



Government of Canada **Gouvernement du Canada**

**ATCC Évaluation préalable finale de la souche
ATCC 13367 de Bacillus thuringiensis**

**Environnement et Changement climatique Canada
Santé Canada**

Mars 2018

Canada

Sommaire

En vertu de l'alinéa 74 b) de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement, 1999 (LCPE), les ministres de l'Environnement et de la Santé ont réalisé une évaluation préalable de la souche ATCC¹ 13367 de *Bacillus thuringiensis* (souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*).

La souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* est une bactérie anaérobie facultative à Gram positif. En tant qu'espèce, *Bacillus thuringiensis* (*B. thuringiensis*) est une bactérie généralement considérée ubiquiste fréquemment présente dans des habitats terrestres ou aquatiques. *B. thuringiensis* peut produire des spores qui peuvent résister à des conditions environnementales difficiles et survivre en l'absence de nutriments. *B. thuringiensis* présente diverses caractéristiques qui permettent de l'utiliser comme ingrédient actif dans des produits commerciaux ou des produits de consommation, comme des dégraissants, des détergents et des additifs utilisés à des fins de biorestauration, de biodégradation et dans divers procédés industriels.

B. thuringiensis est connue en particulier pour la production de protéines cristallines (toxines Cry), qui sont toxiques pour divers ordres d'insectes (principalement les lépidoptères, les diptères et les coléoptères). Plus particulièrement, la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* est connue pour produire une toxine Cry 1B (Cry1Ba) ayant une toxicité sélective envers des espèces de l'ordre des lépidoptères et quelques espèces de diptères et de coléoptères. Malgré l'ubiquité et l'important utilisation de diverses sous-espèces de *B. thuringiensis*, il n'existe, dans les écosystèmes où elles sont utilisées, aucun effet nocif connu à l'échelle des populations sur les espèces ciblées et aucun effet nocif sur des plantes, des vertébrés ou des invertébrés terrestres ou aquatiques non ciblés.

B. thuringiensis n'est pas considéré comme un agent pathogène pour les humains et, à ce jour, aucune étude de toxicité ou de pathogénicité menée chez des mammifères n'a révélé que les préparations commerciales de spores de l'une ou l'autre des sous-espèces de *B. thuringiensis* ont des effets nocifs par quelque voie d'exposition que ce soit. *B. thuringiensis* a été isolé de certaines plaies et de certains foyers d'infection gastro-intestinale ou oculaire. Certaines souches de *B. thuringiensis*, dont la souche ATCC 13367, produisent des entérotoxines et des toxines qui endommagent les membranes. Ces toxines sont connus comme d'importants facteurs de pathogénicité d'un organisme

¹ American Type Culture Collection

étroitement apparenté, à savoir *Bacillus cereus*, chez les humains. Cependant, l'importance de la présence de ces facteurs de virulence chez *B. thuringiensis* n'est pas claire du point de vue des infections chez les humains. Il n'y a eu que très peu de cas d'infection liés à *B. thuringiensis* dans la littérature scientifique. *B. thuringiensis* est résistant à plusieurs antibiotiques cliniques, mais il existe des traitements efficaces contre les infections causées par ce micro-organisme.

La présente évaluation tient compte des caractéristiques susmentionnées de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* en ce qui concerne les effets sur l'environnement et la santé humaine dus à son utilisation dans des produits commerciaux ou de consommation ou dans des procédés industriels visés par la LCPE, y compris les rejets dans l'environnement par les circuits de déchets et l'exposition humaine accidentelle dans les milieux de l'environnement. Afin de mettre à jour les renseignements sur les utilisations actuelles de ce microorganisme, le gouvernement a lancé une enquête pour la collecte obligatoire de renseignements en vertu de l'article 71 de la LCPE, dont l'avis a été publié dans la Partie I de la Gazette du Canada le 3 octobre 2009 (avis en vertu de l'article 71).

D'après les renseignements disponibles, il est conclu que la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* ne satisfait pas aux critères de l'alinéa 64 a) ou 64 b) de la LCPE, car elle ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou concentration ni dans des conditions qui ont ou peuvent avoir un effet nocif immédiat ou à long terme sur l'environnement ou sa diversité biologique, ou qui constituent ou peuvent constituer un danger pour l'environnement essentiel à la vie. Il est aussi conclu que la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* ne satisfait pas aux critères de l'alinéa 64c) de la LCPE, car elle ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou concentration ni dans des conditions qui constituent ou peuvent constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaine.

Table des matières

Sommaire	ii
1. Introduction	6
2. Décisions de juridictions nationales et internationales	7
2.1 Au Canada	7
2.2 À l'étranger.....	8
3. Évaluation des risques	9
3.1 Caractérisation de la souche ATCC 13367 de <i>Bacillus thuringiensis</i>	9
3.1.1 Identification taxonomique et historique de la souche.....	9
3.1.2 Caractéristiques phénotypiques et moléculaires	10
3.1.3 Propriétés biologiques et écologiques.....	15
3.1.4 Effets	31
3.2 Gravité du danger	42
3.2.1 Environnement.....	42
3.2.2 Santé humaine.....	44
4. Évaluation de l'exposition	45
4.1 Sources d'exposition.....	45
4.2 Caractérisation de l'exposition.....	47
4.2.1 Exposition environnementale.....	47
4.2.2 Exposition humaine.....	49
5. Caractérisation des risques	50
6. Conclusions	52
Références	54

ANNEXES 82

Annexe A : Analyse des esters méthyliques d'acides gras	82
Annexe B : Croissance de la souche ATCC 13367 de <i>B. thuringiensis</i> dans divers milieux	83
Annexe C : Facteurs de virulence de <i>B. thuringiensis</i>	85
Annexe D : Gamme d'hôtes des toxines Cry	87

Liste des tableaux

Tableau 1-1 : Morphologie des cellules et des colonies des souches ATCC 13367 de <i>B. thuringiensis</i> , ATCC 10792 de <i>B. thuringiensis</i> et de <i>B. thuringiensis</i> Berliner 1915	12
Tableau 1-2 : Profil de sensibilité aux antibiotiques de la souche ATCC 13367 de <i>B. thuringiensis</i>	21
Tableau A-1 : Analyse des esters méthyliques d'acide gras (EMAG) de la souche ATCC 13367 de <i>B. thuringiensis</i>	82
Tableau B-2 : Caractéristiques de la croissance de la souche ATCC 13367 de <i>B. thuringiensis</i> sur des milieux solides à diverses températures	84
Tableau C-1 : Facteurs de virulence et toxines associés à <i>B. thuringiensis</i> présents chez la souche ATCC 13367 de <i>B. thuringiensis</i>	85

1. Introduction

En vertu de l'alinéa 74 b) de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement, 1999 (LCPE), 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), conformément à l'article 105 de cette Loi, afin de déterminer s'ils posent ou peuvent poser un risque pour l'environnement ou la santé humaine (d'après les critères de l'article 64 de la LCPE²). La souche ATCC 13367 de *Bacillus thuringiensis* a été inscrite sur la LIS en vertu du paragraphe 25 (1) de la LCPE 1988 et du paragraphe 105 (1) de la LCPE, parce qu'elle a été produite ou importée au Canada entre le 1^{er} janvier 1984 et le 31 décembre 1986.

La présente évaluation préalable tient compte des renseignements sur les dangers tirés du domaine public et de données de recherche non publiées, ainsi que des commentaires formulés par des pairs. Les renseignements sur l'exposition proviennent du domaine public et des réponses à l'avis publié en vertu de l'article 71 de la LCPE le 3 octobre 2009 dans la Partie I de la Gazette du Canada. De plus amples renseignements sur la méthodologie suivie pour l'évaluation des risques se trouvent dans le document intitulé « [Cadre d'évaluation scientifique des risques liés aux microorganismes réglementés en vertu de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement \(1999\)](#) » (Environnement Canada et Santé Canada 2011).

Dans le présent rapport, les données spécifiques à la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* inscrite sur la LIS, sont indiquées en tant que telles. Les données spécifiques à cette souche proviennent de plusieurs sources : les données du proposant, l'American Type Culture Collection (ATCC), des données non publiées produites par des chercheurs de Santé Canada³ et d'Environnement et Changement climatique Canada⁴, des articles scientifiques évalués par des pairs. Lorsque des données spécifiques à la souche n'étaient pas disponibles, des données de substitution tirées de recherches bibliographiques sur *B. thuringiensis* ont été utilisées. Le cas échéant, les recherches bibliographiques portaient aussi sur les synonymes de l'organisme, ainsi que ses noms communs et périmés. Dans chaque cas, les organismes de substitution ont été identifiés au niveau taxonomique fourni par la

² La détermination de la conformité à l'un ou plusieurs des critères de l'article 64 de la LCPE est basée sur une évaluation des risques potentiels pour l'environnement ou la santé humaine associés à une exposition dans l'environnement en général. Pour les humains, cela inclut, sans toutefois s'y limiter, les expositions dues à l'air, l'eau et l'utilisation de produits contenant ces substances. Une conclusion établie en vertu de la LCPE peut ne pas être pertinente pour une évaluation en fonction de critères spécifiés dans le Règlement sur les produits dangereux, qui fait partie du cadre réglementaire du Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT), et n'empêche pas non plus une telle évaluation.

³ Tests réalisés par le Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale de Santé Canada.

⁴ Tests réalisés par la Division de l'écotoxicologie et de la santé de la faune d'Environnement et Changement climatique Canada.

source. Les recherches bibliographiques ont été effectuées à l'aide de bases de données de publications scientifiques (SCOPUS, CAB Abstracts, Google Scholar et PubMed du NCBI), de recherches sur le Web et de mots-clés pour identifier les dangers pour la santé humaine et l'environnement. Les renseignements relevés jusqu'en juillet 2016 ont été pris en compte dans le présent rapport.

2. Décisions de juridictions nationales et internationales

2.1 Au Canada

L'Agence de la santé publique du Canada (ASPC) a classé *B. thuringiensis* dans le groupe de risque 1 (en tant qu'espèce) et a également classé la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* dans le groupe de risque 1 pour les humains et pour les animaux terrestres à l'exclusion des invertébrés terrestres (communication personnelle, ASPC 2016).

L'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) n'exige pas de permis de protection des végétaux pour l'importation de *B. thuringiensis* en vertu de sa Loi sur la protection des végétaux (ACIA 2015). *B. thuringiensis* est également classé dans le groupe de risque 2 pour les animaux aquatiques et nécessite un confinement de niveau 2 en raison de son activité pathogène pour ces animaux (communication personnelle, ACIA 2013).

L'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada a accordé une homologation complète pour la vente et l'utilisation de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* (homologué pour la première fois en 1962), de *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* (homologué pour la première fois en 1982), de *B. thuringiensis* ssp. *tenebrionis* (homologué pour la première fois en 1990) et de *B. thuringiensis* ssp. *aizawai* (homologué en 2015) comme ingrédients actifs d'agents antiparasitaires microbiens appartenant aux catégories « domestique », « commerciale » et « restreinte » selon la Loi sur les produits antiparasitaires (ARLA-SC 2006). Il y a actuellement un total de 38 pesticides homologués contenant des bactéries vivantes de l'espèce *B. thuringiensis* comme ingrédient actif destiné à la lutte contre les lépidoptères, les coléoptères et les diptères (ARLA-SC 2016a).

La Direction générale des produits de santé et des aliments de Santé Canada a la responsabilité juridique de mener l'évaluation précommercialisation des aliments nouveaux et des nouveaux ingrédients d'aliments, tel que stipulé au titre 28 de la partie B du Règlement sur les aliments et drogues (aliments nouveaux). Santé Canada a publié des lettres de non-opposition concernant plusieurs lignées de coton, de maïs, de tomates et de pommes de terre contenant des toxines Cry de *B. thuringiensis* et a déterminé que les aliments issus de ces produits sont acceptables et sans danger et ne soulèvent aucune préoccupation du point de vue de la santé humaine (Santé Canada 2016). Par ailleurs, les spores viables de *B. thuringiensis* Berliner utilisées comme produit chimique agricole ou leurs composants ou dérivés présents dans des aliments ou à leur surface sont exemptées de l'application de l'alinéa 4 (1) d) de la Loi sur les

aliments et drogues en vertu de la section B.15.002 du titre 15 du Règlement sur les aliments et drogues.

Les approbations concernant la présence de *B. thuringiensis* sur des cultures et leur utilisation dans des aliments pour bétail reflètent le fait que l'ACIA considère qu'elles ne posent aucun danger sur le plan environnemental ni sur le plan de la salubrité des aliments pour animaux. Ces conclusions de l'ACIA sont résumées dans de nombreux documents de décision (ACIA 2016).

2.2 À l'étranger

Entre 1961 et 1995, l'Environmental Protection Agency (EPA) des États-Unis a homologué 177 produits contenant des bactéries viables de l'espèce *B. thuringiensis* destinés à être utilisés pour la lutte contre les lépidoptères, les coléoptères et les diptères (EPA 1998).

Les critères associés aux seuils de tolérance et aux exemptions pour les spores viables de *B. thuringiensis* Berliner, en tant que résidus de substances chimiques pesticides présents dans les aliments, sont indiqués à l'article 180.1011 de la sous-partie D du Code of Federal Regulations (EPA 2002).

Un certain nombre de pays membres de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) ont homologué des produits à base de *B. thuringiensis* pour la lutte contre les invertébrés nuisibles pour l'agriculture (AAC 2005).

L'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a réalisé des évaluations du risque pour appuyer l'autorisation, par la Commission européenne, de neuf substances actives pesticides issues de *B. thuringiensis*, comme indiqué à l'Annexe I de la directive 91/414/CEE du Règlement (CE) n° 2229/2004 de la Commission (Commission européenne 2015).

Le Programme international sur la sécurité des substances chimiques de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a réalisé une évaluation du risque pour l'environnement et la santé humaine associé aux agents antiparasitaires d'origine microbienne issus de *B. thuringiensis* (OMS 1999).

Aucune autre décision réglementaire n'a été trouvée concernant *B. thuringiensis*⁵

⁵ Nous avons fait des recherches auprès des organisations et organismes gouvernementaux suivants : Environmental Protection Agency des États-Unis; Food and Drug Administration des États-Unis; Animal and Plant Health Inspection Services des des États-Unis; Department of Agriculture des des États-Unis; American Biological Safety Association; Organisation mondiale de la Santé; Centers for Disease Control des des États-Unis; Biosecurity

3. Évaluation des risques

3.1 Caractérisation de la souche ATCC 13367 de *Bacillus thuringiensis*

3.1.1 Identification taxonomique et historique de la souche

Nom binomial : *Bacillus thuringiensis*

Désignation taxonomique

Règne : Bactéries

Embranchement : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : Bacillaceae

Genre: *Bacillus*

Espèce : *Bacillus thuringiensis*

Sous-espèce : *Bacillus thuringiensis* ssp. *thuringiensis*
(Souche type : ATCC 10792^T)

Souche inscrite sur la LIS : ATCC 13367

Sur la LIS, figure sous l'appellation *Bacillus thuringiensis* ATCC 13367

Autres numéros de souches pour la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* : BCRC 11029, CCRC 11029, CCUG 22499, CBDD 27, R. Davis USDA NRS 1328, IAM 11064, IFO 13866, JCM 20337, NBRC 13866, NIH B -13, Steinhaus B13, HD-737 (Dawyndt et al. 2005; DA 1988)

Synonymes, noms communs et noms périmés

B. cereus ssp. *thuringiensis* Smith et al.

New Zealand; Australian Department of Health; Autorité européenne de sécurité des aliments; Centre européen de prévention et de contrôle des maladies; Invasive Species Specialist Group.

B. thuringiensis Berliner 1915
B. thuringiensis var thuringiensis
B. thuringiensis Berliner
B. thuringiensis ssp. thuringiensis

Nomenclature

L'espèce *B. thuringiensis* a été décrite pour la première fois par Berliner, d'où l'appellation *Bacillus thuringiensis* Berliner. La souche ATCC 13367 et une souche de *Bacillus thuringiensis* ssp. *thuringiensis* (*Bacillus thuringiensis* Berliner ou *Bacillus thuringiensis* Berliner 1915). Quelle que soit la désignation utilisée par les auteurs des articles scientifiques référencés, dans le présent rapport l'appellation *B. thuringiensis* désignera l'espèce de façon générale et l'appellation *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* désignera la sous-espèce à laquelle appartient la souche ATCC 13367. Bien que le terme « sérovar » soit utilisé comme synonyme de « sous-espèce » dans les articles scientifiques publiés (sérovar *kurstaki*, sérovar *israelensis*, sérovar *aizawai*, etc.), dans le présent rapport, le terme « sérovar » ne sera utilisé que pour la spécificité associée à l'antigène flagellaire H (sérovar H-1, sérovar H-14, etc.), et le terme sous-espèce (ssp.) sera utilisé dans les autres situations (ssp. *thuringiensis*, ssp. *kurstaki*, ssp. *israelensis*, etc.). Les déclarations d'effets nocifs attribuées à *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* ont été considérées dans la présente évaluation préalable comme des renseignements de substitution pour la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*.

Historique de la souche

Selon des articles scientifiques publiés par diverses souchothèques, la souche B13 isolée chez une chenille a été déposée à l'ATCC sous la désignation *B. cereus* ssp. *thuringiensis* ATCC 13367. Après validation, l'ATCC l'a identifiée comme étant la bactérie *B. thuringiensis* Berliner, en se basant sur ses caractéristiques biochimiques (ATCC 2014; Steinhaus et Jerrel 1954).

Chaîne de possession : ATCC 13367 <<--R Davis 1328, USDA<<--E. A Steinhaus B-13 (ATCC 2014)

3.1.2 Caractéristiques phénotypiques et moléculaires

B. thuringiensis fait partie du groupe *B. cereus*, qui comprend sept espèces étroitement apparentées : *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. anthracis*, *B. weihenstephanensis*, *B. cytotoxicus*, *B. pseudomycoïdes* et *B. mycoïdes* (Helgason et al. 2004; Guinebretière et al. 2013). Il est impossible de distinguer *B. thuringiensis* de *B. cereus* d'après leur morphologie cellulaire, l'utilisation de composés organiques, une comparaison de séquences ribosomiques et de séquences intercalaires (Baumann et al. 1984; Priest et al. 2004), de la teneur cellulaire en acides gras des cellules (Vaisanen et al. 1991) ou l'utilisation de sucres (Wunschel et al. 1995).

Les analyses des esters méthyliques d'acides gras (EMAG) effectuées par des chercheurs de Santé Canada ont montré une grande similarité avec *B. cereus*, ce qui n'est pas surprenant étant donné la similitude des membres du groupe *B. cereus* sur le plan génétique.

C'est la production de protéines cristallines (Cry) insecticides qui distingue le plus *B. thuringiensis* des autres membres du groupe *B. cereus*, protéines qui sont visibles au microscope optique ou peuvent être détectées par criblage de protéines (Bernhard et al. 1997, Carlson et Kolsto 1993). Les séquences d'acides aminés des toxines Cry présentent de nombreuses variations, qui sont souvent associées à une spécificité insecticide envers certaines espèces.

3.1.2.1 Caractéristiques morphologiques

L'espèce *B. thuringiensis* comprend de nombreuses sous-espèces qui se distinguent par la gamme d'insectes nuisibles qu'elles ciblent. Il s'agit notamment des sous-espèces *thuringiensis*, *kurstaki*, *israelensis*, *tenebrionis* et *aizawai*.

La morphologie des protéines cristallines Cry est fonction des toxines Cry produites, lesquelles ont un effet insecticide sur une gamme spécifique d'insectes de l'ordre des lépidoptères, des coléoptères, des diptères ou des orthoptères (Hansen et al. 1998, Tyrell et al. 1981). Les protéines cristallines produites par diverses sous-espèces de *B. thuringiensis* ont différentes formes : bipyramidales (Cry1), cuboïdes (Cry2), rectangulaires (Cry3A), irrégulières (Cry3B), sphériques (Cry4A et Cry4B) ou rhomboïdes (Cry11A) (Schnepf et al. 1998). Les sous-espèces *thuringiensis*, *kurstaki*, *kenyae*, *alesti* et *tolworthi* sont connues pour produire des cristaux bipyramidaux typiques des protéines Cry1 (Bravo et al. 1998, Obeidat et al. 2004, Schnepf et al. 1998, Tyrell et al. 1981) et cuboïdes typiques des protéines Cry2 (Schnepf et al. 1998). La sous-espèce *israelensis* est connue pour produire un composite amorphe constitué de trois types de cristaux, dont deux sont sphériques (Hansen et al. 1998, Obeidat et al. 2004) et le troisième est une inclusion en forme de barre (Ibarra et Federici 1986). La sous-espèce *tenebrionis* produit des cristaux rhomboïdes (Herrnstadt et al. 1987).

La morphologie des cellules végétatives, des spores et des colonies de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* est typique des membres du groupe *B. cereus* (tableau 1-1). Les écarts entre les données du proposant, Santé Canada, de l'ATCC et du manuel de Bergey se situent dans les limites de l'acceptable et peuvent être dus à des différences dans les conditions de culture.

Tableau 1-1 : Morphologie des cellules et des colonies des souches ATCC 13367 de *B. thuringiensis*, ATCC 10792 de *B. thuringiensis* et de *B. thuringiensis* Berliner 19151

Caractéristique	ATCC 13367	<i>B. thuringiensis</i> ssp. <i>thuringiensis</i> (ATCC 10792) ^d	Berliner 1915 ^e
Coloration de Gram	Gram négatif dans les cultures récentes et principalement Gram positif dans les cultures moins récentes ^a Gram positif ^{b, c, d}	Gram positif	Gram positif
Morphologie des cellules	Bâtonnets; les cellules peuvent être incurvées, pliées ou fréquemment gonflées ^a Bâtonnets de taille moyenne ^c Bâtonnets larges ^d	Bâtonnets courts et larges, extrémités légèrement arrondies	Bâtonnets
Motilité	Non motile ^a Motile ^{b, c} Légèrement motile à non motile; Flagelles péritriches ^d	Légèrement motile à non motile; Flagelles péritriches	Motile
Protéine cristalline	N.D. ^{a, b, c} Petit corps parasporal en forme de losange ^d	Ovale, non gonflé; cristal parasporal en forme de losange ou de cube	Cristal parasporal cuboïde, bipyramidal, sphérique à ovoïde, plat ou rectangulaire, ou en forme de losange
Spore	N.D. ^{a, b, c} Cylindrique, aux extrémités arrondies; dimensions moyennes : 1,0 × 1,6 µm; se forme habituellement en 48 h; les spores adoptent une position oblique dans les sporanges ^d	Cylindrique, aux extrémités arrondies; dimensions moyennes : 1,0 × 1,5 µm; subterminale; se forme habituellement en 24 à 48 h; les spores adoptent une position oblique dans les sporanges ^d	Spores subterminales ellipsoïdes ~ 1,3 µm de longueur et ~ 0,8 µm de diamètre ^f
Taille de la colonie	5-10 mm ^b	N.D.	N.D.
Dimensions des cellules	0,5 à 0,7 µm × 1,0 à 3,0 µm; conformation angulaire cellules cocciformes de 0,6 à 0,8 µm de diamètre; il peut y avoir une ramification rudimentaire dans des milieux liquides ^a	1,7 × 4,0 µm	1,0 à 1,2 µm × 3,0 à 5,0 µm
Forme des colonies	Irrégulière ^{a, b, c}	Irrégulière	Circulaire à irrégulière

Relief des colonies	Plates ^{b, c}	Plates	N.D.
Marge des colonies	Ondulée ^{a, b, c}	Légèrement lobulée	Marges entières, ondulées/crénelées, ou lisérées
Texture des colonies (surface)	Sèche ^{b, c}	Sèche	Mate à granulaire
Opacité des colonies	Opaque ^b Centre foncé ^c	Lumière transmise : blanc crème Lumière réfléchie (opaque) : blanc brunâtre	N.D.
Pigmentation	Blanc cassé ^b Crème ^c	N.D.	De blanchâtre à crème

N.D. Données non disponibles (non déclarées par la source)

^a Apparence sur une gélose nutritive à 30 °C, déclarée par le proposant

^b Apparence sur une gélose trypticase soja après une croissance de 7 jours à température ambiante (manipulation effectuée par des scientifiques de Santé Canada)

^c Apparence sur une gélose au sang après 24 à 36 h à 37 °C, déclarée par l'ATCC

^d D'après l'information figurant dans Heimpel et Angus 1958 au sujet de la souche NRS 1328 (Heimpel et Angus 1958)

^e D'après un résumé du phénotype de diverses souches dans le manuel de Bergey (Logan et De Vos 2009)

^f D'après de l'information figurant dans (Chung et al. 2010)

3.1.2.2 Sérotypage

L'antigène flagellaire H a été utilisé pour classer *B. thuringiensis* en 69 sérotypes et 13 groupes sous-antigéniques, pour un total de 82 sérovars (Lecadet et al. 1999). Bien qu'il existe une certaine corrélation entre le sérovar déterminé par l'antigène flagellaire et l'effet insecticide (EPA 1998), un type particulier de cristal peut être produit par plus d'un sérovar *H. B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis*, y compris la souche ATCC 10792, appartient au sérotype H-1 (Heimpel 1967, Norris et Burges 1965), tout comme, selon toute vraisemblance, la souche ATCC 13367. Toutefois, aucune donnée spécifique n'a été trouvée ni générée pour la souche ATCC 13367.

3.1.2.3 Caractéristiques génomiques

Il est impossible de différencier *B. thuringiensis* de *B. cereus* sur le plan génotypique au moyen :

- d'une analyse de l'homologie de l'ADN (Kaneko, Nozaki, Aizawa 1978);
- d'un ribotypage (Priest et al. 1994);
- d'une cartographie du gène ARNr 16S, polymorphisme de restriction des gènes ARNr 23S et 5S (Joung et Côté 2001a, Joung et Côté 2001b);
- d'une analyse des séquences internes transcrites 16 S-23S (Bourque et al. 1995, Lechner et al. 1998, Wunschel et al. 1995);
- d'une analyse par PCR de gènes codant des substances toxiques semblables à celles produites par *B. cereus* (Asano et al. 1997, Damgaard et al. 1996);
- d'une électrophorèse en champs pulsés et d'une électrophorèse enzymatique multilocus (MLEE) (Carlson et Kolsto 1993, Carlson et al. 1994).

De même, les espèces du groupe *B. cereus* ne peuvent être distinguées au moyen d'une analyse de la séquence de l'ADNr 16S (Ash et al. 1991, Chang et al. 2003, Chen et Tsen 2002, La Duc et al. 2004, Lechner et al. 1998). Cela a été confirmé au moyen de séquences du gène ARNr 16 S de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*, analysées par des chercheurs de Santé Canada, séquences qui présentent une homologie de 98,37 % avec celles de la souche ATCC 10792 de *B. thuringiensis* dans la bibliothèque d'identification MicroSeq® et de plus de 98 % avec celles d'autres membres du groupe *B. cereus* figurant dans la base de données (*B. thuringiensis* ATCC 33679, *B. cereus* ATCC 14579, *B. anthracis* Ames et *B. mycoides* ATCC 6462). En se basant sur les données figurant dans le Ribosomal Database Project (Release 11 <https://rdp.cme.msu.edu/>), il a été montré que la souche ATCC 13367 est étroitement apparentée à *B. cereus* et à *B. weihenstephanensis*.

Le degré de parenté sur le plan génétique entre les membres du groupe *B. cereus* est si fort que, d'un point de vue strictement phylogénétique, ils pourraient être considérés comme une seule et même espèce. Cependant, des méthodes génétiques plus poussées ont été utilisées pour mettre en évidence des relations phylogénétiques et comprendre les quelques variations génomiques existant entre les membres du groupe *B. cereus*. Il s'agit notamment des méthodes suivantes :

- séquençage du génome entier (Ivanova et al. 2003);
- polymorphisme de longueur de fragments amplifiés (AFLP) (Hill et al. 2004, Hoffmaster et al. 2006, Ticknor et al. 2001a, Ticknor et al. 2001b);
- cartographie par rep-PCR (Cherif et al. 2003a);
- analyse de la séquence des gènes ARNr 16 S et ARNr 23 S (Ash et al. 1991);
- électrophorèse enzymatique multilocus (MLEE) (Helgason et al. 2000, Priest et al. 2004);
- typage par séquençage multilocus (MLST) (Helgason et al. 2004, Priest et al. 2004, Tourasse et al. 2006a, Tourasse et al. 2006b);
- hybridation soustractive sélective (HSS) (Radnedge et al. 2003).

Les membres du groupe *B. cereus* sont habituellement divisés en trois grands clades phylogénétiques d'après les résultats d'études de typage par MLST (Sorokin et al. 2006). Le clade I comprend *B. anthracis*, certaines souches de *B. cereus* et certaines souches de *B. thuringiensis*, principalement de sources cliniques. Le clade II comprend principalement des souches de *B. thuringiensis*, ainsi que certains isolats cliniques de *B. cereus* et un isolat environnemental incluant la souche ATCC 14579 de *B. cereus*, inscrite sur la LIS. Enfin, le clade III comprend *B. mycoides* et *B. weihenstephanensis*, considérés non pathogènes (Carlson et al. 1994, Didelot et al. 2009, Helgason et al. 2004, Priest et al. 2004, Sorokin et al. 2006, Vassileva et al. 2006). D'après un arbre phylogénétique basé sur l'alignement de l'ARNr 16S des membres du groupe *B. cereus*, élaboré au moyen d'une méthode de bootstrap et neighbor-joining, *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* et d'autres sous-espèces, comme *tenebrionis*, *morrisoni*, *kurstaki*, *sotto* et *israelensis*, appartiennent au clade II et se distinguent du clade I qui comprend *B. thuringiensis* ssp. *konkukian* et *B. thuringiensis* Al-Hakam, deux organismes présumés pathogènes chez l'humain (Ibrahim et al. 2010). Il est toutefois

possible de distinguer les espèces appartenant au groupe *B. cereus* en analysant les gènes *cry* par PCR.

3.1.3 Propriétés biologiques et écologiques

3.1.3.1 Répartition naturelle

B. thuringiensis est considéré ubiquiste (de Been et al. 2006, Martin et Travers 1989), il est présent un peu partout dans le monde et a été isolé dans tous les continents, y compris en Antarctique (Forsyth et Logan 2000).

B. thuringiensis ssp. *thuringiensis* est principalement présent dans des habitats terrestres, comme illustré ci-après, mais est également présent dans des milieux aquatiques (Iriarte et al. 2000, Martinez et Caballero 2002).

Spécifiquement, *B. thuringiensis* a été isolé dans les milieux suivants :

Sol :

- sols agricoles cultivés, sols non cultivés, déserts, toundras forestières et forêts tropicales humides (Bernhard et al. 1997, De Lucca II et al. 1981, Landen et al. 1994, Martin et Travers 1989, Obeidat et al. 2004, Stotzky 2000).

Phyllosphère et rhizosphère :

- feuilles, le phylloplane des plantes ligneuses et herbacées, dont des arbres à feuilles caduques, des conifères, de l'herbe et du chou, compost de champignonnière (Bernhard et al. 1997, Damgaard et al. 1997, Kim 2000, Mizuki et al. 1999, Smith et Couche 1991);
- fruits et légumes frais, soit comme contaminants naturels, soit comme résidus d'insecticides à base de *B. thuringiensis* (Frederiksen et al. 2006);
- cadavres d'insectes (Bernhard et al. 1997, Carozzi et al. 1991), sol de séricultures (Xavier et al. 2007);
- produits céréaliers stockés, moulins, meules à maïs (Bernhard et al. 1997, De Lucca et al. 1982, Ejiófor et Johnson 2002, Kim 2000, Kim et al. 1998, Meadows et al. 1992, Obeidat et al. 2004), divers aliments, comme les pâtes, le pain pita et le lait (Damgaard et al. 1996).

Milieux aquatiques :

- plans d'eau stagnante, plans d'eau asséchés, eau, sédiments marins, sédiments de saumâtre dans des marais à mangrove (Ichimatsu et al. 2000, Iriarte et al. 2000, Maeda et al. 2000, Maeda et al. 2001).

3.1.3.2 Paramètres de croissance

B. thuringiensis ssp. *thuringiensis* peut convertir les nitrates en nitrites et utiliser le citrate lentement comme source de carbone. La bactérie peut croître dans des conditions anaérobies en présence de glucose (Heimpel et Angus 1958). Toutefois, dans des conditions anaérobies, la croissance de *B. thuringiensis* est lente et la sporulation peut être inhibée. *B. thuringiensis* est un organisme anaérobie facultatif, mais dans des conditions anaérobies, sa croissance est lente et la sporulation peut être inhibée, un apport en oxygène est donc essentiel pour assurer sa survie à long terme et sa persistance (Argôlo-Filho et al. 2013, Khetan 2000). Il a été proposé que sa germination et sa croissance soient inhibées par d'autres microorganismes indigènes et une pénurie de nutriments (West et al. 1985).

La germination et la croissance de *B. thuringiensis* s'effectuent dans une gamme de pH restreinte, dans le cas de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* et de *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* la croissance est optimale à un pH de $7,5 \pm 1,0$ (Seligy et al. 1997). De même, la croissance de *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* sur une gélose nutritive est optimale à un pH de 6,7 et 6,4, à un pH de 6,0 ou de 5,6, elle diminue d'un facteur 10, à un pH de 5,1, elle diminue d'un facteur 10 000 supplémentaire et à un pH de 4,4, la croissance est nulle (Saleh et al. 1970a).

B. thuringiensis peut croître en étant exposé à une vaste gamme de températures. La température minimale permettant à la bactérie de croître est de 10 à 15 °C et la température maximale est de 40 à 45 °C (De Vos et al. 2009). Il a été rapporté que la croissance est bonne entre 28 et 35 °C (Heimpel et Angus 1958).

D'après les données produites par des chercheurs de Santé Canada, la croissance de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* est bonne dans un bouillon trypticase soja et dans du sérum fœtal de veau à des températures de 27, 32, 37 et 42 °C, mais elle est limitée dans un milieu de culture de cellules mammaliennes contenant du sérum de mouton et dans un milieu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) à ces températures (tableau B-1). De plus, la croissance de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* était bonne dans divers milieux solides à 28 et à 37 °C (tableau B-2).

3.1.3.3 Cycle de vie (sporulation)

Le cycle de vie de *B. thuringiensis* se compose de quatre phases (Khetan 2001).

- Phase I — Croissance végétative : une population de cellules végétatives croîtra exponentiellement dans des conditions d'humidité, de température, de pH,

d'oxygène et de disponibilité de nutriments favorables. Lorsque la phase de croissance exponentielle prend fin, habituellement en raison d'une pénurie de nutriments, il en résulte la formation de spores.

- Phase II — Transition vers la sporulation : le cycle de Krebs ralentit et les acides organiques, l'acétate et le pyruvate qui se sont accumulés pendant la croissance végétative sont métabolisés pour fournir à la cellule l'énergie et le carbone dont elle a besoin afin d'assurer la synthèse des spores et des protéines cristallines.
- Phase III — Sporulation et biosynthèse des toxines Cry : la sporulation se déroule en sept stades, allant de la réplication et de la séparation des chromosomes à la formation d'une structure distincte à l'intérieur de la cellule. *B. thuringiensis* produit ses toxines Cry pendant la sporulation. Les toxines Cry se trouvent dans des inclusions cristallines parasporales qui sont synthétisées à côté de l'endospore (Bourque et al. 1993, Carozzi et al. 1991, Ceron et al. 1994, Schnepf et al. 1998).
- Phase IV — Maturation de la spore et lyse de la cellule : la spore devient pleinement résistante (p. ex. contre la dessiccation et les températures élevées), et des couches externes se forment lors des derniers stades de la sporulation. Enfin, la lyse de la cellule provoque la libération de la spore mature dans l'environnement. Le cycle de croissance végétative reprend lorsque la spore atteint un milieu riche en nutriments (El-Khoury et al. 2016, Hilbert et Piggot 2004). La germination des spores est un autre volet important du cycle de vie de la bactérie, car elle est liée à sa pathogénicité. La bactérie *B. thuringiensis* peut germer et persister dans l'appareil digestif, et plus particulièrement dans le tube digestif des mammifères (Wilcks et al. 2006a, Zhang et al. 2012).

3.1.3.4 Survie, persistance et dispersion dans l'environnement

3.1.3.4.1 Persistance et survie des cellules végétatives et des spores de *B. thuringiensis*

Une population de cellules végétatives croîtra exponentiellement dans des conditions d'humidité, de température, de pH, d'oxygène et de disponibilité de nutriments favorables. Dans le cas de *B. thuringiensis*, ces conditions sont principalement réunies chez les insectes ciblés ou ses hôtes. La littérature scientifique renferme peu de données sur la survie et la réplication de *B. thuringiensis* dans des milieux aquatiques. Par ailleurs, les renseignements résumés dans les décisions réglementaires prises au Canada et à l'étranger suggèrent que *B. thuringiensis* ne prolifère à l'état végétatif dans des milieux aquatiques (ARLA-SC 2006, EPA 1998, OMS 1999). Selon les données sur des populations de cellules végétatives de *B. thuringiensis* spp. *thuringiensis* inoculées dans un sol non stérile, la population diminue en l'espace de deux jours et forme des spores (Akiba 1986).

Il existe bien plus de données sur la persistance des spores de *B. thuringiensis* dans des milieux terrestres, mais ces données sont hautement variables, en particulier dans les sols. Les études sur quelques jours à plusieurs années ont révélé une persistance très variable, comme l'illustre le résumé ci-après :

- des spores de *B. thuringiensis* ont survécu jusqu'à 10 jours dans l'eau d'un lac et dans des eaux usées, sans augmentation ni diminution de leur nombre (Furlaneto et al. 2000);
- des spores de *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* ont persisté pendant au moins 22 jours dans de l'eau stagnante et de la boue (Ohana et al. 1987);
- des spores viables de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* ont persisté pendant environ 40 jours dans de l'eau douce et pendant plus de 70 jours dans de l'eau de mer (Menon et De Mestral 1985);
- après un épandage aérien de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki*, la bactérie a été récupérée jusqu'à 12 jours plus tard dans un cours d'eau situé à proximité de la zone visée par l'épandage (Menon et De Mestral 1985);
- des spores de *B. thuringiensis* sont demeurées viables pendant environ 3 mois dans le sol (Saleh et al. 1970b);
- le nombre de spores de *B. thuringiensis* incubées dans un sol naturel, à la fois en laboratoire et dans la nature, a diminué au cours des deux premières semaines, puis est demeuré constant pendant au moins 8 mois (Petras and Casida Jr. 1985);
- *B. thuringiensis* a persisté sous la forme de spores dans le sol, à une profondeur de quelques centimètres, pendant 7 ans (Hendriksen et Hansen 2002);
- des cellules de *B. thuringiensis* introduites par pulvérisation dans le sol ont persisté pendant 88 mois (Vettori et al. 2003);
- des spores de *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* appliquées par pulvérisation sur le sol (principalement dans des écosystèmes forestiers) ont survécu pendant plusieurs années (décrit dans Addison 1993);
- la demi-vie de spores dans la couche arable d'un champ agricole était de l'ordre de 120 jours (Pedersen et al. 1995);
- la demi-vie de spores de *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* sur des feuilles de soja était > 24 h, une diminution de 90 % de la viabilité des spores ayant été observée au cours de la première journée (Ignoffo et al. 1974);
- appliquées de façon abondante en Amérique du Nord, les spores de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* pouvaient persister dans les milieux urbains pendant au moins 4 ans (Van Cuyk et al. 2011).

Les spores de *B. thuringiensis* sont hautement résistantes à la chaleur (jusqu'à 80 °C), à la dessiccation et à la sécheresse, permettant à la bactérie de survivre à des périodes de stress provoquées par des conditions environnementales défavorables (Petras et Casida Jr. 1985, West et al. 1985) (décrit dans Lambert et Peferoen 1992). Toutefois, le rayonnement solaire ou ultraviolet, la température, l'humidité, le vent et les précipitations peuvent limiter la persistance des spores de *B. thuringiensis* (Brar et al. 2006). Le rayonnement ultraviolet et la lumière solaire peuvent inactiver rapidement les spores. La survie des spores peut diminuer de plus de 90 % après une exposition de 20 minutes à la lumière solaire (Brar et al. 2006; Griego et Spence 1978).

De façon analogue à d'autres souches de *B. thuringiensis*, des spores de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* appliquées à une densité initiale de $\sim 1 \times 10^6$ UFC/g

de sol ont persisté dans le microcosme du sol à une densité de $\sim 1 \times 10^5$ UFC/g de sol pendant toute la durée d'une étude de 105 jours (Providenti et al. 2009).

3.1.3.4.2 Persistance des toxines insecticides

Selon certains rapports publiés, la demi-vie des toxines Cry dans le sol est brève, alors que selon d'autres de faibles concentrations de résidus persistent pendant de nombreux mois (décrit dans Clark et al. 2005). Plus précisément :

- des toxines Cry de *B. thuringiensis* introduites dans le sol par pulvérisation ont pu persister pendant 28 mois (Vettori et al. 2003);
- la demi-vie des toxines Cry de *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* sur des feuilles de soja était > 24 h, une diminution de 65 % de l'activité insecticide ayant été observée au cours de la première journée. Une certaine activité insecticide a pu être décelée 7 jours après l'application (Ignoffo et al. 1974);
- des études ayant porté sur des cultures transgéniques (cultures Bt) produisant des toxines Cry ont révélé que ces toxines se dégradent rapidement et qu'elles étaient faiblement persistantes dans le sol (Icoz et Stotzky 2008, Li YunHe et al. 2007, Palm et al. 1996).

La dégradation microbienne, une température élevée et la séquestration dans une matrice solide sont des facteurs provoquant la désactivation de la toxine Cry1Ac produite par ces cultures transgéniques de *B. thuringiensis*. La désactivation dans un milieu non stérile à 24 °C était la plus rapide dans le sol (demi-vie de 1,5 jour) que dans des sédiments (demi-vie de 3,9 jours) et dans l'eau (demi-vie de 12,8 jours), ce qui indique que cette toxine peut persister plus longtemps dans ses milieux aquatiques (Li YanLiang et al. 2013). Les toxines Cry libres de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* et de *B. thuringiensis* ssp. *tenebrionis* peuvent être dégradées par des microorganismes indigènes (Koskella et Stotzky 1997). La toxine Cry de *B. thuringiensis* spp. *aizawai* est dégradée par des microorganismes du sol de façon exponentielle, avec une demi-vie d'environ 3 à 6 jours (West et al. 1984).

Les toxines Cry persistent plus longtemps quand elles sont liées à des particules présentant une activité de surface dans l'environnement (Koskella et Stotzky 1997, Lee et al. 2003, Stotzky 2004). Les toxines Cry purifiées peuvent être rapidement adsorbées sur des minéraux argileux, des acides humiques et des complexes organominéraux, et peuvent persister dans des sols cultivés et des sols forestiers (Crecchio et Stotzky 1998, Crecchio et Stotzky 2001, Tapp et al. 1994). La liaison à des acides organiques de faible masse moléculaire augmente l'adsorption des toxines de *B. thuringiensis* sur les minéraux du sol (Fu et al. 2007). Les toxines adsorbées et liées à l'argile et aux acides humiques conservent leur activité insecticide. Cependant, les acides humiques en réduisent la biodégradabilité (Crecchio et Stotzky 1998, Koskella et Stotzky 1997, Tapp et Stotzky 1995a, Tapp et Stotzky 1995b). L'activité insecticide conservée dans le sol dépend du type de sol (composition) et du pH du sol (Tapp et Stotzky 1998).

3.1.3.4.3 Dispersion

La multiplication de *B. thuringiensis* à l'extérieur de l'insecte hôte est faible à nulle, et la bactérie se propage rarement au-delà du point d'inoculation dans le sol (Snarski 1990). Les spores de *B. thuringiensis* sont dispersées suite à un transport non anthropique, comme l'eau, le vent et les oiseaux migrateurs (Bernhard et al. 1997) ou la pluie (Pedersen et al. 1995). Les spores de *B. thuringiensis* ne subissent pas de lixiviation vers le bas et demeurent dans les quelques centimètres supérieurs du sol (Hendriksen et Hansen 2002). Dans des sols ayant reçu des précipitations simulées de 45 cm, *B. thuringiensis* a été détecté à une profondeur de 3 à 6 cm (Akiba 1991).

Après l'application de *B. thuringiensis* sur le sol, les oiseaux et les mammifères qui se nourrissent des insectes ciblés infectés peuvent favoriser la dispersion de la bactérie (Meadows 1993). Des spores de *B. thuringiensis* dispersées par des carabes et d'autres insectes actifs à la surface du sol ont été décelées à des distances atteignant 135 m à partir du point d'application (Pedersen et al. 1995). Par ailleurs, il a été montré que la bactérie *B. thuringiensis* était présente dans les excréments de nombreux animaux, dont le campagnol (Swiecicka et De Vos 2003), le cerf Sika (Ohba et Lee 2003), 14 espèces de mammifères sauvages en Corée (Lee et al. 2003), 11 % des rongeurs et 17 % des mammifères insectivores examinés dans un parc national en Pologne (Swiecicka et al. 2002).

3.1.3.5 Transfert horizontal de gènes

Chez *B. thuringiensis*, de nombreux gènes codant des toxines sont situés sur des plasmides (Berry et al. 2002, Levinson et al. 1990, Zhong et al. 2000), qui peuvent être transférés de cellule en cellule par conjugaison, transformation et transduction (Gonzalez Jr et al. 1982, Lecadet et al. 1980, Reddy et al. 1987, Ruhfel et al. 1984, Santos et al. 2010, Thorne 1978, Wilcks et al. 1998). Les souches de *B. thuringiensis* peuvent présenter des profils plasmidiques complexes, avec jusqu'à 17 plasmides d'une taille de 2 à 600 kb chez une même souche (Gonzalez Jr. et Carlton 1980, Kronstad et al. 1983, Lereclus et al. 1982).

En suivant un protocole d'extraction de plasmides (Reyes-Ramírez et Ibarra 2008) suivi d'une électrophorèse sur gel, des chercheurs de Santé Canada n'ont pas décelé de plasmides dans le génome de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*. En l'absence de signes évoquant la présence de plasmides, cette souche ne pas participer au transfert par conjugaison d'ADN, dont des facteurs de virulence à d'autres bactéries dans l'environnement. Bien qu'il soit possible que la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* puisse acquérir des plasmides de virulence d'organismes pathogènes apparentés, la probabilité d'un tel événement n'est pas supérieure à ce qui serait le cas chez d'autres souches de *B. thuringiensis* naturellement présentes dans l'environnement.

3.1.3.6 Résistance aux antibiotiques, aux métaux et aux agents chimiques

B. thuringiensis s'est révélé résistant aux métaux lourds. La bactérie peut biosorber les métaux lourds les plus fréquemment présents dans des milieux aquatiques et terrestres pollués, comme le cadmium, le cuivre, le chrome, le nickel, le zinc, le cobalt et le mercure (El-Helow et al. 2000, Hassen et al. 1998, Mendil et al. 2008, Oves et al. 2013, Öztürk 2007). *B. thuringiensis* produit une β -lactamase à large spectre et est donc résistant à la pénicilline, à l'oracilline, à l'ampicilline et aux céphalosporines. La bactérie résiste également au triméthoprime (De Vos et al. 2009, Luna et al. 2007).

B. thuringiensis est toutefois généralement sensible à la gentamicine, à la lévofloxacine, à la moxifloxacine, à la rifampicine, à l'amikacine, à la ciprofloxacine, à la vancomycine, au chloramphénicol, à l'érythromycine, à la tétracycline, à la clindamycine, à la gatifloxacine et à la quinupristine-dalfopristine (Callegan et al. 2006, Hernandez et al. 1998, Luna et al. 2007, Rosenquist et al. 2005, Turnbull et al. 2004).

Dans le tableau 1-2, nous présentons profil de sensibilité aux antibiotiques (CMI en $\mu\text{g/mL}$) de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*.

Tableau 1-2 : Profil de sensibilité aux antibiotiques de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*

Antibiotique	Sensible ^a	Modérément sensible ^a	Résistante ^a	CMI ($\mu\text{g/mL}$) ^b
Amoxicilline	$\leq 0,12$	-	$\geq 0,25$	> 24 (R)
Aztréonam	N.D.	N.D.	N.D.	> 24
Céfotaxime	≤ 8	16-32	≥ 64	> 24 (R)
Doxycycline	N.D.	N.D.	N.D.	0,37
Gentamicine	≤ 4	8	≥ 16	$3,9 \pm 2$ (S)
Acide nalidixique	N.D.	N.D.	N.D.	$8,4 \pm 3,3$
Triméthoprime	N.D.	N.D.	N.D.	> 24
Vancomycine	≤ 4	n.d. ^c	n.d. ^c	$1,4 \pm 0,3$ (S)

^a Critère d'interprétation (Patel et al. 2010).

^b Travaux menés en suivant la méthode de test en milieu liquide TSB-MTT (Seligy et al. 1997). Les valeurs rapportées sont basées sur un minimum de sept expériences indépendantes. Les valeurs correspondent à la concentration minimale inhibitrice (en $\mu\text{g/mL}$) pour la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* (20 000 UFC/puits) cultivée en présence de l'antibiotique pendant 24 h à 37 °C. R = résistante, S = sensible

^c La rareté des souches résistantes exclut la définition de catégories autres que « sensible ».

N.D. = Non disponible. Aucune recommandation n'est formulée, les données étant limitées pour *Bacillus* sp.
n.d. = non déterminé

3.1.3.7 Caractéristiques de pathogénicité et de toxicité

3.1.3.7.1 Pathogénèse

B. thuringiensis est connu pour ses propriétés entomopathogènes, dues à la production de protéines cristallines (toxines Cry) et d'autres facteurs de virulence, qui favoriseraient son développement dans l'insecte hôte.

Les études menées pour appuyer l'homologation de pesticides contenant diverses autres souches de *B. thuringiensis* et l'homologation de plantes transgéniques produisant des toxines de *B. thuringiensis* révèlent une absence d'effet pathogène chez les espèces non ciblées.

Les résumés de ces études de pathogénicité et de toxicité se trouvent dans les documents suivants :

- [OCDE – Consensus Document on Safety Information on Transgenic Plants Expressing *Bacillus thuringiensis* - Derived Insect Control Protein \(OCDE 2007\)](#)
- [U.S.EPA Reregistration Eligibility Decision \(RED\) *Bacillus thuringiensis* \(EPA 1998\)](#)
- [OMS – Environmental Health Criteria 217 Microbial Pest Control Agent *Bacillus thuringiensis* \(OMS 1999\)](#)
- ARLA : Projet d'acceptabilité d'homologation continue, réévaluation de *Bacillus thuringiensis*. <http://www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/pubs/pest/decisions/index-fra.php#rvd-drv> (ARLA 2006)

3.1.3.7.2 Toxines

L'espèce *B. thuringiensis* peut produire diverses toxines, comme les protéines cristallines (Cry), les toxines Cyt, la β -exotoxine et la toxine Vip, qui sont principalement responsables de la pathogénicité chez les insectes et qui exhibent diverses activités chez une gamme d'hôtes. Certaines toxines de *B. thuringiensis*, comme la β -exotoxine, peuvent être toxiques pour les mammifères à des doses élevées. Certaines souches de *B. thuringiensis* sont connues pour produire d'autres types de toxines, dont des hémolysines et des entérotoxines ayant un effet diarrhéogène, qui sont semblables à celles produites par *B. cereus* (Hansen et Hendriksen 2001).

Nous présentons à l'annexe D, un tableau faisant la synthèse des hôtes sensibles aux toxines Cry et Cyt.

Protéines cristallines (Cry)

Le mode d'action des toxines Cry n'a pas encore été élucidé. Selon le modèle classique (figure 1-1), les protéines cristallines sont d'abord ingérées sous forme de protoxines, puis sont solubilisées et converties par protéolyse en polypeptides plus petits résistant aux protéases dans l'intestin moyen des insectes. Les toxines activées se lient ensuite à des récepteurs spécifiques à la surface des cellules épithéliales de l'intestin moyen, ce qui leur permet de s'insérer dans la membrane et de former des pores peu sélectifs perméables à de petites molécules, comme les ions inorganiques, les acides aminés et les sucres. La formation de pores dans la membrane plasmique dérègle les processus physiologiques qui ont lieu dans la cellule en neutralisant les gradients ioniques transmembranaires. Il s'ensuit la lyse par osmose de la cellule en raison de l'entrée massive de solutés à partir de la lumière de l'intestin moyen. Cette destruction cellulaire provoque à son tour des lésions importantes au tissu épithélial de l'intestin

moyen, conduisant à la mort des larves intoxiquées (décrit dans Vachon et al. 2012). La séquence des événements menant à la formation des pores est relativement mal comprise et a été expliquée au moyen de modèles en compétition : le modèle de liaisons séquentielles (figure 1-2) et le modèle des voies de signalisation (figure 1-3) (Vachon et al. 2012, Bravo, et al. 2007, Bravo et al. 2011, Dorsch et al. 2002, Knowles et Dow 1993, Knight et al. 1994, Vadlamudi et al. 1993, Vadlamudi et al. 1995).

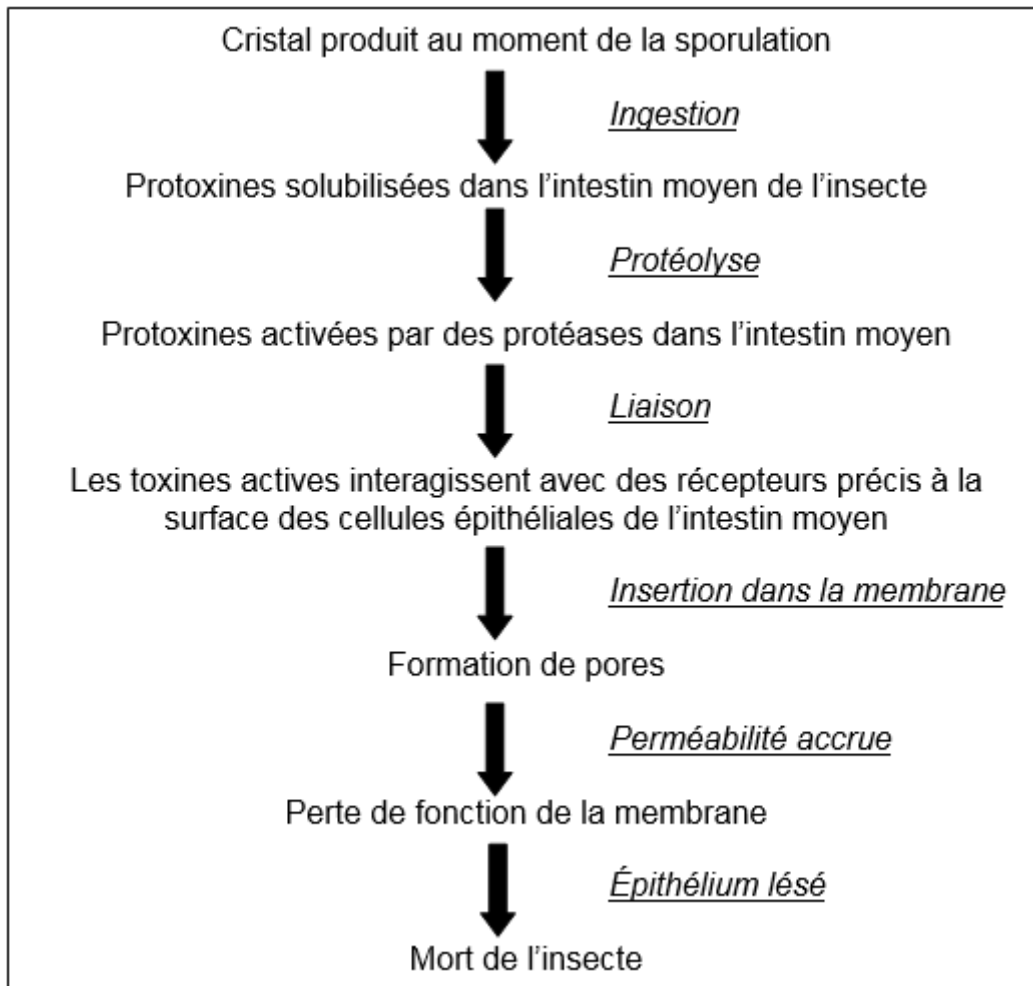


Figure 1-1 : Représentation schématique des étapes menant à la formation de pores et à la mort des insectes selon le modèle classique du mode d'action de *B. thuringiensis* (Vachon et al. 2012)

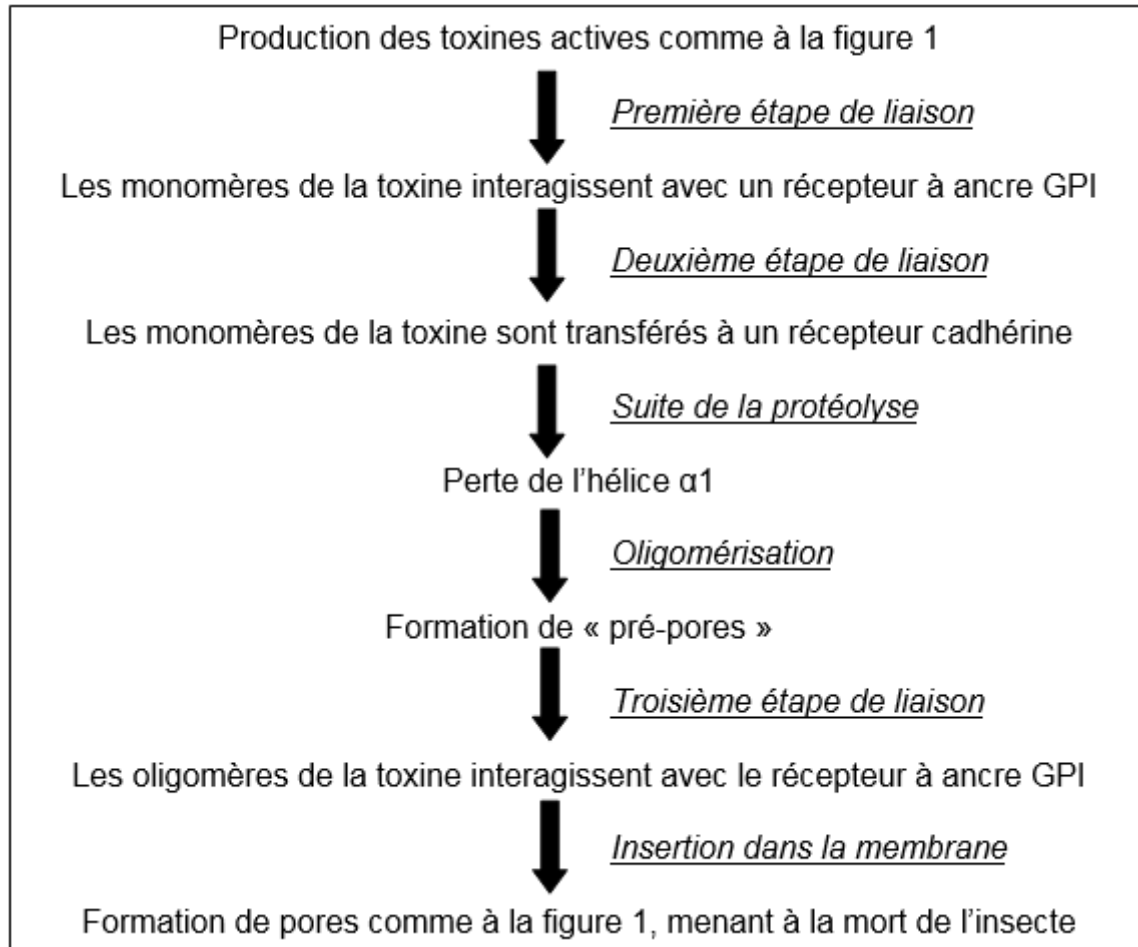


Figure 1-2 : Représentation schématique des étapes menant à la formation de pores et à la mort des insectes selon le modèle de liaisons séquentielles (Vachon et al. 2012)

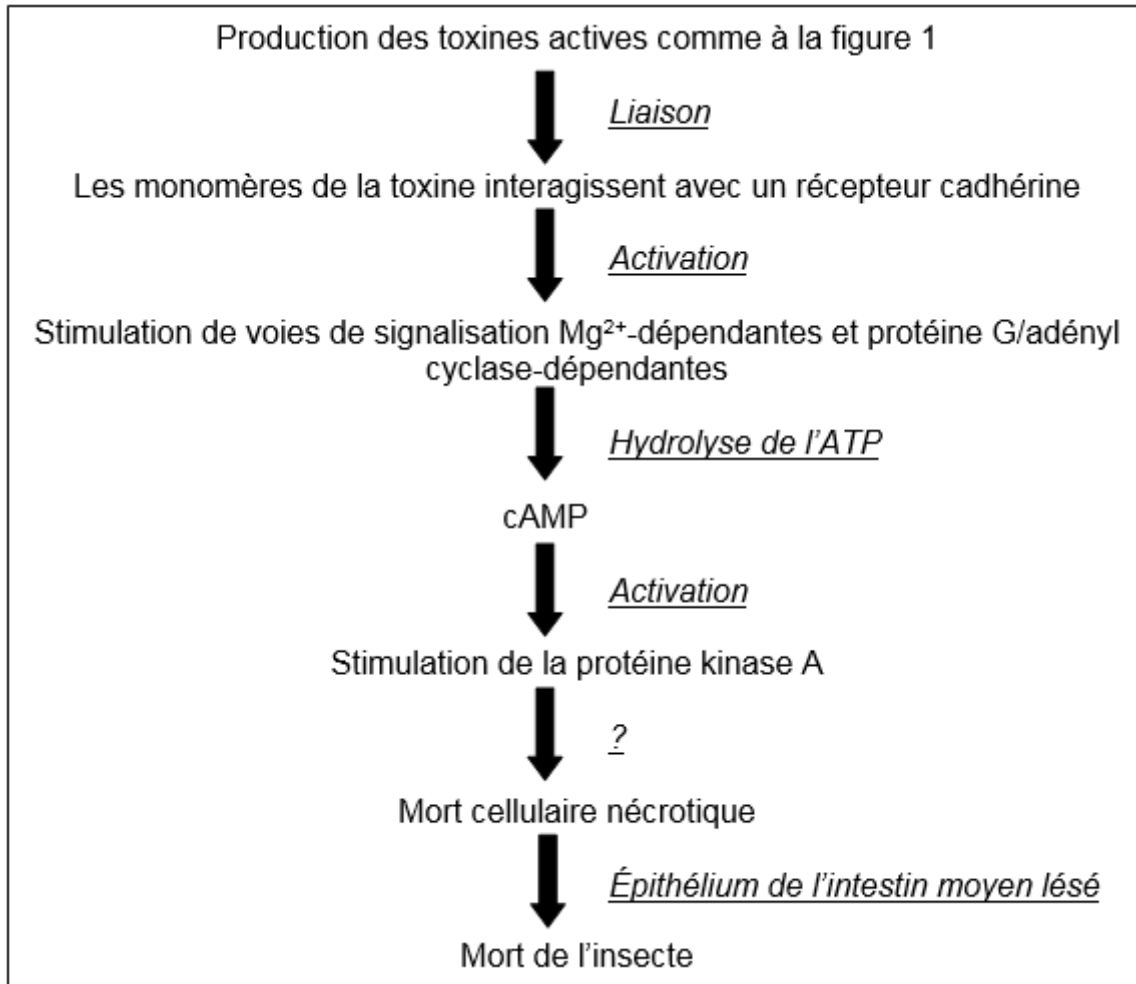


Figure 1-3 : Représentation schématique des étapes menant à la mort des insectes selon le modèle des voies de signalisation (Vachon et al. 2012)

La plupart des souches de *B. thuringiensis* portent et expriment plus d'un gène cry. Le spectre d'activité insecticide de chaque souche dépend de la combinaison des toxines Cry individuelles présentes dans leurs cristaux parasporaux (Carlson et Kolsto 1993, Gonzalez et al. 1982) et de leur niveau d'expression (Masson et al. 1998). Différentes toxines Cry présentent une activité spécifique à divers ordres d'insectes, en particulier les lépidoptères, les coléoptères et les diptères, mais également chez d'autres invertébrés, comme les nématodes (Adang et al. 1985, Bravo et al. 2007, de Barjac et Frachon 1990), et comme l'ont décrit Barjac (1978), Heimpel (1967), Herrnstadt et al. (1987), Hofte et Whiteley (1989) et Schnepf et al. (1998). Historiquement, l'opinion générale voulait que les gènes cry1 codent des protéines toxiques pour les lépidoptères, que les gènes cry2 codent des protéines toxiques pour les lépidoptères et les diptères, que les gènes cry3 codent des protéines toxiques pour les coléoptères et que les gènes cry4 codent des protéines toxiques pour les diptères seulement (Crickmore et al. 1998). Selon la nomenclature actuelle, basée uniquement sur l'identité

des acides aminés, les toxines étroitement apparentées peuvent être classées ensemble (Crickmore et al. 2014).

L'ADN génomique de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* inscrite sur la LIS a été soumis à un séquençage complet, et les contigs ont été annotés au moyen du logiciel PROKKA et de requêtes BLASTn. Seul le gène *cry1Ba4* a été identifié parmi les séquences annotées de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*. Une amplification ciblée par PCR a également été utilisée pour confirmer l'absence d'autres gènes *cry* (voir l'annexe C : Facteurs de virulence de *B. thuringiensis*). Cette démarche concordait avec la forte association observée entre la toxine Cry1B et *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* (Martínez et al. 2005). Les toxines Cry1 sont principalement spécifiques des lépidoptères et sont insolubles à un pH acide ou neutre, mais solubles à un pH alcalin d'au moins 10 (Hofte et Whiteley 1989, Huber et al. 1981, Lecadet et al. 1999).

Une base de données relationnelle sur la spécificité des toxines de *B. thuringiensis*, présentant les activités insecticides connues des toxines Cry1B et Cry1Ba identifiées chez la souche ATCC 13367, révèle que ces toxines sont principalement efficaces contre les lépidoptères, mais qu'elles affectent également plusieurs espèces de coléoptères et certaines espèces de diptères (COGEM 2014, van Frankenhuyzen 2009, van Frankenhuyzen 2013).

Lépidoptères :

- *Actebia fennica*,
- *Agrotis ipsilon*,
- *Artogeia rapae*,
- *Bombyx mori*,
- *Cacyreus marshalli*,
- *Chilo suppressalis*,
- *Choristoneura fumiferana*,
- *Conopomorpha cramerella*,
- *Crocidolomia binotalis*,
- *Cydia pomonella*,
- *Diacrisia obliqua*,
- *Diatraea grandiosella*, *Diatraea saccharalis*,
- *Epinotia aporema*,
- *Epiphyas postvittana*,
- *Helicoverpa zea*, *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa punctigera*,
- *Heliothis virescens*,
- *Hellula undalis*,
- *Hyphantria cunea*,
- *Lambdina fiscellaria*,
- *Lymantria dispar*,
- *Malacosoma disstria*,
- *Mamestra brassicae*,
- *Orgyia leucostigma*,

- *Ostrinia nubilalis*,
- *Pectinophora gossypiella*,
- *Perileucoptera coffeella*,
- *Phthorimaea operculella*,
- *Pieris brassicae*,
- *Plutella xylostella*,
- *Pseudoplusia includens*,
- *Spodoptera exigua*, *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera frugiperda*,
- *Thaumetopoea pityocampa*,
- *Trichoplusia ni*,
- *Wiseana cervinata*, *Wiseana copularis*, *Wiseana jocosa*.

Diptères :

- *Lucilia cuprina*,
- *Musca domestica*,

Coléoptères :

- *Anoplophora glabripennis*,
- *Anthonomus grandis*,
- *Chrysomela scripta*,
- *Hypothenemus hampei*,
- *Leptinotarsa decemlineata*,
- *Phaedon cochleariae*.

La toxicité de Cry1Ba pour les diptères présente un intérêt moindre du point de vue des effets sur les espèces non ciblées, car ces effets toxiques se manifestent à des doses élevées par rapport aux protéines actives contre les diptères (COGEM 2014).

Toxines Cyt

Les espèces de *B. thuringiensis* ne sont pas toutes connues pour produire des toxines Cyt. Des toxines Cyt ont été rapportées chez des souches de *B. thuringiensis* spécifiques des diptères, comme la sous-espèce *israelensis* (Chang et al. 1993, Crickmore et al. 1995, Crickmore et al. 1998), et examinées par De Maagd et al. (2003), (Gill et al. 1992) et (Palma et al. 2014). La sous-espèce *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* est connue pour son effet insecticide sur les moustiques. Elle produit un mélange de toxines Cyt qui ont une activité cytolytique et hémolytique *in vitro* et sont toxiques pour les moustiques des genres *Aedes*, *Culex* et *Anopheles* (Crickmore et al. 1995, Wu et al. 1994). Il a été rapporté que certaines toxines Cyt sont aussi possiblement actives contre des cellules cancéreuses (van Frankenhuyzen 2009). Certaines souches de *B. thuringiensis* produisent des toxines Cyt, qui présentent une activité cytolytique contre une vaste gamme de cellules eucaryotes et d'érythrocytes (Knowles et al. 1989).

Les toxines Cyt de *B. thuringiensis* présentant un effet insecticide sur les moustiques exhibent un mécanisme d'interaction cellule-membrane différent de celui des toxines Cry. Les toxines Cyt ne se lient pas à des récepteurs protéiques, mais forment directement des pores dans la membrane (Bravo et al. 2007, Gill et al. 1987, Knowles et al. 1989, Thomas et Ellar 1983) ou détruisent la membrane grâce à une interaction de type détergent (Butko 2003).

Des chercheurs de Santé Canada ont analysé l'ADN génomique de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* au moyen d'un séquençage du génome complet et n'ont détecté aucun gène cyt chez cette bactérie après un criblage in silico.

Protéine insecticide végétative

Les protéines insecticides végétatives (Vip 1-4) sont des protéines sécrétées par *B. thuringiensis*, dont certaines sont toxiques pour des espèces faiblement sensibles aux toxines Cry (Estruch et al. 1996, Palma et al. 2012) (décrit dans Palma et al. 2014). Les Vip sont sécrétées par environ 15 % des souches de *B. thuringiensis*, depuis le milieu de la phase de croissance végétative logarithmique jusqu'à la sporulation. Elles ont une activité insecticide puissante à large spectre (Estruch et al. 1996, Palma et al. 2012). Les Vip1 et Vip2 agissent comme une toxine binaire. Les toxines Vip1/Vip2 exhibent une activité toxique contre les larves de coléoptères (p. ex. *Diabrotica* spp.) et contre les pucerons (Palma et al. 2014). Les toxines Vip3 ont un large spectre d'activité contre les lépidoptères (Estruch et al. 1996, Milne et al. 2008, Palma et al. 2012), dont le vers-gris noir (*Agrotis ipsilon*), le légionnaire d'automne (*Spodoptera frugiperda*), le légionnaire de la betterave (*Spodoptera exigua*), la noctuelle verdoyante (*Heliothis virescens*) et le ver de l'épi du maïs (*Helicoverpa zea*) (Estruch et al. 1996). Il existe trois grandes sous-familles de toxines Vip3, à savoir Vip3A, Vip3B et Vip3C. Selon les données disponibles, les protéines Vip3 agiraient par oligomérisation et formeraient des pores. Les toxines Vip3A se lient aux cellules de l'épithélium intestinal des insectes et provoquent la lyse de ces cellules (Lee et al. 2003). La cible et le mode d'action des toxines Vip4 ne sont pas connus.

Des chercheurs de Santé Canada ont analysé l'ADN génomique de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* par séquençage du génome complet et n'ont décelé aucun gène vip chez cette bactérie après un criblage in silico.

β -exotoxine

La β -exotoxine est un analogue nucléotidique thermostable, auparavant appelé thuringiensine, qui présente des propriétés insecticides et est produit au moment de la phase de croissance végétative de certaines souches de *B. thuringiensis*, dont certaines de *B. thuringiensis* spp. *thuringiensis*. Elle exhibe une activité non spécifique, tuant une vaste gamme d'invertébrés nuisibles, dont des lépidoptères, des diptères, des hyménoptères, des hémiptères, des isoptères, des orthoptères, des nématodes et des acariens (décrit dans Glare et O'Callaghan 2000). La β -exotoxine provoque des lésions au foie, aux reins et aux glandes surrénales des vertébrés (Boucias et Pendland 1998),

ainsi que des aberrations chromosomiques dans des cultures de sang humain par inhibition de l'ARN polymérase dépendante de l'ADN (Meretoja et al. 1977). Une analyse de diverses souches de *B. thuringiensis* isolées du sol a révélé qu'environ 58 % des souches produisaient une β -exotoxine active (Perani et al. 1998). Étant donné que la β -exotoxine est toxique pour les vertébrés, la plupart des préparations commerciales de *B. thuringiensis* sont préparées à partir d'isolats ne produisant pas de β -exotoxine (Hernández et al. 2003), comme décrit dans McClintock et al. (1995). L'OMS a banni l'utilisation par le public de souches produisant des β -exotoxines, afin d'éviter de possibles effets nocifs chez des organismes non ciblés (Hernández et al. 2001, Ohba et al. 1981). La synthèse de la β -exotoxine requiert la présence d'un groupe de 11 gènes, habituellement situés sur un plasmide (Liu et al. 2014).

Des chercheurs de Santé Canada ont analysé l'ADN génomique de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* ATCC 13367 inscrite sur la LIS par séquençage du génome complet et n'ont décelé aucun gène codant la β -exotoxine chez cette bactérie après un criblage *in silico*.

Toxines des types de celles produites par *Bacillus cereus*

Certaines souches de *B. thuringiensis*, dont *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis*, produisent des entérotoxines diarrhéogènes caractéristiques de *B. cereus* (Abdel-Hameed et Landen 1994, Damgaard 1996, Hansen et Hendriksen 2001, Hyldebrink Damgaard 1995, Jackson et al. 1995, Jensen et al. 2002, Rosenquist et al. 2005), quoique à des niveaux inférieurs à ceux associés à *B. cereus* (Hyldebrink Damgaard 1995). L'hémolysine BL (HBL), l'entérotoxine non hémolytique (NHE) et la cytotoxine K (CytK) sont des entérotoxines qui ont été associées à des éclosions d'intoxications alimentaires mettant en cause *B. cereus* (Fagerlund et al. 2010, Lund et Granum 1997, Lund et al. 2000, Schoeni et Wong 2005, Stenfors Arnesen et al. 2008) et qui peuvent former des pores dans la membrane des cellules épithéliales de l'intestin des mammifères et provoquer la lyse des cellules par osmose (Beecher et Wong 1997, Hardy et al. 2001, Haug et al. 2010). *B. cereus* produit d'autres facteurs de virulence connus pour jouer un rôle dans sa pathogénicité et sa capacité à causer des infections gastro-intestinales et d'autres types d'infections. Il s'agit entre autres d'hémolysines (hémolysine I [ou céréolysine O], hémolysine II [HlyII], hémolysine III [HlyIII]), de l'entérotoxine FM (EntFM, maintenant appelée CwpFM, une peptidase agissant potentiellement sur la paroi cellulaire qui est associée à l'adhésion, à la formation d'un biofilm et à la virulence) et de la phospholipase C (PLC), dont il existe trois variantes reconnues, à savoir la phosphatidylinositol hydrolase (PI-PLC), la phosphatidylcholine hydrolase (PC-PLC) et la sphingomyélinase (SMase). Le facteur de transcription PlcR est considéré comme un facteur de virulence, car il joue un rôle dans l'expression de la plupart des facteurs de virulence connus chez *B. thuringiensis*, dont la phospholipase C, des protéases, des protéines de surface cellulaire, des hémolysines et des entérotoxines lors de la phase de croissance végétative (Agaisse et al. 1999, Bouillaut et al. 2005, Gominet et al. 2001, Lereclus et al. 1996, Salamitou et al. 2000, Tran et al. 2010).

Des chercheurs de Santé Canada ont confirmé la présence des gènes *hbl*, *nhe*, *cytK*, hémolysine I, hémolysine II, hémolysine III et *entFM* (*cwpFM*) chez la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* par criblage *in silico* de séquences du génome complet et par PCR, et ont confirmé l'expression de HBL et de Nhe par immunochromatographie.

Autres facteurs de virulence

B. thuringiensis produit d'autres facteurs de virulence dont on croit qu'ils facilitent sa croissance au sein de l'insecte hôte et qu'ils contribuent à sa pathogénicité et à sa toxicité. Il s'agit notamment d'enzymes de dégradation, comme des phospholipases, et un certain nombre de composés extracellulaires, dont les protéines de la couche S, qui contribuent à la virulence de la bactérie (Gohar et al. 2005, Mignot et al. 2001, Pena et al. 2006).

B. thuringiensis produit également des métalloprotéases, une sérine protéase alcaline et une cystéine protéase, qui jouent un rôle dans l'expression génique et la lyse de la cellule au moment de la sporulation. Ces protéines jouent également un rôle sur le plan de l'entomotoxicité, en assurant une maturation adéquate des spores et des protéines cristallines insecticides, en clivant les protéines antibactériennes des insectes hôtes et en convertissant les protoxines inactives en toxines actives (Brar et al. 2007).

L'inhibiteur immunitaire A (*InhA*), une métalloprotéase, clive de façon spécifique les peptides antibactériens produits par les insectes hôtes, ce qui donne à penser que l'*InhA* pourrait contribuer à la virulence de *B. thuringiensis*. L'*InhA* et l'*InhB* interfèrent avec le système de défense humoral des pupes de *Hyalophora cecropia* (Edlund et al. 1976, Grandvalet et al. 2001).

La protéine insecticide sécrétoire Sip a un effet insecticide contre les larves de coléoptères, mais son mode d'action reste inconnu (Donovan et al. 2006).

B. thuringiensis produit des biofilms denses dans diverses conditions, possiblement incluant celles qui règnent au niveau de l'épithélium intestinal des hôtes (Fagerlund et al. 2014). Les biofilms peuvent conférer une résistance aux agents antimicrobiens et pourraient donc contribuer à prolonger la persistance de la bactérie (Auger et al. 2009). Certains sérovars de *B. thuringiensis* (H4 et H13) produisent de la chitinase à de faibles niveaux. La chitinase peut accroître l'activité insecticide (Liu et al. 2002). Les parasporines sont des protéines qui sont associées aux inclusions parasporales de *B. thuringiensis*. Elles ne provoquent pas d'hémolyse, mais peuvent tuer les lymphocytes T leucémiques humains (MOLT-4) et les cellules du cancer du col de l'utérus chez l'humain (HeLa), mais pas les lymphocytes T normaux. Cette activité cytocide se produit uniquement lorsque les parasporines sont dégradées par des protéases (trypsine et protéinase K) (Katayama et al. 2005, Mizuki et al. 2000, Ohba et al. 2009).

Des chercheurs de Santé Canada ont confirmé la présence de gènes codant l'*InhA* et une chitinase chez la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* par criblage *in silico*. Se

reporter au tableau A-4 pour prendre connaissance des facteurs de virulence et des toxines associés à *B. thuringiensis* présents chez la souche ATCC 13367.

3.1.4 Effets

3.1.4.1 Environnement

Plantes terrestres et plantes aquatiques

Les recherches bibliographiques indiquent qu'il n'existe aucun effet nocif connu de *B. thuringiensis* sur les plantes terrestres et les plantes aquatiques, malgré un long historique d'exposition à une vaste gamme de souches de *B. thuringiensis* naturellement présentes dans l'environnement et une utilisation à grande échelle de souches pesticides en agriculture, dans les forêts ou des milieux aquatiques. Lors de tests de pathogénicité et de toxicité⁶ réalisés par des chercheurs d'Environnement et Changement climatique Canada, la souche ATCC 13367 n'a eu aucun effet pathogène ni toxique sur la plante modèle utilisée. Après six applications de $5,2 \times 10^6$ cellules végétatives de la souche ATCC 13367 par gramme de sol artificiel ou de sol collecté sur le terrain, aucune différence n'a été observée quant à la longueur des pousses et des racines ou à la masse des pousses et des racines de *Trifolium pratense* (trèfle des prés) (Princz 2005).

D'après les divers modes d'action des toxines de *B. thuringiensis*, il ne devrait y avoir aucun effet nocif sur les plantes. De plus, les plantes génétiquement modifiées exprimant des toxines Cry ne sont pas affectées par ces toxines.

En outre, il a été rapporté que certaines souches de *B. thuringiensis* exhibe un potentiel de biocontrôle de certains agents phytopathogènes, comme *Erwinia carotovora* (Dong et al. 2004) et *Fusarium roseum* var *sambucinum* (Sadfi et al. 2001).

Vertébrés terrestres et vertébrés aquatiques

Jusqu'à présent, aucune étude de toxicité pour les mammifères ou les oiseaux n'a mis en évidence un effet nocif quelconque dû aux spores de sous-espèces de *B. thuringiensis* ou de souches commercialisées (décrit par McClintock et al. 1995, ARLA-SC 2006, EPA 1998).

Les études d'infectivité et de pathogénicité soumises à l'EPA pour appuyer l'homologation de diverses sous-espèces de *B. thuringiensis* comme insecticides montrent de manière constante que la bactérie *B. thuringiensis* est éliminée des

⁶ Les tests ont été réalisés à la Section de l'évaluation et de la normalisation biologiques du Laboratoire de biotechnologie des sols, en suivant le Guide des essais de pathogénicité et de toxicité de nouvelles substances microbiennes pour les organismes aquatiques et terrestres (SPE1/RM/44, mars 2004).

rongeurs après une administration par voie orale, pulmonaire ou intraveineuse et qu'il n'y a pas d'effets nocifs notables sur le gain de poids corporel, les observations cliniques ou la nécropsie (décrit par McClintock et al. 1995).

De plus, dans le cadre d'études requises pour appuyer leur homologation, des tests ont été réalisés chez le canard colvert et le colin de Virginie avec des sous-espèces de *B. thuringiensis* actuellement homologuées comme pesticides, dont les sous-espèces *kurstaki*, *tenebrionis*, *israelensis* et *aizawai*, afin de déterminer les effets sur des espèces non ciblées. Aucune des sous-espèces de *B. thuringiensis* ne s'est révélée toxique pour ces espèces aviaires après une exposition aiguë ou subaiguë (EPA 1998).

Des tests de toxicité par voie orale avec des rats exposés à des préparations commerciales de spores de *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* n'ont révélé aucune mortalité ni aucun signe de toxicité à une dose de 2×10^{12} spores (Fisher et Rosner 1959). Des cellules végétatives de *B. thuringiensis* ont été détectées dans des prélèvements de matières fécales et de contenu intestinal chez tous les rats ayant ingéré des spores. Les spores de *B. thuringiensis* pouvaient germer dans le tractus gastro-intestinal, mais les cellules végétatives ont survécu peu longtemps dans les intestins et aucun effet cytotoxique n'a été observé (Wilcks et al. 2006a). Par ailleurs, aucun effet nocif n'a été rapporté chez des mammifères insectivores après ingestion d'insectes moribonds tués par des pesticides commerciaux à base de *B. thuringiensis* (Bellocq et al. 1992) (et décrit par Glare et O'Callaghan 2000). Aucun effet nocif sur les bactéries intestinales normales n'a été observé chez des rats ayant ingéré 10^8 spores de *B. thuringiensis* (Wilcks et al. 2006b). Le nombre de cellules végétatives de la souche ATCC 10792^T de *B. thuringiensis* a diminué de 90 % en 4 h dans le rumen de bovins, alors que le nombre de spores n'a pas diminué même après 24 h (Adams et Hartman 1965).

B. thuringiensis ssp. *kurstaki*, *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* et *B. thuringiensis* ssp. *tenebrionis*, connus pour produire des entérotoxines analogues à celles de *B. cereus*, n'ont entraîné aucun effet nocif chez des rats auxquels on avait administré par voie orale une dose de 1×10^{12} spores (+cristaux) sur une période de trois semaines ou par voie sous-cutanée une dose unique de 1×10^6 spores (+cristaux) (Bishop et al. 1999). Chez des poulets auxquels on a administré des cellules végétatives de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki*, la bactérie a été détectée dans leur tube digestif et leurs excréments jusqu'à quatre jours plus tard. Par comparaison, chez des poulets auxquels on avait administré des spores de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki*, la bactérie a été détectée dans leur tube digestif et leurs excréments jusqu'à 13 jours plus tard. Aucun signe d'effet nocif n'a été observé chez aucun des poulets (Zhang et al. 2012).

Il n'existe pas de renseignements disponibles sur les effets qu'aurait *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* sur les vertébrés aquatiques, possiblement en raison du fait que seuls *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* et *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* ont été utilisés comme biocides contre des organismes aquatiques nuisibles par le passé.

Des études requises pour appuyer l'utilisation de sous-espèces de *B. thuringiensis* actuellement homologuées comme pesticides, dont les sous-espèces *kurstaki*, *tenebrionis*, *israelensis* et *aizawai*, ont été menées sur la truite et le crapet arlequin. Aucune toxicité ni aucune pathogénicité n'a été observée après une exposition à l'une ou l'autre des sous-espèces de *B. thuringiensis* (EPA 1998).

Il n'existe aucun équivalent connu aux récepteurs de la toxine Cry chez les mammifères, de sorte que ces toxines sont considérées inoffensives pour les mammifères (Betz et al. 2000, Broderick et al. 2006, Hofte et Whiteley 1989, EPA 1998) et, d'après le mode d'action de ces toxines, il ne devrait y avoir aucun effet nocif sur les vertébrés terrestres et les vertébrés aquatiques.

Invertébrés

Une variété de souches de *B. thuringiensis* sont utilisées comme insecticides. De façon générale, elles sont efficaces contre les larves des insectes ciblés et ont une toxicité limitée chez les insectes adultes. Les diverses souches de *B. thuringiensis* visent des gammes d'insectes spécifiques et différentes en fonction des toxines Cry produites. Historiquement, les larves terrestres des lépidoptères étaient les seules cibles connues sensibles à *B. thuringiensis* Berliner. De nouvelles souches de *B. thuringiensis* produisant d'autres formes de toxine Cry ont maintenant été découvertes, de sorte que les applications de *B. thuringiensis* en tant que biocide et la gamme d'espèces ciblées se trouvaient élargies, pour englober par exemple les larves aquatiques des moustiques et des mouches noires (*B. thuringiensis* spp. *israelensis*), les spongieuses, la tordeuse des bourgeons de l'épinette et la livrée des forêts (*B. thuringiensis* spp. *kurstaki*), ainsi que le doryphore de la pomme de terre (*B. thuringiensis* spp. *tenebrionis*). La plupart des autres invertébrés ne sont pas sensibles aux toxines Cry (comme décrit par English et Slatin 1992). En raison de la spécificité des hôtes ciblés par les diverses souches de *B. thuringiensis*, l'évaluation des effets sur les espèces ciblées dans le présent rapport consistera principalement en une description des effets de *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis*, de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* et de la toxine insecticide Cry1Ba connue pour être produite par la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*.

Effets sur les espèces ciblées

De nombreuses sous-espèces de *B. thuringiensis* ont été isolées de larves d'insectes mortes ou moribondes et, dans la plupart des cas, ces isolats étaient toxiques pour les insectes desquels ils avaient été isolés. D'après les travaux de Heimpel et Angus (1960), *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* est principalement toxique pour les lépidoptères, et les préparations commerciales à base de *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* sont efficaces contre les lépidoptères (Arthur et Angus 1965).

Des expériences en laboratoire avec des larves de *Thymelicus lineola* (lépidoptère, hespérie des graminées) ont révélé que les larves mouraient après l'ingestion de *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis*. Les effets observés chez les larves étaient une

lenteur, une inhibition de l'alimentation, la mort après 24 à 48 h à 22 °C et la présence de cellules végétatives dans l'hôte. Lors de tests sur le terrain, *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* s'est révélé efficace contre *Colias eurytheme* (lépidoptère, coliaide de la luzerne) (Arthur et Angus 1965). La DE₅₀ (dose efficace médiane, entraînant notamment une paralysie en l'espace de 6 h) de l'inclusion parasporale exempte de spore de *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* est de 26 µg/g pour la chenille de *Bombyx mori* (lépidoptère; ver à soie) et la DL₅₀ (dose létale médiane) à 48 h est de 5 µg/g (Angus 1967).

La toxine Cry1Ba purifiée, présente chez la souche ATCC 13367, provoquait un taux de mortalité de 40 % à une dose de 8 000 ng/cm² chez les larves du premier instar d'*Asymmethetes vulcanorum* (coléoptère, Curculionidae) (Gómez et al. 2012). La CL₅₀ (concentration létale médiane) de la toxine Cry1B chez les larves du premier instar de *Spodoptera exigua* (lépidoptère, légionnaire de la betterave) est de 0,86 µg/cm² (Qiong et al. 2012).

Lors de tests par voie alimentaire, la toxine Cry1B s'est avérée toxique pour *Hypothenemus hampei* (coléoptère, scolyte des graines de café) (López-Pazos et al. 2009). La toxicité de la toxine Cry1B pour *Spodoptera frugiperda* (lépidoptère, légionnaire d'automne) est variable et est fonction de l'origine des populations d'insectes ciblées (Monnerat et al. 2006). La toxine Cry1B est hautement active contre les larves du premier instar de *Thaumetopoea pityocampa* (lépidoptère, processionnaire du pin), avec une CL₅₀ de 1830 pg/µL (Rausell et al. 1999).

Effets sur les espèces non ciblées

Des tests réalisés par des chercheurs d'Environnement et Changement climatique Canada avec des spores de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* n'ont révélé aucun effet significatif sur la survie ou la reproduction de *Folsomia candida* (collembole) ou d'*Eisenia andrei* (Haplotaxida, ver du fumier) après une exposition à des concentrations de 5,67 × 10⁶ ou 25,5 × 10⁶ cellules végétatives par gramme de sol⁷ (Princz 2005).

Des tests ont été menés sur des abeilles mellifères avec la toxine Cry1Ba purifiée, détectée chez la souche ATCC 13367, et aucun effet significatif n'a été observé sur le taux de survie des abeilles adultes ayant ingéré la toxine (Malone et al. 2001, Malone et al. 1999). Étant donné qu'il existe peu de renseignements sur les effets de *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* ou des toxines Cry1B et Cry1Ba sur les invertébrés terrestres non ciblés, les effets de sous-espèces mieux étudiées seront également pris en compte.

⁷ Les tests ont été réalisés à la Section de l'évaluation et de la normalisation biologiques du Laboratoire de biotechnologie des sols, en suivant le Guide des essais de pathogénicité et de toxicité de nouvelles substances microbiennes pour les organismes aquatiques et terrestres (SPE1/RM/44, mars 2004).

Les préparations commerciales de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* n'ont aucun effet mesurable sur l'abondance, la distribution, la diversité ou l'alimentation des microarthropodes non ciblés vivant dans le sol (Addison et al. 2006), et elles n'ont aucun effet significatif sur la survie des abeilles mellifères adultes (Malone et al. 1999).

Des tests ont été réalisés avec la toxine Cry1Ac purifiée sur 14 espèces d'insectes, et aucun effet significatif n'a été observé chez *Myzus persicae* (hémiptère), *Blattella germanica* (Blattodea), *Aedes aegypti* (diptère), *Leptinotarsa decemlineata*, *Diabrotica undecimpunctatata*, *Anthonomus grandis* (coléoptère), *Apis mellifera* (hyménoptère, abeille mellifère), *Nasonia vitripennis* (hyménoptère, guêpe parasite), *Chrysopa carnea* (névroptère, lion des pucerons) ou *Hippodamia convergens* (coléoptère, coccinelle) (Sims 1995). Des épreuves biologiques réalisées avec des toxines purifiées de *B. thuringiensis* ont révélé que les toxines Cry9C et Cry1F sont relativement non toxiques pour les larves du premier instar du monarque. Les monarques se sont révélés sensibles aux toxines Cry1Ab et Cry1Ac, mais la sensibilité diminuait chez les larves plus âgées (Hellmich et al. 2001).

Il existe de nombreuses études de terrain sur les effets des cultures transgéniques produisant des toxines Cry (en particulier les toxines Cry1Ab et Cry3Bb1) sur les macroorganismes du sol, comme les cloportes, les collemboles, les acariens, les lombrics, les escargots et les nématodes. De façon générale, la comparaison de cultures transgéniques et de cultures non transgéniques n'a révélé aucun effet significatif (décrit dans Icoz et Stotzky 2008, Yu et al. 2011). Une méta-analyse d'études regroupant 26 taxons d'arthropodes a montré que le maïs transgénique produisant des toxines de *B. thuringiensis* n'avait aucun effet sur les herbivores communs ni sur les arthropodes prédateurs et parasitoïdes couramment présents dans les champs en Europe méridionale (Comas et al. 2014). Une méta-analyse de 42 études de terrain portant sur des cultures transgéniques produisant diverses toxines Cry a montré que les invertébrés non ciblés sont généralement plus abondants dans les champs de coton transgénique et de maïs transgénique que dans les cultures non transgéniques traitées avec des insecticides. Cependant, dans les champs témoins exempts d'insecticides, certains taxons non ciblés sont également moins abondants (Marvier et al. 2007).

En ce qui concerne les papillons, les rapports ayant trait aux effets du pollen de plantes transgéniques exprimant des toxines Cry de *B. thuringiensis* sont contradictoires. Selon certaines études, il y aurait des effets sur les chenilles du monarque (Jesse et Obrycki 2000, Losey et al. 1999), tandis que selon d'autres il n'y aurait aucun effet nocif sur les papillons (Hellmich et al. 2001, Wraight et al. 2000). Une telle différence entre les effets observés chez les larves et chez les adultes est attendue. Les effets observés semblent être limités au pollen d'un hybride spécifique de maïs Bt parmi trois variétés étudiées (Hellmich et al. 2001, StanleyHorn et al. 2001, Zangerl et al. 2001).

Selon un rapport portant sur les impacts de cultures génétiquement modifiées exprimant plusieurs protéines de *B. thuringiensis* et sur la question de savoir s'il est possible de prédire les interactions avec les protéines de *B. thuringiensis*, les protéines pesticide de *B. thuringiensis* peuvent être classées comme ayant une toxicité élevée

pour les invertébrés non ciblés lorsqu'elles sont actives dans la gamme de concentrations 0,01-0,10 µg/mL (en deçà du 25^e centile, protéines actives contre les diptères), une toxicité moyenne lorsqu'elles sont actives dans la gamme 0,10-10 µg/mL (protéines actives contre les lépidoptères, les diptères et les coléoptères) et une toxicité faible lorsque la CL₅₀ se situe dans la gamme 10-100 µg/mL (au-delà du 75^e centile; protéines efficaces contre les coléoptères et les nématodes) (COGEM 2014).

Invertébrés aquatiques

Historiquement, les larves terrestres des lépidoptères étaient les seules cibles connues sensibles à *B. thuringiensis* Berliner. Des renseignements similaires reçus d'autres pays et les données historiques sur la souche ATCC 13367 indiquent que la gamme d'espèces ciblées par cette souche aurait très probablement été les invertébrés terrestres de l'ordre des lépidoptères, de sorte que tous les invertébrés aquatiques sont considérés non ciblés par la souche inscrite sur la LIS. Étant donné qu'il existe peu de renseignements sur les effets de *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* sur les espèces aquatiques, les effets de sous-espèces mieux étudiées utilisées dans les milieux aquatiques et testées sur des invertébrés aquatiques non ciblés seront pris en compte.

Les sous-espèces de *B. thuringiensis* actuellement homologuées comme pesticides, dont les sous-espèces *kurstaki*, *tenebrionis*, *israelensis* et *aizawai*, ont été testées sur des daphnies, des crevettes du genre *Palaemonetes* et des copépodes dans le cadre des études requises pour appuyer l'homologation de pesticides. Pour les daphnies, les sous-espèces *kurstaki* et *israelensis* étaient modérément toxiques et *aizawai* était hautement toxique. Aucune de ces sous-espèces n'était toxique pour les crevettes marines du genre *Palaemonetes* ou pour les copépodes marins (EPA 1998).

Des souches pesticides de *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* ont été appliquées délibérément dans des milieux aquatiques pour lutter contre les moustiques et les mouches noires. Les effets observés chez les espèces non ciblées dans ce contexte sont résumés ci-dessous :

- l'utilisation de *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* contre les larves de chironomes dans des bassins expérimentaux et des étangs situés sur des terrains de golf a provoqué une diminution de la population de chironomes (diptères) (Ali 1981);
- l'utilisation de *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* dans des étangs situés sur des terrains de golf n'a eu aucun effet néfaste sur les insectes non ciblés, comme les rotifères, les espèces du genre *Cyclops*, les daphnies, les espèces du genre *Baetis*, les ostracodes, les corixidés, les notonectes ou les coléoptères (Ali 1981);
- les préparations de spores de *B. thuringiensis* spp. *israelensis* utilisées pour lutter contre les mouches noires dans les milieux aquatiques n'ont eu aucun effet nocif sur les macro-invertébrés aquatiques non ciblés (*Heptagenia*, *Hexagenia*, *Anthopotamus*, *Dicrotendipes*), à l'exception des

genres *Petrophila* et *Polypedilum* pour lesquels une légère diminution du nombre d'organismes a été notée (Jackson et al. 1994).

L'exposition des coraux *Acropora millepora* et *Acropora tenuis* à un insecticide à base de *B. thuringiensis* ssp. *israelensis*, à des concentrations de 10 à 100 fois supérieures à la concentration efficace chez les moustiques ciblés, n'a entraîné aucun effet négatif sur les divers stades de développement de ces coraux. *Lanthella basta* (éponges et coraux adultes) ne présentait aucun signe de maladie des coraux ou des éponges (Negri et al. 2009).

Effets à l'échelle de la population découlant de l'utilisation à grande échelle de *B. thuringiensis* : effets environnementaux

Une étude de terrain menée dans des conditions naturelles, après des applications aériennes de *B. thuringiensis* pour lutter contre la tordeuse du pin gris en Ontario, n'a montré aucun impact détectable sur l'abondance des petits mammifères (rongeurs et musaraignes) dans la zone traitée (Innes et Bendell 1989). Une étude intégrée de 6 ans sur les effets de *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* sur le zooplancton, les insectes et les oiseaux nicheurs de zones humides a mis en évidence une diminution de la densité des populations d'insectes. Cependant, aucun effet négatif n'a été observé sur le zooplancton ni sur les oiseaux nicheurs (Hershey et al. 1998, Niemi et al. 1999). Une étude de 2 ans sur l'utilisation de *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* comme larvicide contre des communautés de macro-invertébrés benthiques dans des zones humides a mis en évidence des effets sur les populations d'insectes, mais des effets minimes sur les macro-invertébrés autres que les insectes, de sorte qu'elle a été considérée comme étant généralement sans danger pour les espèces non ciblées (Hershey et al. 1998). Une étude de terrain menée dans un chenal a révélé que *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* n'avait aucun effet sur divers insectes aquatiques prélevés dans leur environnement naturel après l'application de préparations insecticides à une concentration 100 fois supérieure à la concentration prévue dans l'environnement (Kreutzweiser et al. 1992). Des tests sur les effets de formulations insecticides de *B. thuringiensis* ssp. *Kurstaki*, à des concentrations 100 et 1 000 fois supérieures aux concentrations prévues dans l'environnement, sur la communauté microbienne d'un milieu aquatique naturel ont montré que la bactérie n'avait aucun effet sur la communauté microbienne et posait un faible risque au milieu aquatique (Kreutzweiser et al. 1996).

Quelques études mentionnent les effets de toxines Cry. L'ajout de toxines Cry purifiées dans le sol lors d'une expérience en serre n'a eu aucun effet significatif ni mesurable sur la communauté microbienne (Griffiths et al. 2007). De plus, la quantité de toxines Cry1Ab libérées par les exsudats racinaires et la biomasse des cultures de maïs Bt n'a eu aucun effet sur une espèce de lombric ni sur le nombre total de nématodes, de protozoaires, de bactéries et de champignons extraits des microcosmes expérimentaux ou du sol (Muchaonyerwa et al. 2002, O'Callaghan et al. 2005, Saxena et Stotzky 2001).

Les propriétés insecticides de *B. thuringiensis* sont principalement dues à la présence de toxines Cry, dont les effets sur l'hôte cible se limitent aux stades larvaires. Il n'existe aucun rapport dans la littérature indiquant des effets de *B. thuringiensis* utilisé comme insecticide sur des populations adultes d'hôtes cibles. Il n'y a également aucun rapport dans la littérature indiquant un effet nocif quelconque sur la biodiversité ou la chaîne alimentaire de l'environnement après l'utilisation de préparations commerciales de *B. thuringiensis* contre des organismes nuisibles vivant dans des milieux aquatiques ou terrestres.

3.1.4.2 Santé humaine

En général, *B. thuringiensis* est considéré non pathogène pour l'humain. Malgré son ubiquité dans la nature, *B. thuringiensis* a rarement été isolé dans des échantillons cliniques, et les cas d'infection chez l'humain sont rares. La fréquence des cas d'infection chez les personnes immunocompétentes est extrêmement faible.

Une étude menée avec des volontaires humains a été trouvée dans la littérature. Pour cette étude, des volontaires avaient ingéré quotidiennement pendant 5 jours 1 g d'une préparation commerciale de capsules de spores de *B. thuringiensis* (9×10^9 cellules). Cinq des 18 volontaires avaient également inhalé quotidiennement pendant 5 jours 100 mg de poudre (9×10^8 cellules). Aucun effet nocif observable n'a été constaté pendant la durée de l'étude (Fisher et Rosner 1959).

Des études de surveillance menées dans des zones où *B. thuringiensis* est utilisé comme pesticide ont fourni des données sur une importante population exposée à des spores. Une étude de surveillance a été menée auprès de deux populations, une comptant 80 000 personnes et l'autre 40 000, dans un secteur où une préparation commerciale contenant des spores de *B. thuringiensis* avait été appliquée par pulvérisation. Les quatre plus grands laboratoires cliniques ont participé à l'étude, et tous les échantillons cliniques positifs pour *Bacillus* sp., qui avaient été prélevés au moment de l'application par pulvérisation et un mois plus tard, ont été soumis à des analyses visant à déceler la présence de *B. thuringiensis*. *B. thuringiensis* a été isolé chez 55 patients. Dans 52 de ces cas, on a jugé que la bactérie était un simple contaminant et qu'elle n'était pas à l'origine d'une maladie clinique. Dans les trois autres cas, il s'est avéré impossible d'établir avec certitude que *B. thuringiensis* était responsable de l'infection, car les patients en cause avaient des problèmes de santé préexistants (Green et al. 1990). Dans une autre zone où des préparations commerciales de spores de *B. thuringiensis* avaient été appliquées par pulvérisation, les activités de surveillance microbiologique et épidémiologique n'ont révélé aucun cas apparenté de diarrhée associé à *B. thuringiensis*, que ce soit dans la population générale ou chez les personnes ayant pulvérisé le produit, et ce, même si *B. thuringiensis* avait été isolé dans des échantillons cliniques prélevés chez des patients au moment de la pulvérisation de la préparation commerciale (Noble et al. 1992).

Un mécanisme de déclaration de tous les pesticides est en vigueur au Canada. Au total, il y a eu 58 rapports d'incident concernant des pesticides dont le principe actif est *B. thuringiensis*. La plupart des cas rapportés ont été considérés mineurs, et les symptômes rapportés incluaient : éruptions cutanées, toux, irritation de la gorge, maux de tête, insomnie, écoulement nasal, anxiété, bronchite, saignement de nez, œdème, congestion, démangeaisons, éternuements, difficultés respiratoires, diarrhée, urticaire, crises d'asthme. Un incident a été considéré grave et six autres modérés. Un faible nombre de ces cas pourrait avoir été dû à une exposition à *B. thuringiensis*. Onze cas concernaient des personnes qui étaient déjà atteintes d'asthme (ARLA-SC 2016b).

Quelques souches commerciales et non commerciales de *B. thuringiensis* possédant les trois gènes codant les entérotoxines hbl, nhe et cytK ont été isolées dans des fruits et des légumes, comme des tomates, des concombres et des poivrons. Toutefois, aucun cas d'infection n'a été associé à ces souches (Frederiksen et al. 2006).

À ce jour, aucune étude de toxicité pour les mammifères n'a mis en évidence que les préparations commerciales de spores de l'une ou l'autre des sous-espèces de *B. thuringiensis* pouvaient avoir des effets nocifs sur la santé par quelque voie d'exposition que ce soit (décrit dans McClintock et al. 1995, ARLA-SC 2006, EPA 1998). Aucune toxine ni aucun métabolite connu de *B. thuringiensis* n'a été identifié comme perturbateur endocrinien ou agent immunotoxique (EPA 1998).

Il n'existe aucun équivalent connu des récepteurs des toxines Cry chez les mammifères, de sorte que ces toxines sont considérées inoffensives pour les humains et les autres mammifères (Betz et al. 2000, Broderick et al. 2006, Hofte et Whiteley 1989, EPA 1998).

Études expérimentales

Des chercheurs de Santé Canada ont réalisé des tests in vitro et in vivo pour évaluer le potentiel de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* à causer des effets cytotoxiques ou des effets nocifs pour le système immunitaire. Aucun changement n'a été observé dans des cellules épithéliales du côlon chez l'humain (HT29) jusqu'à 24 heures après une exposition à des spores de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*. Cette souche s'est révélée hémolytique pour des érythrocytes de diverses sources, à 28 °C et à 37 °C (voir le tableau B-2 : Caractéristiques de croissance de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* dans un milieu solide à diverses températures). Des souris BALB/c ont été exposées par voie endotrachéale à 10^6 ou 10^5 spores ou cellules végétatives de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*. Globalement, l'exposition aux spores n'a entraîné aucun effet nocif, et les spores de *B. thuringiensis* ont été éliminées dans les 4 jours suivant l'exposition. Cependant, l'exposition de souris à des cellules végétatives ($10^5 - 10^6$) par voie endotrachéale a provoqué des symptômes semblables à un choc (léthargie, pelage ébouriffé, dos voûté, détresse respiratoire) dans les 2 h suivant l'exposition et une infiltration granulocytaire dans les poumons 4 h après l'exposition (Tayabali et al. 2011).

Des souris BALB/c ayant reçu de $3,4 \times 10^6$ à $3,5 \times 10^5$ UFC de spores de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* et de *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* (biopesticides commerciaux à base de souches de *B. thuringiensis*) par instillation intratrachéale ont présenté une réponse inflammatoire aiguë. Après 24 h, la réponse inflammatoire était dominée par des neutrophiles. Quatre jours après l'instillation, le nombre de neutrophiles s'est normalisé et la réponse inflammatoire était dominée par des lymphocytes et des éosinophiles. Après 70 jours, quelques cellules inflammatoires étaient présentes dans la lumière des poumons. Il semble donc, vraisemblablement, que la présence prolongée de spores de *B. thuringiensis* ait déclenché et entretenu une réponse inflammatoire, ce qui a provoqué une inflammation subchronique des poumons (Barfod et al. 2010).

Des souris BALB/c ont été exposées par inhalation à de faibles doses répétées (1 h par jour, 5 jours par semaine ou pendant 2 semaines) d'un aérosol à raison de 2,52 L/h par souris, représentant en théorie $1,9 \times 10^4$ UFC de spores de *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* et $2,3 \times 10^3$ UFC de spores de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* par exposition. Soixante-dix jours après la fin de l'exposition à l'aérosol, 3 souris sur 17 présentaient une inflammation pulmonaire interstitielle. La pléthysmographie a révélé que l'inhalation de l'aérosol n'a pas provoqué d'irritation des voies respiratoires (Barfod et al. 2010).

Rapports de cas d'infection ou de toxicité

Bien que *B. thuringiensis* ne soit pas considéré comme un agent pathogène pour l'humain, certains cas d'infection ont été attribués à cette bactérie.

B. thuringiensis a été associé à des cas d'infection oculaire et décrit comme étant potentiellement toxique pour les yeux. Des épreuves de sensibilité aux antibiotiques ont révélé que la ciprofloxacine et la vancomycine sont efficaces contre les infections oculaires causées par cette bactérie (Callegan et al. 2006).

- Un travailleur agricole a présenté une infection oculaire et un ulcère cornéen dans un œil après avoir été accidentellement éclaboussé par un produit commercial à base de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki*. L'ulcère cornéen s'est résorbé après un traitement de 14 jours consistant en des injections sous-conjonctivales de gentamicine et de céfazoline sodique (Samples et Buettner 1983).
- La production d'un ensemble de toxines (entérotoxines, phospholipases, hémolysines et protéases) et la motilité ont été associées à la virulence oculaire de *B. thuringiensis* dans un modèle lapin d'infection oculaire (Callegan et al. 2005).
- Un cas de cellulite périorbitaire causée par *B. thuringiensis* a été signalé chez une fillette de 7 ans (Peker et al. 2010).

B. thuringiensis a également été associé à des plaies superficielles.

- *B. thuringiensis* a été isolé de brûlures (Damgaard et al. 1997).

- Le sérotype H34 de *B. thuringiensis* ssp. *konkukian* a été isolé de plaies ouvertes (la bactérie a par la suite été identifiée comme étant la souche 97-27) (Hernandez et al. 1998). Des données expérimentales ont révélé que cette souche pouvait causer une infection chez des souris immunodéprimées après une inoculation cutanée (Hernandez et al. 1999) et qu'elle était associée au clade I, comme *B. anthracis* (Hill et al. 2004). Une comparaison ultérieure du génome entier de *B. thuringiensis* 97-27 ssp. *konkukian* a révélé des différences sur le plan de la virulence, de la compétence métabolique, des composantes structurales et des mécanismes de régulation, et l'arbre phylogénétique donne à penser qu'il s'agit d'une souche distincte des autres souches de *B. thuringiensis*, probablement une souche pathogène de *B. cereus* ou de *B. anthracis* (Han et al. 2006).
- Un travailleur de laboratoire a contracté une infection des tissus mous après s'être piqué accidentellement avec une seringue hypodermique en manipulant un milieu de croissance contenant des spores et des toxines Cry de *B. thuringiensis* ssp. *israelensis* et des bactéries du genre *Acinetobacter*. L'intoxication qui s'est ensuivie semble avoir découlé d'un effet synergique entre les bactéries du genre *Acinetobacter* et les toxines Cry (Warren et al. 1984).

La bactérie *B. thuringiensis* a été associée à une bactériémie chez un patient neutropénique et peut avoir été responsable de l'atteinte pulmonaire grave ultérieure (Ghelardi et al. 2007).

Selon certains auteurs, les cas de maladie causée par *B. thuringiensis* pourraient avoir été mal diagnostiqués comme étant causés par *B. cereus*, car il est possible que *B. thuringiensis* ne produise pas ses toxines cristallines caractéristiques aux effets insecticides lors d'une incubation à 37 °C, en raison de la perte des plasmides renfermant les gènes codant les toxines (Granum et Lund 1997, Granum 2007). Par conséquent, une sous-déclaration du nombre de cas d'infection d'origine alimentaire attribuables à *B. thuringiensis* est possible. Selon la littérature scientifique, la bactérie *B. thuringiensis*, identifiée à tort comme étant *B. cereus*, a été isolée chez des patients atteints de gastro-entérite (Jackson et al. 1995). Des bacilles isolés dans des échantillons alimentaires, d'abord identifiés comme étant *B. cereus* au moyen de méthodes phénotypiques, puis identifiés comme étant *B. thuringiensis* par PCR, ont été associés à des cas d'intoxication alimentaire découlant de l'ingestion de fraises (McIntyre et al. 2008). La bactérie *B. thuringiensis* a également été impliquée dans quatre éclosions d'intoxication alimentaire, causant des symptômes tels que des nausées, de la diarrhée, des crampes abdominales, des vomissements, de la fièvre et des maux de tête (McIntyre et al. 2008). Cependant, ces isolats de *B. thuringiensis* provenaient d'échantillons alimentaires associés aux éclosions et non d'échantillons cliniques, de sorte qu'il est impossible de confirmer que *B. thuringiensis* ait été en cause. En revanche, *B. cereus* a été déclaré responsable d'éclosions d'origine alimentaire dans plus de 100 événements rapportés au Canada seulement.

Allergénicité

Des tests d'hypersensibilité réalisés sur des cobayes, auxquels une préparation commerciale de spores de *B. thuringiensis* a été administrée de façon répétée pendant 3 semaines par injection sous-cutanée et par application topique sur une peau intacte ou une peau abrasée afin de stimuler le système immunitaire, ont causé un œdème et un érythème légers, signes d'une irritation localisée. Aucune réaction n'a été observée après l'application sur une peau intacte. Une épreuve de provocation a été effectuée 2 semaines après la dernière application. Il n'y a eu aucun signe de réaction allergique (Fisher et Rosner 1959).

Aucune réaction allergique grave à une préparation commerciale à base de *B. thuringiensis* n'a été rapportée chez des travailleurs exposés en effectuant une pulvérisation au sol. En cas de réactions, les symptômes rapportés comprenaient des maux de tête, une irritation du nez, de la gorge et des yeux, une sécheresse cutanée et des gerçures aux lèvres (Noble et al. 1992).

Aucun cas de sensibilisation à des formulations commerciales de *B. thuringiensis* n'a été rapporté, ce qui corrobore l'absence de préoccupations en ce qui concerne l'allergénicité des toxines Cry (décrit dans McClintock et al. 1995). Seule une étude menée chez des travailleurs agricoles a révélé que certains sujets présentaient une induction des anticorps IgE et IgG et avaient obtenu des résultats positifs à des tests cutanés d'allergie après avoir appliqué des pesticides commerciaux à base de *B. thuringiensis* par pulvérisation, mais il n'y avait aucun signe de symptômes respiratoires associés à une exposition professionnelle (Bernstein et al. 1999).

Des études portant sur le devenir digestif des toxines Cry produites par des plantes transgéniques Bt et des études de bio-informatique portant sur le risque de réactivité croisée allergique de diverses toxines Cry ont révélé qu'aucune des toxines Cry ne représente un risque notable d'allergénicité (Betz et al. 2000, Randhawa et al. 2011).

3.2 Gravité du danger

3.2.1 Environnement

Le potentiel de danger environnemental de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* pour les plantes terrestres et les plantes aquatiques, pour les vertébrés terrestres et les vertébrés aquatiques, ainsi que pour la plupart des invertébrés terrestres et des invertébrés aquatiques, est estimé faible. Cependant, il est estimé élevé pour les larves de certaines espèces de l'ordre des lépidoptères et pour quelques espèces de l'ordre des coléoptères et de l'ordre des diptères.

- 1) Il est possible de différencier *B. thuringiensis* des autres membres du groupe *B. cereus* au moyen de la production de toxines Cry ou de la présence de gènes cry associés à des cristaux bipyramidaux.

- 2) Des données historiques ainsi que des données sur l'histoire de la souche amènent à penser que la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* appartient à la sous-espèce *thuringiensis*.
- 3) L'effet insecticide de *B. thuringiensis* découle principalement de l'activité des toxines Cry exprimées, chacune d'elles ayant une gamme d'hôtes étroite.
- 4) Une analyse du génome complet de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* a révélé que la bactérie ne contient que le gène *cry1Ba*, signifiant que les effets néfastes de cette souche sont limités aux larves des espèces sensibles à la toxine Cry1Ba, à savoir :

Lépidoptères :

- *Chrysomela scripta*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Lucilia cuprina*, *Musca domestica*, *Hyphantria cunea*, *Diacrisia obliqua*, *Bombyx mori*, *Pectinophora gossypiella*, *Phthorimaea operculella*, *Lambdina fiscellaria*, *Conopomorpha cramerella*, *Wiseana cervinata*, *Wiseana copularis*, *Wiseana jocose*, *Malacosoma disstria*, *Cacyreus marshalli*, *Orgyia leucostigma*, *Perileucoptera coffeella*, *Agrotis ipsilon*, *Actebia fennica*, *Helicoverpa zea*, *Helicoverpa armigera*, *Heliiothis virescens*, *Mamestra brassicae*, *Pseudoplusia includens*, *Spodoptera exigua*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera littoralis*, *Pieris brassicae*, *Artogeia rapae*, *Plutella xylostella*, *Chilo suppressalis*, *Ostrinia nubilalis*, *Crocidolomia binotalis*, *Diatraea saccharalis*, *Diatraea grandiosella*, *Hellula undalis*, *Thaumetopoea pityocampa*, *Choristoneura fumiferana*, *Cydia pomonella*, *Epiphyas postvittana*, *Epinotia aporema*;

Diptères :

Lucilia cuprina, *Musca domestica*;

Coléoptères :

Anaplohora glabripennis, *Anthonomus grandis*, *Chrysomela scripta*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Phaedon cochleariae*, *Hypothenemus hampei*.

- 5) Certains sous-produits de fermentation ou exotoxines de *B. thuringiensis* peuvent être toxiques/pathogènes pour les daphnies, les abeilles mellifères et d'autres insectes non ciblés. Cependant, aucun effet toxique n'a été attribué à Cry1Ba, sauf chez les espèces sensibles susmentionnées.
- 6) Des données non publiées d'Environnement et Changement climatique Canada montrent que, lors de tests de toxicité, la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* n'a eu aucun effet nocif sur les invertébrés terrestres *Folsomia candida* (collembole) et *Eisenia andrei* (ver du fumier) ni sur la plante terrestre *Trifolium pratense* (trèfle des prés).
- 7) Des études sur la pathogénicité et la toxicité de *B. thuringiensis* montrent que la bactérie n'a aucun effet nocif sur les espèces non ciblées, y compris les vertébrés et les plantes terrestres et aquatiques. Par conséquent, dans des circonstances normales, la bactérie n'est pas considérée comme un danger pour

les animaux d'élevage en bonne santé ou d'autres organismes dans l'environnement.

- 8) Malgré sa présence dans la nature et les rejets fréquents et répétés dans l'environnement en tant qu'insecticide, rien dans la littérature n'indique que l'une ou l'autre des souches ou des sous-espèces de *B. thuringiensis* ait un effet nocif sur les espèces ciblées à l'échelle de la population, entraînant une épizootie ou des répercussions nocives sur l'écosystème récepteur.
- 9) Une recherche menée dans le Registre public des espèces en péril a montré qu'aucun des arthropodes sensibles à la toxine Cry1Ba ne figure parmi les espèces considérées comme étant disparues du pays, en voie de disparition, menacées ou préoccupantes (LEP 2016).

3.2.2 Santé humaine

Le danger pour l'homme potentiellement posé par la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* est évalué faible à modéré.

- 1) Il est possible de différencier *B. thuringiensis* des autres membres du groupe *B. cereus* grâce à la présence de toxines Cry ou de gènes cry associés à des cristaux bipyramidaux.
- 2) La croissance de *B. thuringiensis* est bonne à 37 °C et 42 °C.
- 3) Une analyse du génome de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* révèle que la bactérie possède les gènes codant les toxines suivantes : Cry1B, Cry1Ba, Nhe, HBL, CytK, hémolysine II, hémolysine III, EntFM (maintenant appelée CwpFM), céréolysine O et phospholipase C.
- 4) Les entérotoxines Nhe, HBL et CytK, semblables à celles de *B. cereus*, mises en cause dans des éclosions de maladies d'origine alimentaire, ont été historiquement associées à *B. cereus*, et aucune souche commercialisée de *B. thuringiensis* n'a été liée de façon conclusive à une éclosion de cas d'intoxication alimentaire. Cependant, étant donné qu'il est difficile de distinguer les membres du groupe *B. cereus* les uns des autres, il peut y avoir une sous-déclaration des cas de maladie d'origine alimentaire due à *B. thuringiensis*.
- 5) Les toxines Cry produites par *B. thuringiensis* ne sont pas toxiques pour les mammifères parce que les cellules de leur intestin ne possèdent pas le récepteur qui permet à la toxine d'agir et que le milieu n'est pas suffisamment alcalin pour permettre à la toxine de s'activer.
- 6) Diverses études de pathogénicité et de toxicité ont été réalisées et, à ce jour, aucune étude menée chez les mammifères n'a montré que les préparations commerciales de spores de l'une ou l'autre des sous-espèces de *B. thuringiensis* sont nocives pour les mammifères ni que les toxines Cry sont toxiques pour les mammifères.
- 7) Très peu de cas d'infection sont associés à *B. thuringiensis*. Parmi ceux rapportés, il y avait des infections au niveau de l'œil et d'une plaie et une maladie gastro-intestinale. Bien que ces infections soient semblables en nature aux infections causées par *B. cereus*, le nombre de cas est beaucoup plus faible et pourrait en fait être sous-déclaré.

- 8) Il existe des cas d'infection par *B. thuringiensis* pour lesquels des antibiotiques sont efficaces.
- 9) Selon des données de surveillance obtenues par divers gouvernements (dont celui du Canada) et des données sur la toxicité et la pathogénicité de diverses souches de *B. thuringiensis* couramment utilisées comme insecticides (OCDE 2007, ARLA-SC 2006, EPA 1998, OMS 1999), il n'y a pas d'effet nocif pour l'humain.

Les dangers liés aux microorganismes utilisés en milieu de travail devraient être classés en vertu du Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT)⁸.

4. Évaluation de l'exposition

4.1 Sources d'exposition

La présente évaluation tient compte de l'exposition à la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* due à son ajout à des produits commerciaux ou à des produits de consommation et à son utilisation dans des procédés industriels au Canada.

Il a été proposé d'inscrire *B. thuringiensis* sur la LIS en 1993 en raison de son utilisation dans des produits commerciaux et des produits de consommation. La bactérie a été inscrite sur la liste en 1997.

Des réponses à un questionnaire facultatif, envoyé en 2007 à un sous-groupe d'entreprises de biotechnologie clés, combinées à des renseignements obtenus d'autres programmes fédéraux (réglementaires ou non), indiquent qu'entre 10 000 et 100 000 kg de produits contenant potentiellement la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* ont été importés ou produits au Canada en 2006-2007 à des fins d'utilisation dans des produits commerciaux ou de consommation.

Bien que les réponses à ce questionnaire aient indiqué que des produits contenant potentiellement la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* avaient été importés à des fins d'utilisation dans des produits commerciaux ou de consommation, aucune telle utilisation n'avait été indiquée lors de la collecte obligatoire de renseignements réalisée en vertu de l'article 71 de la LCPE.

⁸ La détermination de la conformité à un ou plusieurs des critères de l'article 64 de la LCPE est basée sur une évaluation des risques potentiels pour l'environnement ou la santé humaine associés aux expositions dans l'environnement en général. Pour les humains, cela inclut, sans toutefois s'y limiter, les expositions dues à l'air, l'eau et l'utilisation de produits contenant ces substances. Une conclusion établie en vertu de la LCPE peut ne pas être pertinente pour une évaluation en fonction de critères définis dans le Règlement sur les produits dangereux, qui fait partie du cadre réglementaire du Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT). ni empêcher la tenue- d'une telle évaluation,

Le gouvernement a procédé à une collecte obligatoire de renseignements en vertu de l'article 71 de la LCPE, pour laquelle un avis a été publié dans la Partie I de la Gazette du Canada le 3 octobre 2009 (avis en vertu de l'article 71). L'avis en vertu de l'article 71 s'appliquait à toute personne qui, au cours de l'année civile 2008, avait produit ou importé la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*, seule, dans un mélange ou dans un produit. Les réponses faites indiquent que des produits contenant la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* ont été importés au Canada au cours de l'année de déclaration 2008, à des fins de lutte antiparasitaire et, en de très petites quantités, à des fins de recherche et de développement. Bien que l'avis en vertu de l'article 71 ait été destiné à recueillir des renseignements sur les souches spécifiques inscrites sur la LIS, il semble improbable que les utilisations à des fins de lutte antiparasitaires aient concerné spécifiquement la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*. Les répondants ayant déclaré des utilisations à des fins de lutte antiparasitaire vendent des produits contenant d'autres sous-espèces et d'autres souches de *B. thuringiensis* actuellement homologués en vertu de la Loi sur les produits antiparasitaires (LPA). Étant donné qu'aucun produit contenant la souche ATCC 13367 n'a été homologué par le passé et n'est pas actuellement homologué en vertu de la LPA, nous pensons que les répondants ont attribué par erreur à la souche ATCC 13367 des activités qui concernaient d'autres souches de la bactérie. Par ailleurs, selon l'ARLA, la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* n'a pas été homologué ni utilisé comme pesticide au Canada. Les utilisations à des fins de recherche et de développement identifiées ne devraient pas entraîner un rejet à grande échelle de la bactérie dans l'environnement. Bien qu'aucune autre utilisation n'ait été déclarée pour la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* lors de la collecte obligatoire de renseignements, il est possible de se procurer cette souche auprès de l'ATCC.

Étant donné que la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* est inscrite sur la LIS, elle peut être utilisée au Canada sans avis préalable et pourrait constituer un choix judicieux à des fins de commercialisation. Une recherche effectuée dans la Base de données sur les brevets canadiens révèle que :

- la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* peut être utilisée comme pesticide microbien (Bok et al. 1993), mais qu'une telle utilisation au Canada doit se faire en conformité avec la LPA;
- *B. thuringiensis* peut être utilisé dans une composition insecticide en mélange avec du pyrèthre (Westall 1980) et dans un processus visant à améliorer la lutte contre certains insectes aquatiques (Branton et Kase 1987), mais que de telles utilisations au Canada doivent se faire en conformité avec la LPA;
- des protéines purifiées isolées de *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* présentent des effets cytotoxiques contre des cellules tumorales et constituent également un traitement contre des cellules néoplasiques (Aggarwal et Padilla 1996).

Une recherche sur la bactérie *B. thuringiensis* inscrite sur la LIS dans la base de données publique sur les brevets a révélé la présence de la souche ATCC 13367 comme organisme antagoniste (Bok et al. 1993) et comme pesticide microbien destiné

à traiter des plantes, pouvant se présenter sous forme de cellules, de spores ou d'une suspension (Branly et Atkins 2001).

Une recherche dans le domaine public (fiches signalétiques, littérature scientifique et brevets) a révélé les applications commerciales, industrielles et de consommation suivantes d'autres souches de *B. thuringiensis*. Ces applications représentent des utilisations possibles de la souche inscrite sur la LIS, étant donné que la souche ATCC 13367 partage probablement des caractéristiques (modes d'action) avec d'autres souches commercialisées de *B. thuringiensis* :

- dégradation de solvants organiques polaires (Middleditch et Lee 1994);
- restauration après une contamination par des métaux lourds ou des composés aromatiques (Ibeanusi 1998, Kafilzadeh et Mokhtari 2013, Mishra et Malik 2013);
- biorestauration de sols contaminés par des halogènes (Orolin et al. 1998);
- biorestauration d'eaux usées (Cline 2001, Keeton Jr. 2007);
- amélioration de l'efficacité des méthodes de phytorestauration (Babu et al. 2013, Kumar et Chandra 2004);
- biosorption de métaux lourds souvent présents dans les milieux pollués (Hassen et al. 1998);
- stimulation de la croissance végétale (Raddadi et al. 2007);
- utilisation comme probiotique pour la santé animale (Kweon et al. 2012, Reneshwary et al. 2011);
- souches de *B. thuringiensis* pouvant également être utilisées pour produire des enzymes, des substances biochimiques ou des biopolymères :
 - des bactériocines, des autolysines, des lactonases et d'autres protéines produites par *B. thuringiensis* pourraient être utilisées par l'industrie alimentaire comme agents de biocontrôle en agriculture et en aquaculture (Bibiana et Nithyanand 2014) et dans le domaine des soins de santé humaine pour lutter contre des agents pathogènes, le cancer ou les infections fongiques (Cherif et al. 2003b, Choi et al. 2007, Raddadi et al. 2004, Raddadi et al. 2007, Yamashita et al. 2000);
 - les chitinases et les estérases de *B. thuringiensis* pourraient être utilisées dans l'industrie des détergents;
 - les chitinases de *B. thuringiensis* pourraient être utilisées pour la production de biopolymères (Schallmey et al. 2004).

4.2 Caractérisation de l'exposition

4.2.1 Exposition environnementale

D'après les réponses au questionnaire facultatif et à l'avis en vertu de l'article 71 et compte tenu du fait que les utilisations déclarées à des fins antiparasitaires ne concernent vraisemblablement pas la souche inscrite la LIS, l'exposition environnementale à la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* est estimée faible. Il est

admis que la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* peut être achetée auprès de l'ATCC et qu'elle pourrait être utilisée pour plusieurs applications de consommation, commerciales, industrielles ou agricoles, tel que décrit à la section 2.1 (Sources d'exposition). Les scénarios d'exposition environnementale suivants ont donc été pris en compte, en se basant sur des utilisations futures potentielles de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* et les caractéristiques susmentionnées.

Si ces utilisations futures potentielles devaient se matérialiser au Canada, des espèces terrestres, dont des vertébrés, des invertébrés et des plantes, pourraient être exposées à la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* après l'application de produits visant à stimuler la croissance végétale dans des cultures et des terres agricoles, après une utilisation à des fins de biodégradation, de biorestauration ou d'amélioration de l'efficacité de la phytorestauration. Les espèces terrestres, dont des vertébrés, des invertébrés et des plantes, ne devraient pas être exposées à cette souche après l'application d'insecticides dans des forêts ou sur des terres agricoles pour lutter contre des lépidoptères parasites parce que cette souche n'est pas homologuée comme insecticide et que des souches plus efficaces sont offertes sur le marché. Les applications aquatiques pourraient également exposer les espèces terrestres par l'intermédiaire des systèmes d'irrigation. Si ces utilisations futures potentielles devaient se matérialiser au Canada, diverses espèces aquatiques, dont des vertébrés, des invertébrés et des plantes, pourraient être exposées à la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* après l'application de produits visant à traiter l'eau et les eaux usées. Les espèces aquatiques pourraient également être exposées à la souche ATCC 13367 par les eaux de ruissellement provenant de secteurs où des produits contenant cette souche ont été appliqués sur le sol, de secteurs où des boues d'épuration traitées ont été épandues sur le sol ou de secteurs où des activités commerciales ou industrielles produisent des effluents.

Les organismes se trouvant sur les lieux d'application de la souche sont vraisemblablement ceux qui seront le plus directement exposés. Plus particulièrement, les espèces qui s'alimentent ou s'abreuvent près de sols traités ou contaminés pourraient ingérer la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* ou inhaler des cellules ou des spores viables présentes dans l'atmosphère. Une exposition aquatique ou terrestre à la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* due à son rejet par des installations de production d'enzymes ou de produits biochimiques devrait être limitée en suivant de bonnes pratiques de production (p. ex., en respectant les règlements municipaux et provinciaux sur les eaux usées, en produisant le produit dans une installation confinée).

L'importance de l'exposition à la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* des espèces de l'environnement et dans l'écosystème canadien dépendra de la masse ou du volume rejeté dans l'environnement, de la persistance et de la survie de la souche dans l'environnement récepteur, du type d'utilisation et de la proximité des espèces de l'environnement aux sites d'application ou de rejet.

B. thuringiensis est un microorganisme ubiquiste fréquemment isolé du sol. Les études publiées qui renferment des données sur les niveaux de population de *B. thuringiensis*

dans l'environnement naturel sont limitées. Dans des conditions favorables, les cellules végétatives pourraient survivre et se multiplier dans leurs hôtes et dans les cadavres d'insectes, mais ne devraient pas persister dans l'environnement. Les données sur la persistance de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* obtenues par Environnement et Changement climatique Canada et celles recueillies dans la littérature indiquent que les spores de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* devraient probablement persister dans un milieu terrestre pendant une période allant de quelques semaines à plusieurs mois, voire pendant des années, si les conditions sont favorables.

Si les utilisations potentielles devaient se matérialiser au Canada, des protéines insecticides pourraient également être rejetées. Les toxines Cry sont connues pour se dégrader rapidement une fois solubilisées, et leur persistance est relativement brève dans l'environnement. Les protéines insecticides libres se lient étroitement aux particules du sol, de sorte qu'il est peu probable qu'elles atteignent les systèmes aquatiques suite à un ruissellement. Toute protéine insecticide libre qui pénétrerait dans l'écosystème aquatique par ruissellement demeurerait vraisemblablement liée aux sédiments, restant ainsi moins biodisponibles.

Étant donné la commercialisation croissante des produits à base de microbes, dont certains pourraient contenir la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*, il y aura vraisemblablement une augmentation de l'utilisation de ce microorganisme et de son rejet dans l'environnement. Bien que des rejets importants de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* dans l'environnement pourraient conduire à des concentrations supérieures aux niveaux de fond de *B. thuringiensis*, il est peu probable qu'un grand nombre de cellules végétatives persistent dans l'eau et le sol en raison de la compétition microbienne (Leung et al. 1995, van Veen et al. 1997). De plus, ces utilisations ne devraient pas entraîner une exposition supérieure à celle due à l'utilisation d'autres souches et sous-espèces de *B. thuringiensis* comme pesticides.

4.2.2 Exposition humaine

D'après les réponses au questionnaire facultatif et à l'avis en vertu de l'article 71 et étant donné que les utilisations rapportées à des fins antiparasitaires ne concernent vraisemblablement pas la souche inscrite sur la LIS, l'exposition humaine à la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* est estimée faible. Étant donné qu'il est possible de se procurer la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* auprès de l'ATCC et que cette souche pourrait être utilisée à des fins de consommation, commerciales, industrielles ou agricoles, comme il a été exposé à la section 2.1 Sources d'exposition, des scénarios d'exposition due à des utilisations futures potentielles de cette souche ont été pris en compte.

L'exposition humaine directe à la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* due à l'utilisation de produits de consommation contenant des spores ou des cellules viables devrait être la plus importante. La manipulation et l'application de ces produits entraîneraient une exposition directe de la peau ou des yeux et l'inhalation de gouttelettes d'aérosol de spores.

Une ingestion accidentelle est également possible suite à l'utilisation de tels produits sur des surfaces servant à préparer des aliments ou près de ces surfaces. L'utilisation de tels produits dans des aires de préparation d'aliments pourrait entraîner la contamination des surfaces et des aliments au moment de l'application, conduisant possiblement à une ingestion.

La population générale pourrait être exposée de façon fortuite lors de l'application commerciale de produits utilisés à des fins de biodégradation, de biorestauration, de traitement des eaux et des eaux usées, de lutte antiparasitaire et agricoles. Le degré d'exposition fortuite dépendra du mode d'application, du volume appliqué et de la proximité au site d'application. En général, l'exposition fortuite et l'exposition de la population générale dues à des utilisations potentielles de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* devraient être faibles.

L'exposition humaine à des plans d'eau et à des sols traités avec la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* pourrait entraîner une exposition de la peau et des yeux, ainsi qu'une ingestion accidentelle. Les activités humaines effectuées sur des sols récemment traités avec la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* pourraient provoquer la libération de spores dans l'air, qui pourraient être inhalées ou entrer en contact avec la peau et les yeux. Ces expositions devraient être faibles comparativement à celles dues à l'utilisation directe de produits de consommation.

Le rejet de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* (figurant sur la LIS) par d'installations de production d'enzymes ou de produits biochimiques est possible, mais devrait être limité en suivant de bonnes pratiques de production visant à réduire au minimum les rejets de microorganismes.

Les risques pour la santé posés par la consommation d'eau potable devraient être négligeables, *B. thuringiensis* ne proliférant pas dans les milieux aquatiques ou d'autres sources d'eau potable. Au cas où cet organisme pénétrerait dans des systèmes de traitement de l'eau potable suite à des utilisations prévues, le procédé de traitement de l'eau, qui comprend la coagulation, la floculation, l'ozonation, la filtration et la chloration, devrait permettre de l'éliminer efficacement et, ainsi, de limiter son ingestion en consommant de l'eau potable.

D'après les scénarios susmentionnés, en cas d'augmentation ou des modification des activités de consommation, commerciales ou industrielles, l'exposition humaine à la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* pourrait elle aussi changer.

5. Caractérisation des risques

Dans la présente évaluation, le risque est caractérisé selon un paradigme voulant qu'un danger et une exposition à ce danger son requis pour qu'il se pose un risque. La conclusion de l'évaluation des risques est basée sur le danger et sur ce qui est connu de l'exposition due aux utilisations actuelles.

En se basant sur les réponses à l'enquête en vertu de l'article 71 et compte tenu du fait que les utilisations à des fins antiparasitaires déclarées ne concernent vraisemblablement pas la souche figurant sur la LIS, l'exposition à la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* due à des utilisations à des fins de consommation, commerciales ou industrielles devrait être faible et, étant donné son danger, le risque est donc faible.

La détermination des risques posés par les utilisations actuelles est suivie par la prise en compte du danger estimé ayant trait aux expositions futures prévisibles (dus à de nouvelles utilisations).

La souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* n'a pas été homologuée ni utilisée comme pesticide au Canada, et des souches insecticides plus efficaces sont actuellement commercialisées. Au cas improbable où la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* venait à être utilisée comme souche pesticide, il est possible que la bactérie soit rejetée à grande échelle dans l'environnement. Au Canada, les agents antiparasitaires microbiens et les produits pesticides commerciaux contenant la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* seraient sujets à une homologation en vertu de la LPA. Les utilisations associées à la souche inscrite sur la LIS subiraient alors une évaluation exhaustive, et toute mesure d'atténuation des risques nécessaire devrait être appliquée par l'ARLA de Santé Canada.

D'autres utilisations potentielles pourraient également entraîner un rejet dans l'environnement, mais ces rejets devraient être moindres que ceux résultant de l'application de pesticides.

Risque pour l'environnement dus à des utilisations futures potentielles

Le danger associé à la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* figurant sur la LIS a été estimé faible pour les vertébrés et les plantes terrestres et aquatiques et pour la plupart des invertébrés terrestres et aquatiques. Il est estimé élevé pour les larves de certains insectes. Des chercheurs de Santé Canada ont montré que la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* possède le gène codant la toxine Cry1Ba, une protéine possédant une toxicité sélective envers des insectes de l'ordre des lépidoptères et certaines espèces de l'ordre des diptères et de l'ordre des coléoptères. Néanmoins, d'autres sous-espèces et souches de *B. thuringiensis* ont été beaucoup utilisées comme agents biologiques de lutte antiparasitaire dans un contexte agricole ou forestier, et les données de surveillance ne permettent d'établir aucun lien entre l'utilisation de *B. thuringiensis* et un effet nocif quelconque à long terme à l'échelle de l'écosystème ou des populations d'espèces ciblées ou non ciblées.

En tenant compte de tous les éléments de preuve disponibles, nous estimons que les rejets de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* sur le site d'utilisation auraient des effets nocifs sur les larves des insectes sensibles pendant la période d'application. Toutefois, rien ne suggère que les populations entières de ces insectes sensibles

subiraient des effets nocifs. Le risque dû à des utilisations futures potentielles demeure donc faible.

Risques pour les humains dus à des utilisations futures potentielles

Le danger associé à la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* inscrite sur la LIS a été estimé faible à modéré pour la santé humaine. Si le danger n'est pas simplement faible, c'est en raison de l'expression possible de gènes codant des entérotoxines semblables à celles de *B. cereus*, qui causeraient une intoxication alimentaire.

L'exposition par ingestion représente une préoccupation de premier ordre, car la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* possède les gènes *hbl*, *nhe* et *cytK* et produit les toxines HBL et Nhe, qui sont impliquées dans des maladies gastro-intestinales. L'utilisation de produits contenant la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* 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 la bactérie. Des cycles de réchauffement et de réfrigération inadéquats sont particulièrement problématiques pour les bactéries formant des spores comme *B. thuringiensis*, parce que les spores connues pour survivre à des températures élevées. Si les conditions sont favorables, les spores peuvent également germer et produire des cellules végétatives. Ainsi, le nombre de cellules viables dans les aliments augmente exponentiellement, pour finalement atteindre un niveau pouvant entraîner des infections gastro-intestinales chez les humains.

Néanmoins, d'autres sous-espèces et souches de *B. thuringiensis* ont été beaucoup utilisées comme agents biologiques de lutte antiparasitaire dans un contexte agricole ou forestier, entraînant une exposition humaine. Les données de surveillance ne permettent pas d'établir un lien entre l'utilisation de *B. thuringiensis* et une augmentation quelconque du nombre de cas d'infection chez les non-utilisateurs dans les zones traitées par pulvérisation.

6. Conclusions

D'après les renseignements présentés dans la présente évaluation préalable, nous concluons que la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou concentration ni dans des conditions qui :

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

Par conséquent, nous concluons de conclure que la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* ne satisfait pas aux critères définis à l'article 64 de la LCPE.

Références

- AAC; 2005; Catalogue de pesticides microbiens utilisés pour les récoltes dans les pays de l'OCDE; gouvernement du Canada.
- Abdel-Hameed A. and Landen R.; 1994; Studies on *Bacillus thuringiensis* strains isolated from Swedish soils: Insect toxicity and production of *B. cereus*-diarrhoeal-type enterotoxin; *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 10(4), p. 406-9.
- ACIA; 2016; Documents des décisions – Détermination de la sécurité environnementale et de l'innocuité des aliments du bétail [Internet] [consulté le 2016-07-19]; <http://www.inspection.gc.ca/vegetaux/vegetaux-a-caracteres-nouveaux/approuves-cours-d-evaluation/documents-des-decisions/fra/1303704378026/1303704484236>.
- Adams J.C. and Hartman P.A.; 1965; Longevity of *Bacillus thuringiensis* berliner in the rumen; *J. Invertebr. Pathol.*, 7(2), p. 245-7.
- Adang M.J., Staver M.J., Rocheleau T.A., Leighton J., Barker R.F. et Thompson D.V.; 1985; Characterized full-length and truncated plasmid clones of the crystal protein of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73 and their toxicity to *Manduca sexta*; *Gene*, 36(3), p. 289-300.
- Addison J.A., Otvos I.S., Battigelli J.P. et Conder N.; 2006; Does aerial spraying of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) pose a risk to nontarget soil microarthropods?; *Canadian Journal of Forest Research*, 36(6), p. 1610-20.
- Addison J.A.; 1993; Persistence and nontarget effects of *Bacillus thuringiensis* in soil: A review; *Can. J. For. Res.*, 23(11), p. 2329-42.
- Agaisse H., Gominet M., Okstad O.A., Kolsto A.B. et Lereclus D.; 1999; PlcR is a pleiotropic regulator of extracellular virulence factor gene expression in *Bacillus thuringiensis*; *Mol. Microbiol.*, 32(5), p. 1043-53.
- Aggarwal B.B. et Padilla C.R, inventeurs; 2008-05-13; Novel protein from antiproliferative protein from *Bacillus thuringiensis* var *thuringiensis*; CA 2234794.
- Akiba Y.; 1986; Microbial ecology of *Bacillus thuringiensis* VI. germination of *Bacillus thuringiensis* spores in the soil; *Appl. Ent. Zool.*, 21(1), p. 76 - 80.
- Akiba Y.; 1991; Assessment of rainwater-mediated dispersion of field-sprayed *Bacillus thuringiensis* in the soil; *Appl. Entomol. Zool.*, 26(4), p. 477,483.
- Ali A.; 1981; *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* (ABG-6108) against chironomids and some nontarget aquatic invertebrates; *J. Invertebr. Pathol.*, 38(2), p. 264-72.

Angus T.A.; 1967; Comparative toxicity of the parasporal inclusions of three entomogenous bacteria; *J. Invertebr. Pathol.*, 9(2), p. 256-60.

Argôlo-Filho R.C. et Loguercio L.L.; 2013; *Bacillus thuringiensis* is an environmental pathogen and host-specificity has developed as an adaptation to human-generated ecological niches; *Insects*, 5(1), p. 62-91.

ARLA-SC; 2008; Projet d'acceptabilité d'homologation continue, réévaluation de *Bacillus thuringiensis*; <http://www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/pubs/pest/decisions/index-fra.php#rvd-drv>; Ottawa : rapport n° RVD2008-18.

ARLA-SC; 2016a; Registre public – Matières actives des pesticides.

ARLA-SC; 2016b; Registre public – Déclarations d'incidents (janvier 2016).

Arthur A.P. et Angus T.A.; 1965; Control of a field population of the introduced european skipper, *thymelicus lineola* (ochsenheimer) (lepidoptera: Hesperiiidae) with *Bacillus thuringiensis* Berliner; *J. Invertebr. Pathol.*, 7(2), p. 180-3.

Asano S.I., Nukumizu Y., Bando H., Iizuka T. et Yamamoto T.; 1997; Cloning of novel enterotoxin genes from *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*; *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(3), p. 1054-7.

Ash C., Farrow J.A.E., Dorsch M., Stackebrandt E. et 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(3), p. 343-6.

ATCC; 2014; *Bacillus thuringiensis* berliner (ATCC® 13367™); 2016.

Auger S., Ramarao N., Faille C., Fouet A., Aymerich S. et Gohar M.; 2009; Biofilm formation and cell surface properties among pathogenic and nonpathogenic strains of the *Bacillus cereus* group; *Appl. Environ. Microbiol.*, 75(20), p. 6616-8.

Babu A.G., Kim J. et Oh B.; 2013; Enhancement of heavy metal phytoremediation by *alnus firma* with endophytic *Bacillus thuringiensis* GDB-1; *J. Hazard. Mater.*, 250-251, p. 477-83.

Bacillus thuringiensis toxin nomenclature [Internet]; c2014 [consulté le 2016-02-208]; <http://www.btnomenclature.info/>

Barfod K.K., Poulsen S.S., Hammer M. et Larsen S.T.; 2010; Sub-chronic lung inflammation after airway exposures to *Bacillus thuringiensis* biopesticides in mice; *BMC Microbiology* 10.

Baumann L., Okamoto K., Unterman B.M., Lynch M.J. et Baumann P.; 1984; Phenotypic characterization of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus*; *J. Invertebr. Pathol.*, 44(3), p. 329-41.

Beecher D.J. et 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(1), p. 233-9.

Bellocq M.I., Bendell J.F. et Cadogan B.L.; 1992; Effects of the insecticide *Bacillus thuringiensis* on *Sorex cinereus* (masked shrew) populations, diet and prey selection in a jack pine plantation in northern Ontario; *Can. J. Zool.*, 70(3), p. 505-510.

Bernhard K., Jarrett P., Meadows M., Butt J., Ellis D.J., Roberts G.M., Pauli S., Rodgers P. et Burges H.D.; 1997; Natural isolates of *Bacillus thuringiensis*: Worldwide distribution, characterization, and activity against insect pests; *J. Invertebr. Pathol.*, 70(1), p. 59-68.

Bernstein I.L., Bernstein J.A., Miller M., Tierzieva S., Bernstein D.I., Lummus Z., Selgrade M.K., Doerfler D.L. et Seligy V.L.; 1999; Immune responses in farm workers after exposure to *Bacillus thuringiensis* pesticides; *Environ. Health Perspect.*, 107(7), p. 575-82.

Berry C., O'Neil S., Ben-Dov E., Jones A.F., Murphy L., Quail M.A., Holden M.T., Harris D., Zaritsky A. et Parkhill J.; 2002; Complete sequence and organization of pBtoxis, the toxin-coding plasmid of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Israelensis*; *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(10), p. 5082-95.

Betz F.S., Hammond B.G. et Fuchs R.L.; 2000; Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests; *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 32(2), p. 156-73.

Bibiana S. et Nithyanand P.; 2014; Screening and evaluation of marine bacteriocins against aquaculture pathogens; *International Journal of Pharm. Tech. Research*, 6(5), p. 1482-9.

Bishop A.H., Johnson C. et Perani M.; 1999; The safety of *Bacillus thuringiensis* to mammals investigated by oral and subcutaneous dosage; *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 15(3), p. 375-380.

Bok S.H., Lee H.W., Son K.H., Kim S.U., Lee J.W., Kim D.Y. et Kwon Y.K. inventeurs; Korea Research Institute of Chemical Technology, assignee; Process for preparing coated microbial pesticides and pesticides produced therefrom; 5273749 (États-Unis).

Boucias D. et Pendland J.C.; 1998; Principles of insect pathology; Boston: Kluwer Academic Publishers.

Bouillaut L., Ramarao N., Buisson C., Gilois N., Gohar M., Lereclus D. et Nielsen-LeRoux C.; 2005; F1hA influences *Bacillus thuringiensis* PlcR-regulated gene transcription, protein production, and virulence; *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(12), p. 8903-10.

Bourque S.N., Valero J.R., Lavoie M.C. et Levesque R.C.; 1995; Comparative analysis of the 16S to 23S ribosomal intergenic spacer sequences of *Bacillus thuringiensis* strains and subspecies and of closely related species; *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(4), p. 1623-6.

Bourque S.N., Valero J.R., Mercier J., Lavoie M.C. et Levesque R.C.; 1993; Multiplex polymerase chain reaction for detection and differentiation of the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*; *Appl. Environ. Microbiol.*, 59(2), p. 523-7.

Branly K. et Atkins R. inventeurs; Micro Flo Company, assignee. Agricultural compositions containing bacteria; brevet des États-Unis 6232270.

Branton P.L. et Kase L.E. inventeurs; Floating article for improved control of aquatic insects; CA 1225023.

Brar S.K., Verma M., Tyagi R.D., Surampalli R.Y., Barnabé S. et Valéro J.R.; 2007; *Bacillus thuringiensis* proteases: Production and role in growth, sporulation and synergism; *Process Biochemistry*, 42(5), p. 773-90.

Brar S.K., Verma M., Tyagi R.D. et Valéro J.R.; 2006; Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides; *Process Biochemistry*, 41(2), p. 323-42.

Bravo A., Gill S.S. et Soberón M.; 2007; Mode of action of *Bacillus thuringiensis* cry and cyt toxins and their potential for insect control; *Toxicon*, 49(4), p. 423-35.

Bravo A., Likitvivanavong S., Gill S.S. et Soberón M.; 2011; *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide; *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 41(7), p. 423-31.

Bravo A., Sarabia S., Lopez L., Ontiveros H., Abarca C., Ortiz A., Ortiz M., Lina L., Villalobos F.J., Peña G. et al.; 1998; Characterization of cry genes in a mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection; *Appl. Environ. Microbiol.*, 64(12), p. 4965-72.

Broderick N.A., Raffa K.F. et Handelsman J.; 2006; Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103(41), p. 15196-9.

Butko P.; 2003; Cytolytic toxin Cyt1A and its mechanism of membrane damage: Data and hypotheses; *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(5), p. 2415-22.

Callegan M.C., Cochran D.C., Kane S.T., Ramadan R.T., Chodosh J., McLean C. et Stroman D.W.; 2006; Virulence factor profiles and antimicrobial susceptibilities of ocular *Bacillus* isolates; *Curr. Eye Res.*, 31(9), p. 693-702.

Callegan M.C., Kane S.T., Cochran D.C., Novosad B., Gilmore M.S., Gominet M. et Lereclus D.; 2005; *Bacillus endophthalmitis*: Roles of bacterial toxins and motility during infection; *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.*, 46(9), p. 3233-8.

Carlson C.R., Caugant D.A. et Kolsto A.; 1994; Genotypic diversity among *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* strains; *Appl. Environ. Microbiol.*, 60(6), p. 1719-25.

Carlson C.R. et Kolsto A.; 1993; A complete physical map of a *Bacillus thuringiensis* chromosome; *J. Bacteriol.*, 175(4), p. 1053-60.

Carozzi N.B., Kramer V.C., Warren G.W., Evola S. et Koziel M.G.; 1991; Prediction of insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains by polymerase chain reaction product profiles; *Appl. Environ. Microbiol.*, 57(11), p. 3057-61.

Ceron J., Covarrubias L., Quintero R., Ortiz A., Ortiz M., Aranda E., Lina L. et Bravo A.; 1994; PCR analysis of the cryI insecticidal crystal family genes from *Bacillus thuringiensis*; *Appl. Environ. Microbiol.*, 60(1), p. 353-6.

Chang C., Yu Y., Dai S., Law S.K. et Gill S.S.; 1993; High-level cryIVD and cytA gene expression in *Bacillus thuringiensis* does not require the 20-kilodalton protein, and the coexpressed gene products are synergistic in their toxicity to mosquitoes; *Appl. Environ. Microbiol.*, 59(3), p. 815-21.

Chang Y., Shangkuan Y., Lin H. et Liu H.; 2003; PCR assay of the groEL gene for detection and differentiation of *Bacillus cereus* group cells; *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(8), p. 4502-10.

Chen M.L. et Tsen H.; 2002; Discrimination of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* with 16S rRNA and gyrB gene based PCR primers and sequencing of their annealing sites; *J. Appl. Microbiol.*, 92(5), p. 912-9.

Cherif A., Brusetti L., Borin S., Rizzi A., Boudabous A., Khyami-Horani H. et Daffonchio D.; 2003a; 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(6), p. 1108-19.

Cherif A., Chehimi S., Limem F., Hansen B.M., Hendriksen N.B., Daffonchio D. et Boudabous A.; 2003b; Detection and characterization of the novel bacteriocin entomocin 9, and safety evaluation of its producer, *Bacillus thuringiensis* ssp. *entomocidus* HD9; *J. Appl. Microbiol.*, 95(5), p. 990-1000.

Choi G.J., Kim J., Jang K.S. et Lee D.; 2007; Antifungal activities of *Bacillus thuringiensis* isolates on barley and cucumber powdery mildews; *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(12), p. 2071-5.

Chung E., Kweon H., Yiacoymi S., Lee I., Joy D.C., Palumbo A.V. et Tsouris C.; 2010; Adhesion of spores of *Bacillus thuringiensis* on a planar surface; *Environmental Science and Technology*, 44(1), p. 290-6.

Clark B.W., Phillips T.A. et Coats J.R.; 2005; Environmental fate and effects of *Bacillus thuringiensis* (bt) proteins from transgenic crops: A review; *J. Agric. Food Chem.*, 53(12), p. 4643-53.

Cline K.K. inventeur; CLINE KENNETH KING, assignee; Water-dissolvable bioremediation device and method of use; brevet des États-Unis 6248234.

COGEM; 2014; Can interactions between bt proteins be predicted and how should effects on non-target organisms of GM crops with multiple bt proteins be assessed; Netherlands Commission on Genetic Modification (COGEM).

Comas C., Lumbierres B., Pons X. et Albajes R.; 2014; No effects of *Bacillus thuringiensis* maize on nontarget organisms in the field in southern europe: A meta-analysis of 26 arthropod taxa; *Transgenic Res.*, 23(1), p. 135-43.

Commission européenne; 2015; EU Pesticides Database [Internet] 2015-07-15: Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA); c2015 [consultée le 6 février 2016]; <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN>

Crecchio C. et Stotzky G.; 1998; Insecticidal activity and biodegradation of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bound to humic acids from soil; *Soil Biol. Biochem.*, 30(4), p. 463-70.

Crecchio C. et Stotzky G.; 2001; Biodegradation and insecticidal activity of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bound on complexes of montmorillonite-humic acids-al hydroxypolymers; *Soil Biology & Biochemistry*, 33(4/5), p. 573,581.

Crickmore N., Bone E.J., Williams J.A. et Ellar D.J., 1995, Contribution of the individual components of the d-endotoxin crystal to the mosquitocidal activity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*; *FEMS Microbiol. Lett.*, 131(3), p. 249-54.

Crickmore N., Zeigler D.R., Feitelson J., Schnepf E., Van Rie J., Lereclus D., Baum J. et Dean D.H.; 1998; Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins; *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), p. 807-13.

DA; 1988; *Bacillus thuringiensis* cultures disponibles auprès du Department of agriculture des États-Unis; Technical Bulletin Number 1738.

Damgaard P.H.; 1996; Diarrhoeal enterotoxin production by strains of *Bacillus thuringiensis* isolated from commercial *Bacillus thuringiensis*-based insecticides; *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 12(3/4), p. 245-250.

Damgaard P.H., Granum P.E., Bresciani J., Torregrossa M.V., Eilenberg J. et Valentino L.; 1997; Characterization of *Bacillus thuringiensis* isolated from infections in burn wounds; *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 18(1), p. 47-53.

Damgaard P.H., Hansen B.M., Pedersen J.C. et Eilenberg J.; 1997; Natural occurrence of *Bacillus thuringiensis* on cabbage foliage and in insects associated with cabbage crops; *J. Appl. Microbiol.*, 82(2), p. 253-8.

Damgaard P.H., Jacobsen C.S. et Sorensen J.; 1996; Development and application of a primer set for specific detection of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* in soil using magnetic capture hybridization and PCR amplification; *Syst. Appl. Microbiol.*, 19(3), p. 436-441.

Damgaard P.H., Larsen H.D., Hansen B.M., Bresciani J. et Jørgensen K.; 1996; Enterotoxin-producing strains of *Bacillus thuringiensis* isolated from food; *Lett. Appl. Microbiol.*, 23(3), p. 146-50.

Dawyndt P. et al.; 2005; Knowledge accumulation and resolution of data inconsistencies during the integration of microbial information sources; *IEEE Transactions on Knowledge and Data Engineering*, 17(8), p. 1111-26.

de Barjac H.; 1978; Un nouveau candidat a la lutte biologique contre les moustiques: *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*; *Entomophaga*, 23(4), p. 309-19.

de Barjac H. et Frachon E.; 1990; Classification of *Bacillus thuringiensis* strains; *Entomophaga*, 35(2), p. 233-40.

de Been M., Francke C., Moezelaar R., Abee T. et Siezen R.J.; 2006; Comparative analysis of two-component signal transduction systems of *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus anthracis*; *Microbiology*, 152(10), p. 3035-48.

De Lucca II A.J., Simonson J.G. et Larson A.D.; 1981; *Bacillus thuringiensis* distribution in soils of the United States; *Can. J. Microbiol.*, 27(9), p. 865-70.

De Lucca II J., Palmgren M.S. et Ciegler A.; 1982; *Bacillus thuringiensis* in grain elevator dusts; *Can. J. Microbiol.*, 28(4), p. 452-6.

De Maagd R.A. et al.; 2003; Structure, diversity, and evolution of protein toxins from spore-forming entomopathogenic bacteria; *Annual Review of Genetics*, 37, p. 409-33.

De Vos P., Garrity G.M., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K. et Whitman W.B.; 2009; *Bergey's manual of systematic bacteriology volume three: The firmicutes*, 2ème édition, New York: Springer.

Didelot X., Barker M., Falush D. et Priest F.G.; 2009; Evolution of pathogenicity in the *Bacillus cereus* group; *Syst. Appl. Microbiol.*, 32(2), p. 81-90.

Dong Y., Zhang X., Xu J. et Zhang L.; 2004; Insecticidal *Bacillus thuringiensis* silences *Erwinia carotovora* virulence by a new form of microbial antagonism, signal interference; *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(2), p. 954-60.

Donovan W.P., Engleman J.T., Donovan J.C., Baum J.A., Bunkers G.J., Chi D.J., Clinton W.P., English L., Heck G.R. et Ilagan O.M.; 2006; Discovery and characterization of Sip1A: A novel secreted protein from *Bacillus thuringiensis* with activity against coleopteran larvae; *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 72(4), p. 713-9.

Dorsch J.A., Candas M., Griko N.B., Maaty W.S.A., Midboe E.G., Vadlamudi R.K. et Bulla Jr. L.A.; 2002; Cry1A toxins of *Bacillus thuringiensis* bind specifically to a region adjacent to the membrane-proximal extracellular domain of BT-R1 in *manduca sexta*: Involvement of a cadherin in the-entomopathogenicity of *Bacillus thuringiensis*; *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 32(9), p. 1025-36.

Edlund T., Siden I. et Boman H.G.; 1976; Evidence for two immune inhibitors from *Bacillus thuringiensis* interfering with the humoral defense system of saturniid pupae; *Infect. Immun.*, 14(4), p. 934-41.

Ejiofor A.O. et Johnson T.; 2002; Physiological and molecular detection of crystalliferous *Bacillus thuringiensis* strains from habitats in the south central United States; *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28(5), p. 284-90.

El-Helow E.R., Sabry S.A. et Amer R.M.; 2000; Cadmium biosorption by a cadmium resistant strain of *Bacillus thuringiensis*: Regulation and optimization of cell surface affinity for metal cations; *Biometals*, 13(4), p. 273-80.

English L. et Slatin S.L.; 1992; Mode of action of delta-endotoxins from *Bacillus thuringiensis*: A comparison with other bacterial toxins; *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 22(1), p. 1-7.

Environnement Canada et Santé Canada; 2011; *Cadre d'évaluation scientifique des risques liés aux micro-organismes réglementés en vertu de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999)*; Ottawa.

EPA; 1998; *Bacillus thuringiensis*; Registration eligibility decision (RED) EPA738-R-98-004; Washington DC: Office of Prevention, Pesticides and Toxic substance.

- EPA; 2002; Viable spores of the microorganism *Bacillus thuringiensis* berliner; exemption from the requirement of a tolerance 180.1011.
- Estruch J.J., Warren G.W., Mullins M.A., Nye G.J., Craig J.A. et Koziel M.G.; 1996; Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93(11), p. 5389-94.
- Fagerlund A. et al.; 2014; SinR controls enterotoxin expression in *Bacillus thuringiensis* biofilms; *PLoS ONE* 9(1).
- Fagerlund A., Lindbäck T. et Granum P.E.; 2010; *Bacillus cereus* cytotoxins hbl, nhe and CytK are secreted via the sec translocation pathway; *BMC Microbiology* 10.
- Fisher R. et Rosner L.; 1959; Insecticide safety: Toxicology of the microbial insecticide, thuricide; *J. Agric. Food Chem.*, 7(10), p. 686-8.
- Forsyth G. et Logan N.A.; 2000; Isolation of *Bacillus thuringiensis* from Northern Victoria Land, Antarctica; *Lett. Appl. Microbiol.*, 30(3), p. 263-6.
- Frederiksen K., Rosenquist H., Jørgensen K. et Wilcks A.; 2006; Occurrence of natural *Bacillus thuringiensis* contaminants and residues of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides on fresh fruits and vegetables; *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(5), p. 3435-40.
- Fu Q., Dong Y., Hu H. et Huang Q.; 2007; Adsorption of the insecticidal protein of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* by soil minerals: Effects of organic acid ligands; *Appl. Clay Sci.*, 37(1-2), p. 201-6.
- Furlaneto L., Saridakis H.O. et Arantes O.M.N.; 2000; Survival and conjugal transfer between *Bacillus thuringiensis* strains in aquatic environment; *Brazilian J. Microbiol.*, 31(4), p. 233-8.
- Ghelardi E., Celandroni F., Salvetti S., Fiscarelli E. et Senesi S.; 2007; *Bacillus thuringiensis* pulmonary infection: Critical role for bacterial membrane-damaging toxins and host neutrophils; *Microb. Infect.*, 9(5), p. 591-8.
- Gill S.S., Cowles E.A. et Pietrantonio P.V.; 1992; The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins; *Annu. Rev. Entomol.*, 37(1), p. 615-36.
- Gill S.S., Singh G.J.P. et Hornung J.M.; 1987; Cell membrane interaction of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* cytolytic toxins; *Infect. Immun.*, 55(5), p. 1300-8.
- Glare T.R. et O'Callaghan M.; 2000; *Bacillus thuringiensis*: Biology, ecology and safety; Chichester ; New York: Wiley.

- Gohar M., Gilois N., Graveline R., Garreau C., Sanchis V. et Lereclus D.; 2005; A comparative study of *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus anthracis* extracellular proteomes; *Proteomics*, 5(14), p. 3696-711.
- Gómez J.E.C., López-Pazos S.A. et Cerón J.; 2012; Determination of cry toxin activity and identification of an aminopeptidase N receptor-like gene in *asymmethetes vulcanorum* (coleoptera: Curculionidae); *J. Invertebr. Pathol.*, 111(1), p. 94-8.
- Gominet M., Slamti L., Gilois N., Rose M. et Lereclus D.; 2001; Oligopeptide permease is required for expression of the *Bacillus thuringiensis* plcR regulon and for virulence; *Mol. Microbiol.*, 40(4), p. 963-75.
- Gonzalez Jr J.M. et Carlton B.C.; 1980; Patterns of plasmid DNA in crystalliferous and acrySTALLIFEROUS strains of *Bacillus thuringiensis*; *Plasmid*, 3(1), p. 92-8.
- Gonzalez Jr J.M. et Carlton B.C.; 1984; A large transmissible plasmid is required for crystal toxin production in *Bacillus thuringiensis* variety *israelensis*; *Plasmid*, 11(1), p. 28-38.
- Gonzalez Jr J.M., Brown B.J. et Carlton B.C.; 1982; Transfer of *Bacillus thuringiensis* plasmids coding for δ -endotoxin among strains of *B. thuringiensis* and *B. cereus*; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79(22 I), p. 6951-5.
- Grandvalet C., Gominet M. et Lereclus D.; 2001; Identification of genes involved in the activation of the *Bacillus thuringiensis* inhA metalloprotease gene at the onset of sporulation; *Microbiology*, 147(7), p. 1805-13.
- Granum P.E.; 2007; Chapter 20 : *Bacillus cereus*; dans *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*, Doyle M.P. et Beuchat L.R. éditeurs, 3ème édition.
- Granum P.E. et Lund T.; 1997; *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins; *FEMS Microbiol. Lett.*, 157(2), p. 223-8.
- Green M., Heumann M., Sokolow R., Foster L.R., Bryant R. et Skeels M.; 1990; Public health implications of the microbial pesticide *Bacillus thuringiensis*: An epidemiology study, Oregon, 1985-86; *Am. J. Public Health*, 80(7), p. 848-52.
- Griego V.M. et Spence K.D.; 1978; Inactivation of *Bacillus thuringiensis* spores by ultraviolet and visible light; *Appl. Environ. Microbiol.*, 35(5), p. 906-10.
- Griffiths B.S., Caul S., Thompson J., Birch A.N.E., Cortet J., Andersen M.N. et Krogh P.H.; 2007; Microbial and microfaunal community structure in cropping systems with genetically modified plants; *Pedobiologia*, 51(3), p. 195-206.
- Guinebretière M.H., Auger S., Galleron N., Contzen M., De Sarrau B., De Buyser M.L., Lamberet G., Fagerlund A., Granum P.E., Lereclus D. et De Vos P.; 2013; *Bacillus*

cytotoxicus sp. nov. is a novel thermotolerant species of the *Bacillus cereus* Group occasionally associated with food poisoning; *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 63(1), p.31-40.

Han C.S., Xie G., Challacombe J.F., Altherr M.R., Bhotika S.S., Bruce D., Campbell C.S., Campbell M.L., Chen J. Chertkov O. et al.; 2006; Pathogenomic sequence analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolates closely related to *Bacillus anthracis*; *J. Bacteriol.*, 188(9), p. 3382-90.

Hansen B.M. et Hendriksen N.B.; 2001; Detection of enterotoxic *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*: Strains by PCR analysis; *Appl. Environ. Microbiol.*, 67(1), p. 185-9.

Hansen B.M., Damgaard P.H., Eilenberg J. et Pedersen J.C.; 1998; Molecular and phenotypic characterization of *Bacillus thuringiensis* isolated from leaves and insects; *J. Invertebr. Pathol.*, 71(2), p. 106-14.

Hardy S.P., Lund T. et 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(1), p. 47-51.

Hassen A., Saidi N., Cherif M. et Boudabous A.; 1998; Effects of heavy metals on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus thuringiensis*; *Bioresour. Technol.*, 65(1-2), p. 73-82.

Haug T.M., Sand S.L., Sand O., Phung D., Granum P.E. et 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), p. 1-11.

Heimpel A.M.; 1967; A critical review of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* berliner and other crystalliferous bacteria; *Annu. Rev. Entomol.*, 12, p. 287-322.

Heimpel A.M. et Angus T.A.; 1958; The taxonomy of insect pathogens related to *Bacillus cereus* frankland and frankland; *Can. J. Microbiol.*, 4(5), p. 531-41.

Heimpel A.M. et Angus T.A.; 1960; Bacterial insecticides; *Bacteriol. Rev.*, 24(3), p. 266-88.

Helgason E. et al.; 2000; *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* - one species on the basis of genetic evidence; *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), p. 2627-30.

Helgason E., Tourasse N.J., Meisal R., Caugant D.A. et Kolstø A.; 2004; Multilocus sequence typing scheme for bacteria of the *Bacillus cereus* group; *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(1), p. 191-201.

- Hellmich R.L., Siegfried B.D., Sears M.K., StanleyHorn D.E., Daniels M.J., Mattila H.R., Spencer T., Bidne K.G. et Lewis L.C.; 2001; Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis*-purified proteins and pollen; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98(21), p. 11925-30.
- Hendriksen N.B. et Hansen B.M.; 2002; Long-term survival and germination of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in a field trial; *Can. J. Microbiol.*, 48(3), p. 256-61.
- Hernández C., Ferré J. et Larget-Thiéry I.; 2001; Update on the detection of β -exotoxin in *Bacillus thuringiensis* strains by HPLC analysis; *J. Appl. Microbiol.*, 90(4), p. 643-7.
- Hernández C.S., Martínez C., Porcar M., Caballero P. et Ferré J.; 2003; Correlation between serovars of *Bacillus thuringiensis* and type I β -exotoxin production; *J. Invertebr. Pathol.*, 82(1), p. 57-62.
- Hernandez E., Ramisse F., Cruel T., Le Vagueresse R. et Cavallo J.; 1999; *Bacillus thuringiensis* serotype H34 isolated from human and insecticidal strains serotypes 3a3b and H14 can lead to death of immunocompetent mice after pulmonary infection; *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 24(1), p. 43-7.
- Hernandez E., Ramisse F., Ducoureau J., Cruel T. et Cavallo J.; 1998; *Bacillus thuringiensis* subsp. *konkukian* (serotype H34) superinfection: Case report and experimental evidence of pathogenicity in immunosuppressed mice; *J. Clin. Microbiol.*, 36(7), p. 2138-9.
- Herrnstadt C., Gilroy T.E., Sobieski D.A., Bennett B.D. et Gaertner F.H.; 1987; Nucleotide sequence and deduced amino acid sequence of a coleopteran-active delta-endotoxin gene from *Bacillus thuringiensis* subsp. *san diego*; *Gene*, 57(1), p. 37-46.
- Hershey A.E., Lima A.R., Niemi G.J. et Regal R.R.; 1998; Effects of *Bacillus thuringiensis israelensis* (bti) and methoprene on nontarget macroinvertebrates in Minnesota wetlands; *Ecol. Appl.*, 8(1), p. 41-60.
- Hilbert D.W. et Piggot P.J.; 2004; Compartmentalization of gene expression during *Bacillus subtilis* spore formation; *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 68(2), p. 234-62.
- Hill K.K., Ticknor L.O., Okinaka R.T., Asay M., Blair H., Bliss K.A., Laker M., Pardington P.E., Richardson A.P., Tonks M. et al.; 2004; Fluorescent amplified fragment length polymorphism analysis of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* isolates; *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(2), p. 1068-80.
- 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. et al.; 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(9), p. 3352-60.

Hofte H. et Whiteley H.R.; 1989; Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*; *Microbiol. Rev.*, 53(2), p. 242-55.

Huber H.E., Lüthy P., Ebersold H. et Cordier J.; 1981; The subunits of the parasporal crystal of *Bacillus thuringiensis*: Size, linkage and toxicity; *Arch. Microbiol.*, 129(1), p. 14-8.

Hyldebrink Damgaard P.; 1995; Diarrhoeal enterotoxin production by strains of *Bacillus thuringiensis* isolated from commercial *Bacillus thuringiensis*-based insecticides; *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 12(3-4), p. 245-9.

Ibarra J.E. et Federici B.A.; 1986; Isolation of a relatively nontoxic 65-kilodalton protein inclusion from the parasporal body of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Israelensis*; *J. Bacteriol.*, 165(2), p. 527-33.

Ibeanusi V.M. inventeur; Spelman College, cessionnaire; Biological process of remediating chemical contamination of a pond; brevet des États-Unis 5736048.

Ibrahim M.A., Griko N., Junker M. et Bulla L.A.; 2010; *Bacillus thuringiensis* A genomics and proteomics perspective; *Bioengineered Bugs*, 1(1), p. 31-50.

Ichimatsu T., Mizuki E., Nishimura K., Akao T., Saitoh H., Higuchi K. et Ohba M.; 2000; Occurrence of *Bacillus thuringiensis* in fresh waters of Japan; *Curr. Microbiol.*, 40(4), p. 217-20.

Icoz I. et Stotzky G.; 2008; Fate and effects of insect-resistant bt crops in soil ecosystems; *Soil Biol. Biochem.*, 40(3), p. 559-86.

Ignoffo C.M., Hostetter D.L. et Pinnell R.E.; 1974; Stability of *Bacillus thuringiensis* and *Baculovirus heliothis* on soybean foliage; *Environ. Entomol.*, 3(1), p. 117-9.

Innes D.G.L. et Bendell J.F.; 1989; The effects on small-mammal populations of aerial applications of *Bacillus thuringiensis*, fenitrothion, and matacil used against jack pine budworm in Ontario; *Can. J. Zool.*, 67(5), p. 1318-23.

Iriarte J., Porcar M., Lecadet M.M. et Caballero P.; 2000; Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* strains from aquatic environments in Spain; *Curr. Microbiol.*, 40(6), p. 402-408.

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(6935), p. 87-91.

Jackson J.K., Sweeney B.W., Bott T.L., Newbold J.D. et Kaplan L.A.; 1994; Transport of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and its effect on drift and benthic densities of

nontarget macroinvertebrates in the Susquehanna river, Northern Pennsylvania; *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 51(2), p. 295-314.

Jackson S.G., Goodbrand R.B., Ahmed R. et Kasatiya S.; 1995; *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolated in a gastroenteritis outbreak investigation; *Lett. Appl. Microbiol.*, 21(2), p. 103-5.

Jain D., Kachhwaha S., Jain R. et Kothari S.L.; 2012; PCR based detection of cry genes in indigenous strains of *Bacillus thuringiensis* isolated from the soils of Rajasthan; *Indian J. Biotechnol.*, 11(4), p. 491-4.

Jensen G.B., Larsen P., Jacobsen B.L., Madsen B., Smidt L. et Andrup L.; 2002; *Bacillus thuringiensis* in fecal samples from greenhouse workers after exposure to *B. thuringiensis*-based pesticides; *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(10), p. 4900-5.

Jesse L.C.H. et Obrycki J.J.; 2000; Field deposition of bt transgenic corn pollen: Lethal effects on the monarch butterfly; *Oecologia*, 125(2), p. 241-248.

Joung K. et Côté J.; 2001a; Phylogenetic analysis of *Bacillus thuringiensis* serovars based on 16S rRNA gene restriction fragment length polymorphisms; *J. Appl. Microbiol.*, 90(1), p. 115-22.

Joung K. et Côté J.; 2001b; A phylogenetic analysis of *Bacillus thuringiensis* serovars by RFLP-based ribotyping; *J. Appl. Microbiol.*, 91(2), p. 279-89.

Kafilzadeh F. et Mokhtari S.; 2013; Isolation and identification of phenol degrading bacteria from mangrove sediments in the persian gulf (asaluyeh) and their growth kinetics assay; *Biomedical & Pharmacology Journal*, 6(2), p. 189-196.

Kaneko T., Nozaki R. et Aizawa K.; 1978; Deoxyribonucleic acid relatedness between *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*; *Microbiol. Immunol.*, 22(10), p. 639-41.

Katayama H., Yokota H., Akao T., Nakamura O., Ohba M., Mekada E. et Mizuki E.; 2005; Parasporin-1, a novel cytotoxic protein to human cells from non-insecticidal parasporal inclusions of *Bacillus thuringiensis*; *J. Biochem.*, 137(1), p. 17-25.

Keeton Jr J.A., inventeur; Waterpure Technologies Inc, Keeton Industries Inc, cessionnaires; Waste treatment method; brevet des États-Unis 7279104 B2.

Khetan S.K.; 2001; Microbial pest control; Microbial pest control; New York: Marcel Dekker, Inc.

Kim H.; 2000; Comparative study of the frequency, flagellar serotype, crystal shape, toxicity, and cry gene contents of *Bacillus thuringiensis* from three environments; *Curr. Microbiol.*, 41(4), p. 250-6.

Kim H.S., Lee D.W., Woo S.D., Yu Y.M. et Kang S.K.; 1998; Biological, immunological, and genetic analysis of *Bacillus thuringiensis* isolated from granary in Korea; *Curr. Microbiol.*, 37(1), 52-7.

Knight P.J.K., Crickmore N. et Ellar D.J.; 1994; The receptor for *Bacillus thuringiensis* CryIA(c) delta-endotoxin in the brush border membrane of the lepidopteran *Manduca sexta* is aminopeptidase N; *Mol. Microbiol.*, 11(3), p. 429-36.

Knowles B.H., Blatt M.R., Tester M., Horsnell J.M., Carroll J., Menestrina G. et Ellar D.J.; 1989; A cytolytic d-endotoxin from *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* forms cation-selective channels in planar lipid bilayers; *FEBS Lett.*, 244(2), p. 259-62.

Knowles B.H. et Dow J.A.T.; 1993; The crystal d-endotoxins of *Bacillus thuringiensis*: Models for their mechanism of action on the insect gut; *Bioessays*, 15(7), p. 469-76.

Koskella J. et Stotzky G.; 1997; Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes; *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(9), p. 3561-8.

Kreutzweiser D.P., Gringorten J.L., Thomas D.R. et Butcher J.T.; 1996; Functional effects of the bacterial insecticide *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* on aquatic microbial communities; *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 33(3), p. 271-80.

Kreutzweiser D.P., Holmes S.B., Capell S.S. et Eichenberg D.C.; 1992; Lethal and sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* on aquatic insects in laboratory bioassays and outdoor stream channels; *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 49(2), p. 252-8.

Kronstad J.W., Schnepf H.E. et Whiteley H.R.; 1983; Diversity of locations for *Bacillus thuringiensis* crystal protein genes; *J. Bacteriol.*, 154(1), p. 419-28.

Kumar P. et Chandra R.; 2004; Detoxification of distillery effluent through *Bacillus thuringiensis* (MTCC 4714) enhanced phytoremediation potential of *Spirodela polyrrhiza* (L.) schliden; *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 73(5), p. 903-10.

Kweon C., Choi S., Kwon H., Kim E., Kang H., Moon J., Jang G., Lee H., Kang S., Kim J. et al.; 2012; Isolation, characterization, and evaluation of *Bacillus thuringiensis* isolated from cow milk; *Korean Journal of Veterinary Research*, 52(3), p. 169-76.

La Duc M.T., Satomi M., Agata N. et Venkateswaran K.; 2004; *gyrB* as a phylogenetic discriminator for members of the *Bacillus anthracis-cereus-thuringiensis* group; *J. Microbiol. Methods*, 56(3), p. 383-94.

Lambert B. et Peferoen M.; 1992; Insecticidal promise of *Bacillus thuringiensis*; *Bioscience*, 42(2), p. 112-122.

- Landen R., Bryne M. et Abdel-Hameed A.; 1994; Distribution of *Bacillus thuringiensis* strains in southern Sweden; *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 10(1), p. 45-50.
- Lecadet M., Frachon E., Cosmao Dumanoir V., Ripouteau H., Hamon S., Laurent P. et Thiéry I.; 1999; Updating the H-antigen classification of *Bacillus thuringiensis*; *J. Appl. Microbiol.*, 86(4), p. 660-72.
- Lecadet M.M., Blondel M.O. et Ribier J.; 1980; Generalized transduction in *Bacillus thuringiensis* var. berliner 1715 using bacteriophage CP-54Ber; *J. Gen. Microbiol.*, 121(1), p. 203-12.
- Lechner S., Mayr R., Francis K.P., Prüß B.M., Kaplan T., Wießner-Gunkel E., Stewart G.S.A.B. et Scherer S.; 1998; *Bacillus weihenstephanensis* sp. nov. is a new psychrotolerant species of the *Bacillus cereus* group; *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 48(4), p. 1373-82.
- Lee L., Saxena D., Stotzky G.; 2003; Activity of free and clay-bound insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* subsp. israelensis against the mosquito *Culex pipiens*; *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(7), p. 4111-5.
- Lee M.K., Walters F.S., Hart H., Palekar N. et Chen J.; 2003; The mode of action of the *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A differs from that of Cry1Ab δ -endotoxin; *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(8), p. 4648-57.
- Lereclus D., Agaisse H., Gominet M., Salamitou S. et Sanchis V.; 1996; Identification of a *Bacillus thuringiensis* gene that positively regulates transcription of the phosphatidylinositol-specific phospholipase C gene at the onset of the stationary phase; *J. Bacteriol.*, 178(10), p. 2749-56.
- Lereclus D., Lecadet M.M., Ribier J. et Dedonder R.; 1982; Molecular relationships among plasmids of *Bacillus thuringiensis*: Conserved sequences through 11 crystalliferous strains; *Molecular and General Genetics*, 186(3), p. 391-8.
- Leung K., Trevors J.T. et Lee H.; 1995; Survival of and *lacZ* expression recombinant *Pseudomonas* strains introduced into river water microcosms; *Can. J. Microbiol.*, 41(6), p. 461-9.
- Levinson B.L., Kasyan K.J., Chiu S.S., Currier T.C. et Gonzalez Jr J.M.; 1990; Identification of β -exotoxin production, plasmids encoding β -exotoxin, and a new exotoxin in *Bacillus thuringiensis* by using high-performance liquid chromatography; *J. Bacteriol.*, 172(6), p. 3172-9.
- Li YanLiang, Du Juan, Fang ZhiXiang et You J.; 2013; Dissipation of insecticidal Cry1Ac protein and its toxicity to nontarget aquatic organisms; *J. Agric. Food Chem.*, 61(46), p. 10864-71.

Li YunHe, Wu KongMing, Zhang YongJun et Yuan G.; 2007; Degradation of Cry1Ac protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* rice tissues under field and laboratory conditions; *Environ. Entomol.*, 36(5), p. 1275-1282.

Liu M., Cai Q.X., Liu H.Z., Zhang B.H., Yan J.P. et Yuan Z.M.; 2002; Chitinolytic activities in *Bacillus thuringiensis* and their synergistic effects on larvicidal activity; *J. Appl. Microbiol.*, 93(3), p. 374-9.

Logan N.A. et De Vos P.; 2009; Genus I. *Bacillus*; dans *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2ème édition, De Vos P., Garrity G.M., Jones D. et al. Éditeurs, New York: Springer, p. 21-96.

López-Pazos S.A., Martínez J.W., Castillo A.X. et Salamanca J.A.C.; 2009; Presence and significance of *Bacillus thuringiensis* cry proteins associated with the andean weevil *premnortypes vorax* (coleoptera: Curculionidae); *International Journal of Tropical Biology and Conservation*, 57(4).

Losey J.E., Rayor L.S. et Carter M.E.; 1999; Transgenic pollen harms monarch larvae; *Nature*, 399(6733), p. 214.

Luna V.A., King D.S., Gullede J., Cannons A.C., Amuso P.T. et Cattani J.; 2007; Susceptibility of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoides* and *Bacillus thuringiensis* to 24 antimicrobials using sensititre® automated microbroth dilution and etest® agar gradient diffusion methods; *J. Antimicrob. Chemother.*, 60(3), p. 555-67.

Lund T. et Granum P.E.; 1997; Comparison of biological effect of the two different enterotoxin complexes isolated from three different strains of *Bacillus cereus*; *Microbiology*, 143, p. 3329-36.

Lund T., De Buyser M.L. et Granum P.E.; 2000; A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis; *Mol. Microbiol.*, 38(2), p. 254-61.

Maeda M., Mizuki E., Hara M., Tanaka R., Akao T., Yamashita S. et Ohba M.; 2001; Isolation of *Bacillus thuringiensis* from intertidal brackish sediments in mangroves; *Microbiol. Res.*, 156(2), p. 195-198.

Maeda M., Mizuki E., Nakamura Y., Hatano T. et Ohba M.; 2000; Recovery of *Bacillus thuringiensis* from marine sediments of Japan; *Curr. Microbiol.*, 40(6), p. 418-422.

Malone L.A., Burgess E.P.J., Gatehouse H.S., Voisey C.R., Tregidga E.L. et Philip B.A.; 2001; Effects of ingestion of a *Bacillus thuringiensis* toxin and a trypsin inhibitor on honey bee flight activity and longevity; *Apidologie*, 32(1), p. 57-68.

Malone L.A., Burgess E.P.J. et Stefanovic D.; 1999; Effects of a *Bacillus thuringiensis* toxin, two *Bacillus thuringiensis* biopesticide formulations, and a soybean trypsin

inhibitor on honey bee (*Apis mellifera* L.) survival and food consumption; *Apidologie*, 30(6), p. 465-73.

Martin P.A.W. et Travers R.S.; 1989; Worldwide abundance and distribution of *Bacillus thuringiensis* isolates; *Appl. Environ. Microbiol.*, 55(10), p. 2437-42.

Martinez C. et Caballero P.; 2002; Contents of cry genes and insecticidal toxicity of *Bacillus thuringiensis* strains from terrestrial and aquatic habitats; *J. Appl. Microbiol.*, 92(4), p. 745-752.

Martínez C., Ibarra J.E. et Caballero P.; 2005; Association analysis between serotype, cry gene content, and toxicity to *Helicoverpa armigera* larvae among *Bacillus thuringiensis* isolates native to Spain; *J. Invertebr. Pathol.*, 90(2), p. 91-7.

Marvier M., McCreedy C., Regetz J. et Kareiva P.; 2007; A meta-analysis of effects of Bt cotton and maize on nontarget invertebrates; *Science (Wash)*, 316(5830), p. 1475-1477.

Masson L., Erlandson M., Puzstai-Carey M., Brousseau R., Juarez-Perez V. et Frutos R.; 1998; A holistic approach for determining the entomopathogenic potential of *Bacillus thuringiensis* strains; *Appl. Environ. Microbiol.*, 64(12), p. 4782-8.

McClintock J.T., Schaffer C.R. et Sjoblad R.D.; 1995; A comparative review of the mammalian toxicity of *Bacillus thuringiensis*-based pesticides; *Pestic. Sci.*, 45(2), p. 95-105.

McIntyre L., Bernard K., Beniac D., Isaac-Renton J.L. et Naseby D.C.; 2008; Identification of *Bacillus cereus* group species associated with food poisoning outbreaks in British Columbia, Canada; *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(23), p. 7451-3.

Meadows M.P.; 1993; *Bacillus thuringiensis* in the environment: Ecology and risk assessment; Entwistle P., Cory J., Bailey M.J. et al. éditeurs, Chichester: John Wiley & Sons.

Meadows M.P., Ellis D.J., Butt J., Jarrett P. et Burges H.D.; 1992; Distribution, frequency, and diversity of *Bacillus thuringiensis* in an animal feed mill; *Appl. Environ. Microbiol.*, 58(4), p. 1344-50.

Mendil D., Tuzen M., Usta C. et Soylak M.; 2008; *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* immobilized on chromosorb 101: A new solid phase extractant for preconcentration of heavy metal ions in environmental samples; *J. Hazard. Mater.*, 150(2), p. 357-63.

Menon A.S. et De Mestral J.; 1985; Survival of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in waters; *Water Air Soil Pollut.*, 25(3), p. 265-74.

Meretoja T., Carlberg G., Gripenberg U., Linnainmaa K. et Sorsa M.; 1977; Mutagenicity of *Bacillus thuringiensis* exotoxin; *Hereditas*, 85(1), p. 105-12.

Middleditch B.S. et Lee P.S. inventeurs; University of Houston, cessionnaire; Bioremediation of polar organic compounds; brevet des États-Unis 5369031.

Mignot T., Denis B., Couture T.E., Kolsto A.B., Mock M. et Fouet A.; 2001; Distribution of S-layers on the surface of *Bacillus cereus* strains: Phylogenetic origin and ecological pressure; *Environ. Microbiol.*, 3(8), p. 493-501.

Milne R., Liu Y., Gauthier D. et Van Frankenhuyzen K.; 2008; Purification of Vip3Aa from *Bacillus thuringiensis* HD-1 and its contribution to toxicity of HD-1 to spruce budworm (*Choristoneura fumiferana*) and gypsy moth (*Lymantria dispar*) (Lepidoptera); *J. Invertebr. Pathol.*, 99(2), p. 166-72.

Mishra A. et Malik A.; 2013; Recent advances in microbial metal bioaccumulation; *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 43(11), p. 1162-222.

Mizuki E., Ichimatsu T., Hwang S., Park Y.S., Saitoh H., Higuchi K. et Ohba M.; 1999; Ubiquity of *Bacillus thuringiensis* on phylloplanes of arboreous and herbaceous plants in Japan; *J. Appl. Microbiol.*, 86(6), p. 979-84.

Mizuki E., Park Y.S., Saitoh H., Yamashita S., Akao T., Higuchi K. et Ohba M.; 2000; Parasporin, a human leukemic cell-recognizing parasporal protein of *Bacillus thuringiensis*; *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 7(4), p. 625-34.

Monnerat R., Martins E., Queiroz P., Orduz S., Jaramillo G., Benintende G., Cozzi J., Real M.D., Martinez-Ramirez A., Rausell C. et al.; 2006; Genetic variability of *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) populations from Latin America is associated with variations in susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Cry toxins; *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(11), p. 7029-35.

Muchaonyerwa P., Chenu C., Pantani O.L., Calamai L., Nyamugafata P. et Mpeperekwi S.; 2002; Adsorption of the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* subspecies *tenebrionis* to clay fractions of tropical soils. (developments in soil science volume 28B). Ecological significance of the interactions among clay minerals, organic matter and soil biota; 3rd symposium on soil mineral-organic matter-microorganism interactions and ecosystem health, Naples-Capri; 22-26 mai 2000, Italie; Amsterdam: Elsevier Science B.V.

Nay El-Khoury R.M., Perchat S., Kallassy M., Lereclus D. et Gohar M.; 2016; Spatio-Temporal Evolution of Sporulation in *Bacillus thuringiensis* Biofilm; *Frontiers in Microbiology*, 7.

Negri A.P., Soo R.M., Flores F. et Webster N.S.; 2009; *Bacillus* insecticides are not acutely harmful to corals and sponges; *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 381, p. 157-65.

Niemi G.J., Hershey A.E., Shannon L., Hanowski J.M., Lima A., Axler R.P. et Regal R.R.; 1999; Ecological effects of mosquito control on zooplankton, insects, and birds; *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(3), p. 549-59.

Noble M.A., Riben P.D. et Cook G.J.; 1992; Microbiological and epidemiological surveillance programme to monitor the health effects of foray 48B BTK spray.

Norris J.R. et Burges H.D.; 1965; The identification of *Bacillus thuringiensis*. *Entomophaga*, 10(1), p. 41-7.

Obeidat M., Hassawi D. et Ghabeish I.; 2004; Characterization of *Bacillus thuringiensis* strains from Jordan and their toxicity to the lepidoptera, *Ephestia kuehniella zeller*; *African Journal of Biotechnology*, 3(11), p. 622-6.

O'Callaghan M. et al.; 2005; Effects of plants genetically modified for insect resistance on nontarget organisms; *Annual Review of Entomology*, 50, p. 271-92.

OCDE; 2007; Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* - derived insect control protein; *OECD Papers*, 7(11), p. 1-107.

Ohana B., Margalit J. et Barak Z.; 1987; Fate of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* under simulated field conditions; *Appl. Environ. Microbiol.*, 53(4), p. 828-31.

Ohba M. et Lee D.; 2003; *Bacillus thuringiensis* associated with faeces of the *keramajika*, *cervus nippon keramae*, a wild deer indigenous to the Ryukyus, Japan; *J. Basic. Microbiol.*, 43(2), p. 158-61.

Ohba M., Mizuki E. et Uemori A.; 2009; Parasporin, a new anticancer protein group from *Bacillus thuringiensis*; *Anticancer Res.*, 29(1), p. 427-33.

Ohba M., Tantichodok A. et Aizawa K.; 1981; Production of heat-stable exotoxin by *Bacillus thuringiensis* and related bacteria; *J. Invertebr. Pathol.*, 38(1), p. 26-32.

Orolin J.J., Frycek J.G. et Hemming B.C. inventeurs; Inland Consultants Inc cessionnaire; Compositions and method for bioremediation of halogen contaminated soils; brevet des États-Unis 5766929.

Oves M., Khan M.S. et Zaidi A.; 2013; Biosorption of heavy metals by *Bacillus thuringiensis* strain OSM29 originating from industrial effluent contaminated north Indian soil; *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(2), p. 121-9.

Öztürk A.; 2007; Removal of nickel from aqueous solution by the bacterium *Bacillus thuringiensis*; *J. Hazard. Mater.*, 147(1-2), p. 518-23.

Palm C.J., Schaller D.L., Donegan K.K. et Seidler R.J.; 1996; Persistence in soil of transgenic plant produced *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* δ -endotoxin; *Can. J. Microbiol.*, 42(12), p. 1258-62.

Palma L., Hernández-Rodríguez C.S., Maeztu M., Hernández-Martínez P., de Escudero I.R., Escriche B., Muñoz D., Van Rie J., Ferré J. et Caballero P.; 2012; Vip3C, a novel class of vegetative insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*; *Appl. Environ. Microbiol.*, 78(19), p. 7163-5.

Palma L., Muñoz D., Berry C., Murillo J. et Caballero P.; 2014; *Bacillus thuringiensis* toxins: An overview of their biocidal activity; *Toxins*, 6(12), p. 3296-325.

Parasites réglementés par le Canada [Internet]; c2015 [consulté le 1^{er} mars 2016]; <http://www.inspection.gc.ca/vegetaux/phytoravageurs-especes-envahissantes/phytoravageurs/parasites-reglementes/fra/1363317115207/1363317187811#b>

Patel J.B., Cockerill F.R., Alder J., Bradford P.A., Eliopoulos G.M., Hardy D.J., Hindler J.A., Jenkins S.G., Lewis II J.S., Miller L.A. et al.; 2010; M45-A2 methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; approved guideline - second edition; Clinical and Laboratory Standards Institute M45-A2.

Pedersen J.C., Damgaard P.H., Eilenberg J. et Hansen B.M.; 1995; Dispersal of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in an experimental cabbage field; *Can. J. Microbiol.*, 41(2), p. 118-25.

Peker E., Cagan E., Dogan M., Kilic A., Caksen H. et Yesilmen O.; 2010; Periorbital cellulitis caused by *Bacillus thuringiensis*; *Eur. J. Ophthalmol.*, 20(1), p. 243-5.

Pena G., Miranda-Rios J., de la Riva G., Pardo-Lopez L., Soberon M, Bravo A.; 2006; A *Bacillus thuringiensis* S-layer protein involved in toxicity against *Epilachna varivestis* (coleoptera: Coccinellidae); *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(1), p. 353-60.

Perani M., Bishop A.H. et Vaid A.; 1998; Prevalence of β -exotoxin, diarrhoeal toxin and specific δ -endotoxin in natural isolates of *Bacillus thuringiensis*; *FEMS Microbiol. Lett.*, 160(1), p. 55-60.

Petras S.F. et Casida Jr L.E.; 1985; Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil; *Appl. Environ. Microbiol.*, 50(6), p. 1496-501.

Priest F.G., Barker M., Baillie L.W., Holmes E.C. et Maiden M.C.; 2004; Population structure and evolution of the *Bacillus cereus* group; *J. Bacteriol.*, 186(23), p. 7959-70.

Priest F.G., Kaji D.A., Rosato Y.B. et Canhos V.P.; 1994; Characterization of *Bacillus thuringiensis* and related bacteria by ribosomal RNA gene restriction fragment length polymorphisms; *Microbiology*, 140, p. 1015-22.

Princz J.; 2005; Assessment of the pathogenicity and toxicity of microbial substances to terrestrial organisms in soil; Ottawa: Environnement Canada; Interim Report.

Providenti M.A., Begin M., Hynes S., Lamarche C., Chitty D., Hahn J., Beaudette L.A., Scroggins R. et Smith M.L.; 2009; Identification and application of AFLP-derived genetic markers for quantitative PCR-based tracking of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. released in soil; *Can. J. Microbiol.*, 55(10), p. 1166-75.

Qiong L., Zhang Y., Cao G., Zhang L., Liang G., Lu Y., Wu K., Gao X. et Guo Y.; 2012; A fragment of cadherin-like protein enhances *Bacillus thuringiensis* Cry1B and Cry1C toxicity to *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae); *Journal of Integrative Agriculture*, 11(4), p. 628-38.

Raddadi N., Cherif A., Mora D., Ouzari H., Boudabous A., Molinari F. et Daffonchio D.; 2004; The autolytic phenotype of *Bacillus thuringiensis*; *J. Appl. Microbiol.*, 97(1), p. 158-68.

Raddadi N., Cherif A., Ouzari H., Marzorati M., Brusetti L., Boudabous A. et Daffonchio D.; 2007; *Bacillus thuringiensis* beyond insect biocontrol: Plant growth promotion and biosafety of polyvalent strains; *Annals of Microbiology*, 57(4), p. 481-94.

Radnedge L., Agron P.G., Hill K.K., Jackson P.J., Ticknor L.O., Keim P. et Andersen G.L.; 2003; Genome differences that distinguish *Bacillus anthracis* from *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*; *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(5), p. 2755-64.

Randhawa G.J., Singh M. et Grover M.; 2011; Bioinformatic analysis for allergenicity assessment of *Bacillus thuringiensis* cry proteins expressed in insect-resistant food crops; *Food and Chemical Toxicology*, 49(2), p. 356-62.

Rausell C., Martí A.C., Garcí I. et Real D.; 1999; The toxicity and physiological effects of *Bacillus thuringiensis* toxins and formulations on *Thaumetopoea pityocampa*, the pine processionary caterpillar; *Pestic. Biochem. Physiol.*, 65(1), p. 44-54.

Reddy A., Battisti L. et Thorne C.B.; 1987; Identification of self-transmissible plasmids in four *Bacillus thuringiensis* subspecies; *J. Bacteriol.*, 169(11), p. 5263-70.

Registre public des espèces en péril [Internet]; c2016 [consulté le 26 juillet 2016]; http://www.registrelep-sararegistry.gc.ca/sar/index/default_f.cfm

Reneshwary C., Rajalakshmi M., Marimuthu K. et Xavier R.; 2011; Dietary administration of *Bacillus thuringiensis* on the cellular innate immune response of

african catfish (*Clarias gariepinus*) against *aeromonas hydrophila*; *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 15(1), p. 53-60.

Reyes-Ramírez A. et Ibarra J.E.; 2008; Plasmid patterns of *Bacillus thuringiensis* type strains; *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(1), p. 125-9.

Rosas-Garcia N.M., Mireles-Martinez M., Hernandez-Mendoza J.L. et Ibarra J.E.; 2008; Screening of cry gene contents of *Bacillus thuringiensis* strains isolated from avocado orchards in Mexico, and their insecticidal activity towards *Argyrotaenia* sp. (Lepidoptera: Tortricidae) larvae; *J. Appl. Microbiol.*, 104(1), p. 224-30.

Rosenquist H., Smidt L., Andersen S.R., Jensen G.B. et Wilcks A.; 2005; Occurrence and significance of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* in ready-to-eat food; *FEMS Microbiol. Lett.*, 250(1), p. 129-36.

Ruhfel R.E., Robillard N.J. et Thorne C.B.; 1984; Interspecies transduction of plasmids among *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, and *B. thuringiensis*; *J. Bacteriol.*, 157(3), p. 708-11.

Sadfi N., Chérif M., Fliss I., Boudabbous A. et Antoun H.; 2001; Evaluation of bacterial isolates from salty soils and *Bacillus thuringiensis* strains for the biocontrol of *Fusarium* dry rot of potato tubers; *J. Plant. Pathol.*, 83(2), p. 101-18.

Salamitou S., Ramisse F., Brehélin M., Bourguet D., Gilois N., Gominet M., Hernandez E. et Lereclus D.; 2000; The *plcR* regulon is involved in the opportunistic properties of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* in mice and insects; *Microbiology*, 146(11), p.2825-2832.

Saleh S.M., Harris R.F. et Allen O.N.; 1970a; Fate of *Bacillus thuringiensis* in soil: Effect of soil pH and organic amendment; *Can. J. Microbiol.*, 16(8), p. 677-80.

Saleh S.M., Harris R.F. et Allen O.N.; 1970b; Recovery of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* from field soils; *J. Invertebr. Pathol.*, 15(1), p. 55-9.

Samples J.R. et Buettner H.; 1983; Corneal ulcer caused by a biologic insecticide (*Bacillus thuringiensis*); *Am. J. Ophthalmol.*, 95(2), p. 258-60.

Santé Canada; 2016; Décisions sur les aliments nouveaux – Produits approuvés [Internet] : Santé Canada; c2016 [consulté en janvier 2016]; <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/aliments-nutrition/aliments-genetiquement-modifies-autres-aliments-nouveaux/produits-approuves.html>

Santos C.A., Vilas-Boas G.T., Lereclus D., Suzuki M.T., Angelo E.A. et 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(2), p. 171-5.

Saxena D. et Stotzky G.; 2001; *Bacillus thuringiensis* (bt) toxin released from root exudates and biomass of bt corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria, and fungi in soil; *Soil Biol. Biochem.*, 33(9), p. 1225-30.

Schallmeyer M., Singh A. et Ward O.P.; 2004; Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production; *Can. J. Microbiol.*, 50(1), p. 1-17.

Schnepf E., Crickmore N., Van Rie J., Lereclus D., Baum J., Feitelson J., Zeigler D.R. et Dean D.H.; 1998; *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins; *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62(3), p. 775-806.

Schoeni J.L. et Wong A.C.; 2005; *Bacillus cereus* food poisoning and its toxins; *J. Food Prot.*, 68(3), p. 636-48.

Seligy V.L., Beggs R.W., Rancourt J.M. et Tayabali A.F.; 1997; Quantitative bioreduction assays for calibrating spore content and viability of commercial *Bacillus thuringiensis* insecticides; *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 18(6), p. 370-8.

Sims S.R.; 1995; *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (CryIA (C)) protein expressed in transgenic cotton: Effects on beneficial and other non-target insects; *Southwest Entomol.*, 20(4), p. 493-500.

Smith R.A. et Couche G.A.; 1991; The phylloplane as a source of *Bacillus thuringiensis* variants; *Appl. Environ. Microbiol.*, 57(1), p. 311-5.

Snarski V.M.; 1990; Interactions between *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and fathead minnows, *pimephales promelas rafinesque*, under laboratory conditions; *Appl. Environ. Microbiol.*, 56(9), p. 2618-22.

Sorokin A., Candelon B., Guilloux K., Galleron N., Wackerow-Kouzova N., Ehrlich S.D., Bourguet D. et Sanchis V.; 2006; Multiple-locus sequence typing analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* reveals separate clustering and a distinct population structure of psychrotrophic strains; *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(2), p. 1569-78.

StanleyHorn D.E., Dively G.P., Hellmich R.L., Mattila H.R., Sears M.K., Rose R., Jesse L.C.H, Losey J.E., Obrycki J.J. et Lewis L.; 2001; Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98(21), p. 11931-6.

Steinhaus E.A. et Jerrel E.A.; 1954; Further observations on *Bacillus thuringiensis* Berliner and other sporeforming bacteria; *Hilgardia*, DOI:10 3733/hilg v23n01p001 23(1):1.

Stenfors Arnesen L.P., Fagerlund A. et Granum P.E.; 2008; From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins; *FEMS Microbiol. Rev.*, 32(4), p. 579-606.

Stotzky G.; 2000; Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and of bacterial DNA bound on clays and humic acids; *J. Environ. Qual.*, 29(3), p. 691-705.

Stotzky G.; 2004; Persistence and biological activity in soil of the insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*, especially from transgenic plants; *Plant Soil*, 266(1-2), p. 77-89.

Swiecicka I. et De Vos P.; 2003; Properties of *Bacillus thuringiensis* isolated from bank voles; *J. Appl. Microbiol.*, 94(1), p. 60-4.

Swiecicka I., Fiedoruk K. et Bednarz G.; The occurrence and properties of *Bacillus thuringiensis* isolated from free-living animals; *Lett. Appl. Microbiol.*

Tapp H. et Stotzky G.; 1995a; Insecticidal activity of the toxins from *Bacillus thuringiensis* subspecies *kurstaki* and *tenebrionis* adsorbed and bound on pure and soil clays; *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(5), p. 1786-90.

Tapp H. et Stotzky G.; 1995b; Dot blot enzyme linked immunosorbent assay for monitoring the fate of insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* in soil; *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(2), p. 602-9.

Tapp H. et Stotzky G.; 1998; Persistence of the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in soil; *Soil Biol. Biochem.*, 30(4), p. 471-6.

Tapp H., Calamai L. et Stotzky G.; 1994; Adsorption and binding of the insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and subsp. *tenebrionis* on clay minerals; *Soil Biol. Biochem.*, 26(6), p. 663-79.

Tayabali A.F., Nguyen K.C. et Seligy V.L.; 2011; Early murine immune responses from endotracheal exposures to biotechnology-related *Bacillus* strains; *Toxicol. Environ. Chem.*, 93(2), p. 314-31.

Thomas W.E. et Ellar D.J.; 1983; *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* crystal delta-endotoxin: Effects on insect and mammalian cells in vitro and in vivo; *J. Cell. Sci.*, 60, p. 181-97.

Thorne C.B.; 1978; Transduction in *Bacillus thuringiensis*; *Appl. Environ. Microbiol.*, 35(6), p. 1109-15.

Ticknor L.O., Kolstø A., Hill K.K., Keim P., Laker M.T., Tonks M. et Jackson P.J.; 2001b; Fluorescent amplified fragment length polymorphism analysis of norwegian *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* soil isolates; *Appl. Environ. Microbiol.*, 67(10), p. 4863-73.

Ticknor L.O., Kolstø A.B., Hill K.K., Keim P., Laker M.T., Tonks M. et Jackson P.J.; 2001a; Fluorescent amplified fragment length polymorphism analysis of norwegian *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* soil isolates; *Appl. Environ. Microbiol.*, 67(10), p. 4863-73.

Tourasse N.J., Helgason E., Økstad O.A., Hegna I.K. et Kolstø A.; 2006b; The *Bacillus cereus* group: Novel aspects of population structure and genome dynamics; *J. Appl. Microbiol.*, 101(3), p. 579-93.

Tourasse N.J., Helgason E., Okstad O.A., Hegna I.K. et Kolstø A.B.; 2006a; The *Bacillus cereus* group: Novel aspects of population structure and genome dynamics; *J. Appl. Microbiol.*, 101(3), p. 579-93.

Tran S. L., Guillemet E., Gohar M., Lereclus D. et Ramarao N.; 2010; CwpFM (EntFM) is a *Bacillus cereus* potential cell wall peptidase implicated in adhesion, biofilm formation, and virulence; *Journal of bacteriology*, 192(10), p. 2638-2642.

Turnbull P.C.B., Sirianni N.M., LeBron C.I., Samaan M.N., Sutton F.N., Reyes A.E. et Peruski Jr L.F.; 2004; MICs of selected antibiotics for *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, and *Bacillus mycoides* from a range of clinical and environmental sources as determined by the etest; *J. Clin. Microbiol.*, 42(8), p. 3626-34.

Tyrell D.J., Bulla Jr L.A., Andrews Jr R.E., Kramer K.J., Davidson L.I. et Nordin P.; 1981; Comparative biochemistry of entomocidal parasporal crystals of selected *Bacillus thuringiensis* strains; *J. Bacteriol.*, 145(2), p. 1052-62.

Vachon V., Laprade R. et Schwartz J.; 2012; Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: A critical review; *J. Invertebr. Pathol.*, 111(1), p. 1-12.

Vadlamudi R.K., Ji T.H. et Bulla Jr L.A.; 1993; A specific binding protein from *manduca sexta* for the insecticidal toxin of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Berliner*; *J. Biol. Chem.*, 268(17), p. 12334-40.

Vadlamudi R.K., Weber E., Ji I., Ji T.H. et Bulla Jr L.A.; 1995; Cloning and expression of a receptor for an insecticidal toxin of *Bacillus thuringiensis*; *J. Biol. Chem.*, 270(10), p. 5490-4.

Vaisanen O.M., Mwaishumo N.J., Salkinoja-Salonen M.S.; 1991; Differentiation of dairy strains of the *Bacillus cereus* group by phage typing, minimum growth temperature, and fatty acid analysis; *J. Appl. Bacteriol.*, 70(4), p. 315-24.

Van Cuyk S., Deshpande A., Hollander A., Duval N., Ticknor L., Layshock J., Gallegos-Graves L. et Omberg K.M.; 2011; Persistence of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in urban environments following spraying; *Appl. Environ. Microbiol.* 77(22), p. 7954-61.

van Frankenhuyzen K.; 2009; Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins; *J. Invertebr. Pathol.*, 101(1), p. 1-16.

van Frankenhuyzen K.; 2013; Cross-order and cross-phylum activity of *Bacillus thuringiensis* pesticidal proteins; *J. Invertebr. Pathol.*, 114(1), p. 76-85.

van Veen J.A., van Overbeek L.S. et van Eslas J.D.; 1997; Fate and activity of microorganisms introduced into soil; *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 61, p. 121-35.

Vassileva M., Torii K., Oshimoto M., Okamoto A., Agata N., Yamada K., Hasegawa T. et Ohta M.; 2006; Phylogenetic analysis of *Bacillus cereus* isolates from severe systemic infections using multilocus sequence typing scheme; *Microbiol. Immunol.*, 50(9), p. 743-9.

Vettori C., Paffetti D., Saxena D., Stotzky G. et Giannini R.; 2003; Persistence of toxins and cells of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* introduced in sprays to sardinia soils; *Soil Biol. Biochem.*, 35(12), p. 1635-42.

Warren R.E., Rubenstein D., Ellar D.J., Kramer J.M. et Gilbert R.J.; 1984; *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*: Protoxin activation and safety; *Lancet*, 1(8378), p. 678-9.

West A.W., Burges H.D., Dixon T.J. et Wyborn C.H.; 1985; Survival of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* spore inocula in soil: Effects of pH, moisture, nutrient availability and indigenous microorganisms; *Soil Biol. Biochem.*, 17(5), p. 657-65.

West A.W., Burges H.D., White R.J. et Wyborn C.H.; 1984; Persistence of *Bacillus thuringiensis* parasporal crystal insecticidal activity in soil; *J. Invertebr. Pathol.*, 44(2), p. 128-33.

Westall E.B. inventeur; 1980-02-05; Insecticidal composition of *Bacillus thuringiensis* admixed with pyrethrum; CA 1071100.

OMS; 1999; Environmental health criteria 217, microbial pest control agent *Bacillus thuringiensis*; Genève : Organisation mondiale de la santé.

Wilcks A., Hansen B.M., Hendriksen N.B. et Licht T.R.; 2006a; Fate and effect of ingested *Bacillus cereus* spores and vegetative cells in the intestinal tract of human-flora-associated rats; *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 46(1), p. 70-7.

Wilcks A., Hansen B.M., Hendriksen N.B. et Licht T.R.; 2006b; Persistence of *Bacillus thuringiensis* bioinsecticides in the gut of human-flora-associated rats; *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 48(3), p. 410-8.

Wilcks A., Jayaswal N., Lereclus D. et Andrup L.; 1998; Characterization of plasmid pAW63, a second self-transmissible plasmid in *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD73; *Microbiology*, 144(5), p. 1263-70.

- Wraight C.L., Zangerl A.R., Carroll M.J. et Berenbaum M.R.; 2000; Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97(14), p. 7700-7703.
- Wu D., Johnson J.J. et Federici B.A.; 1994; Synergism of mosquitocidal toxicity between CytA and CryIVD proteins using inclusions produced from cloned genes of *Bacillus thuringiensis*; *Mol. Microbiol.*, 13(6), p. 965-72.
- Wunschel D., Fox K.F., Black G.E. et Fox A.; 1995; Discrimination among the *B. cereus* group, in comparison to *B. subtilis*, by structural carbohydrate profiles and ribosomal RNA spacer region PCR; *Syst. Appl. Microbiol.*, 17(4), p. 625-35.
- Xavier R., Nagarathinam P., Krishnan G., Murugan V. et Jayaraman K.; 2007; Isolation of lepidopteran active native *Bacillus thuringiensis* strains through PCR panning; *Asia-Pacific J. Mol. Biol. Biotechnol.*, 15(2), p. 61-7.
- Yamashita S., Akao T., Mizuki E., Saitoh H., Higuchi K., Shin Park Y., Kim H. et Ohba M.; 2000; Characterization of the anti-cancer-cell parasporal proteins of a *Bacillus thuringiensis* isolate; *Can. J. Microbiol.*, 46(10), p. 913-9.
- Ye W., Zhu L., Liu Y., Crickmore N., Peng D., Ruan L. et Sun M.; 2012; Mining new crystal protein genes from *Bacillus thuringiensis* on the basis of mixed plasmid-enriched genome sequencing and a computational pipeline; *Appl. Environ. Microbiol.*, 78(14), p. 4795-801.
- Yu H., Li Y. et Wu K.; 2011; Risk assessment and ecological effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* crops on non-target organisms; *Journal of Integrative Plant Biology*, 53(7), p. 520-38.
- Zangerl A.R., McKenna D., Wraight C.L., Carroll M., Ficarelo P., Warner R. et Berenbaum M.R.; 2001; Effects of exposure to event 176 *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch and black swallowtail caterpillars under field conditions; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98(21), p. 11908-12.
- Zhang L., Peng Y., Wu S., Sun L., Huang E., Huang T., Xu L., Wu C., Gelbic I. et Guan X.; 2012; Microbial ecology and association of *Bacillus thuringiensis* in chicken feces originating from feed; *Curr. Microbiol.*, 65(6), p. 784-91.
- Zhong C., Ellar D.J., Bishop A., Johnson C., Lin S. et Hart E.R.; 2000; Characterization of a *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin which is toxic to insects in three orders; *J. Invertebr. Pathol.*, 76(2), p. 131-9.

ANNEXES

Annexe A : Analyse des esters méthyliques d'acides gras

Tableau A-1 : Analyse des esters méthyliques d'acide gras (EMAG) de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*

Données générées par des chercheurs de Santé Canada. Les données présentées montrent la meilleure correspondance entre l'échantillon et deux bases de données MIDI (clinique et environnementale). Dans ce tableau, nous rapportons 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). MIDI est un système d'identification commercial basé sur l'analyse chromatographique en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras cellulaires.

Environnement Nombre de correspondances-8/15 (0,625)	Fréquence clinique – Meilleure correspondance (indice de similarité)
<i>B. thuringiensis</i> -entomocidus 8/15 (0,625)	<i>B. cereus</i> -CG sous-groupe 5/9 (0,776)
<i>B. cereus</i> -CG sous-groupe 4/15 (0,311)	<i>B. thuringiensis</i> -CG sous-groupe B 4/9 (0,535)
<i>B. mycoides</i> -CG sous-groupe B (groupe <i>Bacillus cereus</i>) 2/15 (0,125)	
<i>B. thuringiensis</i> -sotto 1/15 (0,397)	

Annexe B : Croissance de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* dans divers milieux

Tableau B-1 : Croissance de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* dans un milieu liquide à diverses températures

Milieu	27 °C	32 °C	37 °C	42 °C
Bouillon trypticase soja	+	+	+	+
Sérum de mouton	~	~	~	~
Sérum foetal bovin	+	+	+	+
DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)	~	~	~	-

– pas de croissance, + croissance, ~ faible croissance ou croissance tardive (après 15 h)

Données générées par des chercheurs de Santé Canada. Croissance de *B. thuringiensis* ATCC 13367 dans un bouillon de culture, mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 500 nm, dans quatre milieux de culture et à différentes températures : la concentration de bactéries au temps zéro était de 1×10^6 UFC/ml. Les mesures ont été prises toutes les 15 minutes sur une période de 24 h, au moyen d'un spectrophotomètre à puits multiples.

Tableau B-2 : Caractéristiques de la croissance de la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis* sur des milieux solides à diverses températures⁹

Milieu	28 °C	37 °C
Gélose de citrate acide ^a	+	+
Gélose nutritive	+	+
Gélose mannitol-sel ^b	-	-
Croissance sur une gélose amidon ^c	+	+
Croissance sur une gélose urée	+	+
Activité catalase ^d	+	+
Croissance sur une gélose de sang de mouton	+	+
Hémolyse du sang de mouton ^e	+	+

(+) Résultat positif à l'épreuve de croissance

(-) Résultat négatif à l'épreuve de croissance

^a Capacité d'utiliser le citrate comme seule source de carbone

^b Isolement et différenciation de staphylocoques

^c Milieux différentiels visant à déterminer si un organisme peut produire des enzymes extracellulaires hydrolysant l'amidon

^d Mesures de l'activité enzymatique de la catalase par détoxification enzymatique du peroxyde d'hydrogène

^e Hémolyse du sang de mouton

⁹ Tests réalisés par le Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale de Santé Canada.

Annexe C : Facteurs de virulence de *B. thuringiensis*

Tableau C-1 : Facteurs de virulence et toxines associés à *B. thuringiensis* présents chez la souche ATCC 13367 de *B. thuringiensis*3

Facteurs de virulence/toxines (gènes)	Immuno-chromatographie ^a	Amplification par PCR ^b	Requêtes BLASTn de contigs du génome entier de la souche ATCC 13367
Toxine Cry ^{c,d,e}	N.T.	N	+ (Cry1Ba4) ^{e,f}
Groupe de gènes associé à la biosynthèse de la thuringiensine	N.T.	N.T.	N
Protéines insecticide végétatives (vip3A, vip3B, vip3C) ^{d,e}	N.T.	N	N
Cyt 1 ^e	N.T.	N.T.	N
Cyt 2 ^e	N.T.	N.T.	N
Cytotoxine K (cytK)	N.T.	+	+
Sphingomyélinase (sph)	N.T.	?	+
Cérolysine O (thuringiolysine O, tlo)	N.T.	+	+
Hémolysine II	N.T.	+	+
Hémolysine III	N.T.	+	+
Entérotoxine FM (CwpFM)	N.T.	+	+
Hémolysine BL (HBL)	+	+	+
Entérotoxine non hémolytique (NHE)	+	+	+

Phospholipase C spécifique de la phosphatidylcholine (PC-plc)	N.T.	+	+
Facteur de transcription PlcR	N.T.	N.T.	+
FhIA (flhA)	N.T.	N.T.	+
Inhibiteur immunitaire A (inhA)	N.T.	N.T.	+
Peptidase neutre B (nprB)	N.T.	N.T.	+
Métalloprotéase (nprP2)	N.T.	N.T.	+
Protéase (sfp)	N.T.	N.T.	+
Chitinase	N.T.	N.T.	+
Parasporines (Cry31, Cry46, Cry41, Cry45) ^e	N.T.	N.T.	N

Tests réalisés par le Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale de Santé Canada.

^a Protéines décelées dans une culture de *B. thuringiensis* ATCC 13367 par immunochromatographie. Un volume de 200 µl d'une culture de *B. thuringiensis* ATCC 13367 incubé pendant une nuit dans un bouillon cœur-cerveau a été appliqué sur un dispositif Duopath® destiné à identifier les entérotoxines de *Bacillus cereus*.

https://www.emdmillipore.com/CA/en/product/Duopath-Cereus-Enterotoxins,MDA_CHEM-104146#overview (en anglais seulement)

^b La présence et la taille des amplicons correspondent à *B. cereus* ATCC 14579 ou à *B. thuringiensis* ssp *kurstaki* (Foray 48B) (+ = présence/cohérence; ? = taille d'amplicon incohérente; N = non détecté; N.T. = non testé)

^c Séquences d'amorce (Rosas-Garcia et al. 2008)

^d Séquences d'amorce (Jain et al. 2012)

^e Le statut à l'égard des protéines Cry, Cyt et Vip a également été déterminé au moyen de fichiers portant sur des contigs du génome, avec un appareil BtToxin_scanner (Ye et al. 2012)

^f Se reporter au site <http://www.btnomenclature.info/> (en anglais seulement)

Annexe D : Gamme d'hôtes des toxines Cry

Tableau D-1 : Gamme d'hôtes des toxines Cry et Cyt associées à *B. thuringiensis*

Hôte	Toxines Cry ou Cyt
Lépidoptères	Cry1A-K, Cry2A, Cry7B, Cry8D, Cry9A-C,E, Cry15A, Cry22A, Cry51A
Diptères	Cry1A-C, Cry2A, Cry4A-B, Cry10, Cry11A-B, Cry16A, Cry19A-B, Cry20A, Cry24C, Cry27A, Cry32B-D, Cry39A, Cry44A, Cry47A, Cry48A, Cry49A, Cyt1A-B, Cyt2A-B
Coléoptères	Cry1B, Cry3A-C, Cry7A, Cry8a-G, Cry9D, Cry14A, Cry18A, Cry22A-B, Cry22A, Cry34A-B, Cry35A-B, Cry36A, Cry37A, Cry43A-B, Cry55A, Cyt1A, Cyt2C
Rhabditida	Cry5A, Cry6A-B, Cry12A, Cry13A, Cry14A, Cry21A, Cry55A
Hémiptères	Cry2A, Cry3A, Cry11A
Hyménoptères	Cry3A, Cry5A, Cry22A
Gastéropodes	Cry1Ab
Cellules cancéreuses humaines	Cry31A, Cry41A, Cry42A, Cry45A, Cry46A (parasporines)
Bactéries	Cry1A, Cry3A, CryD-like, Cry4Ba, Cry11Aa, Cyt1Aa