules ou de spores de *B. cereus* ATCC 14579 aérosolisées par des perturbations mécaniques ou des perturbations de l'air, soit au cours ou à la suite d'une application d'un produit, pourrait entraîner une exposition pulmonaire à des spores ou à des cellules végétatives, mais le nombre de spores ou de cellules inhalées risque peu d'atteindre une dose infectieuse chez les personnes en santé. Une enquête effectuée aux É.-U. a montré que diverses espèces du sous-groupe *B. cereus* sont souvent présentes dans les aérosols urbains, peu importe la saison, dans 11 grandes villes américaines, mais l'incidence signalée d'infections respiratoires dues à *B. cereus* est extrêmement faible aux É.-U. L'exposition par inhalation n'est donc pas préoccupante (Merrill *et al.* 2006).

Dans l'éventualité où les activités de consommation, les activités commerciales ou industrielles devaient reprendre et entraîner une augmentation de l'exposition humaine à la souche de *B. cereus* ATCC 14579, le risque associé aux effets indésirables sur la santé humaine pourrait augmenter. Il est donc recommandé que toute nouvelle activité associée avec cet organisme soit évaluée pour s'assurer qu'elle ne présente pas de risques additionnels.

4. CONCLUSION

À la lumière des réponses reçues à l'Avis, nous concluons que *B. cereus* 14579 ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou une concentration ou dans des conditions de nature à avoir, immédiatement ou à long terme, un effet nocif sur l'environnement ou la diversité biologique, à mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie humaine ou à constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaine. **Nous estimons donc que cette substance ne répond pas aux critères établis dans l'article 64 de la LCPE 1999.**

Néanmoins, compte tenu des propriétés dangereuses de *B. cereus* ATCC 14579, sa réintroduction au Canada à la suite de son importation, de sa fabrication ou de son utilisation pourrait faire en sorte que cette substance réponde aux critères établis dans l'article 64 de la Loi. Il est donc recommandé que *B. cereus* ATCC 14579 soit assujéti aux dispositions relatives à une nouvelle activité (NA), indiquées dans le paragraphe 106(3) de la Loi, afin de s'assurer que toute nouvelle activité associée à ce micro-organisme soit déclarée et fasse l'objet d'évaluations adéquates des risques pour l'environnement et la santé humaine, comme il est mentionné à l'article 108 de la Loi, avant que le micro-organisme ne soit réintroduit au Canada. En vertu de la LCPE 1999, les dispositions relatives aux nouvelles activités garantiront que toute nouvelle activité non visée par les lois énumérées dans l'annexe 4 (*Loi sur les produits antiparasitaires*, *Loi sur la santé des animaux*, *Loi relative aux aliments du bétail* et *Loi sur les engrais*) fera l'objet d'une évaluation des risques en application de la LCPE 1999 de sorte qu'on puisse prendre une décision quant au niveau de risque associé aux nouvelles activités non abordées dans le présent rapport.

5. RÉFÉRENCES

- Abul Nasr, S.E., Tawfik, M.F.S., Ammar, E.D., Farrag, S.M. 1978. Occurrence and causes of mortality among active and resting larvae of *Pectinophora gossypiella* (Lepidoptera, Gelechiidae) in Giza, Egypt. *Zeitschrift für Angewandte Entomol.* 86:403-414.
- Abusin, S., Bhimaraj, A., Khadra, S. 2008. *Bacillus Cereus* Endocarditis in a permanent pacemaker: a case report. *Cases J.* 1:95.
- Ackermann, H.W., Roy, R., Martin, M., Murthy, M.R., Smirnoff, W.A. 1978. Partial characterization of a cubic *Bacillus* phage. *Rev. Can. Microbiol.* 24:986-993.
- Agata, N., Mori, M., Ohta, M., Suwa, S., Ohtani, I., Isobe, M. 1994. A novel dodecadepsipeptide, cereulide, isolated from *Bacillus cereus* causes vacuole formation in HEP-2 cells. *FEMS Microbiol. Lett.* 121:31-34.
- Agata, N., Ohta, M., Arakawa, Y., Mori, M. 1995a. The *bceT* gene of *Bacillus cereus* encodes an enterotoxin protein. *Microbiology* 141:983-988.
- Agata, N., Ohta, M., Mori, M., Isobe, M. 1995b. A novel dodecadepsipeptide, cereulide, is an emetic toxin of *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 129:17-19.
- Agata, N., Ohta, M., Yokoyama, K. 2002. Production of *Bacillus cereus* emetic toxin (cereulide) in various foods. *Int. J. Food Microbiol.* 73:23-27.
- Akiyama, N., Mitani, K., Tanaka, Y., Hanazono, Y., Motoi, N., Zarkovic, M., Tange, T., Hirai, H., Yazaki, Y. 1997. Fulminant septicemic syndrome of *Bacillus cereus* in a leukemic patient. *Intern. Med.* 36:221-226.
- Al-Jamali, J., Felmerer, G., Alawadi, K., Kalash, Z., Stark, G.B. 2008. Flexor tendon sheath infection due to *Bacillus cereus* after penetrating trauma. *Eur. J. Plastic Surg.* 31:201-203.
- Alouf, J.E. 2000. Cholesterol-binding cytolytic protein toxins. *Int. J. Med. Microbiol.* 290:351-356.
- Altıparmak, U.E., Ozer, P.A., Ozkuyumcu, C., Us, A.D., Aslan, B.S., Duman, S. 2007. Postoperative endophthalmitis caused by *Bacillus cereus* and *Chlamydia trachomatis*. *J. Cataract. Refract. Surg.* 33:1284-1287.
- Andersson, A. 1995. *Bacillus cereus*, strategy for survival. SIK report 1995.
- Andreeva, Z.I., Nesterenko, V.F., Yurkov, I.S., Budarina, Z.I., Sineva, E.V., Solonin, A.S. 2006. Purification and cytotoxic properties of *Bacillus cereus* hemolysin II. *Protein Expr. Purif.* 47:186-193.
- Andreeva, Z.I., Nesterenko, V.F., Fomkina, M.G., Ternovsky, V.I., Suzina, N.E., Bakulina, A.Y., Solonin, A.S., Sineva, E.V. 2007. The properties of *Bacillus cereus* hemolysin II pores depend on environmental conditions. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Biomembranes* 1768:253-263.
- Anonyme. 2005. Opinion of the scientific panel on biological hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus* in foodstuffs. *The EFSA Journal* 1-48.
- Asano, S.I., Nukumizu, Y., Bando, H., Iizuka, T., Yamamoto, T. 1997. Cloning of novel enterotoxin genes from *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:1054-1057.
- Ash, C., Collins, M.D. 1992. Comparative analysis of 23S ribosomal RNA gene sequences of *Bacillus*

anthracis and emetic *Bacillus cereus* determined by PCR-direct sequencing. *FEMS Microbiol. Lett.* 73:75-80.

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

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

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

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

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

Barker, M., Thakker, B., Priest, F.G. 2005. Multilocus sequence typing reveals that *Bacillus cereus* strains isolated from clinical infections have distinct phylogenetic origins. *FEMS Microbiol. Lett.* 245:179-184.

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

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

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

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

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

Beecher, D.J., Wong, A.C. 1994b. Identification of hemolysin BL-producing *Bacillus cereus* isolates by a discontinuous hemolytic pattern in blood agar. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:1646-1651.

Beecher, D.J., Wong, A.C. 1994c. Identification and analysis of the antigens detected by two commercial *Bacillus cereus* diarrheal enterotoxin immunoassay kits. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:4614-4616.

Beecher, D.J., Pulido, J.S., Barney, N.P., Wong, A.C. 1995a. Extracellular virulence factors in *Bacillus cereus* endophthalmitis: methods and implication of involvement of hemolysin BL. *Infect. Immun.* 63:632-639.

Beecher, D., Schoeni, J., Wong, A. 1995b. Enterotoxic activity of hemolysin BL from *Bacillus cereus*. *Infect. Immun.* 63:4423-4428.

Beecher, D.J., Wong, A.C. 1997. Tripartite hemolysin BL from *Bacillus cereus*. Hemolytic analysis of component interactions and a model for its characteristic paradoxical zone phenomenon. *J. Biol. Chem.* 272:233-239.

Beecher, D.J., Wong, A.C. 2000. Cooperative, synergistic and antagonistic haemolytic interactions between haemolysin BL, phosphatidylcholine phospholipase C and sphingomyelinase from *Bacillus cereus*. *Microbiology* 146:3033-3039.

Beecher, D.J., Olsen, T.W., Somers, E.B., Wong, A.C. 2000. Evidence for contribution of tripartite hemolysin BL, phosphatidylcholine-preferring phospholipase C, and collagenase to virulence of *Bacillus cereus* endophthalmitis. *Infect. Immun.* 68:5269-5276.

Belaiche, J. 2000. Pathophysiology of acute infectious diarrhea. *Acta Endoscopica* 30:177-184.

Bernhard, K., Schrempf, H., Goebel, W. 1978. Bacteriocin and antibiotic resistance plasmids in *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 133:897-903.

Berry, C., O'Neil, S., Ben-Dov, E., Jones, A.F., Murphy, L., Quail, M.A., Holden, M.T., Harris, D., Zaritsky, A., Parkhill, J. 2002. Complete sequence and organization of pBtoxis, the toxin-coding plasmid of *Bacillus thuringiensis* subsp. israelensis. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:5082-5095.

Borsodi, A.K., Micsinai, A., Ruzsnyak, A., Vladar, P., Kovacs, G., Toth, E.M., Marialigeti, K. 2005. Diversity of alkaliphilic and alkalitolerant bacteria cultivated from decomposing reed rhizomes in a Hungarian soda lake. *Microbial Ecology* 50:9-18.

Bottone, E.J. 2010. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* 23:382-398.

Brillard, J., Lereclus, D. 2004. Comparison of cytotoxin cytK promoters from *Bacillus cereus* strain ATCC 14579 and from a *B. cereus* food-poisoning strain. *Microbiology* 150:2699-2705.

Brinton, G.S., Topping, T.M., Hyndiuk, R.A., Aaberg, T.M., Reeser, F.H., Abrams, G.W. 1984. Posttraumatic endophthalmitis. *Arch. Ophthalmol.* 102:547-550.

Burdon, K.L., Davis, J.S., Wende, R.D. 1967. Experimental infection of mice with *Bacillus cereus*: studies of pathogenesis and pathologic changes. *J. Infect. Dis.* 117:307-316.

Cadot, C., Tran, S.L., Vignaud, M.L., De Buyser, M.L., Kolsto, A.B., Brisabois, A., Nguyen-The, C., Lereclus, D., Guinebretiere, M.H., Ramarao, N. 2010. InhA1, NprA, and HlyII as candidates for markers to differentiate pathogenic from nonpathogenic *Bacillus cereus* strains. *J. Clin. Microbiol.* 48:1358-1365.

Callegan, M.C., Kane, S.T., Cochran, D.C., Gilmore, M.S., Gominet, M., Lereclus, D. 2003. Relationship of plcR-regulated factors to *Bacillus endophthalmitis* virulence. *Infect. Immun.* 71:3116-24.

Callegan, M.C., Booth, M.C., Jett, B.D., Gilmore, M.S. 1999. Pathogenesis of Gram-Positive Bacterial Endophthalmitis. *Infect. Immun.* 67:3348-3356.

[CDC] Centers for Disease Control and Prevention. 2005. Outbreak of cutaneous *Bacillus cereus* infections among cadets in a university military program – Georgia, August 2004. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 54:1233-1235.

Chan, W.M., Liu, D.T., Chan, C.K., Chong, K.K., Lam, D.S. 2003. Infective endophthalmitis caused by *Bacillus cereus* after cataract extraction surgery. *Clin. Infect. Dis.* 37:e31-e34.

Chen, Y., Braathen, P., Leonard, C., Mahillon, J. 1999. MIC231, a naturally occurring mobile insertion cassette from *Bacillus cereus*. *Mol. Microbiol.* 32:657-668.

Cherif, A., Brusetti, L., Borin, S., Rizzi, A., Boudabous, A., Khyami-Horani, H., Daffonchio, D. 2003. Genetic relationship in the '*Bacillus cereus* group' by rep-PCR fingerprinting and sequencing of a *Bacillus anthracis*-specific rep-PCR fragment. *J. Appl. Microbiol.* 94:1108-1119.

Choma, C., Granum, P.E. 2002. The enterotoxin T (BcET) from *Bacillus cereus* can probably not contribute to food poisoning. *FEMS Microbiol. Lett.* 217:115-119.

Christiansson, A., Naidu, A.S., Nilsson, I., Wadstrom, T., Pettersson, H.E. 1989. Toxin production by *Bacillus cereus* dairy isolates in milk at low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:2595-2600.

Clark, F.E. 1937. The relation of *Bacillus siamensis* and similar pathogenic spore-forming bacteria to *Bacillus cereus*. *J. Bacteriol.* 33:435-443.

Cone, L.A., Dreisbach, L., Potts, B.E., Comess, B.E., Burleigh, W.A. 2005. Fatal *Bacillus cereus* endocarditis masquerading as an anthrax-like infection in a patient with acute lymphoblastic leukemia: case report. *J. Heart Valve Dis.* 14:37-39.

Coonrod, J.D., Leadley, P.J., Eickhoff, T.C. 1971. Antibiotic susceptibility of *Bacillus* species. *J. Infect. Dis.* 123:102-105.

Crane, P.K., Crane, H.M. 2007. Indwelling intravenous catheter-associated *Bacillus cereus* sepsis in an immunocompetent patient. *Infect. Med.* 24:40-42.

Dancer, S.J., McNair, D., Finn, P., Kolsto, A.B. 2002. *Bacillus cereus* cellulitis from contaminated heroin. *J. Med. Microbiol.* 51:278-281.

Darbar, A., Harris, I.A., Gosbell, I.B. 2005. Necrotizing infection due to *Bacillus cereus* mimicking gas gangrene following penetrating trauma. *J. Orthop. Trauma* 19:353-355.

Davey, R.T. Jr, Tauber, W.B. 1987. Posttraumatic endophthalmitis: the emerging role of *Bacillus cereus* infection. *Rev. Infect. Dis.* 9:110-123.

De Palmenaer, D., Vermeiren, C., Mahillon, J. 2004. IS231-MIC231 elements from *Bacillus cereus* sensu lato are modular. *Mol. Microbiol.* 53:457-467.

Didelot, X., Barker, M., Falush, D., Priest, F.G. 2009. Evolution of pathogenicity in the *Bacillus cereus* group. *Syst. Appl. Microbiol.* 32:81-90.

Dierick, K., Van Coillie, E., Swiecicka, I., Meyfroidt, G., Devlieger, H., Meulemans, A., Hoedemaekers, G., Fourie, L., Heyndrickx, M., Mahillon, J. 2005. Fatal family outbreak of *Bacillus cereus*-associated food poisoning. *J. Clin. Microbiol.* 43:4277-4279.

Dragon, D.C., Rennie, R.P. 1995. The ecology of anthrax spores: tough but not invincible. *Rev. Vét. Can.* 36:295-301.

Drobniewski, F.A. 1993. *Bacillus cereus* and related species. *Clin. Microbiol. Rev.* 6:324-338.

Drysdale, M., Heninger, S., Hutt, J., Chen, Y., Lyons, C.R., Koehler, T.M. 2005. Capsule synthesis by *Bacillus anthracis* is required for dissemination in murine inhalation anthrax. *EMBO J.* 24:221-227.

Dubouix, A., Bonnet, E., Alvarez, M., Bensafi, H., Archambaud, M., Chaminade, B., Chabanon, G., Marty, N. 2005. *Bacillus cereus* infections in Traumatology-Orthopaedics Department: retrospective

investigation and improvement of healthcare practices. *J. Infect.* 50:22-30.

Edwards, P.R., Fife, M.A. 1961. Lysine-iron agar in the detection of Arizona cultures. *Appl. Microbiol.* 9:478-480.

Ehling-Schulz, M., Guinebretiere, M.-H., Monthán, A., Berge, O., Fricker, M., Svensson, B. 2006. Toxin gene profiling of enterotoxic and emetic *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiol. lett.* 260:232-240.

El Emmawie, A.H., Aly, N.Y.A., Al-Sawan, R. 2008. Bloodstream infection due to *Bacillus cereus* in a preterm neonate associated with necrotizing enterocolitis: A case report. *Kuwait Med. J.* 40:140-142.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gaulin, C., Viger, Y.B., Fillion, L. 2002. An outbreak of *Bacillus cereus* implicating a part-time banquet caterer. *Rev. Can. Santé Publ.* 93:353-355.

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

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

FEMS Microbiol. Lett. 208:129-134.

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

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

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

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

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

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

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

Gohar, M., Faegri, K., Perchat, S., Ravnum, S., Økstad, O.A., Gominet, M., Kolstø, A.B., Lereclus, D. 2008. The PlcR virulence regulon of *Bacillus cereus*. *PLoS One* 3, e2793.

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

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

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

Granum, P.E. 2001. *Bacillus cereus*. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (éd.) Food microbiology: fundamentals and frontiers. Washington (DC) : American Society for Microbiology. p. 327-336.

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

Guinebretière, M.H., Thompson, F.L., Sorokin, A., Normand, P., Dawyndt, P., Ehling-Schulz, M., Svensson, B., Sanchis, V., Nguyen-The, C., Heyndrickx, M., *et al.* 2008. Ecological diversification in the *Bacillus cereus* Group. *Environ. Microbiol.* 10:851-865.

Guinebretière, M.H., Velge, P., Couvert, O., Carlin, F., Debuyser, M.L., Nguyen-The, C. 2010. Ability of *Bacillus cereus* group strains to cause food poisoning varies according to phylogenetic affiliation (groups I to VII) rather than species affiliation. *J. Clin. Microbiol.* 48:3388-3391.

Hagglblom, M.M., Apetroaie, C., Andersson, M.A., Salkinoja-Salonen, M.S. 2002. Quantitative analysis of cereulide, the emetic toxin of *Bacillus cereus*, produced under various conditions. *Appl.*

Environ. Microbiol. 68:2479-2483.

Hansen, B.M., Hiby, P.E., Jensen, G.B., Hendriksen, N.B. 2003. The *Bacillus cereus* bceT enterotoxin sequence reappraised. *FEMS Microbiol. Lett.* 223:21-24.

Hardy, S.P., Lund, T., Granum, P.E. 2001. CytK toxin of *Bacillus cereus* forms pores in planar lipid bilayers and is cytotoxic to intestinal epithelia. *FEMS Microbiol. Lett.* 197:47-51.

Harvie, D.R., Vilchez, S., Steggles, J.R., Ellar, D.J. 2005. *Bacillus cereus* Fur regulates iron metabolism and is required for full virulence. *Microbiology* 151:569-577.

Haug, T.M., Sand, S.L., Sand, O., Phung, D., Granum, P.E., Hardy, S.P. 2010. Formation of very large conductance channels by *Bacillus cereus* Nhe in Vero and GH(4) cells identifies NheA + B as the inherent pore-forming structure. *J. Membr. Biol.* 237:1-11.

Helgason, E., Caugant, D.A., Olsen, I., Kolsto, A.-B. 2000a. Genetic structure of population of *Bacillus cereus* and *B. thuringiensis* isolates associated with periodontitis and other human infections. *J. Clin. Microbiol.* 38:1615-1622.

Helgason, E., Okstad, O.A., Caugant, D.A., Johansen, H.A., Fouet, A., Mock, M., Hegna, I., Kolsto, A.B. 2000b. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* – one species on the basis of genetic evidence. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:2627-2630.

Helgason, E., Tourasse, N.J., Meisal, R., Caugant, D.A., Kolsto, A.B. 2004. Multilocus sequence typing scheme for bacteria of the *Bacillus cereus* group. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:191-201.

Hernaiz, C., Picardo, A., Alos, J.I., Gomez-Garces, J.L. 2003. Nosocomial bacteremia and catheter infection by *Bacillus cereus* in an immunocompetent patient. *Clin. Microbiol. Infect.* 9:973-975.

Hilliard, N.J., Schelonka, R.L., Waites, K.B. 2003. *Bacillus cereus* bacteremia in a preterm neonate. *J. Clin. Microbiol.* 41:3441-3444.

Hirabayashi, K., Shiohara, M., Saito, S., Tanaka, M., Yanagisawa, R., Tsuruta, G., Fukuyama, T., Hidaka, Y., Nakazawa, Y., Shimizu, T., *et al.* 2010. Polymyxin-direct hemoperfusion for sepsis-induced multiple organ failure. *Pediatr. Blood Cancer* 55:202-205.

Hoffmaster, A.R., Ravel, J., Rasko, D.A., Chapman, G.D., Chute, M.D., Marston, C.K., De, B.K., Sacchi, C.T., Fitzgerald, C., Mayer, L.W., *et al.* 2004. Identification of anthrax toxin genes in a *Bacillus cereus* associated with an illness resembling inhalation anthrax. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 101:8449-8454.

Hoffmaster, A.R., Hill, K.K., Gee, J.E., Marston, C.K., De, B.K., Popovic, T., Sue, D., Wilkins, P.P., Avashia, S.B., Drumgoole, R. 2006. Characterization of *Bacillus cereus* isolates associated with fatal pneumonias: strains are closely related to *Bacillus anthracis* and harbor *B. anthracis* virulence genes. *J. Clin. Microbiol.* 44:3352-3360.

Hoffmaster, A.R., Novak, R.T., Marston, C.K., Gee, J.E., Helsel, L., Pruckler, J.M., Wilkins, P.P. 2008. Genetic diversity of clinical isolates of *Bacillus cereus* using multilocus sequence typing. *BMC Microbiol.* 6(8):191.

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

Huang, C.C., Narita, M., Yamagata, T., Itoh, Y., Endo, G. 1999. Structure analysis of a class II transposon encoding the mercury resistance of the Gram-positive Bacterium *Bacillus megaterium*

MB1, a strain isolated from Minamata Bay, Japan. *Gene* 234:361-369.

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

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

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

Ivanova, N., Sorokin, A., Anderson, I., Galleron, N., Candelon, B., Kapatral, V., Bhattacharyya, A., Reznik, G., Mikhailova, N., Lapidus, A., *et al.* 2003. Genome sequence of *Bacillus cereus* and comparative analysis with *Bacillus anthracis*. *Nature* 423:87-91.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Klee, S.R., Brzuszkiewicz, E.B., Nattermann, H., Brüggemann, H., Dupke, S., Wollherr, A., Franz, T., Pauli, G., Appel, B., Liebl, W., *et al.* 2010. The genome of a *Bacillus* isolate causing anthrax in

chimpanzees combines chromosomal properties of *B. cereus* with *B. anthracis* virulence plasmids. *PLoS One* 5, e10986.

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

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

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

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

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

Kramer, J.M., Gilbert, R.J. 1989. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. In: Doyle, M.P. (éd.) Foodborne Bacterial Pathogens. New York (NY) : Marcel Dekker Inc. p. 1-70.

Lamanna, C., Jones, L. 1963. Lethality for mice of vegetative and spore forms of *Bacillus cereus* and *Bacillus cereus* like insect pathogens injected intraperitoneally and subcutaneously. *J. Bacteriol.* 85:532-535.

Latsios, G., Petrogiannopoulos, C., Hartzoulakis, G., Kondili, L., Bethimouti, K., Zaharof, A. 2003. Liver abscess due to *Bacillus cereus*: a case report. *Clin. Microbiol. Infect.* 9:1234-1237.

Le Scanff, J., Mohammedi, I., Thiebaut, A., Martin, O., Argaud, L., Robert, D. 2006. Necrotizing gastritis due to *Bacillus cereus* in an immunocompromised patient. *Infection* 34:98-99.

Lebessi, E., Dellagrammaticas, H.D., Antonaki, G., Foustoukou, M., Lacovidou, N. 2009. *Bacillus cereus* meningitis in a term neonate. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 22:458-461.

Lequin, M.H., Vermeulen, J.R., van Elburg, R.M., Barkhof, F., Kornelisse, R.F., Swarte, R., Govaert, P.P. 2005. *Bacillus cereus* meningoencephalitis in preterm infants: neuroimaging characteristics. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 26:2137-2143.

Leung, K., Trevors, J.T., Lee, H. 1995. Survival of and *lacZ* expression in recombinant *Pseudomonas* strains introduced into river water microcosms. *Rev. Can. Microbiol.* 41:461-469.

Levin, M.R., D'Amico, D.J. 1991. Traumatic endophthalmitis. In: Shingleton, B.J., Hersh, P.S., Kenyon, K.R. (éd.) Eye trauma. St. Louis (MO) : Mosby Year Book. p. 242-252.

Lindback, T., Fagerlund, A., Rodland, M.S., Granum, P.E. 2004. Characterization of the *Bacillus cereus* Nhe enterotoxin. *Microbiology* 150:3959-3967.

Lindback, T., Okstad, O.A., Rishovd, A.L., Kolsto, A.B. 1999. Insertional inactivation of *hblC* encoding the L2 component of *Bacillus cereus* ATCC 14579 haemolysin BL strongly reduces enterotoxigenic activity, but not the haemolytic activity against human erythrocytes. *Microbiology* 145:3139-3146.

Lindbäck, T., Granum, P.E. 2006. Detection and Purification of *Bacillus cereus* Enterotoxins. In:

Food-Borne Pathogens. Humana Press. p. 15-26.

Lindbäck, T., Hardy, S.P., Dietrich, R., Sodring, M., Didier, A., Moravek, M., Fagerlund, A., Bock, S., Nielsen, C., Casteel, M., *et al.* 2010. Cytotoxicity of the *Bacillus cereus* Nhe enterotoxin requires specific binding order of its three exoprotein components. *Infect. Immun.* 78:3813-3821.

Lodemann, U., Lorenz, B.M., Weyrauch, K.D., Martens, H. 2008. Effects of *Bacillus cereus* var. *toyoi* as probiotic feed supplement on intestinal transport and barrier function in piglets. *Arch. Anim. Nutr.* 62:87-106.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Merrill, L., Dunbar, J., Richardson, J., Kuske, C.R. 2006. Composition of *Bacillus* species in aerosols from 11 U.S. cities. *J. Forensic Sci.* 51:559-565.

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

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

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

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

- Monteverde, M.L., Sojo, E.T., Grosman, M., Hernandez, C., Delgado, N. 2006. Relapsing *Bacillus cereus* Peritonitis in a Pediatric Patient on Chronic Peritoneal Dialysis. *Perit. Dial. Int.* 26:715-716.
- Moore, G.E. 1972. Pathogenicity of ten strains of bacteria to larvae of the southern pine beetle. *J. Invertebr. Pathol.* 20:41-45.
- Moulder, E.H., Sharma, H.K., Howell, F.R. 2008. Traumatic osteomyelitis of the femur treated with distraction osteogenesis without surgical bone resection: a case report. *J. Trauma* 65:E39-E42.
- Musa, M.O., Al Douri, M., Khan, S., Shafi, T., Al Humaidh, A., Al Rasheed, A.M. 1999. Fulminant septicemic syndrome of *Bacillus cereus*: three case reports. *J. Infect.* 39:154-156.
- Narita, M., Matsui, K., Huang, C.C., Kawabata, Z., Endo, G. 2004. Dissemination of TnMER11-like mercury resistance transposons among *Bacillus* isolated from worldwide environmental samples. *FEMS Microbiol. Ecol.* 48:47-55.
- Nishikawa, T., Okamoto, Y., Tanabe, T., Kodama, Y., Shinkoda, Y., Kawano, Y. 2009. Critical illness polyneuropathy after *Bacillus cereus* sepsis in acute lymphoblastic leukemia. *Intern. Med.* 48:1175-1177.
- Nishiwaki, H., Ito, K., Otsuki, K., Yamamoto, H., Komai, H., Matsuda, K. 2004. Purification and functional characterization of insecticidal sphingomyelinase C produced by *Bacillus cereus*. *Eur. J. Biochem.* 271:601-606.
- Okinaka, R.T., Cloud, K., Hampton, O., Hoffmaster, A.R., Hill, K.K., Keim, P., Koehler, T.M., Lamke, G., Kumano, S., Mahillon, J., *et al.* 1999. Sequence and organization of pXO1, the large *Bacillus anthracis* plasmid harboring the anthrax toxin genes. *J. Bacteriol.* 181:6509-6515.
- Okstad, O.A., Tourasse, N.J., Stabell, F.B., Sundfaer, C.K., Egge-Jacobsen, W., Risoen, P.A., Read, T.D., Kolsto, A.B. 2004. The bcr1 DNA repeat element is specific to the *Bacillus cereus* group and exhibits mobile element characteristics. *J. Bacteriol.* 186:7714-7725.
- Paananen, A., Mikkola, R., Sareneva, T., Matikainen, S., Hess, M., Andersson, M., Julkunen, I., Salkinoja-Salonen, M.S., Timonen, T. 2002. Inhibition of human natural killer cell activity by cereulide, an emetic toxin from *Bacillus cereus*. *Clin. Exp. Immunol.* 129:420-428.
- Parke, D.W., Brinton, G.S. 1986. Endophthalmitis. In: Tabbara, K.F., Hyndiuk, R.A. (éd.) *Infections of the eye*. Boston (MA) : Little, Brown & Co. p. 563-585.
- Perchat, S., Buisson, C., Chaufaux, J., Sanchis, V., Lereclus, D., Gohar, M. 2005. *Bacillus cereus* produces several nonproteinaceous insecticidal exotoxins. *J. Invertebr. Pathol.* 90:131-133.
- Perrin, D., Greenfield, J., Ward, G.E. 1976. Acute *Bacillus cereus* mastitis in dairy cattle associated with use of a contaminated antibiotic. *Rev. Vét. Can.* 17:244-247.
- Pflugfelder, S.C., Flynn, H.W. Jr. 1992. Infectious endophthalmitis. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 6:859-873.
- Pillai, A., Thomas, S., Arora, J. 2006. *Bacillus cereus*: the forgotten pathogen. *Surg. Infect. (Larchmt)* 7:305-308.
- Priest, F.G., Barker, M., Baillie, L.W., Holmes, E.C., Maiden, M.C. 2004. Population structure and evolution of the *Bacillus cereus* group. *J. Bacteriol.* 186:7959-7970.
- Puvabanditsin, S., Zaafran, A., Garrow, E., Diwan, R., Mehta, D., Phattraprayoon, N. 2007. *Bacillus*

cereus meningoencephalitis in a neonate. *H.K. J. Paediatr.* 12:293-296.

Radnedge, L., Agron, P.G., Hill, K.K., Jackson, P.J., Ticknor, L.O., Keim, P., Andersen, G.L. 2003. Genome differences that distinguish *Bacillus anthracis* from *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:2755-2764.

Rahmet-Alla, M., Rowley, A.F. 1989. Studies on the pathogenicity of different strains of *Bacillus cereus* for the cockroach, *Leucophaea maderae*. *J. Invert. Pathol.* 53:190-196.

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

Rasko, D.A., Ravel, J., Okstad, O.A., Helgason, E., Cer, R.Z., Jiang, L., Shores, K.A., Fouts, D.E., Tourasse, N.J., Angiuoli, S.V., *et al.* 2004. The genome sequence of *Bacillus cereus* ATCC 10987 reveals metabolic adaptations and a large plasmid related to *Bacillus anthracis* pXO1. *Nucleic Acids Res.* 32:977-988.

Rasko, D.A., Rosovitz, M.J., Okstad, O.A., Fouts, D.E., Jiang, L., Cer, R.Z., Kolsto, A.B., Gill, S.R., Ravel, J. 2007. Complete sequence analysis of novel plasmids from emetic and periodontal *Bacillus cereus* isolates reveals a common evolutionary history among the *B. cereus*-group plasmids, including *Bacillus anthracis* pXO1. *J. Bacteriol.* 189:52-64.

Ribeiro, N.F., Heath, C.H., Kierath, J., Rea, S., Duncan-Smith, M., Wood, F.M. 2010. Burn wounds infected by contaminated water: Case reports, review of the literature and recommendations for treatment. *Burns* 36:9-22.

Risoen, P.A., Ronning, P., Hegna, I.K., Kolsto, A.B. 2004. Characterization of a broad range antimicrobial substance from *Bacillus cereus*. *J. Appl. Microbiol.* 96:648-655.

Rizk, I.R., Ebeid, H.M. 1989. Survival and growth of *Bacillus cereus* in Egyptian bread and its effect on bread staling. *Nahrung* 33:839-844.

Rosslund, E., Andersen Borge, G.I., Langsrud, T., Sorhaug, T. 2003. Inhibition of *Bacillus cereus* by strains of *Lactobacillus* and *Lactococcus* in milk. *Int. J. Food Microbiol.* 89:205-212.

Ruhfel, R.E., Robillard, N.J., Thorne, C.B. 1984. Interspecies transduction of plasmids among *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, and *B. thuringiensis*. *J. Bacteriol.* 157:708-711.

Ruiz, S.R., Reyes, G.M., Campos, C.T., Jimenez, V.L., Rojas, R.T., de la Fuente, C.G., Esteve, A.A. 2006. Relapsing *Bacillus cereus* peritonitis during automated peritoneal dialysis. *Perit. Dial. Int.* 26:612-613.

Sada, A., Misago, N., Okawa, T., Narisawa, Y., Ide, S., Nagata, M., Mitsumizo, S. 2009. Necrotizing fasciitis and myonecrosis "synergistic necrotizing cellulitis" caused by *Bacillus cereus*. *J. Dermatol.* 36:423-426.

Salamitou, S., Ramisse, F., Brehelin, M., Bourguet, D., Gilois, N., Gominet, M., Hernandez, E., Lereclus, D. 2000. The *plcR* regulon is involved in the opportunistic properties of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* in mice and insects. *Microbiology* 146:2825-2832.

Santos, C.A., Vilas-Boas, G.T., Lereclus, D., Suzuki, M.T., Angelo, E.A., Arantes, O.M. 2010. Conjugal transfer between *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* strains is not directly correlated with growth of recipient strains. *J. Invertebr. Pathol.* 105:171-175.

Schiefer, B., Macdonald, K.R., Klavano, G.G., van Dreumel, A.A. 1976. Pathology of *Bacillus cereus*

mastitis in dairy cows. *Rev. Vét. Can.* 17:239-243.

Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D.R., Dean, D.H. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62:775-806.

Schoeni, J.L., Wong, A.C. 2005. *Bacillus cereus* food poisoning and its toxins. *J. Food Prot.* 68:636-648.

Seligy, V.L., Beggs, R.W., Rancourt, J.M., Tayabali, A.F. 1997. Quantitative bioreduction assays for calibrating spore content and viability of commercial *Bacillus thuringiensis* insecticides. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 18:370-378.

Seligy, V.L., Shwed, P.S., Tayabali, A.F. 2004. Comparison of Macrophage Cell Models exposed to spores of *Bacillus cereus* and *B. thuringiensis* sspp. Proc.12th Internat'l Immunol. Congress. ISBN 88-7587-0769-1. Medimond S.R.L.

Selvakumar, G., Mohan, M., Sushil, S.N., Kundu, S., Bhatt, J.C., Gupta, H.S. 2007. Characterization and phylogenetic analysis of an entomopathogenic *Bacillus cereus* strain WGPSB-2 (MTCC 7182) isolated from white grub, *Anomala dimidiata* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Biocontrol Sci. Technol.* 17:525-534.

Shimoni, Z., Mamet, Y., Niven, M., Mandelbaum, S., Valinsky, L., Froom, P. 2008. *Bacillus cereus* peritonitis after Cesarean section. *Surg. Infect. (Larchmt)* 9:105-106.

Shinagawa, K., Ichikawa, K., Matsusaka, N., Sugii, S. 1991a. Purification and some properties of a *Bacillus cereus* mouse lethal toxin. *J. Vet. Med. Sci.* 53:469-474.

Shinagawa, K., Sugiyama, J., Terada, T., Matsusaka, N., Sugii, S. 1991b. Improved methods for purification of an enterotoxin produced by *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 64:1-5.

Shinagawa, K., Konuma, H., Sekita, H., Sugii, S. 1995. Emesis of rhesus monkeys induced by intragastric administration with the HEp-2 vacuolation factor (cereulide) produced by *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 130:87-90.

Sineva, E.V., Kovalevskaya, Z.I., Shadrin, A.M., Gerasimov, Y.L., Ternovsky, V.I., Teplova, V.V., Yurkova, T.V., Solonin, A.S. 2009. Expression of *Bacillus cereus* hemolysin II in *Bacillus subtilis* renders the bacteria pathogenic for the crustacean *Daphnia magna*. *FEMS Microbiol. Lett.* 299:110-119.

Shiota, M., Saitou, K., Mizumoto, H., Matsusaka, M., Agata, N., Nakayama, M., Kage, M., Tatsumi, S., Okamoto, A., Yamaguchi, S., *et al.* 2010. Rapid detoxification of cereulide in *Bacillus cereus* food poisoning. *Pediatrics* 125:e951-e955.

Sotto, A., Porneuf, M., Gouby, A., Rossi, J.F., Jourdan, J. 1995. Septicémie à *Bacillus cereus* et pneumopathie nécrasante au cours d'une leucémie lymphoïque chronique. *Méd. Mal. Infect.* 25:1-3.

Spira, W.M., Goepfert, J.M. 1972. *Bacillus cereus*-Induced Fluid Accumulation in Rabbit Ileal Loops. *Appl. Environ. Microbiol.* 24:341-348.

Srivaths, P.R., Rozans, M.K., Kelly, E. Jr, Venkateswaran, L. 2004. *Bacillus cereus* central line infection in an immunocompetent child with hemophilia. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 26:194-196.

Stansfield, R., Caudle, S. 1997. *Bacillus cereus* and orthopaedic surgical wound infection associated with incontinence pads manufactured from virgin wood pulp. *J. Hosp. Infect.* 37:336-338.

- Steen, M.K., Bruno-Murtha, L.A., Chaux, G., Lazar, H., Bernard, S., Sulis, C. 1992. *Bacillus cereus* endocarditis: report of a case and review. *Clin. Infect. Dis.* 14:945-946.
- Stenfors Arnesen, L.P., Fagerlund, A., Granum, P.E. 2008. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol. Rev.* 32:579-606.
- Stretton, R.J., Bulman, R.A. 1975. Experimental infection of rabbits with *Bacillus cereus*. *Zentralbl. Bakteriol. Orig. A* 232:83-90.
- Stromsten, N.J., Benson, S.D., Burnett, R.M., Bamford, D.H., Bamford, J.K. 2003. The *Bacillus thuringiensis* linear double-stranded DNA phage Bam35, which is highly similar to the *Bacillus cereus* linear plasmid pBClin15, has a prophage state. *J. Bacteriol.* 185:6985-6989.
- Sushil, S.N., Mohan, M., Selvakumar, G., Bhatt, J.C., Gupta, H.S. 2008. Isolation and toxicity evaluation of bacterial entomopathogens against phytophagous white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) in Indian Himalayan hills. *Int. J. Pest. Manage.* 54:301-307.
- Tayabali, A.F., Nguyen, K.C., Seligy, V.L. 2010. Early murine immune responses from endotracheal exposures to biotechnology-related *Bacillus* strains. *Toxicol. Environ. Chem.*, doi:10.1080/02772248.2010.526784.
- Ticknor, L.O., Kolsto, A.B., Hill, K.K., Keim, P., Laker, M.T., Tonks, M., Jackson, P.J. 2001. Fluorescent Amplified Fragment Length Polymorphism Analysis of Norwegian *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* Soil Isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:4863-4873.
- To, W.N., Gudauskas, R.T., Harper, J.D. 1975. Pathogenicity of *Bacillus cereus* isolated from *Trichoplusia ni* larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 26:135-136.
- Tobita, H., Hayano, E. 2007. A fulminant case of endogenous endophthalmitis caused by gram-positive bacillus. *Jpn. J. Clin. Ophthalmol.* 61:985-989.
- Tourasse, N.J., Helgason, E., Okstad, O.A., Hegna, I.K., Kolsto, A.B. 2006. The *Bacillus cereus* group: novel aspects of population structure and genome dynamics. *J. Appl. Microbiol.* 101:579-593.
- Tourasse, N.J., Kolsto, A.B. 2008. Survey of group I and group II introns in 29 sequenced genomes of the *Bacillus cereus* group: insights into their spread and evolution. *Nucleic Acids Res.* 36:4529-4548.
- Tran, S.L., Guillemet, E., Ngo-Camus, M., Clybourn, C., Puhar, A., Moris, A., Gohar, M., Lereclus, D., Ramarao, N. 2010a. Hemolysin II is a *Bacillus cereus* virulence factor that induces apoptosis of macrophages. *Cell Microbiol.* 23 août 2010. [paru en ligne avant impression].
- Tran, S.L., Guillemet, E., Gohar, M., Lereclus, D., Ramarao, N. 2010b. CwpFM (EntFM) is a *Bacillus cereus* potential cell wall peptidase implicated in adhesion, biofilm formation, and virulence. *J. Bacteriol.* 192:2638-2642.
- Tuladhar, R., Patole, S.K., Koh, T.H., Norton, R., Whitehall, J.S. 2000. Refractory *Bacillus cereus* infection in a neonate. *Int. J. Clin. Pract.* 54:345-347.
- Turnbull, P.C. 1976. Studies on the production of enterotoxins by *Bacillus cereus*. *J. Clin. Pathol.* 29:941-948.
- Turnbull, P.C., Jorgensen, K., Kramer, J.M., Gilbert, R.J., Parry, J.M. 1979. Severe clinical conditions associated with *Bacillus cereus* and the apparent involvement of exotoxins. *J. Clin. Pathol.* 32:289-293.

- Turnbull, P.C., Kramer, J.M. 1983. Non-gastrointestinal *Bacillus cereus* infections: an analysis of exotoxin production by strains isolated over a two-year period. *J. Clin. Pathol.* 36:1091-1096.
- Turnbull, P., Kramer, J., Jorgensen, K., Gilbert, R., Melling, J. 1979. Properties and production characteristics of vomiting, diarrheal, and necrotizing toxins of *Bacillus cereus*. *Am. J. Clin. Nutr.* 32:219-228.
- Usui, K., Miyazaki, S., Kaito, C., Sekimizu, K. 2009. Purification of a soil bacteria exotoxin using silkworm toxicity to measure specific activity. *Microb. Pathog.* 46:59-62.
- Vahey, J.B., Flynn, H.W. Jr. 1991. Results in the management of *Bacillus endophthalmitis*. *Ophthalmic Surg.* 22:681-686.
- Van der Auwera, G., Mahillon, J. 2005. TnXO1, a germination-associated class II transposon from *Bacillus anthracis*. *Plasmid* 53:251-257.
- Van der Auwera, G.A., Timmerly, S., Hoton, F., Mahillon, J. 2007. Plasmid exchanges among members of the *Bacillus cereus* group in foodstuffs. *Int. J. Food Microbiol.* 113:164-172.
- Van Der Zwet, W.C., Parlevliet, G.A., Savelkoul, P.H., Stoof, J., Kaiser, A.M., Van Furth, A.M., Vandenbroucke-Grauls, C.M. 2000. Outbreak of *Bacillus cereus* infections in a neonatal intensive care unit traced to balloons used in manual ventilation. *J. Clin. Microbiol.* 38:4131-4136.
- van Veen, J.A., van Overbeek, L.S., van Elsas, J.D. 1997. Fate and activity of microorganisms introduced into soil. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61:121-135.
- Vassileva, M., Torii, K., Oshimoto, M., Okamoto, A., Agata, N., Yamada, K., Hasegawa, T., Ohta, M. 2006. Phylogenetic analysis of *Bacillus cereus* isolates from severe systemic infections using multilocus sequence typing scheme. *Microbiol. Immunol.* 50:743-749.
- Verheust, C., Fornelos, N., Mahillon, J. 2005. GIL16, a new gram-positive tectiviral phage related to the *Bacillus thuringiensis* GIL01 and the *Bacillus cereus* pBClin15 elements. *J. Bacteriol.* 187:1966-1973.
- Virtanen, S.M., Roivainen, M., Andersson, M.A., Ylipaasto, P., Hoornstra, D., Mikkola, R., Salkinoja-Salonen, M.S. 2008. *In vitro* toxicity of cereulide on porcine pancreatic Langerhans islets. *Toxicon* 51:1029-1037.
- Weber, D.J., Saviteer, S.M., Rutala, W.A., Thomann, C.A. 1988. *In vitro* susceptibility of *Bacillus* spp. to selected antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 32:642-645.
- Wijman, J.G., de Leeuw, P.P., Moezelaar, R., Zwietering, M.H., Abee, T. 2007. Air-liquid interface biofilms of *Bacillus cereus*: formation, sporulation, and dispersion. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:1481-1488.
- Wijnands, L.M., Dufrenne, J.B., van Leusden, F.M. 2001. The pathogenic mechanism of the diarrheal syndrome caused by *Bacillus cereus*. RIVM report 250912001/2002. p. 1-18.
- Wohlgemuth, K., Bicknell, E.J., Kirkbride, C.A. 1972a. Abortion in cattle associated with *Bacillus cereus*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 161:1688-1690.
- Wohlgemuth, K., Kirkbride, C.A., Bicknell, E.J., Ellis, R.P. 1972b. Pathogenicity of *Bacillus cereus* for pregnant ewes and heifers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 161:1691-1695.
- Wong, H.C., Chang, M.H., Fan, J.Y. 1988. Incidence and characterization of *Bacillus cereus* isolates

contaminating dairy products. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:699-702.

Xiang, S.R., Cook, M., Saucier, S., Gillespie, P., Socha, R., Scroggins, R., Beaudette, L.A. 2010. Development of Amplified Fragment Length Polymorphism-Derived Functional Strain-Specific Markers to Assess the Persistence of 10 Bacterial Strains in Soil Microcosms. *Applied and Environmental Microbiology* 76(21):7126-7135.

Yuan, Y., Zheng, D., Hu, X., Cai, Q., Yuan, Z. 2010. Conjugative transfer of insecticidal plasmid pHT73 from *Bacillus thuringiensis* to *B. anthracis* and compatibility of this plasmid with pXO1 and pXO2. *Appl. Environ. Microbiol.* 76:468-473.

Zheng, X., Kodama, T., Ohashi, Y. 2008. Eyeball luxation in *Bacillus cereus*-induced panophthalmitis following a double-penetrating ocular injury. *Jpn. J. Ophthalmol.* 52:419-421.

ANNEXE 1A : Croissance de *B. cereus* ATCC 14579 dans un milieu liquide à 28°C, 32 °C, 37 °C et 42 °C *

Croissance de la souche *B. cereus* ATCC 14579 dans un bouillon de culture, mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 500 nm, dans quatre milieux de culture différents et à différentes températures. La concentration de bactérie au temps 0 était de 1×10^6 ufc/puits. Les mesures ont été prises toutes les 15 minutes sur une période de 24 heures à l'aide d'un spectrophotomètre multipuits à une longueur d'onde de 500 nm.

Milieu	Température (°C)			
	28	32	37	42
Bouillon de trypticase soya	+	+	+	+
Plasma de mouton	-	-	(+)	~
Sérum foetal bovin	+	+	+	-
Milieu de Eagle modifié par Dulbecco (DMEM) (culture de cellules de mammifères)	(+)	~	-	-

- aucune croissance, + croissance, ~ croissance de faible niveau, (+) croissance retardée (après 15 h)

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

**ANNEXE 1B : Caractéristiques de la souche *B. cereus* ATCC 14579 -
Croissance sur milieu solide***

Milieu		Température (°C)	
		28	37
Éléments nutritifs		+	+
TSB ¹		+	+
Citrate ²		-	-
Lysine-fer ³		+	+
Gélose Maconkey ⁴		-	-
Mannitol ⁵		-	-
Suppléments MYP ⁶		+	+
Amidon ⁷	Croissance	N.D.	+
	Hydrolyse	N.D.	□
Trois sucres-fer – avec rouge de phénol ⁸		+	-
Urée ⁹		+	+
Activité de la catalase ¹⁰	TSB	-	+
	Sang de mouton	+	+
Hémolyse ¹¹		+	+

□ La zone de clairance s'étend au-delà de la colonie

N.D. : Données non disponibles

(+) positif pour la croissance ou l'essai

(-) négatif pour la croissance ou l'essai

(1) Milieu tout usage

(2) Essai d'utilisation du citrate : capacité à utiliser le citrate en tant que source unique de carbone.

(3) Détection simultanée de la lysine décarboxylase et de la formation de sulfure d'hydrogène dans l'identification des entérobactériacées, notamment *Salmonella* et *Arizona* selon Edwards and Fife (1961).

(4) Détection des organismes coliformes dans le lait et l'eau; tests permettant de définir la capacité d'un organisme à fermenter le lactose.

(5) Isolement et différenciation des staphylocoques.

(6) Gélose sélective pour *B. cereus*

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

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

(9) Détection des entéropathogènes provenant de spécimens de selles – métabolisme de l'urée.

(10) L'essai sur l'enzyme catalase, mesure la détoxification enzymatique du peroxyde d'hydrogène.

(11) Hémolyse de sang de mouton, de bovins, de porc, de chèvre, de lapin et de sang humain. Des bactéries (5000 ufc, 20 µL) ont été déposées sur la gélose de sang et incubées à 28 °C ou 37 °C pendant 24 ou 48 heures.

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

ANNEXE 1C : Caractéristiques de la souche ATCC 14579 de *B. cereus* – analyse de l'ester méthylique d'acide gras (EMAG)*

Les données présentées montrent la meilleure correspondance entre l'échantillon et différentes bases de données MIDI[®] (cliniques et environnementales) ainsi que le nombre de correspondances (fraction du nombre total d'essais) et l'indice de similarité du profil d'acides gras (entre parenthèses : moyenne de l'ensemble des correspondances).

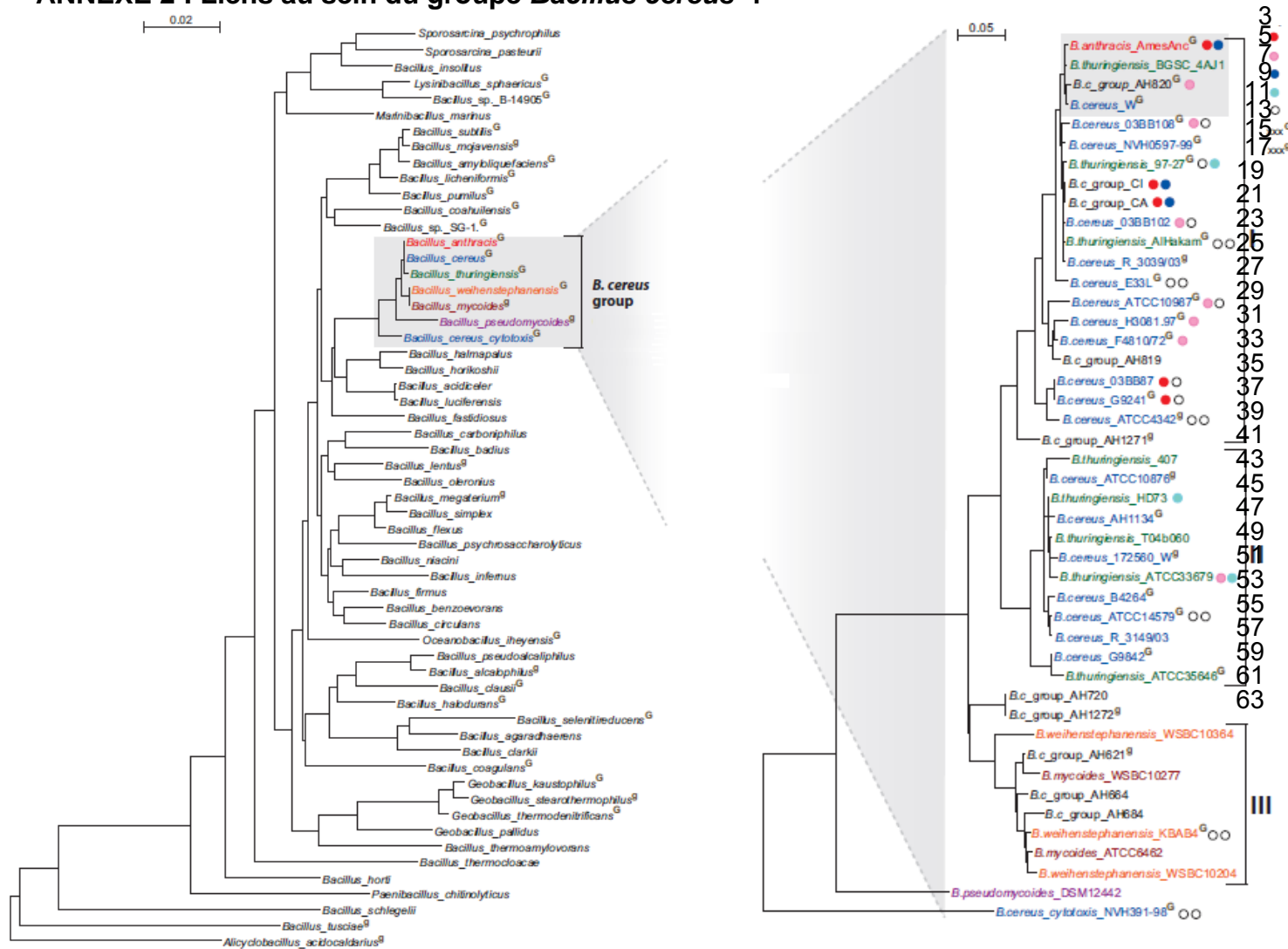
Souche d'essai	Base de données environnementales		Base de données cliniques	
<i>B. cereus</i> ATCC 14579	<i>B. cereus</i> groupe A	39/46 (0,889)	<i>B. thuringiensis</i> groupe B (0.751)	24/35 (0,751)
	<i>B. megaterium</i> sous-groupe A	1/46 (0,045)	<i>B. cereus</i> groupe A	8/35 (0,751)
	Aucune correspondance	6/46	Aucune correspondance	3/35

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

≡ MIDI est un système d'identification commercial basé sur l'analyse chromatographique du gaz des esters méthyliques d'acides gras cellulaires.



1 ANNEXE 2 : Liens au sein du groupe *Bacillus cereus*¹⁰.



Légende :
● Porte le plasmide pX01 OU pBCX01
● Porte un plasmide semblable à pX01
● Porte le plasmide pX02
● Porte un plasmide semblable à pX02
○ Aucun plasmide semblable à pX01 ou pX02 identifié
● Séquence génomique disponible
○ Séquençage génomique en cours

¹⁰ Tiré, avec de légères modifications, de la figure 1 de Kolsto *et al.*, 2009.

ANNEXE 3 : Liste de certains éléments génétiques mobiles et de leur caractéristiques connexes du groupe *Bacillus cereus*

Type	Nom	Bc ¹	Ba ²	Bt ³	Caractéristiques connexes	Références
Plasmide	pAW63 ⁴			sous-esp. <i>kurstaki</i>	<ul style="list-style-type: none"> • aucune homologie connue avec <i>cry</i> et <i>cyt</i>, • contient des éléments mobiles et des protéines putatives 	(Schnepf <i>et al.</i> , 1998; Van der Auwera et Mahillon, 2005)
	pBc10987 ⁵	10987			<ul style="list-style-type: none"> • Tn554, AbrB (régulateur) • Bc1A (déterminant du revêtement de spore) 	(Rasko <i>et al.</i> , 2004)
	pBC218	G9241			<ul style="list-style-type: none"> • Capsule de polysaccharide 	(Hoffmaster <i>et al.</i> , 2004)
	pBClin15 ⁶ ,	14579			<ul style="list-style-type: none"> • Élément prophage, similaire à Bam35 	(Stromsten <i>et al.</i> , 2003; Verheust <i>et al.</i> , 2005)
	pBClin29	G9241			<ul style="list-style-type: none"> • Élément prophage 	(Hoffmaster <i>et al.</i> , 2004)
	pBCOX1 ⁷	G9241			<ul style="list-style-type: none"> • Complexe toxine létale <i>pagA</i>, <i>lef</i>, <i>cya</i> 	(Hoffmaster <i>et al.</i> , 2004)
	pBT9727 ⁸			97-27 ⁹	<ul style="list-style-type: none"> • aucune homologie connue avec <i>cry</i> et <i>cyt</i>, • contient des éléments mobiles et des protéines putatives 	(Rasko <i>et al.</i> , 2005)
	pBTaxis			x	<ul style="list-style-type: none"> • Toxine protéinique insecticide (<i>cry</i>, <i>cyt</i>) 	(Berry <i>et al.</i> , 2002)
	pCER270	x AH1134 AH187			<ul style="list-style-type: none"> • Toxine émétique (céréulide) 	(Ehling-Schulz <i>et al.</i> , 2006; El Emmawie <i>et al.</i> , 2008; Rasko <i>et al.</i> , 2007)
	pE33L ¹⁰ (série)	E33L ¹¹			<ul style="list-style-type: none"> • Possède un certain nombre de gènes transposables et d'éléments mobiles 	(Rasko <i>et al.</i> , 2005)
	pPER272	AH820 AH818			<ul style="list-style-type: none"> • associé aux isolats périodontaux 	(Rasko <i>et al.</i> , 2007)
	pXO1		x		<ul style="list-style-type: none"> • Complexe toxine létale, gènes <i>pag</i>, <i>lef</i> et <i>cya</i> 	(Okinaka <i>et al.</i> , 1999)
	pXO2		x		<ul style="list-style-type: none"> • Capsule d'acide D-glutamique, • opéron <i>coiffe</i> BCAD 	(Drysdale <i>et al.</i> , 2005)
	pXO16			sous-esp. <i>israelensis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Phénotype d'agrégation 	(Jensen <i>et al.</i> , 1995)

Type	Nom	Bc ¹	Ba ²	Bt ³	Caractéristiques connexes	Références
	pCI-XO1 ¹²	CI			• Complexe toxine létale, gènes <i>pag</i> , <i>lef</i> et <i>cya</i>	(Klee <i>et al.</i> , 2010)
	pCI-XO2 ¹³	CI			• Capsule d'acide D-glutamique, • opéron <i>coiffe</i> BCAGE	(Klee <i>et al.</i> , 2010)
	pCI-14	CI			• Fonction inconnue • Plasmide cryptique	(Klee <i>et al.</i> , 2010)
Phage	Bam35			x		(Ackermann <i>et al.</i> , 1978)
	CP-51	x				(Ruhfel <i>et al.</i> , 1984)
	GIL01			x		(Verheust <i>et al.</i> , 2005)
Transposon	Tn5084	RC607 VKM684	x	x	• Résistance au mercure	(Huang <i>et al.</i> , 1999; Narita <i>et al.</i> , 2004)
Divers						
Élément d'ADN répété	<i>bcr1</i>	x (incl. 145790)	x	x	• Présente les caractéristiques d'un élément mobile	(Okstad <i>et al.</i> , 2004)
Séquence d'insertion	<i>IS231</i>	X (incl. 14579)	x	x	• Transposase	(De Palmenaer <i>et al.</i> , 2004)
Intron du groupe I	<i>recA</i>	x (incl. 10987 E33L)	x	x	• Ribozyme (ARN catalytique)	(Tourasse <i>et al.</i> , 2006)
	<i>nrdE</i>	x (incl. E33L G9241 10987)	x	x	• Ribozyme (ARN catalytique)	(Tourasse <i>et al.</i> , 2006)
ISton du groupe I	<i>BcISt1</i>	10987 E33L G9241 (non pas 14579)	x	x	• Autoépissage d'introns du groupe I associés à des éléments IS	(Tourasse <i>et al.</i> , 2006)
Intron du groupe II	<i>B.c.11</i>	10987 14579)			•	(Tourasse <i>et al.</i> , 2006)

¹ souches inscrites de *Bacillus cereus* dont il est établi qu'elles portent l'élément génétique extrachromosomique (x indique des souches multiples)

² souches inscrites de *Bacillus anthracis* dont il est établi qu'elles portent l'élément génétique extrachromosomique (x indique des souches multiples)

³ souches inscrites de *Bacillus thuringiensis* dont il est établi qu'elles portent l'élément génétique extrachromosomique (x indique des souches multiples)

⁴ Partage un squelette plasmidique conservée avec pX02 de *B. anthracis*

⁵ Partage un squelette plasmidique conservée avec pX01 de *B. anthracis*

⁶ Plasmide linéaire

⁷ Partage 99,6 % de son identité génétique avec pX01

⁸ Partage un squelette plasmidique conservée avec pX02

⁹ *B. thuringiensis*, sous-esp. *konkukian* 97-27 isolé d'un cas de nécrose humaine grave

¹⁰ Similaire à pX02 et pBC218

¹¹ Isolot extrait d'un zèbre mort soupçonné d'être mort de l'anthrax, (phylogénétiquement proche de *B. anthracis*)

¹² Partage 99 % de son identité génétique avec pX01

¹³ Partage 100 % de son identité génétique avec pX02

ANNEXE 4 : Gènes chromosomiques encodant pour les toxines de la souche *Bacillus cereus* ATCC 14579¹¹ selon l'analyse par PCR

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

¹¹ Adapté de Ivanova *et al.*, 2003.

ANNEXE 5 : Liste des toxines produites par *Bacillus cereus*

Toxines	Description	Références
Céréulide	<p>Caractéristiques structurales</p> <ul style="list-style-type: none"> • Peptide lipophile, thermostable, stable à la chaleur, toxine émétique • Dodécadepsipeptide cyclique ressemblant à la valinomycine (-OLeu-Ala-OVal-Val-)₃ • Ionophore K⁺-spécifique similaire à la valinomycine <p>Dose toxique et effets</p> <ul style="list-style-type: none"> • La quantité de céréulide présente dans les échantillons d'aliments impliqués dans l'intoxication alimentaire émétique varie de 0,01 à 1,28 µg/g d'aliments. • La dose toxique chez l'humain est de 8 µg/kg⁻¹ de poids corporel (dose causant des vomissements chez l'humain). Elle est de 10 µg/kg chez le macaque rhésus et de 8 µg/kg chez <i>Suncus murinus</i>. • La DE 50 chez <i>Suncus murinus</i> est de 12,9 µg/kg⁻¹ par administration orale • Cytotoxique et mitochondriotoxique pour les cellules primaires et les lignées cellulaires d'origine humaine et des autres mammifères • Dans un test biologique pour la détection de la production de céréulide dans les souches de <i>B. cereus</i>, du sperme de sanglier exposé <i>in vitro</i> à 2 µg/L de céréulide a montré des signes observables de dommages mitochondriaux • Toxique pour les îlots de Langerhans et les cellules bêta de fœtus porcins • Inhibe l'oxydation hépatique des acides gras mitochondriaux, ce qui peut causer une défaillance du foie • Inhibe les cellules NK à une concentration de 20-30 µg/L 	<p>(Agata <i>et al.</i>, 1994; Agata <i>et al.</i>, 1995b; Agata <i>et al.</i>, 2002; Haggblom <i>et al.</i>, 2002; Jaaskelainen <i>et al.</i>, 2003; Mahler <i>et al.</i>, 1997; Mikkola <i>et al.</i>, 1999; Paananen <i>et al.</i>, 2002; Shinagawa <i>et al.</i>, 1995; Virtanen <i>et al.</i>, 2008)</p>
Cytotoxine K (CytK)	<p>Caractéristiques structurales</p> <ul style="list-style-type: none"> • Deux variantes de la protéine : CytK-1 et CytK-2 • La comparaison des séquences laisse voir que la protéine pourrait appartenir à la famille des toxines en tonneau bêta formant des pores <p>Dose toxique et effets</p> <ul style="list-style-type: none"> • CytK-1 et CytK-2 sont capables de former des pores dans des bicouches de lipides mais la distribution de la conductance des canaux est plus basse dans CytK-2 • CytK-1 est associé à des formes plus graves de maladie gastrointestinale • Des effets hautement cytotoxiques, nécrotiques 	<p>(Brillard et Lereclus, 2004; Fagerlund <i>et al.</i>, 2004; Guinebretiere <i>et al.</i>, 2006; Hardy <i>et al.</i>, 2001; Lund <i>et al.</i>, 2000)</p>

Toxines	Description	Références
	<p>et hémolytiques sont produits par CytK-1 ou CytK-2</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cette cytotoxine pourrait causer l'entérite nécrotique • Les tests préliminaire menés sur des cobayes et utilisant des injections intracutanées laissent entendre que CytK est dermonécrosant • Comparativement à CytK2, CytK-1 est fortement toxique pour les cellules intestinales humaines Caco2 et pour les cellules Vero • Les protéines CytK-2 sont toxiques pour les cellules Caco2 et pour les érythrocytes bovins mais dans une moindre mesure que la protéine originale CytK-1 • Aucune information n'est disponible sur la dose applicable de la toxine 	
Hémolysine BL (HBL)	<ul style="list-style-type: none"> • Principal facteur de virulence associé au syndrome diarrhéique. HBL est responsable majeure de l'activité entérotoxigénique majeure et de l'activité cytopathogénique de la souche <i>B. cereus</i> ATCC 14579. <p>Caractéristiques structurales</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxine formant des pores à trois composantes (B, L₁, L₂). <p>Dose toxique et effets</p> <ul style="list-style-type: none"> • Entérotoxine responsable du syndrome d'intoxication alimentaire diarrhéique • Activités toxiques lorsque les trois composantes de HBL sont combinées : hémolyse, cytotoxicité, perméabilité vasculaire, dermonécrose, entérotoxicité et toxicité oculaire. • Lyse causée par la formation d'un complexe d'attaque membranaire à la surface de la cellule. • Entérotoxigène; endommage les membranes d'une variété de types différents de cellules. • Est cytotoxique pour les cellules Vero, les cellules ovariennes de hamster chinois (CHO) et les cellules rétinienne et létal pour les souris à l'injection. • Cause la nécrose des tissus intestinaux, l'accumulation de fluide dans l'anse iléale ligaturée de souris ainsi que la perméabilité vasculaire et la nécrose dans la peau de lapin. • La toxine HBL ne contribue pas de façon notable à l'activité hémolytique de <i>B. cereus</i> à l'encontre des érythrocytes humains; HBL est principalement active contre les érythrocytes des moutons et des veaux. 	<p>(Agata <i>et al.</i>, 1995a; Beecher et Macmillan, 1991; Beecher <i>et al.</i>, 2000; Beecher <i>et al.</i>, 2000; Beecher <i>et al.</i>, 1995b; Beecher et Wong, 1994a; Beecher et Wong, 1994b; Beecher et Wong, 1994c; Beecher et Wong, 1997; Beecher et Wong 2000; Lindback <i>et al.</i>, 1999; Tran <i>et al.</i>, 2010a)</p>

Toxines	Description	Références
	<ul style="list-style-type: none"> • Nécrosantes pour le tissu rétinale des lapins avec une activité maximale pour les doses comprises entre 50 et 150 µg/L • Induit l'apoptose dans les macrophages. 	
Entérotoxine non hémolytique (Nhe)	<ul style="list-style-type: none"> • Entérotoxine sans effets hémolytiques détectables <p>Caractéristiques structurales</p> <ul style="list-style-type: none"> • Complexe à trois éléments (Nhe A, Nhe B and Nhe C). Un facteur de liaison (Nhe B), un facteur de formation de complexe (Nhe C), et un facteur de lyse (Nhe A). • Nhe est à la base une toxine à deux éléments (Nhe A et Nhe B), mais un troisième élément (NheC) est nécessaire pour obtenir un effet cytotoxique complet dans certaines cellules. • L'effet cytotoxique optimal est obtenu avec un ratio NheA:NheB:NheC de 10:10:1. Une concentration de NheC supérieure à 10 % de celle de NheA et de NheB inhibe l'activité toxique. • Le mécanisme de cytotoxicité est une lyse osmotique suivant la formation de pores dans la membrane plasmique. <p>Dose toxique et effets</p> <ul style="list-style-type: none"> • Propriétés cytotoxiques et entérotoxiques 	(Fagerlund <i>et al.</i> , 2008; Granum <i>et al.</i> , 1999; Haug <i>et al.</i> , 2010; Lindback <i>et al.</i> , 2004; Linback <i>et al.</i> , 2010; Lund et Granum 1996; Wijnands <i>et al.</i> , 2001)
Entérotoxine T (BceT ou bc-D-Ent)	<ul style="list-style-type: none"> • Action entérotoxique de type inconnu. • Proposé comme entérotoxine de <i>B. cereus</i> mais la proposition a été désapprouvée après qu'il ait été suggéré que la construction clonique <i>bceT</i> était un artefact de clonage. 	(Agata <i>et al.</i> , 1995a; Choma et Granum, 2002; Guinebreiere <i>et al.</i> , 2006; Hansen <i>et al.</i> , 2003; Lindbäck et Granum, 2006)
Entérotoxine FM (entFM)	<ul style="list-style-type: none"> • Mécanisme d'action et rôle inconnus • Augmente la perméabilité vasculaire chez le lapin et cause une accumulation de fluide dans les anses intestinales ligaturées des souris. • Cytotoxique pour les cellules Vero et létale pour les souris. • L'analyse de séquence révèle que EntFM est apparentée aux peptidases de paroi cellulaire (CwpS) et présente une homologie avec l'hydrolase de la paroi cellulaire de <i>B. subtilis</i>, laissant penser que la protéine pourrait ne pas être une toxine. • EntFM pourrait quand même avoir un rôle dans la virulence de <i>B. cereus</i>. 	(Asano <i>et al.</i> , 1997; Lindbäck et Granum, 2006; Tran <i>et al.</i> , 2010b; Shinagawa <i>et al.</i> , 1991a; Shinagawa <i>et al.</i> , 1991b)

Facteurs de virulence causant des dommages aux membranes	Mécanisme	Références
Hémolysine II (HlyII)	<ul style="list-style-type: none"> • Protéine hémolytique <p>Caractéristiques structurales</p> <ul style="list-style-type: none"> • Membre de la famille de toxines en tonneau bêta formant des pores • HlyII est un homologue structurel et fonctionnel de l'hémolysine alpha des staphylocoques • Se fixe à la surface des cellules et s'assemble en pores transmembranaires oligomères menant à la perméation et à la lyse cellulaire. <p>Dose toxique et effets</p> <ul style="list-style-type: none"> • L'hémolysine II est en mesure de lyser différents types de cellules eucaryotes. L'activité hémolytique sur les érythrocytes de lapin a une valeur HC₅₀ de 1,64 µg/L (HC₅₀ : concentration d'hémolysine nécessaire pour atteindre 50% de lyse des érythrocytes) • Présente une activité cytolytique sur les érythrocytes humains et de lapin. Les érythrocytes bovins et murins sont moins sensibles à HlyII. 	(Andreeva <i>et al.</i> , 2006; Andreeva <i>et al.</i> , 2007; Miles <i>et al.</i> , 2002)
Hémolysine III (Hly-III)	<ul style="list-style-type: none"> • Protéine hémolytique <p>Caractéristiques structurales</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hémolyse formant des pores présentant un diamètre fonctionnel de 3-3,5 nm environ. • Les trois étapes de l'hémolyse : i) fixation thermodépendante des monomères de Hly-III sur la membrane des érythrocytes; ii) formation thermodépendante de pores transmembranaires par les multiples molécules de l'hémolysine; iii) la lyse des érythrocytes, indépendante de la température. 	(Baida et Kuzmin, 1995; Baida et Kuzmin, 1996)
Céréolysine O (CLO)	<ul style="list-style-type: none"> • Protéine hémolytique <p>Caractéristiques structurales</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxine formant des pores de la famille des cytolsines fixant au cholestérol (CBC) • Réaction croisée avec la streptolysine O <p>Dose toxique et effets</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cause une désorganisation de la membrane cytoplasmique et des organites intracellulaires. • Activé par le thiol, instable à la chaleur et peu sensible à la protéolyse. • Rôle pathogène dans l'infection extraintestinale • Les CBC sont létales pour les animaux et fortement lytique envers les cellules eucaryotes, incluant les érythrocytes. 	(Alouf, 2000; Granum, 1994)

Facteurs de virulence causant des dommages aux membranes	Mécanisme	Références
Hydrolase de phosphatidylinosol (PIH)	<p>Caractéristiques structurales</p> <ul style="list-style-type: none"> Le phosphatidylinosol (PI) hydrolysé à la phospholipase C et les ancras membranaires au PI contenant du glycane, qui sont des éléments structuraux importants d'une classe de protéines membranaires. <p>Dose toxique et effets</p> <ul style="list-style-type: none"> Aucune activité hémolytique 	(Granum, 1994) (Beecher et Wong, 2000)
Sphingomyélinase (SMase)	<p>Caractéristiques structurales</p> <ul style="list-style-type: none"> Sphingomyéline fortement spécifique hydrolysée à la phospholipase C hautement spécifique afin de produire de la céramide et de la phosphocoline <p>Dose toxique et effets</p> <ul style="list-style-type: none"> La SMase a lysé des érythrocytes de ruminants (46-53 % de SM) Présente une activité hémolytique auprès des érythrocytes de mammifères et hémolyse les érythrocytes ovins avec ou sans choc froid. Les données pour la lyse sont de 222 HD⁵⁰/unité pour les érythrocytes ovins et de 27,8 HD⁵⁰/unité pour les érythrocytes humains (HD⁵⁰ : dilution enzymatique la plus élevée causant la lyse de 50 % des érythrocytes). 	(Beecher et Wong, 2000; Fujii <i>et al.</i> , 2004; Ikezawa <i>et al.</i> , 1980)
Phospholipase hydrolysant préférentiellement la phosphatidylcholine (PC-PLC)	<p>Caractéristiques structurales</p> <ul style="list-style-type: none"> Phospholipase C hydrolysant la phosphatidylcholine, la phosphatidyléthanoline et la phosphatidylcholine L'enzyme pourrait être capable de se fixer à une interface membranaire même s'il y a peu ou pas de substrat spécifique. Il existe peu d'information publiée sur la fixation du PL-PLC, <p>Dose toxique et effets</p> <ul style="list-style-type: none"> L'action coopérative avec SMase est nécessaire pour lyser les érythrocytes porcins et humains (22-31 % PC et 28-25 % SM), Inhibe la lyse des érythrocytes ovins par HBL et exalte le patron d'hémolyse discontinu. Deuxième contributeur en importance à la toxicité rétinienne. Le PL-PLC est exprimé par la grande majorité des isolats. 	(Beecher <i>et al.</i> , 2000; Beecher et Wong, 2000; Granum, 1994)

Enzyme	Mécanisme	Références
Toxine d'ADP-ribosylation (ADP-ribosyltransférase)	<ul style="list-style-type: none"> • Exo-enzyme • Membre du groupe de transférases similaires à C3 qui ribosylent la petite protéine Rho qui fixe la GTP • Produite par l'isolat clinique <i>Bacillus cereus</i> 2339 	(Just <i>et al.</i> , 1992)
Protéine végétative insecticide (VIP)	<p>Caractéristiques structurelles</p> <ul style="list-style-type: none"> • Composé de VIP1, un composant de fixation à la cellule, et de VIP2, un ADP-ribosyltransférase qui cible l'actine. • Appartient à la famille des toxines bactériennes binaires, ressemblant aux toxines clostridiales mammifères de la famille C2 et aux toxines iota. <p>Dose toxique et effets</p> <ul style="list-style-type: none"> • VIP2 exerce ses effets d'intoxication intracellulaire en modifiant l'actine et en empêchant sa polymérisation. • Propriétés insecticides sur la chrysomèle et la chrysomèle occidentale des racines du maïs. 	(Barth <i>et al.</i> , 2004; Jucovic <i>et al.</i> , 2008)

1 **ANNEXE 6A: Pathogénicité pour les invertébrés et les vertébrés**

2 Détails des expériences mentionnées à la section 1.1.3.2. Les trois tableaux suivants présentent des renseignements spécifiques sur les

3 invertébrés et les vertébrés.

4 **Invertébrés**

5

Cible	Conditions	Souches	Résultats	Références
Insectes lépidoptères				
<p>Sphinx du tabac <i>Manduca sexta</i> Larves au cinquième stade larvaire Sexe non précisé</p> <p>Objectif ou contexte Modèle d'infection chez l'insecte afin de caractériser le rôle du gène régulateur <i>fur</i> réagissant au fer dans la virulence de <i>B. cereus</i>.</p>	<p>Voie d'exposition Injection de cellules végétatives (compartiment non précisé)</p> <p>Conditions d'essai</p> <ul style="list-style-type: none"> • Non précisées <p>Régime de dosage</p> <ul style="list-style-type: none"> • Injection unique de doses connues mais non précisées • Répétition unique d'au moins 20 larves par groupe de dose <p>Témoins</p> <ul style="list-style-type: none"> • Non précisés <p>Durée de l'étude</p> <ul style="list-style-type: none"> • 48 heures 	<ul style="list-style-type: none"> • 569 WT • 569 Δfur • Tous deux cultivés dans un milieu LB avec antibiotiques • <i>fur</i> est un homologue du gène <i>fur</i> de <i>B. subtilis</i> identifié dans <i>B. cereus</i>. 	<p>Intervalles d'observation</p> <ul style="list-style-type: none"> • Non précisés <p>Mortalité observée</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dose létale médiane (DL50) calculée à partir de l'analyse par la méthode des probits des données de mortalité (les valeurs entre parenthèses correspondent aux limites de confiance à 95 %). • Valeur DL₅₀ du WT = 1859 cfu (1142-2774) • Valeur DL₅₀ du Δfur = 4932 cfu (3609-6912) <p>Conclusions</p> <ul style="list-style-type: none"> • Virulence réduite pour le mutant <i>B. cereus</i> 569 Δfur. • Le mutant Δfur exprime les sidérophores de façon constitutive et accumule le fer à l'échelle intracellulaire à un niveau trois fois supérieur à celui de WT. 	(Harvie <i>et al.</i> , 2005)

Cible	Conditions	Souches	Résultats	Références
<p>Fausse teigne de la cire <i>Galleria mellonella</i> Larves au dernier stade larvaire Sexe non précisé</p> <p>Objectif Étude des propriétés opportunistes des souches acristalifères de <i>B. thuringiensis</i> (Bt) et de <i>B. cereus</i> et du rôle du gène <i>plcR</i>, un régulateur pléiotrope des facteurs extracellulaires</p>	<p>Voie d'exposition</p> <ul style="list-style-type: none"> • Co-ingestion par gavage • Injection intrahémocélisque) <p>Méthode d'administration, respectivement</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aiguilles 0,5 X 25 mm et microinjecteur • À la base de la dernière fausse patte, au moyen d'un microinjecteur avec une seringue hypodermique de 1 mL et des aiguilles de 0,45 X 12 mm <p>Régime de dosage</p> <ul style="list-style-type: none"> • 10 µL de suspension de spores par larve pour les deux méthodes • Pour le gavage, les spores étaient associées à des toxines cristallines <p>Répétitions et répliques</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aucune répétition sur le même animal • Utilisation de 30 larves pour chaque dose et pour chaque méthode <p>Témoins</p> <ul style="list-style-type: none"> • Gavage avec spores (10^6) ou toxines Cry1C seules <p>Durée de l'étude</p> <ul style="list-style-type: none"> • Les décès ont été enregistrés sur une période de sept jours. 	<ul style="list-style-type: none"> • ATCC 14579 • Les spores ont été obtenues par culture de cellules dans un milieu HCT à 30 °C pendant quatre jours, centrifugées et remises en suspension dans 10 mL d'eau distillée stérile. • Les préparations de spores ont été chauffées à 80 °C pendant 20 minutes. 	<p>Intervalle d'observation</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vérification quotidienne des organismes. • Après l'injection, les organismes ont été gardés individuellement dans des boîtes contenant de la cire d'abeille et du pollen à 25 °C. <p>Mortalité observée</p> <ul style="list-style-type: none"> • Après deux jours. • Très faible (>10 %) avec les cristaux ou les spores seuls (témoins). • Mortalité d'environ 70 % causée par la co-ingestion de 10^6 spores avec une quantité sous-létale (1 µg) de toxine Cry1C. <p>Conclusions</p> <ul style="list-style-type: none"> • Patron de synergisme clair entre les spores de <i>B. cereus</i> et la toxine de <i>B. thuringiensis</i>. 	<p>(Salamitou <i>et al.</i>, 2000)</p>

Cible	Conditions	Souches	Résultats	Références
<p>Fausse teigne de la cire <i>Galleria mellonella</i> Larves au 2^e et au 5^e stade larvaire</p> <p>Élevées sur cire d'abeille et pollen</p> <p>Objectif Déterminer si la fausse teigne de la cire (<i>Galleria mellonella</i>) peut fonctionner comme modèle d'infection orale pour l'humain et les agents pathogènes entomobactériens.</p>	<p>Voie d'exposition</p> <ul style="list-style-type: none"> Infection orale <p>Ingestion libre</p> <ul style="list-style-type: none"> Au 2^e stade larvaire Mélanges de 50 % de pollen avec 50 % d'eau contenant 10⁸ spores/mL seules ou avec 2 µg de Cry1C dilué dans le PBS à pH 7,4. Les deux préparations (2 mL) sont ajoutées à des boîtes de Pétri en matière plastique de 5 cm de diamètre et laissées sécher en surface. Les larves sont ensuite placées dans chaque boîte et incubées à 37 °C. <p>Gavage</p> <ul style="list-style-type: none"> Au 5^e stade larvaire, pesant 200 mg avec un jeûne de 24 heures avant le test Utilisation d'un micro-injecteur 5 × 10⁵ - 1 × 10⁶ spores ou cellules végétatives par larve, avec (2 – 3 µg) de toxine Cry1C et sans toxine <p>Répétitions et réplifications</p> <ul style="list-style-type: none"> Aucune répétition sur le même animal Dix larves au 2^e stade larvaire dans chaque boîte pour ingestion libre. Vingt larves au 5^e stade larvaire pour le gavage. L'expérience est reprise trois fois. <p>Témoins</p> <ul style="list-style-type: none"> Spores seulement. Toxine Cry1C seulement. <p>Durée de l'étude</p> <ul style="list-style-type: none"> 72 heures 	<p>Un isolat environnemental :</p> <ul style="list-style-type: none"> ATCC 14579 <p>Cinq autres souches diarrhéiques :</p> <ul style="list-style-type: none"> D6 (F4370/ 75) D23 (F284/78) D17 (1651-00) D19 (NvH391/ 98) D24 (F352/90) <p>Quatre d'entre elles ont été mises à l'essai en gavage :</p> <ul style="list-style-type: none"> D19 D23 D6 ATCC 14579 <p>Spores :</p> <ul style="list-style-type: none"> produites en milieu HCT, lavées, remises en suspension dans l'eau, thermisées et énumérées <p>Cellules végétatives :</p> <ul style="list-style-type: none"> recueillies à la phase de croissance exponentielle (OD_{600nm} ≈ 1) en milieu LB 	<p>Intervalles d'observation</p> <ul style="list-style-type: none"> Mortalité consignée quotidiennement. <p>Mortalité observée pour l'ingestion libre :</p> <ul style="list-style-type: none"> 2 ± 2 % pour les spores de ATCC 14579 seule. 5 ± 5 % pour la toxine Cry1C seulement. De 12 ± 7 % (D24) à 57 ± 20 % (D23) pour la co-ingestion de toxine Cry1C. <p>Mortalité observée pour le gavage :</p> <ul style="list-style-type: none"> 0 % (D19) à 8 ± 6 % (D23) sans toxine. 10 ± 8 % (D19) à 50 ± 13 % (D23) en co-ingestion. <p>Conclusions</p> <ul style="list-style-type: none"> Des variations importantes ont été observées entre les souches. Ces résultats démontrent la synergie. La faible virulence de D19 (10 %) était imprévue puisqu'il s'agit d'un élément reconnu pour sa virulence élevée en tant qu'agent pathogène humain. Les valeurs de mortalité des insectes ne sont pas en corrélation avec le potentiel pathogène des souches bactériennes. 	<p>(Fedhila <i>et al.</i>, 2010)</p>

Cible	Conditions	Souches	Résultats	Références
<p>Fausse-arpenreuse du chou <i>Trichoplusia ni</i> Âgées de 1 à 8 jours. Larves en santé d'une culture souche</p> <p>Objectif Test de pathogénicité dans le but de caractériser la cause non virale de la mort des larves dans une étude sur le NPV</p>	<p>Voie d'exposition</p> <ul style="list-style-type: none"> Ingestion libre d'un test de pathogénicité dans une diète contaminée. <p>Méthode d'administration</p> <ul style="list-style-type: none"> Suspension déposée à la pipette à la surface d'une diète artificielle fraîchement préparée dans une coupelle en plastique d'une once. Une larve à la fois a été placée dans la coupelle pour s'y nourrir. <p>Conditions physiques</p> <ul style="list-style-type: none"> 25-28 °C. Humidité relative : 75-85 % <p>Régime de dosage</p> <ul style="list-style-type: none"> 0,1 mL de suspension Bactérie, virus ou combinaison (3 groupes d'essai) 2,5 ou $5,0 \times 10^7$ cellules/coupelle <p>Répétitions et réplifications</p> <ul style="list-style-type: none"> Aucune répétition sur la même larve 50 larves par dosage Deux expériences <p>Témoins</p> <ul style="list-style-type: none"> Solution saline stérile ou eau <p>Durée de l'étude</p> <ul style="list-style-type: none"> 12 jours 	<ul style="list-style-type: none"> Aucune désignation de la souche précisée Isolat de larves mortes ou moribondes Cellules en suspension dans une solution saline stérile 	<ul style="list-style-type: none"> La cause de la mort et les symptômes ont été attribués à <i>B. cereus</i> selon les critères de A. Krieg's key, 1970. <p>Paramètres mesurés</p> <ul style="list-style-type: none"> Mortalité consignée quotidiennement. Données corrigées selon la formule d'Abbott. <p>Étendue des effets</p> <ul style="list-style-type: none"> Le niveau le plus élevé, $7,2 \times 10^8$ cellules/coupelle, a entraîné une mortalité de 100 % en onze jours. Taux de mortalité de 69 % et 50 %, chez les larves exposées à $3,6$ et $1,8 \times 10^8$ cellules/coupelle. 70 à 100 % des larves sont mortes en moins de 10 jours. Les symptômes étaient identiques à ceux observés chez les larves à partir desquelles les isolats originaux ont été prélevés : les larves ont cessé de s'alimenter, ont paralysé, les téguments ont noirci et les larves sont mortes. Les larves d'un jour semblent plus sensibles que les larves de 2 à 8 jours. Les cultures de <i>B. cereus</i> d'une journée créent une mortalité plus importante et plus rapide que les cultures de 2, 3 ou 20. <p>Conclusions</p> <ul style="list-style-type: none"> La combinaison des deux pathogènes entraîne une mortalité légèrement plus élevée que l'un ou l'autre des agents pathogènes employé seul, mais sans qu'il y ait d'effet de synergie. La pathogénicité pour <i>T. ni</i> n'est associée à aucune toxine démontrable. 	<p>(To <i>et al.</i>, 1975)</p>

Cible	Conditions	Souches	Résultats	Références
<p>Ver à soie Larve au 5^e stade larvaire Élevées à partir d'œufs fertilisés en laboratoire Nourries aux aliments sans antibiotiques pendant une journée</p> <p>Objectif Purification et identification d'une bactérie exotoxine du sol, la sphingomyélinase C</p>	<p>Voie d'exposition</p> <ul style="list-style-type: none"> • Injection dans l'hémolymphe à travers la surface dorsale <p>Méthode d'administration</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aiguille de calibre 27 <p>Conditions physiques</p> <ul style="list-style-type: none"> • Non précisées <p>Régime de dosage</p> <ul style="list-style-type: none"> • Trois groupes tests • 0,05 mL d'une culture nocturne ou d'un surnageant de culture • Dilutions doubles de sphingomyélinase purifiée. <p>Répétitions et réplifications</p> <ul style="list-style-type: none"> • Deux vers à soie pour chaque dose de culture ou de surnageant de culture • Cinq vers à soie pour chaque dose de toxine <p>Témoins</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aucun indiqué <p>Durée de l'étude</p> <ul style="list-style-type: none"> • 24 heures 	<ul style="list-style-type: none"> • ATCC 14579 • 25 colonies distinctes, dont 16 ont causé la mort des vers à soie • Neuf souches de <i>Bacillus</i> non désignées isolées du sol • Des échantillons de sol ont été étendus sur des plaques de gélose d'infusion de cerveau-cœur et les colonies ont été isolées après une nuit d'incubation à 30 °C. • Les cultures ont été centrifugées et filtrées à travers un filtre de 0,22-µm. 	<p>Paramètres mesurés</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nombre de vers à soie vivants après 24 heures. <p>Étendue des effets pour les isolats de sol</p> <ul style="list-style-type: none"> • Des 25 isolats distincts, 16 ont causé la mort des vers à soie • 5 des 16 surnageants de culture ont tué des vers à soie. Ces cinq souches ont été identifiées comme des membres de l'espèce <i>Bacillus</i> (séquences 16S ARNr). • La toxine purifiée à partir de l'isolat 11 a été identifiée comme de la sphingomyélinase C de <i>B. cereus</i>. <p>Étendue des effets pour la sphingomyélinase de la souche ATCC 14579 de <i>B. cereus</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Mort des vers à soie avec une DL₅₀ de 0,7 µg. 	<p>(Usui <i>et al.</i>, 2009)</p>

Cible	Conditions	Souches	Résultats	Références
Blattes				
<p>Blatte germanique <i>Blattella germanica</i> Adultes mâles</p> <p>Objectif Purification et caractérisation de la toxicité pour les insectes de la sphingomyélinase C produite par <i>B. cereus</i></p>	<p>Voie d'exposition</p> <ul style="list-style-type: none"> • Injection dans l'abdomen <p>Méthode d'administration</p> <ul style="list-style-type: none"> • Non précisée <p>Conditions physiques</p> <ul style="list-style-type: none"> • Insectes élevés à 26 et 60 % d'humidité relative <p>Régime de dosage</p> <ul style="list-style-type: none"> • 2 µL de surnageant acellulaire ou de solution d'échantillon de protéine • Bouillons de culture non traité, thermisés et traité à la protéinase K testé sur les blattes (trois groupes) <p>Répétitions et réplifications</p> <ul style="list-style-type: none"> • Utilisation de cinq blattes pour chaque dose <p>Témoins</p> <ul style="list-style-type: none"> • Non précisés <p>Durée de l'étude</p> <ul style="list-style-type: none"> • 10 minutes 	<ul style="list-style-type: none"> • ATCC 14579 (99,9 % d'homologie de séquence ARNr) • Isolé à partir de mandibules de larves de fourmis-lions, <i>Myrmeleon bore</i>, au dernier stade larvaire • Produit des facteurs insecticides lorsque cultivé en aérobie 	<p>Paramètres mesurés</p> <ul style="list-style-type: none"> • Symptômes observés 10 minutes après l'injection. • Dose paralysante minimale (DPM) à laquelle au moins quatre ou cinq insectes ont été paralysés. <p>Étendue des effets</p> <ul style="list-style-type: none"> • Paralysie rapide après l'injection. • DPM de 262 ± 29 ng protéine/insecte. • La bactérie a été en mesure de poursuivre sa croissance même à 50 °C. • L'activité insecticide a été abolie par chauffage à 100 °C et par traitement à la protéinase K. <p>Conclusions</p> <ul style="list-style-type: none"> • La sphingomyélinase C produite par <i>B. cereus</i> peut tuer les insectes rapidement à faible dose. • Les facteurs insecticides produits par <i>B. cereus</i> peuvent aider à l'activité de capture de proies des fourmis-lions. • L'effet insecticide de la sphingomyélinase C est dû à son action sur le système nerveux. 	(Nishiwaki et al., 2004)
<p>Blattes <i>Leucophaea maderae</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Défi intrahémocèlique 	<ul style="list-style-type: none"> • Quatre souches, comprenant : <ul style="list-style-type: none"> • B1 • NCIB 3329 	<ul style="list-style-type: none"> • B1 a été la plus pathogène. • NCIB 3329 a été la moins pathogène. 	(Rahmet-Alla et Rowley, 1989)

Cible	Conditions	Souches	Résultats	Références
Coléoptères				
<p>Scolyte de l'orme <i>Scolytus scolytus</i> Larve au 5^e stade larvaire Recueillies dans des billots d'orme infesté.</p> <p>Objectif Études pour un agent de contrôle biologique du vecteur de la maladie hollandaise de l'orme, parmi les espèces de <i>Bacillus</i>.</p>	<p>Conditions d'essai</p> <ul style="list-style-type: none"> Larves en suspension dans une suspension de cellules. Temps de suspension : une heure. Par la suite, élevées sur un milieu artificiel à 27 °C. Les larves mortes sont retirées chaque jour. <p>Régime de dosage</p> <ul style="list-style-type: none"> 8 × 10⁵ cellules/mL <p>Témoins</p> <ul style="list-style-type: none"> Larves en suspension dans l'eau distillée. <p>Durée de l'étude</p> <ul style="list-style-type: none"> 21 jours 	<ul style="list-style-type: none"> <i>B. cereus</i> 11796 	<p>Mortalité observée</p> <ul style="list-style-type: none"> Après correction pour mortalité naturelle : 63,6 % des 40 larves ont été tuées. Le groupe-témoin a eu un taux de mortalité de 17,5 % (corrigé à 0 %) pour 40 larves. 	(Jassim <i>et al.</i> , 1990)
<p>Dendroctone méridional du pin <i>Dendroctonus frontalis</i> au stade larvaire</p>	<ul style="list-style-type: none"> Inoculation orale 	<ul style="list-style-type: none"> Aucune désignation de la souche fournie 	<ul style="list-style-type: none"> Les souches isolées à partir de scolytes morts étaient pathogènes. 	(Moore, 1972)
Autres insectes				
<p>Anthonome du cotonnier <i>Anthonomus grandis</i>,</p> <p>Noctuelle africaine du coton <i>Spodoptera littoralis</i></p> <p>Puceron noir des fèves <i>Aphis fabae</i>.</p>	<ul style="list-style-type: none"> Méthode d'ingestion libre de surnageant Colonies utilisées 	<ul style="list-style-type: none"> 575 souches utilisées pour <i>A. grandis</i> 270 souches utilisées pour <i>S. littoralis</i> et <i>A. fabae</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Quatre des 575 souches étaient toxiques pour <i>A. grandis</i> (taux de mortalité de 85 à 100 %). Cinq des 270 souches ont produit un taux de mortalité de 41 à 97 % pour <i>A. fabae</i>. Aucun effet sur <i>S. littoralis</i> 	(Perchat <i>et al.</i> , 2005)

6
7
8
9
10

Cible	Conditions	Souches	Résultats	Références
Crustacés				
Cladocère <i>Daphnia magna</i> Nouveau-nés	<ul style="list-style-type: none"> Dilutions progressives de culture (200 mL) ajoutées à 20 bocaux contenant chacun un nouveau-né (âgé de 24 heures) Concentration finale $10^4 - 10^6$ CFU mL⁻¹ Présence d'événements de décès vérifiée chaque jour. Contrôle des animaux non infectés 	<ul style="list-style-type: none"> BD170 EH2, un <i>Bacillus subtilis</i> non hémolytique à l'origine exprimant un gène introduit d'hémolysine II de <i>B. cereus</i>, <i>hlyII</i> <i>B. cereus</i> VKM B-771 	<ul style="list-style-type: none"> La mort des animaux est survenue en 8 à 16 jours. BD170 EH2 a diminué la fécondité. 	(Sineva <i>et al.</i> , 2009)

Vertébrés

Cible	Conditions	Souche	Résultats	Références
Cobaye				
Cobaye <i>Cavia porcellus</i>	Voie d'exposition <ul style="list-style-type: none"> Injection (compartiment non précisé) Régime de dosage <ul style="list-style-type: none"> Non précisé Culture de surface à 24 heures sur une plaque de gélose Témoin <ul style="list-style-type: none"> 40 cc bouillon de glucose 	<ul style="list-style-type: none"> ATCC 21 sous-cultivé rapidement pendant quelques générations N. R. Smith N° 156 Les deux souches ont été sous-cultivées rapidement pendant quelques générations. 	<ul style="list-style-type: none"> Les cobayes sont morts uniquement lorsque les souches ont été sous-cultivées. Le bouillon de glucose n'a pas tué les animaux. 	(Clark, 1937)
Cobaye <i>Cavia porcellus</i>	Voie d'exposition <ul style="list-style-type: none"> Injection intradermale de filtrats de culture (0,05 mL) à des cobayes albinos des deux sexes. Témoin	<ul style="list-style-type: none"> B-4ac utilisé pour l'épreuve biologique cutanée 24 autres souches de <i>B. cereus</i> ont été testées 	<ul style="list-style-type: none"> Les souches B-4ac et 21 ont produit des réactions nécrotiques entourées d'une inflammation au site d'injection. 	(Glatz et Goepfert, 1973)

Cible	Conditions	Souche	Résultats	Références
	<ul style="list-style-type: none"> Des témoins positifs et négatifs ont été inclus. Les animaux ont été observés après 6 et 24 heures. 	<ul style="list-style-type: none"> Aucune désignation de la souche fournie 		
Lapins				
Néo-Zélandais blanc <i>Oryctolagus cuniculus</i> Anse iléale ligaturée	<ul style="list-style-type: none"> Modèle expérimental d'intoxication alimentaire Six boucles d'essai par animal. Un témoin négatif et un témoin positif par lapin. 	<ul style="list-style-type: none"> 22 souches différentes désignées 	<ul style="list-style-type: none"> Accumulation rapide de 3 à 20 mL de liquide couleur paille, souvent sanglant. Réponse positive pour 19 des 22 souches. Réponse constamment positive pour les lapins plus jeunes. La plupart des lapins présentant au moins une anse positive sont morts dans les 10 heures suivant la chirurgie. 	(Spira et Goepfert, 1972)
Néo-Zélandais blanc <i>Oryctolagus cuniculus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Injection intradermique de 0,05 mL de filtrat de culture acellulaire dans des lapins de 2 à 3 kg. Trois heures après l'injection, du colorant bleu d'Evans a été injecté dans la veine de l'oreille. 	<ul style="list-style-type: none"> 11 souches de <i>B. cereus</i> Une seule d'entre elles portait la désignation <i>B. cereus</i> B-4ac, connue pour être positive dans l'anse iléale et dans l'épreuve biologique dermique du cobaye. 	<ul style="list-style-type: none"> La zone de bleuissement représentant l'augmentation de la perméabilité vasculaire variait de 4 à 100 mm² pour la souche B-4ac. Neuf des dix autres variétés ont produit une réaction vasculaire positive. 	(Glatz <i>et al.</i> , 1974)
Lapin hollandais <i>Oryctolagus cuniculus</i> Mâles pesant 1,8 ± 0,2 kg	<ul style="list-style-type: none"> 0,1 ou 0,3 mL en injection intramusculaire dans le flanc 0,15 mL en injection sous-cutanée Les animaux ont été tués avant que l'infection ne devienne fatale. Des cellules végétatives et des suspensions de spores ont été utilisées. Concentration environ 10² 	<ul style="list-style-type: none"> Variante négative de la lécithinase SV1 	<ul style="list-style-type: none"> Présence d'abcès indiquant une réaction inflammatoire. Présence de nodules sous la peau avec fibres nécrotiques et fibrose en périphérie. Calcification observée dans 80 % des animaux après sept jours. 	(Stretton et Bulman, 1975)

Cible	Conditions	Souche	Résultats	Références
	cellules/mL.			
Lapin	<ul style="list-style-type: none"> • Injection intradermale (0,1 mL) chez des lapins pesant entre 2,5 et 3 g 	<ul style="list-style-type: none"> • 50 de 136 souches isolées de produits laitiers • 102 souches donnent un résultat positif pour les toxines extracellulaires 	<ul style="list-style-type: none"> • Les 102 souches ont causé une perméabilité vasculaires dans la peau des lapins (bleuissement intense causé par le colorant bleu d'Evans. 	(Christiansson <i>et al.</i> , 1989)
Lapins <i>Oryctolagus cuniculus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Trois entérotoxines dans des filtrats concentrés de cultures acellulaires • Épreuve biologique sur anse iléale ligaturée • Résultats préliminaires pour 23 isolats • Quatre souches sélectionnées 	<ul style="list-style-type: none"> • Souche isolée d'un incident ayant causé de la diarrhée chez six de dix singes • Souche isolée de riz brut n'ayant pas produit de symptômes chez huit singes • Souches isolées d'un abcès au cerveau (2141/74, sérotype 11). • B-4ac 	<ul style="list-style-type: none"> • Bien que onze souches seulement aient été testées plus de deux fois, deux seulement de ces onze souches ont présenté une probabilité à >50 % de donner un résultat positif sur des essais répétés. • Accumulation de fluide dans l'anse iléale des lapins pour les deux premières souches. • Perturbations graves de la muqueuse dans la muqueuse iléale pour la troisième souche. 	(Turnbull, 1976)
Néo-zélandais blanc <i>Oryctolagus cuniculus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Test de toxicité rétinienne <i>in vitro</i> : Mesure de la libération cytotytique de lacticodéshydrogénase (LDH) des boutons rétiens traités avec des toxines de <i>B. cereus</i> (600 ng/mL HBL_{eq}). • Modèle d'endophtalmie stérile <i>in vivo</i> : injection intravitréale d'exotoxine pure ou brute (0,1 à 1,15 mL) • Échantillons témoins et échantillons contenant des 	<ul style="list-style-type: none"> • MGBC 145 	<ul style="list-style-type: none"> • Les boutons rétiens traités avec CET ou HBL se sont complètement désagregés en cellules et en débris de cellules et se sont effondrés au moment d'être enlevés. • Dans un délai de quatre heures, tous les yeux ayant reçu $\geq 0,8 \mu\text{g}$ d'exotoxine brute affichaient une exsudation, un œdème conjonctival et une hyperémie marqués. • Avec 1-4 μg, absence totale ou quasi-totale de reflet rétinien, hémorragie vitréale, chémosis hémorragique de la conjonctive et opacité cornéenne. • Réponse plus légère à des doses faibles. 	(Beecher <i>et al.</i> , 1995a)

Cible	Conditions	Souche	Résultats	Références
	toxines inclus			
Lapin <i>Oryctolagus cuniculus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Modèle d'accumulation de liquide dans l'anse iléale Trois composants purifiés de HBL 	<ul style="list-style-type: none"> F837/76 	<ul style="list-style-type: none"> Cause de l'accumulation de fluide et les trois éléments doivent être présents ensemble pour causer une activité maximale. 	(Beecher <i>et al.</i> , 1995b)
Néo-Zélandais blanc <i>Oryctolagus cuniculus</i> 2 à 3 kg	<ul style="list-style-type: none"> Injection intravitréale dans les yeux de <i>B. cereus</i> (log 2,06 CFU) viable ou de surnageant acellulaire Témoins chirurgicaux et absolus 	<ul style="list-style-type: none"> MGBC145 	<ul style="list-style-type: none"> Inflammation intraoculaire et réduction de la réponse rétinienne après trois heures. Décollement de la rétine et plissement et perturbation de la couche photoréceptrice après neuf heures. À 18 heures, les yeux affichent une inflammation maximale, y compris des tissus périoculaires. L'injection de surnageant de culture produit des résultats similaires. 	(Callegan <i>et al.</i> , 1999)
Souris				
Souris <i>Mus musculus</i> Souche namru albino Âgées de 6 à 9 semaines	<ul style="list-style-type: none"> Injection intrapéritonéale (0,5 mL) et sous-cutanée (0,25 mL) Quatre dilutions injectées dans chacune de 12 souris ou plus Formes végétatives et spores testées. 	<ul style="list-style-type: none"> NRS 201 NRS 232 NRS 1256 	<ul style="list-style-type: none"> Une quantité de 10 à 100 fois plus élevée de spores a été nécessaire pour causer la mort des souris. La mort survient après les injections intrapéritonéales mais non après les injections sous-cutanées. Les injections sous-cutanées ont produit une lésion nécrotique ouverte. 	(Lamanna et Jones, 1963)
Souris <i>Mus musculus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Injection intrapéritonéale ou sous-cutanée (0,25 mL) d'une suspension (environ 500 millions de bacilles par mL) Les cultures étaient souvent transférées d'un milieu à un autre pour en augmenter la virulence. Groupes de 4 à 8 souris 	<ul style="list-style-type: none"> Souches activées Aucune désignation de la souche fournie 	<ul style="list-style-type: none"> Maladie aiguë létale à dose élevée, en moins de 6 heures dans presque tous les cas La gravité de la maladie est clairement associée à la dose. La dose minimum causant un taux de mortalité de 84 à 100 % était d'environ $2,2 \times 10^7$ bacilles. Les doses plus faibles entraînaient une maladie plus bénigne et parfois des ulcères nécrosants de la peau au site d'injection. 	(Burdon <i>et al.</i> , 1967)
Souris	<ul style="list-style-type: none"> 0,5 mL de filtrat de culture 	<ul style="list-style-type: none"> 183 souches isolées 	<ul style="list-style-type: none"> Des 11 isolats présentant une forte activité 	(Wong <i>et al.</i> ,

Cible	Conditions	Souche	Résultats	Références
<i>Mus musculus</i>	injecté dans la veine caudale de quatre souris ICR adultes <ul style="list-style-type: none"> Deux isolats cliniques ont été utilisés comme témoins positifs et le milieu de culture a été utilisé comme témoin négatif. 	de produits laitiers	d'hémolysine, trois ont tué les souris.	1988)
Souris <i>Mus musculus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Injection intraveineuse de 8 µg d'hémolysine II purifiée 	<ul style="list-style-type: none"> FS-1 	<ul style="list-style-type: none"> Décès en moins de deux minutes 	(Shinagawa <i>et al.</i> , 1991a)
Souris <i>Mus musculus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Test de perméabilité vasculaire, réaction de nécrose intestinale et test de létalité sur des souris 	<ul style="list-style-type: none"> 116 souches Environ 13 de ces souches ont été désignées 	<ul style="list-style-type: none"> Bonne corrélation de la production de nécrose de la peau avec les tests intestinaux et le test d'accumulation de fluide. 	(Turnbull <i>et al.</i> , 1979)
Souris <i>Mus musculus</i> Souche BALB/c Femelles âgées de 5 semaines Gardées dans une enceinte de sécurité biologique en groupes de cinq, avec de l'eau stérile et de la nourriture. Objectif Étude des propriétés opportunistes d'une mutation de <i>B. thuringiensis</i> et de <i>B. cereus</i> , et du rôle du	Voie d'exposition <ul style="list-style-type: none"> Instillation nasale sous légère anesthésie à l'éther Méthode d'administration <ul style="list-style-type: none"> La suspension de spores ou de bactéries a été déposée avec soin au coin de la narine. La souris a inhalé l'inoculat en respirant. Régime de dosage <ul style="list-style-type: none"> 50 µL de la suspension (spores ou cellules végétatives) Répétitions et réplifications <ul style="list-style-type: none"> Aucune répétition Groupes de 5 à 10 souris utilisées pour chaque souche Témoins <ul style="list-style-type: none"> Aucun indiqué 	Deux souches de <i>B. cereus</i> testées : <ul style="list-style-type: none"> ATCC 14579 ATCC 14579 $\Delta plcR$ Les cellules végétatives ont été préparées à partir de culture en milieu TSB à 37 °C et récupérées par centrifugage après culture pendant une période de 18 heures (phase stationnaire tardive). Les suspensions de spores ont été préparées à partir d'une culture âgée de 10 jours sur gélose. Les spores ont été 	Mortalité observée <ul style="list-style-type: none"> 10⁸ spores par souris ont produit un taux de mortalité de 100 % pour les deux souches. 5 X 10⁷ spores par souris ont produit un taux de mortalité de 90 % et de 22 %, respectivement. 10⁷ spores par souris ont produit un taux de mortalité de 90 % et de 0 %, respectivement. 6 x 10⁶ spores par souris ont produit un taux de mortalité de 100 % et de 0 %, respectivement. Conclusions <ul style="list-style-type: none"> La souche ATCC 14579 présente des facteurs additionnels, non régulés par PlcR, qui peuvent potentialiser ses propriétés opportunistes. Décès rapide de l'hôte si des doses fortes de cellules sporulées ou végétatives sont utilisées. Il est peu probable que la mort soit due à la croissance des bactéries. 	(Salamitou <i>et al.</i> , 2000)

Cible	Conditions	Souche	Résultats	Références
gène <i>plcR</i>	Durée de l'étude <ul style="list-style-type: none"> Mortalité observée après 24 heures 	lavées et remises en suspension dans de l'eau stérile, puis incubées pendant une heure à 65 °C pour tuer les formes végétatives.		
Souris <i>Mus musculus</i> Souche BALB/c	Voie d'exposition <ul style="list-style-type: none"> Endotrachéale 	<ul style="list-style-type: none"> ATCC 14579 	<ul style="list-style-type: none"> L'exposition aux spores a des effets négligeables. Exposition aux cellules végétatives. <ul style="list-style-type: none"> expérience interrompue après 4 heures en raison de la gravité des symptômes; cytokines pyrogènes élevées; infiltration des granulocytes pulmonaires; marqueurs de réponse en phase aigüe. 	(Tayabali et al., 2010)
Singes				
Singes <i>Macaca mulatta</i> Souche rhesus Objectif Déterminer l'utilité des macaques rhesus pour modéliser l'entéropathogénicité de <i>B. cereus</i> .	Voie d'exposition <ul style="list-style-type: none"> Gavage. Méthode d'administration <ul style="list-style-type: none"> Faire jeuner les macaques pendant 18 heures avant de les nourrir. Administré par sonde stomacale. Régime de dosage <ul style="list-style-type: none"> Trois types de matériaux donnés en nourriture : cultures entières, filtrats de cultures stériles ou toxines précipitées purifiées. 40 mL par macaque Des aliments normaux sont disponibles ensuite. Répétitions et réplifications <ul style="list-style-type: none"> Six macaques pour chaque matériau testé. 	<ul style="list-style-type: none"> B-4ac, isolé à partir d'une poussée d'intoxication alimentaire Six autres souches dans désignation spécifique, isolées à partir des poussées associées au riz 	Intervalles d'observation <ul style="list-style-type: none"> Observation continue Symptômes observés <ul style="list-style-type: none"> Diarrhée déclenchée par les trois matériaux de test dans un délai de 35-150 minutes après l'administration. Durée de 60 à 210 minutes. Le témoin a été négatif. Variations considérables dans la sensibilité des différents macaques. Environ 50 % des macaques ont présenté une réaction positive. Aucun vomissement n'a été observé. Quatre des six souches désignées ont donné des résultats positifs pour la diarrhée mais négatifs pour le vomissement. B-4ac cultivé sur du riz a induit la diarrhée chez trois des six macaques mais aucun vomissement. Conclusions	(Goepfert, 1974)

Cible	Conditions	Souche	Résultats	Références
	<ul style="list-style-type: none"> Des tests d'accumulation de fluide dans l'anse iléale de lapins et de perméabilité des capillaires de la peau aussi effectués. <p>Témoin</p> <ul style="list-style-type: none"> BHIG stérile comme témoin négatif <p>Durée de l'étude</p> <ul style="list-style-type: none"> Jusqu'à ce que des symptômes soient observés (au moins 210 minutes). 		<ul style="list-style-type: none"> Corrélation directe entre la capacité de causer de l'accumulation de fluide dans les anses iléales de lapin, altération de la perméabilité des capillaires de la peau et capacité d'induire la diarrhée chez les macaques. Le macaque rhésus est un modèle pertinent. La diarrhée est causée par la synthèse et l'extraction d'une toxine par des cellules en croissance logarithmique. 	
<p>Singes <i>Macaca mulatta</i></p> <p>Sexe non précisé Jeune souche rhésus d'environ 3 kg</p> <p>Objectif Tenter de confirmer que les éclosions d'origine alimentaire étaient causées par <i>B. cereus</i> et de déterminer la participation d'un nouveau matériau entérotoxique.</p>	<p>Voie d'exposition</p> <ul style="list-style-type: none"> Gavage <p>Méthode d'administration</p> <ul style="list-style-type: none"> Du riz contaminé a été homogénéisé et concentré. Les organismes ont également été cultivés dans un bouillon liquide. Sous anesthésie, le matériau de test a été administré par voie buccale au moyen d'une sonde d'alimentation lubrifiée. <p>Régime de dosage</p> <ul style="list-style-type: none"> 30 mL d'une culture de huit heures. Dans la nourriture, environ 10^{10} d'organismes viables. Dans le bouillon, environ 10^{11} organismes. 100 à 150 mL de matériau. De plus, l'accumulation de 	<p>Trois souches de <i>B. cereus</i> :</p> <ul style="list-style-type: none"> 4810/73 (anciennement souche 88) isolée à partir de vomi, associé à la maladie 4433/73 isolé à partir de pain de viande impliqué dans une éclosion d'intoxication alimentaire 2532B/74 isolé à partir de riz 	<p>Paramètres mesurés</p> <ul style="list-style-type: none"> Activité émétique : début des vomissements en moins de cinq heures. Diarrhée : présence de selles liquides ou molles en moins de 24 heures. Examen fécal. Épreuve biologique d'anse iléale ligaturée <p>Étendue des effets pour l'activité émétique</p> <ul style="list-style-type: none"> L'alimentation à partir de milieu nonensemencé n'a eu aucun effet. Seules les cultures sur riz peuvent causer des vomissements. Dix des 24 macaques ont montré des vomissements positifs à partir de la souche 4810/73. <p>Étendue des effets pour l'activité diarrhéique</p> <ul style="list-style-type: none"> L'alimentation à partir de milieu nonensemencé n'a eu aucun effet. Largement confinée à la souche 4433/73. Principalement de la diarrhée chez six macaques sur dix, pour le riz. Présente pour les cultures sur bouillon et sur riz. 	(Melling et al., 1976)

Cible	Conditions	Souche	Résultats	Références
	<p>fluide iléal a été mesurée avec des filtrats concentrés à 12-15 plis.</p> <p>Répétitions et réplifications</p> <ul style="list-style-type: none"> Entre 4 et 24 macaques pour chaque combinaison de souche et de milieu de culture <p>Témoin</p> <ul style="list-style-type: none"> Milieu non ensemencé <p>Durée de l'étude</p> <ul style="list-style-type: none"> 24 heures 		<ul style="list-style-type: none"> Examen fécal. L'image bactériologique reflète avec exactitude les quantités dans le matériau donné en alimentation. <p>Épreuve biologique d'anse iléale ligaturée</p> <ul style="list-style-type: none"> Sur 13, 15 et 12 tests réalisés pour chaque souche, 2, 12 et 9 ont été positives pour l'anse iléale. <p>Conclusions</p> <ul style="list-style-type: none"> Une distinction claire existe entre les souches causant les vomissements et la diarrhée. La différence entre les activités des deux premières souches est renforcée par le test d'anse iléale du lapin. La gamme d'aliments impliqués dans l'éclosion de diarrhée est large tandis que les vomissements sont limités à la consommation de riz. 	
Autres études impliquant plus d'un organisme				
<p>Singes <i>Macaca mulatta</i> Souche rhésus 6-8 kg</p> <p>Souris <i>Mus musculus</i> ICR, souche non précisée. Sexe non précisé Pesant 20-24 g</p> <p>Objectif Étudier la corrélation entre la toxine émétique et le facteur de vacuolisation HEp-2 produit par <i>B. cereus</i> isolé à partir d'une éclosion d'intoxication</p>	<p>Tests effectués</p> <ul style="list-style-type: none"> Létalité murine Activité émétique sur les singes <p>Voie d'exposition</p> <ul style="list-style-type: none"> Injection intraveineuse Administration intragastrique <p>Méthode d'administration</p> <ul style="list-style-type: none"> Détails non fournis pour les souris Administration orale par cathéter pour les singes <p>Régime de dosage</p> <ul style="list-style-type: none"> 0,2 mL de l'échantillon test 20 mL de l'échantillon test <p>Substances testées</p> <ul style="list-style-type: none"> Céréulide purifiée Facteur de vacuolisation 	<ul style="list-style-type: none"> <i>B. cereus</i> N° 35 produit des entérotoxines mais pas de facteurs de vacuolisation <i>B. cereus</i> N° 55, isolé à partir d'une éclosion. Produit des facteurs de vacuolisation mais pas d'entérotoxines 	<p>Activité létale murine</p> <ul style="list-style-type: none"> Aucune observée pour 100-500 unités des deux substances. A été constatée pour plus de 1 000 unités de toxine. <p>Activité émétique chez les singes</p> <ul style="list-style-type: none"> Aucune activité observée pour les témoins. Pour la céréulide à 14 000 unités, les trois singes ont montré des vomissements en 2-4 heures. Pour le facteur partiellement purifié à 30 000 unités, un des deux singes a montré des vomissements après six heures. Pour le facteur partiellement purifié à 36 000 unités, les deux singes ont montré des vomissements après deux et quatre heures. <p>Signification</p> <ul style="list-style-type: none"> Démontre que le facteur de vacuolisation HEp-2 est un céréulide du type toxine émétique. Ces toxines peuvent causer des vomissements 	(Shinagawa et al., 1995)

Cible	Conditions	Souche	Résultats	Références
alimentaire de type vomitoire.	<p>partiellement purifié</p> <p>Conditions d'essai</p> <ul style="list-style-type: none"> Des aliments et de l'eau ont été fournis avant l'administration de l'échantillon d'essai aux singes. <p>Reprises</p> <ul style="list-style-type: none"> Non précisées <p>Témoin</p> <ul style="list-style-type: none"> Chacun testé sur deux singes Surnageant de <i>B. cereus</i> N° 35 comme témoin négatif Solution saline physiologique <p>Durée de l'étude</p> <ul style="list-style-type: none"> Observation des souris pendant 60 minutes Observation des singes pendant 24 heures. 		chez les singes.	
<p>Moutons et bovins</p> <p>Jeunes femelles</p>	<p>Voie d'exposition</p> <ul style="list-style-type: none"> Injection intraveineuse <p>Nombre et état des animaux</p> <ul style="list-style-type: none"> Cinq brebis gestantes de 90 à 110 jours Six génisses gestantes de sept mois Tous les animaux ont été logés dans un bâtiment d'isolement pendant dix jours avant l'inoculation. <p>Régime de dosage pour les brebis</p> <ul style="list-style-type: none"> 5,1 X 10⁵ organismes 	<ul style="list-style-type: none"> Aucune désignation de la souche fournie Souches isolées à partir d'un fœtus bovin avorté 	<p>Symptômes observés chez les brebis</p> <ul style="list-style-type: none"> Quatre agneaux morts avortés entre trois et huit jours après l'inoculation. L'une des brebis est morte après avoir eu de la fièvre, de la tachycardie, de la tachypnée et des troubles du système nerveux central. <p>Symptômes observés chez les génisses</p> <ul style="list-style-type: none"> Les animaux des groupes 1 et 2 ont avorté de veaux morts entre 7 et 12 jours après l'inoculation. Les animaux du groupe 3 ont eu des veaux normaux à terme. <p>Examen des veaux et des agneaux</p> <ul style="list-style-type: none"> Des degrés divers de changement autolytique. Ascite sanguinolent, hydrothorax, hydropéricarde et 	(Wohlgemuth <i>et al.</i> , 1972b)

Cible	Conditions	Souche	Résultats	Références
	Régime de dosage pour les brebis <ul style="list-style-type: none"> Trois groupes de deux animaux Groupe 1 : 8×10^6 organismes Groupe 2 : 8×10^5 organismes Groupe 3 : 8×10^3 organismes Reprises <ul style="list-style-type: none"> Des sections dupliquées de tissus ont été colorées. 		<p>œdème sous-cutané.</p> <ul style="list-style-type: none"> Les membranes fœtales étaient hyperthémiées et œdémateuses. Constats bactériologiques <ul style="list-style-type: none"> <i>B. cereus</i> a été isolé en cultures pures à partir des tissus des brebis, des agneaux et des veaux morts. Conclusion <ul style="list-style-type: none"> La placentite nécrotique était présente dans tous les avortements, indiquant que le placenta avait été le principal site d'infection. 	
Lapins et souris	<ul style="list-style-type: none"> Entérotoxine purifiée 	<ul style="list-style-type: none"> FM-1 	<ul style="list-style-type: none"> Perméabilité vasculaire chez le lapin. Létale pour les souris. Cause de l'accumulation de fluide dans l'anse iléale ligaturée des souris. 	(Shinagawa <i>et al.</i> , 1991b)

11
12

ANNEXE 6B : Pathogénicité de *B. cereus* pour les invertébrés et les vertébrés dans leur milieu naturel.

Cas où la bactérie *B. cereus* a été isolé à partir d'animaux présentant des symptômes de maladie dans un environnement naturel.

Organisme	Conditions	Souche	Résultats	Références
Insectes lépidoptères				
<i>Pectinophora gossypiella</i> Larves	État des animaux <ul style="list-style-type: none"> Au cours de deux saisons de repos, le taux de larves malades portant des lésions cutanées brunes a été de 4,1 % et de 1,7 %. Le taux de larves mortes portant des lésions cutanées brunes a été de 2 % et de 0,4 %. Nombre d'animaux étudiés <ul style="list-style-type: none"> Pour chaque année, 50/ 28 en juillet 347/ 51 en août 1 612/ 458 en septembre Témoin <ul style="list-style-type: none"> Aucun indiqué Durée de l'étude <ul style="list-style-type: none"> 2 ans 	<ul style="list-style-type: none"> Aucune désignation de la souche fournie 	Symptômes observés <ul style="list-style-type: none"> Lorsque ces larves ont été conservées en laboratoire, plusieurs d'entre elles sont mortes dans un délai de 8 à 45 jours. Les taux de mortalité de décembre à avril ont été de 45, 54, 20, 8 et 0 % au cours de la première saison. Ils ont été de 56, 20, 20, 20 et 0 % durant la deuxième saison. Observation bactériologique <ul style="list-style-type: none"> <i>B. thuringiensis finitimus</i> et <i>B. cereus</i> ont été isolées à partir de ces larves, mais non des larves en santé ou des larves mortes ne présentant pas les lésions. Conclusion <ul style="list-style-type: none"> La diminution de la virulence au fil de l'avancement de la période de repos peut indiquer que les larves qui sont atteintes par la maladie plus tard peuvent être ou devenir plus résistantes à ses effets. 	(Abul Nasr <i>et al.</i> , 1978)
Coléoptères				
Hannetons <i>Anomala dimidiata</i>	<ul style="list-style-type: none"> Isolats d'une puppe atrophiée 	<ul style="list-style-type: none"> WGPSB-2 (MTCC 7182) 	<ul style="list-style-type: none"> La souche a été en mesure d'infecter les insectes et de causer un taux de mortalité de 92 % et de 67 % respectivement chez les larves au deuxième stade larvaire d'<i>Anomala dimidiata</i> et de <i>Holotrichia seticollis</i>. 	(Selvakumar <i>et al.</i> , 2007)
Hannetons <i>Anomala dimidiata</i> et <i>Holotrichia seticollis</i>	<ul style="list-style-type: none"> Jusqu'à un cinquième de la population a affiché des symptômes d'infection bactérienne 	<ul style="list-style-type: none"> WGPSB-2 	<ul style="list-style-type: none"> Parmi les 27 isolats bactériens testés sur <i>A. dimidiata</i>, la souche présentant la plus forte toxicité a été <i>B. cereus</i>. 	(Sushil <i>et al.</i> , 2008)
Mammifères				

Organisme	Conditions	Souche	Résultats	Références
<p>Bovins laitiers <i>Bos taurus</i> Objectif Décrire la pathologie de la mammite bovine à <i>B. cereus</i> après traitement intramammaire avec des préparations antibiotiques.</p>	<p>Voie d'exposition</p> <ul style="list-style-type: none"> • Injection dans les quartiers <p>Régime de dosage</p> <ul style="list-style-type: none"> • Produit antibiotique commercial contaminé <p>Nombre et état des animaux</p> <ul style="list-style-type: none"> • Huit troupeaux laitiers • Total de 80 vaches touchées <p>Études menées</p> <ul style="list-style-type: none"> • Deux carcasses entières d'animaux morts de mammite aiguë ont été examinées • Des tissus ont été prélevés sur les carcasses et sur neuf vaches : tissus mammaires, ganglions lymphatiques supramammaires, foie, rate et reins <p>Témoins</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aucun indiqué <p>Durée de l'étude</p> <ul style="list-style-type: none"> • Environ un an (1974) 	<ul style="list-style-type: none"> • Aucun indiqué. • Identification de <i>B. cereus</i> à partir de cas décrits antérieurement (Perrin <i>et al.</i>, 1976) 	<p>Symptômes observés</p> <ul style="list-style-type: none"> • Certaines des vaches affectées ont développé une mammite aiguë en moins de 24 heures, dans la plupart des cas peu de temps après le vêlage. <p>Examen grossier</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sang aqueux qui ne coagule pas. • Œdème sous-cutané marqué sur le pis. • De nombreuses zones rouge foncé bien délimitées étaient réparties sur l'ensemble des quartiers touchés. • Hypertrophie marquée des ganglions lymphatiques supramammaires. • Poumons modérément œdémateux et emphysémateux. • Rate atteignant deux fois la taille normale, rouge foncé et turgescence. <p>Constats histologiques</p> <ul style="list-style-type: none"> • Glandes mammaires : cloisons interstitielles œdémateuses, thrombose aiguë des veines et des canaux lymphatiques. • Présence d'érythrocytes dans le tissu interstitiel. • Les sections soumises à l'épreuve de coloration de Gram ont révélé la présence d'organismes Gram positifs dans les alvéoles nécrotiques seulement. • Lymphadénie aiguë dans des sections des ganglions supramammaires avec foyers de nécrose et un nombre élevé de cellules inflammatoires. • Présence de nécrose hypoxique centrolobulaire dans le foie. • L'examen des tissus rénaux a révélé la présence de coulées hémoglobinémiques dans les tubules. • La présence de thrombus hyalins était évidente dans les capillaires des glomérules et à la jonction cortico-médullaire. • Épaississement des cloisons alvéolaires dû à 	<p>(Schiefer <i>et al.</i>, 1976)</p>

Organisme	Conditions	Souche	Résultats	Références
			l'œdème. Les capillaires alvéolaires étaient engorgés de sang et plusieurs présentaient des thrombus hyalins.	
Bétail Sexe et âge variés.	Cas 1 : <ul style="list-style-type: none"> Fœtus bovin mâle, huit mois de gestation Deuxième avortement en huit mois dans un troupeau de 80 vaches Suisses brunes Cas 2 : <ul style="list-style-type: none"> Fœtus bovin mâle, huit mois de gestation Deuxième avortement en huit mois dans un troupeau de 150 vaches Holstein-Friesian Cas 3 : <ul style="list-style-type: none"> Fœtus bovin femelle, sept mois de gestation Seul avortement en un an dans un troupeau de 21 vaches Holstein-Friesian 	<ul style="list-style-type: none"> Aucune désignation de la souche fournie 	<ul style="list-style-type: none"> Trois rapports d'avortements. Nécropsie, examen cytobiologique et histopathologique effectué sur chacun des fœtus et sur les membranes fœtales lorsqu'elles étaient disponibles. Conclusions d'autopsie <ul style="list-style-type: none"> Poumons atélectasique, fermes et rouge foncé. Pleurite, péricardite et péritonite fibrineuses Foie jaune, deux fois la taille normale. Ganglions lymphatiques hypertrophiés et congestionnés. Conclusions microbiologique <ul style="list-style-type: none"> <i>B. cereus</i> a été le seul microorganisme isolé à partir du contenu gastrique et des tissus. Conclusions d'histopathologie <ul style="list-style-type: none"> Vasculite, œdème, inflammation et nécrose dans l'espace intercotylédonaire. Hyperplasie de la rate. Foie congestionné. 	(Wohlgemuth <i>et al.</i> , 1972a)
Bovins laitiers <i>Bos taurus</i> Femelles adultes	<ul style="list-style-type: none"> Quartiers inoculés avec <i>B. cereus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Aucune désignation de la souche fournie 	<ul style="list-style-type: none"> Apparition de mammite aiguë, suivie d'une atrophie et de la cessation de la production de lait. 	(Horvath <i>et al.</i> , 1986)
Bovins laitiers <i>Bos taurus</i> Femelles adultes Objectif Présence accidentelle de mammite à <i>B. cereus</i> dans	Voie d'exposition <ul style="list-style-type: none"> Injection dans les quartiers Régime de dosage <ul style="list-style-type: none"> Produit expérimental contenant 500 mg de cloxacilline dans l'huile d'arachide et 3 % de base monostéarate Nombre et état des animaux	<ul style="list-style-type: none"> Aucune désignation de la souche fournie Isolation à partir du produit expérimental et des quartiers 	Symptômes observés <ul style="list-style-type: none"> Développement d'une mammite nécrotique chez cinq vaches au vêlage. Développement d'une mammite clinique dans 15 autres quartiers infectés, principalement au vêlage ou durant la lactation. Seulement 26 des 184 vaches et 37 des 735 quartiers exposés ont été infectés. Étude de la culture	(Jasper <i>et al.</i> , 1972)

Organisme	Conditions	Souche	Résultats	Références
plusieurs troupeaux utilisés dans des essais d'efficacité d'un produit proposé pour le traitement des vaches tarées	<ul style="list-style-type: none"> • Cinq troupeaux de 120, 70, 1 600, 1 500 et 1 500 vaches en lactation • Injection délibérée chez 151 vaches tarées • Injection par inadvertance à 33 vaches en lactation <p>Études menées</p> <ul style="list-style-type: none"> • Un échantillon de premier lait des quatre quartiers a été pris immédiatement avant la dernière traite de la période de lactation. • Les quartiers ont été traités peu après cette traite. • Les mamelles ont été trempées dans un bain iodophore après le traitement et les réactions indésirables ont été surveillées par les propriétaires. • Un rééchantillonnage a été fait et les échantillons ont été cultivés. <p>Témoins</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aucun indiqué <p>Reprises</p> <ul style="list-style-type: none"> • Double échantillonnage (deux échantillons indépendants ont été recueillis de façon aseptique avec nettoyage et séchage de la mamelle avant la collecte) • Prise d'un échantillon 		<ul style="list-style-type: none"> • Excellent accord entre les deux cultures • La présence de <i>B. cereus</i> a été constatée dans 9,9 % des quartiers traités, dans 3,6 % des quartiers présentant une autre infection au moment de l'exposition et dans 15,5 % des cultures négatives au moment de l'exposition, lors d'une nouvelle culture. • Dans la plupart des cas, l'isolement a été fait entre 33 et 56 jours après l'exposition et à partir de quartiers ne présentant pas de signes cliniques de mammite. <p>Conclusions</p> <ul style="list-style-type: none"> • Le nombre d'organismes dans les quartiers infectés varie fortement et est souvent faible. • Il est proposé que l'organisme est principalement présent sous forme de spores et qu'il répond ainsi moins bien aux procédures simples de culture ou de traitement. • Le nombre d'organismes dans chaque fiole de produit était faible et toutes les fioles n'étaient pas contaminées. 	

Organisme	Conditions	Souche	Résultats	Références
	unique post-traitement Durée de l'étude <ul style="list-style-type: none">• Environ trois mois			
Bovins laitiers <i>Bos taurus</i> Femelles adultes	<ul style="list-style-type: none">• Onze vaches présentant une mammite aiguë entre 1963 et 1973	<ul style="list-style-type: none">• Aucun indiqué	<ul style="list-style-type: none">• <i>B. cereus</i> a été isolé chez une vache.	(Inui <i>et al.</i> , 1979)
Bovins laitiers Holstein <i>Bos taurus</i> Femelles adultes Objectif Thérapie antibiotique utilisant la cloxacilline dans le cadre d'un programme de santé du troupeau	Conditions physiques <ul style="list-style-type: none">• Troupeau bien géré sans problème grave de mammite• Programme antibiotique entrepris chez 67 vaches<ul style="list-style-type: none">○ Administration par perfusion de l'antibiotique durant la période de tarissement ou la période de lactation, ou les deux• Vaccination de 41 vaches, avant ou après le traitement antibiotique. Injection sous-cutanée de 10 mL de bactérine Nombre d'animaux étudiés <ul style="list-style-type: none">• 129 vaches sur un troupeau de 140 têtes Témoin <ul style="list-style-type: none">• Aucun indiqué Durée de l'étude <ul style="list-style-type: none">• 3 mois	<ul style="list-style-type: none">• Aucune désignation de la souche fournie• Isolât tiré du lait de vaches infectées Préparation de la bactérine <ul style="list-style-type: none">• Incubation de l'isolât dans un bouillon d'infusion cerveau-cœur. Remise en suspension des sédiments dans une solution saline à 0,85 % avec 0,25 % de formaldéhyde, stérilité testée. Dilution finale selon la norme McFarland 3.	Symptômes observés chez les vaches perfusées <ul style="list-style-type: none">• Mammite aiguë grave chez 62 des 67 vaches perfusées avec la cloxacilline.• Durant la période de tarissement :<ul style="list-style-type: none">○ Onze des 25 vaches perfusées ont développé une mammite grave (après 24 jours en moyenne, plage de 2 à 94 jours).○ L'examen post-mortem de l'une des vaches a révélé des glandes mammaires de couleur écarlate entourées de matière gélatineuse et remplies de fluide sérosanguinolent. Les ganglions lymphatiques mammaires présentaient une apparence mouillée et étaient entourés de matière gélatineuse.• Pendant la période de lactation :<ul style="list-style-type: none">○ Les 33 vaches perfusées ont développé une mammite dans un délai de 1 à 30 jours (entre 1 et 3 jours dans la majorité des cas).○ L'observation de l'une des vaches le lendemain du vêlage a révélé la présence d'un quartier arrière très dur au toucher, ne contenant qu'un liquide séreux rouge. La vache refusait de manger et sa température rectale a atteint 39,5 °C, avec des fèces	(Perrin <i>et al.</i> , 1976)

Organisme	Conditions	Souche	Résultats	Références
			<p>légèrement diarrhéiques. Dans les jours qui ont suivi, la glande mammaire est devenue froide au toucher, noire et a commencé à se déliter.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Durant la période de tarissement et la période de lactation : <ul style="list-style-type: none"> ◦ les quatre vaches perfusées ont développé une mammite. • Cinq vaches perfusées avec la cloxacilline n'ont pas développé de mammite. <p>Symptômes observés après administration de bactérine</p> <ul style="list-style-type: none"> • Des 21 vaches non vaccinées, six sont mortes subitement et 15 ont survécu. • Les 41 vaches vaccinées ont développé une forme moins grave mais récurrente de mammite et présenté une faible production de lait. <p>Conclusions</p> <ul style="list-style-type: none"> • La maladie découle habituellement de l'injection de <i>B. cereus</i> dans la citerne de la mamelle lors du traitement de la mammite ou d'une autre cause. Les sources d'infection décrites comprennent les antibiotiques, les manchons, les seringues et les dilateurs contaminés. • Des cas d'inflammation nécrotique et de mammite aiguë avec symptôme de généralisation ont été rapportés. • La sécrétion était séreuse et contenait souvent des érythrocytes, de la fibrine et des leucocytes. • Une quantité très faible de <i>B. cereus</i> peut produire des effets pathogènes importants. 	
Bovins laitiers <i>Bos taurus</i> Chèvre <i>Capra hircus</i>	Conditions physiques <ul style="list-style-type: none"> • Des tissus parés d'un animal affecté ont été préparés pour le découpage. 	<ul style="list-style-type: none"> • Aucune désignation de la souche fournie • Identifiée comme <i>B. cereus</i> par morphologie de la 	Symptômes observés <ul style="list-style-type: none"> • Cinq rapidement fatals. • Autres allant de nécrotiques à légers. <p>Ferme 1 :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Trois cas de mammite très aiguë en une semaine. 	(Jones et Turnbull, 1981)

Organisme	Conditions	Souche	Résultats	Références
Femelles adultes Objectif Rapport de mammites bovine apparemment causée par <i>B. cereus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Tests de toxine avec perméabilité vasculaire de peau de lapin et réaction nécrotique Nombre d'animaux étudiés <ul style="list-style-type: none"> 28 vaches Une chèvre Réparties sur quatre fermes Témoin <ul style="list-style-type: none"> Aucun indiqué Durée de l'étude <ul style="list-style-type: none"> Non précisée 	colonie	<ul style="list-style-type: none"> La première vache est morte en moins de 24 heures. Aucune réponse au traitement aux antibiotiques. Lait de couleur « porto ». Le deuxième animal présentait une température sous la normale et un pis gonflé et froid. Le lait et l'urine étaient de couleur porto; l'animal est mort en moins de 24 heures. L'examen des viscères a révélé des reins et un pis d'un rouge profond, la présence de sang dans le pelvis, un foie congestionné ainsi que la présence de caillots blancs de grande taille et de liquide teinté de sang dans la citerne de mamelle. Ces deux dernières étaient vers la fin de leur période de lactation. La troisième vache venait de vêler et a développé une mammites deux jours après la mise bas. Son lait était de couleur brun pâle et elle venait de recevoir un traitement antibiotique. Ferme 2 : <ul style="list-style-type: none"> Les symptômes étaient bénins. Faible réponse au traitement aux antibiotiques. Ferme 3 : <ul style="list-style-type: none"> Une vache couchée suite à une fièvre vitulaire a soudainement développé une mammites suraiguë et est morte. Lait de couleur porto. Le deuxième cas est une vache qui venait de mettre bas et qui se trouvait dans la même boîte de mise bas. La présence de <i>B. cereus</i> a été constatée dans le pis. Ferme 4 : <ul style="list-style-type: none"> Une vache est morte d'une mammites aiguë le matin suivant une coupure à une mamelle. Examen bactériologique des fèces et des céréales <ul style="list-style-type: none"> Organismes présents dans les fèces des animaux affectés et non affectés à des niveaux de 10^5 / 10^6 	

Organisme	Conditions	Souche	Résultats	Références
			<p>par g.</p> <ul style="list-style-type: none"> • $10^2 / 10^3$ cellules de <i>B. cereus</i> par g ont été recueillis dans les céréales bien préservées et $10^4 / 10^5$ cellules lorsqu'une détérioration était survenue. • 7.5×10^5 et 4×10^8 dans les céréales obtenues du même fournisseur. • <i>B. cereus</i> a été isolée à 17 autres occasions dans des cultures pures de lait de mammite. <p>Examen histopathologique</p> <ul style="list-style-type: none"> • Lésion, cloison interstitielle œdémateuse et contenant des érythrocytes. • Présence de thrombus dans les veines. • Nécrose des cellules alvéolaires. <p>Test de perméabilité</p> <ul style="list-style-type: none"> • Un seul des 19 isolats de mammite et des isolats environnementaux affichait une activité toxique forte. <p>Conclusions</p> <ul style="list-style-type: none"> • Il est possible que les céréales aient été la source de l'infection. • L'organisme est plus susceptible de s'établir en l'absence d'infection préexistante dans le pis. 	
Bovins laitiers <i>Bos taurus</i> Femelles adultes	<ul style="list-style-type: none"> • Mammite bovine 	<ul style="list-style-type: none"> • 1820/77 • 1419/77 • 1414/77 • 1589/77 • 624/76 	<ul style="list-style-type: none"> • 1820/77 : décès • 1419/77, 1414/77 et 1589/77 : 2 décès. • 624/76 : données non disponibles. 	(Turnbull <i>et al.</i> , 1979)

ANNEXE 7A : Épidémies non gastrointestinales sélectionnées causées par *B. cereus* et rapportées dans les ouvrages scientifiques.

Année	Lieu	Type d'infection
2004	Géorgie (États-Unis), programme militaire universitaire	94/660 cadets présentant sur le cuir chevelu des lésions non pruritiques, semblables à l'impétigo causées par <i>B. cereus</i> . Facteurs potentiels d'infection : coupe de cheveux, mauvaise hygiène, lotion solaire, exposition au sol et à l'eau (CDC, 2005).
1998	Amsterdam (Pays-Bas) Unité de soins intensifs en néonatalité	Trois nouveau-nés ont développé une série d'infections sanguines envahissantes causées par <i>B. cereus</i> entre janvier et août 1998. L'un est mort et les deux autres ont retrouvé la santé. Il a été constaté que 35 nouveau-nés étaient colonisés par ce microorganisme. Les vecteurs d'infection du microorganisme étaient des ballons contaminés utilisés pour la ventilation manuelle. (Van Der Zwet <i>et al.</i> , 2000)

ANNEXE 7B : Épidémies d'intoxication alimentaire rapportées liées à *B. cereus*¹²

Véhicule	Pays	Année	Incidents	Histoire
Riz	Australie	2002	37	
Pommes de terre	Australie	2004	6	Chaîne nationale de restauration rapide avec franchisés - pommes de terre et sauce
Poulet	Australie	2006	14	Poulet cuit
Sauce	Australie	2007	3	Homme de 81 ans décédé 12 heures après avoir consommé des asperges en sauce à la crème
Salade de pâtes	Belgique	2003	5	Maladie grave et décès d'un enfant. La température du réfrigérateur dans lequel était conservée la salade était de 14 °C.
Pâtes	Belgique	2004	50	
Riz	Belgique	2005	6	
Produits laitiers	Belgique	2006	70	
Salade de pommes de terre	Canada	1999	25	Repas préparé par un restaurateur inexpérimenté dans les services de traiteur et le contrôle de la température
Poulet	Danemark	2005	4	
Pizza	Danemark	2005	16	
Sauce	Finlande	2004	5	Confirmé dans les restes; refroidissement et réchauffement inadéquats, conservation inadéquate; sauce aux champignons.

¹² Renseignements gracieusement transmis par Judy Greig, microbiologiste/épidémiologiste, Laboratoire de lutte contre les zoonoses d'origine alimentaire, Agence de la santé publique du Canada

Véhicule	Pays	Année	Incidents	Histoire
Gâteau	Finlande	2004	10	Présence confirmée dans les restes; gâteau étagé.
Oeufs	Finlande	2005	2	Indiqué comme oeufs au beurre
Porc, assiettes diverses	Finlande	2005	20	Casserole au jambon
Fruits	Finlande	2005	15	Petits fruits importés de Pologne
Macaroni au fromage	Finlande	2005	18	
Soupe	Finlande	2005	9	Soupe à la viande
Épices	France	2007	146	École / maternelle - source d'herbes et d'épices
Riz	Inde	2006	140	
Lait pasteurisé	Japon	2000	3	La laiterie Murayama a rappelé quatre tonnes de produits laitiers parce que des enquêteurs ont trouvé du <i>B. cereus</i> dans des bouteilles de lait.
Confiture de fèves	Japon	2001	335	Maternelle – <i>B. cereus</i> dans des gâteaux au riz contenant de la confiture de fève, qui avait été conservée plus longtemps qu'à l'habitude à la température de la pièce.
Produits laitiers	Jordanie	2007	51	Distribués dans le cadre du programme de nutrition scolaire du gouvernement
Poulet	Norvège	2004	19	Présence confirmée dans les restes
Chili	Norvège	2005	6	Cantine en milieu de travail
Ragoût	Norvège	2005	22	
Riz	Norvège	2005	3	
Pizza	Norvège	2005	3	
Céréales pour nourrissons	Royaume-Uni	2005	2	
Riz	États-Unis	1995	21	
Sauce marinera	États-Unis	1996	22	
Farce	États-Unis	1997	400	
Poulet, BBQ	États-Unis	1997	3	
Fruits de mer	États-Unis	1997	2	Chaudrée de fruits de mer et de maïs
Riz frit	États-Unis	1997	4	<i>Il s'agit de deux éclosions distinctes</i>
Riz frit	États-Unis	1997	4	<i>Il s'agit de deux éclosions distinctes</i>
Riz frit	États-Unis	1997	19	
Porc, BBQ	États-Unis	1997	33	
Crevettes	États-Unis	1998	118	
Riz frit	États-Unis	1998	6	
Viande	États-Unis	1998	19	Dinde, rôti de bœuf
Riz frit	États-Unis	1998	7	
Sandwich sous-marin	États-Unis	1998	25	
Viande	États-Unis	1998	19	
Riz frit	États-Unis	1998	11	
Riz frit	États-Unis	1998	4	
Salade de chou	États-Unis	1999	8	
Riz frit	États-Unis	1999	4	
Pommes de terre en purée, avec sauce	États-Unis	1999	4	

Véhicule	Pays	Année	Incidents	Histoire
Riz	États-Unis	1999	32	
Riz	États-Unis	1999	4	
Sandwich au bœuf	États-Unis	1999	2	
Lait de riz	États-Unis	2000	2	Boisson « Rice Dream Original Enriched »
Riz frit	États-Unis	2000	18	
Riz	États-Unis	2000	15	
Riz frit	États-Unis	2000	10	
Saumon	États-Unis	2000	3	
Taco	États-Unis	2000	4	
Salade	États-Unis	2000	3	
Trempelettes	États-Unis	2001	10	Trempelette au babeurre et aux grains de poivre
Riz frit	États-Unis	2001	5	Riz frit, style ethnique
Riz frit	États-Unis	2001	17	
Salade	États-Unis	2001	3	Salade de légumes, salade à base de laitue
Poulet	États-Unis	2002	11	
Poulet	États-Unis	2002	3	
Riz frit	États-Unis	2002	8	
Riz frit aux œufs	États-Unis	2002	2	
Pizza	États-Unis	2002	6	Pizza à la viande
Poulet frit	États-Unis	2002	4	
Poulet, assiette diverse	États-Unis	2002	8	
Pommes de terre frites	États-Unis	2003	42	
Poulet, assiette diverse	États-Unis	2003	8	
Mets chinois	États-Unis	2004	3	Chow mein au poulet
Poulet	États-Unis	2004	11	
Pizza	États-Unis	2004	4	Pizza au fromage, à la viande et aux légumes
Poulet, assiette diverse	États-Unis	2004	2	Poulet et pâtes
Riz frit	États-Unis	2004	26	
Mets chinois	États-Unis	2004	2	
Taco	États-Unis	2005	27	Viande à tacos
Sauce	États-Unis	2005	4	Sauce tzatziki
Céréales	États-Unis	2006	2	
Pâtes	États-Unis	2006	2	Lo mein
Crêpes	États-Unis	2006	2	
Riz frit	États-Unis	2006	5	Riz frit au porc
Porc	États-Unis	2006	20	Rôti
Poulet, pané	États-Unis	2006	5	
Bœuf	États-Unis	2006	3	Steak de côte de choix
Riz	États-Unis	2006	4	Riz à l'espagnole
Riz frit	États-Unis	2007	16	Riz frit aux légumes
Riz frit	États-Unis	2007	3	

ANNEXE 8 : Points à considérer pour les niveaux de gravité du danger, de l'exposition et des risques en vertu du « Cadre d'évaluation scientifique des risques liés aux micro-organismes réglementés en vertu de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (1999) » de Santé Canada et d'Environnement Canada.

Points à considérer pour la gravité du danger (environnement)

Danger	Considérations
Élevée	Les considérations pouvant mener à la mise en évidence d'un danger élevé incluent un micro-organisme qui : <ul style="list-style-type: none"> • est reconnu incontestablement comme étant un pathogène; • cause des effets nocifs irréversibles (p. ex., perte de biodiversité, perte d'habitat, maladie grave); • crée des incertitudes importantes quant à la détermination et à la caractérisation des effets possibles.
Moyenne	Les considérations pouvant mener à la mise en évidence d'un danger modéré incluent un micro-organisme qui : <ul style="list-style-type: none"> • est reconnu comme étant un pathogène opportuniste chez les espèces non-humaines ou pour qui il existe certaines preuves documentaires de pathogénicité ou de toxicité; • cause certains effets nocifs, mais qui sont réversibles ou disparaissent d'eux-mêmes.
Faible	Les considérations pouvant mener à la mise en évidence d'un danger faible incluent un micro-organisme qui : <ul style="list-style-type: none"> • n'est pas reconnu comme étant un pathogène chez les espèces non-humaines; • est bien caractérisé et identifié et n'est pas reconnu pour ses effets écologiques nocifs; • pourrait théoriquement avoir des impacts négatifs pendant une courte période, mais qui ne cause pas d'effets prévisibles à long terme sur les populations microbiennes, végétales ou animales ou sur les écosystèmes; • démontre un historique d'utilisation sûre sur plusieurs années.

Points à considérer pour la gravité du danger (santé humaine)

Danger	Considérations
Élevée	Les considérations pouvant mener à la mise en évidence d'un danger élevé incluent : <ul style="list-style-type: none"> • une maladie grave, de longue durée, chez les humains en bonne santé ou provoque des séquelles; • une maladie potentiellement létale chez les humains susceptibles; • un potentiel de transmission infectieuse horizontale ou d'infection communautaire; • des effets létaux ou graves chez les mammifères de laboratoire lorsqu'on utilise une dose ou une concentration de danger maximal et qu'on doit ensuite procéder à des essais à doses multiples.
Moyenne	Les considérations pouvant mener à la mise en évidence d'un danger modéré incluent : <ul style="list-style-type: none"> • des rapports de cas de maladie chez l'homme dans les publications scientifiques concernant essentiellement des populations susceptibles ou des manifestations rares, localisées et rapidement résolues d'elles-mêmes chez les humains en santé; • un faible potentiel de transmission horizontale; • des effets en présence d'une dose de danger maximal ou d'une dose maximale de provocation chez les mammifères de laboratoire ne sont pas létaux et ne touchent que les voies d'exposition invasives (c.-à-d., intrapéritonéale, intraveineuse, intratrachéale) ou bien ils sont mineurs et disparaissent rapidement d'eux-mêmes.
Faible	Les considérations pouvant mener à la mise en évidence d'un danger faible incluent : <ul style="list-style-type: none"> • aucun rapport de cas de maladie chez l'homme dans les publications scientifiques, ou les rapports de cas associés à des facteurs prédisposants sont peu nombreux et n'indiquent aucun potentiel de transmission secondaire, et les effets sont essentiellement mineurs, asymptomatiques ou bénins; • une absence d'effets observables en présence d'une dose maximale de provocation chez les mammifères de laboratoire, peu importe la voie d'exposition.

Points à considérer pour le niveau d'exposition (environnement et santé humaine)

Exposition	Considérations
Élevée	<p>Les considérations pouvant mener à la mise en évidence d'un degré d'exposition élevé incluent un micro-organisme qui :</p> <ul style="list-style-type: none"> • est rejeté en une quantité élevée, pendant une longue durée et à une fréquence élevée; • est susceptible de survivre, de persister, de se disperser, de proliférer et de s'implanter dans l'environnement; • est susceptible de se disséminer ou d'être transporté vers d'autres milieux naturels; • est rejeté de telle sorte qu'il est probable que des organismes vivants ou des écosystèmes sensibles y soient exposés et que les rejets ne se limitent pas à une seule région ou à un seul écosystème; • produit chez les organismes exposés sensibles, par l'intermédiaire des voies d'exposition, des effets toxiques ou pathogènes.
Moyenne	<p>Les considérations pouvant mener à la mise en évidence d'un degré d'exposition modéré incluent un micro-organisme qui :</p> <ul style="list-style-type: none"> • est susceptible d'être rejeté dans l'environnement en une quantité, pendant une durée et à une fréquence modérée; • est susceptible de persister dans l'environnement, mais en une quantité modérée; • présente un potentiel limité de dissémination et de transport; • est rejeté de telle sorte qu'il est probable que des organismes vivants sensibles y soient exposés; • produit chez les organismes exposés, par l'intermédiaire des voies d'exposition, à peu près pas d'effets toxiques ou pathogènes.
Faible	<p>Les considérations pouvant mener à la mise en évidence d'un degré d'exposition faible incluent un micro-organisme qui :</p> <ul style="list-style-type: none"> • n'est plus en utilisation; • est utilisé dans un milieu clos (aucun rejet intentionnel); • possède des caractéristiques biologiques ou est rejeté de telle sorte qu'il est improbable que des populations ou des écosystèmes sensibles y soient exposés; • est susceptible d'être rejeté en une faible quantité, pendant une courte durée et à une faible fréquence et qui est peu susceptible de survivre, de persister, de se disperser ou de proliférer dans l'environnement dans lequel il est rejeté.

Points à considérer pour la caractérisation du niveau de risque

Risque	Considérations
Élevée	<p>Une détermination de risque élevé implique la probabilité d'effets nocifs graves, persistants ou étendus dans les scénarios d'exposition prévus pour les utilisations connues, envisagées ou visées. Une conclusion de toxicité au sens de la LCPE résulterait de cette détermination et des mesures de contrôle ou de gestion des risques seraient recommandées.</p>
Moyenne	<p>Une détermination de risque modéré implique que les effets nocifs prévus dans les scénarios d'exposition probables seraient modérés et disparaîtraient d'eux-mêmes. La conclusion de toxicité ou non au sens de la LCPE serait établie selon les particularités du cas. Si on conclut à la non-toxicité au sens de la LCPE en ce qui concerne les utilisations visées (proposées) ou les scénarios d'exposition possibles, mais où, dans le cadre d'une nouvelle activité on soupçonne la possibilité de toxicité au sens de la LCPE, on pourrait recommander l'application des dispositions relatives à une Nouvelle activité afin de permettre l'évaluation des nouvelles utilisations ou activités.</p>
Faible	<p>Une détermination de risque faible implique que les effets nocifs prévus dans les scénarios d'exposition probables seraient peu fréquents et mineurs et disparaîtraient d'eux-mêmes. Une conclusion de non-toxicité au sens de la LCPE résulterait de cette détermination, et les dispositions relatives à une nouvelle activité pourraient être appliquées ou non.</p>