

**Évaluation préalable finale de la souche  
ATCC 700368 d'*Escherichia hermannii***

**Environnement Canada  
Santé Canada**

**Août 2015**

N° de cat. : En14-227/2015F-PDF  
ISBN 978-0-660-02213-0

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

On demande seulement :

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

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

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le ministre de l'environnement, 2015.

Also available in English

## Sommaire

Conformément à l'alinéa 74b) de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999)* (LCPE (1999)), la ministre de l'Environnement et la ministre de la Santé ont procédé à une évaluation préalable de la souche ATCC 700368 d'*Escherichia hermannii*.

La souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* est une bactérie Gram négatif non sporulante. Les rapports d'isolement d'*E. hermannii* sont rares, mais comprennent diverses sources, notamment des humains, des aliments crus ou transformés, des animaux et leurs produits alimentaires, des plantes, des milieux terrestres, aquatiques et marins. *E. hermannii* joue un rôle dans le cycle de l'azote et du soufre, et peut tolérer des milieux contaminés par des hydrocarbures et des métaux toxiques. Ces propriétés lui confèrent un intérêt commercial potentiel. Les utilisations potentielles de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* signalées dans le domaine public comprennent la biorestauration, la biodégradation, le traitement des effluents industriels, l'assainissement des eaux usées municipales (en particulier les séparateurs d'huile et de pétrole et de graisse ainsi que les boues d'épuration), le contrôle des odeurs, le traitement des déchets organiques et le compostage.

Dans les ouvrages scientifiques, rien n'indique que la souche *E. hermannii* ATCC 700368 puisse avoir des effets nocifs sur les populations animales et végétales dans l'environnement. Toutefois, étant donné qu'*E. hermannii* a rarement été isolée, il se peut que l'exposition d'espèces environnementales aux souches d'*E. hermannii* dans la nature n'ait pas été suffisante pour observer ou documenter sa capacité à provoquer des maladies chez les plantes ou les animaux. Par conséquent, des incertitudes subsistent concernant le potentiel pathogène de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* et ses effets sur l'environnement.

Bien qu'*E. hermannii* ait parfois été décrite comme un pathogène opportuniste chez l'humain et que des données publiées montrent que certaines souches contiennent des déterminants de pathogénicité, aucun rapport n'établit de lien entre *E. hermannii* et la production de toxines connues. Les infections impliquant *E. hermannii* en tant qu'agent pathogène primaire putatif sont très rares et surviennent chez des personnes présentant des prédispositions aux infections ou encore lorsque les barrières normales contre l'infection sont compromises. Comme la plupart des micro-organismes, *E. hermannii* peut causer des effets nocifs lorsqu'elle est introduite dans des parties du corps normalement stériles. La plupart des rapports de cas impliquant *E. hermannii* étaient polymicrobiens et les autres micro-organismes impliqués ont été considérés comme les agents pathogènes principaux. *E. hermannii* a également été isolée dans des selles de diarrhée, quoique rarement, mais on n'a jamais prouvé qu'elle était à l'origine de la maladie.

La présente évaluation tient compte des caractéristiques mentionnées ci-haut de la souche ATCC 70038 d'*E. hermannii* en ce qui concerne les effets sur l'environnement et la santé humaine découlant de son utilisation dans des produits ou des procédés industriels visés par la LCPE (1999), y compris les rejets dans l'environnement au moyen des flux de déchets et l'exposition humaine accidentelle dans les milieux naturels. Afin de mettre à jour les renseignements sur les utilisations actuelles de ce micro-organisme, le gouvernement a lancé une enquête pour la collecte obligatoire de renseignements en application de l'article 71 de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999)*, dont l'avis a été publié dans la Partie I de la *Gazette du Canada* le 3 octobre 2009 (Avis en vertu de l'article 71). Les renseignements fournis en réponse à l'Avis en vertu de l'article 71 ainsi que les plus récentes données disponibles indiquent que la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* n'est pas importée ni fabriquée au Canada.

Compte tenu de tous les éléments de preuve contenus dans la présente évaluation préalable, la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* présente un faible risque d'effets nocifs sur les organismes et sur l'intégrité globale de l'environnement. On peut conclure que la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* ne satisfait pas aux critères énoncés aux alinéas 64a) ou b) de la LCPE (1999), car elle ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou concentration ou dans des conditions de nature à avoir, immédiatement ou à long terme, un effet nocif sur l'environnement ou sur la diversité biologique, ou à mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie.

D'après les renseignements contenus dans la présente évaluation préalable, on peut également conclure que la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* ne satisfait pas aux critères de l'alinéa 64c) de la LCPE (1999), car elle ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou concentration ou dans des conditions de nature à constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaines.

## Table des matières

Sommaire .....	ii
Introduction .....	vii
Décisions d'autorités compétentes sur le plan national et international .....	ix
1. Évaluation du danger .....	1
1.1 Caractérisation de la souche ATCC 700368 d' <i>Escherichia hermannii</i> .....	1
1.2 Effets.....	11
1.3 Gravité du danger .....	18
2. Évaluation de l'exposition.....	20
2.1 Sources d'exposition .....	20
2.2 Caractérisation de l'exposition .....	21
3. Caractérisation des risques.....	24
4. Conclusion .....	25
5. Références.....	26
A. Annexes .....	35
Annexe 1. Caractérisation de la souche ATCC 700368 d' <i>Escherichia hermannii</i> <sup>a</sup> .....	35
Annexe 2. Essai de virulence et de pathogénicité de la souche ATCC 700368 d' <i>E. hermannii</i> .....	40
Annexe 3. Utilisations potentielles d' <i>Escherichia hermannii</i> .....	42

## Liste des tableaux

Tableau 1-1. Caractéristiques morphologiques de <i>E. hermannii</i> .....	4
Tableau 1-2. Propriétés physiologiques de <i>E. hermannii</i> .....	4
Tableau 1-3. Analyse moléculaire de <i>E. hermannii</i> .....	5
Tableau 1-4. Sensibilité aux antimicrobiens de 32 souches de <i>E. hermannii</i> (adapté de Brenner <i>et al.</i> , 1982) .....	10
Tableau 1-5. Concentration minimale inhibitrice (CMI) et sensibilité aux antibiotiques de la souche ATCC 700368 de <i>E. hermannii</i> .....	10
Tableau 1-6. Rapports de cas chez les humains dans lesquels <i>E. hermannii</i> a été isolée .....	13
Tableau 1-7. Caractéristiques biochimiques d' <i>E. hermannii</i> par rapport aux autres membres de la famille des Entérobactériacées .....	17
Tableau A-1. Analyse des esters méthyliques d'acides gras (EMAG) de la souche ATCC 700368 d' <i>E. hermannii</i> à l'aide de la base de données cliniques et environnementales MIDI .....	35
Tableau A-2. Croissance de la souche ATCC 700368 d' <i>E. hermannii</i> dans des milieux liquides à différentes températures.....	38
Tableau A-3. Croissance de la souche ATCC 700368 d' <i>E. hermannii</i> sur des milieux solides.....	38

Tableau A-4. Caractéristiques biochimiques de la souche ATCC 700368 d' <i>E. hermannii</i> .....	38
Tableau A-5. Culture de cellules in vitro : Cytotoxicité.....	40
Tableau A-6. Modèle murin : Données sur l'exposition endotrachéale .....	41
Tableau A-7. Liste des brevets et des utilisations potentielles d' <i>Escherichia hermannii</i> .....	42

## Liste des figures

Figure 1-1. Persistance de la souche ATCC 700368 d' <i>E. hermannii</i> dans le sol (Xiang <i>et al.</i> , 2010).....	9
Figure A-1. Analyse des esters méthyliques d'acides gras (EMAG) de la souche ATCC 17587 de <i>P. stutzeri</i> à l'aide de la base de données MIDI cliniques et environnementales.....	36
Figure A-2. Analyse génomique multilocus de la souche ATCC 700368 d' <i>E. hermannii</i> .....	37

## Introduction

Conformément à l'article 74 de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999)*, le ministre de l'Environnement et le ministre de la Santé sont tenus de procéder à l'évaluation préalable des organismes vivants inscrits sur la *Liste intérieure* et commercialisés entre 1984 et 1986, afin de déterminer si lesdits organismes présentent ou sont susceptibles de présenter un risque pour l'environnement ou la santé humaine (d'après les critères énoncés à l'article 64 de la *Loi*)<sup>1</sup>. Cette souche a été ajoutée à la *Liste intérieure* en vertu du paragraphe 25(1) de la LCPE (1988) et à la *Liste intérieure* en vertu du paragraphe 105(1) de la LCPE (1999) parce qu'elle a été fabriquée ou importée au Canada entre le 1<sup>er</sup> janvier 1984 et le 31 décembre 1986.

La présente évaluation préalable tient compte des renseignements sur les risques tirés du domaine public et de données de recherche non publiées, ainsi que des commentaires d'examineurs scientifiques. Les renseignements liés à l'exposition proviennent du domaine public et des renseignements découlant de l'Avis en vertu de l'article 71 de la LCPE (1999) publié le 3 octobre 2009 dans la Partie I de la *Gazette du Canada*. Pour obtenir des précisions sur la méthode d'évaluation des risques utilisée, voir le « [Cadre d'évaluation scientifique des risques liés aux micro-organismes réglementés en vertu de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement \(1999\)](#) » (Environnement Canada et Santé Canada, 2011).

Dans le présent rapport, les données propres à la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* inscrite sur la *Liste intérieure* sont indiquées comme telles. Les données propres à la souche sont limitées et proviennent de quatre sources : les données du proposant, l'American Type Culture Collection (ATCC), ainsi que des données non publiées produites par les chercheurs scientifiques de Santé Canada<sup>2</sup> et d'Environnement Canada<sup>3</sup>. Lorsque les données propres à une souche n'étaient pas disponibles, des données de substitution appropriées provenant de recherches documentaires ont été utilisées. Lorsqu'il y a lieu, les recherches documentaires sur l'organisme comprenaient ses synonymes ainsi que ses noms communs et périmés. Dans chaque cas, les organismes de substitution sont identifiés au niveau taxonomique fourni par la source. Les recherches documentaires ont été effectuées à l'aide de bases de données de publications scientifiques (SCOPUS, Google Scholar, CAB Abstracts et Pubmed du NCBI), de recherches sur le Web, et de

---

<sup>1</sup> La détermination de la conformité à l'un ou plusieurs des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE (1999) est basée sur une évaluation des risques pour l'environnement et/ou la santé humaine liés à l'exposition dans l'environnement en général. Pour les humains, cela inclut, sans toutefois s'y limiter, l'exposition par l'air, l'eau et l'utilisation de produits contenant la substance. Une conclusion établie en vertu de la LCPE (1999) peut ne pas être pertinente à une évaluation, qu'elle n'empêche pas non plus, par rapport aux critères définis dans le *Règlement sur les produits contrôlés*, qui fait partie d'un cadre réglementaire pour le Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT) pour les produits destinés à être utilisés au travail.

<sup>2</sup> Essais dirigés par le Bureau de la science et de la recherche en santé environnementale de Santé Canada.

<sup>3</sup> Essais réalisés par la Division des méthodes biologiques d'Environnement Canada.

termes de recherche clés afin de cerner les dangers potentiels pour la santé humaine et l'environnement. Les renseignements recueillis jusqu'en novembre 2013 ont été pris en considération et inclus dans le présent rapport.

## Décisions d'autorités compétentes sur le plan national et international

*E. hermannii* est un agent pathogène humain et des animaux terrestres selon l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC). Elle n'est pas répertoriée comme une maladie des animaux aquatiques à déclaration ou à désignation obligatoires en vertu de la *Loi sur la santé des animaux*, le *Règlement sur les maladies déclarables* ou le *Règlement sur la santé des animaux*; elle ne figure pas non plus sur la liste de l'Office international des épizooties (OIE, 1997). Elle n'est pas répertoriée comme un phytoravageur réglementé au Canada (communication personnelle, Agence canadienne d'inspection des aliments, 2013) et n'est pas un organisme nuisible réglementé par les pays signataires de la Convention internationale pour la protection des végétaux (CIPV). Elle ne figure pas dans la base de données des espèces envahissantes du Programme mondial sur les espèces envahissantes (GISP).

L'utilisation d'*E. hermannii* dans les aliments pour animaux, les engrais ou en tant que produit antiparasitaire sera examinée dans le cadre d'autres lois canadiennes.

Concernant *E. hermannii*, il n'existe aucun rapport ou décision touchant l'homologation des pesticides auprès de l'Environmental Protection Agency des États-Unis (USEPA) ou de l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA), aucun vaccin n'a été homologué par la Food and Drug Administration des États-Unis (USFDA), et aucune homologation de produits vétérinaires biologiques n'a été déposée auprès du Department of Agriculture des États-Unis (USDA) ou de l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA).

# 1. Évaluation du danger

## 1.1 Caractérisation de la souche ATCC 700368 d'*Escherichia hermannii*

### 1.1.1 Identification taxonomique et historique de la souche

**Nom binomial :** *Escherichia hermannii*

**Désignation taxonomique :**

<b>Règne :</b>	Bactéries
<b>Embranchement :</b>	Protéobactéries
<b>Classe :</b>	Gammaprotéobactéries
<b>Ordre :</b>	Entérobactériales
<b>Famille :</b>	Entérobactériacées
<b>Genre :</b>	<i>Escherichia</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Escherichia hermannii</i> (Brenner <i>et al.</i> , 1982)
<b>Souche type :</b>	ATCC 33650 (NBRC105704)
<b>Souche inscrite à la Liste intérieure :</b>	ATCC 700368

**Noms communs et noms périmés :** *Escherichia hermannii*; Enteric group 11, nom donné par le CDC<sup>4</sup> (*E. coli* atypique)

**Historique de la souche :** la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* a été isolée dans une lagune par Sybron Chemical Inc. pour sa capacité à oxyder les sulfures. La souche a été déposée auprès de l'ATCC en 1997 et a été inscrite sur la *Liste intérieure* en mars 1997.

#### 1.1.1.1 Phylogénèse d'*E. hermannii*

La taxonomie d'*E. hermannii* est complexe et ambiguë : l'espèce a initialement été classée comme une bactérie *E. coli* atypique, appelée Enteric Groupe 11 par le

---

<sup>4</sup> Centers for Disease Control

CDC (Brenner *et al.*, 1982). Puis, elle a été reclassée en tant que nouvelle espèce d'*Escherichia* distincte de la bactérie *E. coli* après une étude sur la parenté génétique (homologie ADN-ADN) et d'après un ensemble de caractéristiques métaboliques inhabituelles pour *E. coli* : production d'un pigment jaune, capacité à croître sur le cyanure de potassium (KCN) et utilisation de la cellobiose (Brenner *et al.*, 1982). En se fondant uniquement sur l'analyse de l'ADN pour examiner la parenté génétique, *E. hermannii* aurait pu être rattachée aux genres *Enterobacter*, *Citrobacter* (notamment *C. freundii*), *Klebsiella*, *Escherichia* ou *Salmonella* (notamment *S. enterica*). Sur le plan biochimique, *E. hermannii* est très similaire à *E. coli* et à *Citrobacter amalonaticus* (*Levinea amalonaticaa*), mais ne correspond pas parfaitement à l'un ou l'autre des profils biochimiques. Brenner a donc proposé la création d'un nouveau genre intermédiaire entre ces deux genres (Brenner *et al.*, 1982; Cilia *et al.*, 1996; Christensen *et al.*, 1998). L'état des connaissances scientifiques sur le genre *Escherichia* indique maintenant qu'*E. hermannii* n'est pas un membre valide du genre *Escherichia* (Walk *et al.*, 2009; Clermont *et al.*, 2011). *E. hermannii* a été exclu du genre en vertu du Clermont pour la classification des *Escherichia* (Retchless et Lawrence, 2010; Luo *et al.*, 2011; Carlos *et al.*, 2010; Clermont *et al.*, 2011, 2013; Oh *et al.*, 2012). Ce changement est fondé sur les critères établis pour la classification (Stackebrandt *et al.*, 2002; Wertz *et al.*, 2003; Tindall *et al.*, 2010), ainsi que 1) ses similitudes génétiques minimales avec le genre *Escherichia* (de 39 à 46 % par rapport au seuil établi de 70 %), 2) le petit nombre d'isolats utilisés pour déterminer la classification (la similitude génétique n'a été établie que pour huit souches), et 3) l'exigence qui consiste pour un genre à être monophylétique, alors que les analyses phylogénétiques indiquent qu'*E. hermannii* ne forme pas un groupe avec le genre *Escherichia* d'après l'analyse de la séquence du gène de l'ARN ribosomique 16S ou des séquences indicatrices plus sensibles : *ompA*, *adnJ*, *tuf* et *atpD* (Lawrence *et al.*, 1991; Hartl, 1992; Christensen *et al.*, 1998; Paradis *et al.*, 2005; Iversen *et al.*, 2007; Walk *et al.*, 2009; Pham *et al.*, 2007). Les études phylogénétiques permettent de conclure qu'*E. hermannii* est plus étroitement apparentée à *Citrobacter freundii* (Brenner *et al.*, 1982), à *Salmonella enterica* (Scheutz et Strockbine 2005; Lawrence *et al.*, 1991; Christensen *et al.*, 1998), à des espèces d'*Enterobacter* (*E. cowanii* [aujourd'hui reclassée en tant que *Kosakonia cowanii* comb. nov.]), *E. cloacae*, *E. dissolvens*, *E. sakazakii* (de nombreux organismes maintenant connus sous le nom *Cronobacter sakazakii*) et à *Klebsiella pneumoniae* (Iversen, 2007; Paradis *et al.*, 2005).

La souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* inscrite à la Liste intérieure a été analysée par les scientifiques de Santé Canada au moyen de l'analyse des esters méthyliques d'acides gras (EMAG) et de l'analyse génomique multilocus (MLSA) des gènes *recN*, *rpoA* et *thdF*. Lors de l'analyse des esters méthyliques d'acides gras, la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* apparaît liée à *Citrobacter amalonaticus*, à *Citrobacter koseri*, à *Kluyvera cryocrescens*, à *Pantoea agglomerans* et à *Enterobacter* (*E. cloacae*) [annexe 1, Tableau A-1]. L'arbre phylogénétique des premiers résultats pour le gène *recN* dans la Genbank permet de conclure que la souche ATCC 700368 est étroitement liée à une souche de type *E. hermannii* et à un autre isolat d'*E. hermannii* (tous les deux des isolats cliniques). De plus, la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* est étroitement liée aux nouvelles espèces

proposées du genre *Cronobacter* (*C. helveticus*, *C. zuricensis*, *C. pulveris* [basonymes (ancienne nomenclature) *Enterobacter helveticus*, *E. pulveris* et *E. turicensis*], ainsi que *C. mutjensisii*, *C. dublinensis* et *C. sakazakii*) et à *Klebsiella pneumonia* (annexe 1, figure A-2). Des résultats similaires ont été obtenus lors d'une recherche sur le gène *thdF* de la souche ATCC 700368 effectuée à l'aide de l'outil Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Une recherche effectuée avec l'outil BLAST sur le gène *rpoA* de la souche ATCC 700368 a permis d'obtenir des résultats d'identité de 97 % avec *Leclercia adecarboxylata* et de 96 % avec *Enterobacter cloacae*. Bien que ces analyses phylogénétiques indiquent que la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* est étroitement liée à des pathogènes opportunistes connus, la pertinence des associations phylogénétiques n'est pas claire en l'absence de données cliniques établissant la pathogénicité et la virulence et compte tenu de l'importante variabilité interspécifique et intraspécifique en matière de virulence au sein de la famille des Entérobactériacées.

### 1.1.1.2 Caractéristiques phénotypiques et moléculaires

La souche ATXX 700368 d'*E. hermannii* a été mise en évidence à l'aide du système Biolog. L'American Type Culture Collection (ATCC) a ensuite validé l'identité de l'organisme en se fondant sur la morphologie et le phénotype ainsi que sur les analyses biochimiques (VITEK 2 et API de BioMérieux). On sait que VITEK 2 est connue pour identifier à tort *Shigella sonnei* comme *E. hermannii*. Toutefois, certaines caractéristiques physiologiques et biochimiques (pigment jaune, motilité, production d'indole et fermentation d'amygdaline) prouvent qu'il ne s'agit pas de *Shigella sonnei*. D'autres caractéristiques (pigment jaune, capacité à croître sur le KCN et cellobiose) prouvent également que la souche n'est pas *Escherichia coli* (Cedarlane, communication personnelle). On a parfois confondu *E. hermannii* avec *Citrobacter diversus* (ATCC, communication personnelle), *C. freundii* (Fernandez *et al.*, 2011), *Shigella sonnei* (Biomérieux) et *E. coli* (Tardio *et al.*, 1988), ce qui indique que l'identification de *E. hermannii* n'est pas évidente.

Les chercheurs de Santé Canada ont été incapables de reproduire les caractéristiques précises de la souche d'*E. hermannii* inscrite à la *Liste intérieure* (LIS). Dans le cadre d'essais indépendants de Santé Canada, ni la souche type ATCC 33650 d'*E. hermannii*, ni la souche ATCC 700368 inscrite à la LIS n'ont poussé sur le cyanure de potassium (KCN) au cours de l'essai standard (concentration de KCN de 0,75 % [p/v]); la souche type a pu être cultivée avec une concentration de KCN de 0,012 %, mais elle n'a pas poussé à une concentration de KCN de 0,02 %. La souche ATCC 700368 inscrite à la *Liste intérieure*, quant à elle, n'a pu être cultivée à aucune des concentrations de KCN ayant fait l'objet d'un essai. La production de pigment jaune a été observée pour la souche type, mais pour la souche inscrite à la *Liste intérieure*, la pigmentation était jaune pâle, et ce, uniquement après avoir raclé la surface de la gélose et rassemblé de nombreuses colonies sur une lamelle (annexe 1, tableau A-4). Cette constatation, conjointement avec les analyses phylogénétiques effectuées par le même laboratoire qui a montré que la souche inscrite à la LIS était étroitement liée à d'autres souches de *E. hermannii*, pourrait signifier que les méthodes phylogénétiques sont, dans ce cas,

plus fiables pour l'identification. Les caractéristiques morphologiques (tableau 1-1), les propriétés physiologiques (tableau 1-2) et les résultats des analyses moléculaires (tableau 1-3) de *E. hermannii* sont présentés ci-dessous.

**Tableau 1-1. Caractéristiques morphologiques de *E. hermannii***

Caractéristique	<i>E. hermannii</i>	Références
<b>Coloration de Gram</b>	Négatif	Données non publiées de Santé Canada (annexe A, tableau A-4) <sup>a</sup>
<b>Formation de spores</b>	Non sporulante	ATCC <sup>a</sup>
<b>Forme de la cellule</b>	Bâtonnets courts et droits, individuels ou par paires	ATCC <sup>a</sup>
<b>Taille de la cellule</b>	de 1,1 à 1,5 µm de diamètre et de 2,0 à 6,0 µm de longueur	Scheutz et Strockbine 2005 <sup>b</sup>
<b>Flagelle</b>	Flagelles péritriches	Brenner <i>et al.</i> , 1982 <sup>b</sup>
<b>Mobilité</b>	Oui	ATCC, Données non publiées de Santé Canada (annexe A, tableau A-4) <sup>a</sup>
<b>Morphologie de la colonie</b>	Petite, entière, luisante, circulaire, lisse, translucide, légèrement convexe (2 à 3 mm de diamètre) Pigment jaune <sup>c</sup> (gélose nutritive)	ATCC; Brenner <i>et al.</i> , 1982, Données non publiées de Santé Canada (annexe A, tableau A-4) <sup>a</sup>
<b>Autres</b>	Une souche clinique forme un biofilm	Yamanaka <i>et al.</i> , 2010 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Données confirmées pour la souche inscrite à la *Liste intérieure* par observation directe de la souche ATCC 700368.

<sup>b</sup>Données générales pour les descriptions de l'espèce *E. hermannii*.

<sup>c</sup>Au cours d'essais indépendants de Santé Canada, on a observé un peu de pigment jaune pâle dans la souche ATCC 700368 inscrite à la *Liste intérieure*.

**Tableau 1-2. Propriétés physiologiques de *E. hermannii***

Caractéristique	<i>E. hermannii</i>	Références
<b>Température optimale de croissance</b>	30 °C	Données non publiées de Santé Canada (annexe 1, tableau A-2), ATCC <sup>a</sup>
<b>pH optimal</b>	7,0	Ingraham et Marr, 1998 <sup>b</sup>
<b>Respiration</b>	Aérobie; peut être anaérobie	ATCC <sup>a</sup>
<b>Métabolisme</b>	Respiratoire ou fermentatif	Brenner <i>et al.</i> , 1982 <sup>b</sup>
<b>Utilisation des substrats</b>	Réduction des nitrates en nitrites Utilisation d'une vaste gamme de sources de carbone Oxydation de l'amygdaline Fermentation du dextrose Fermentation du D-xylose	ATCC <sup>a</sup>
<b>Autres essais</b>	Consulter l'annexe A, tableau A-4	Données non publiées de Santé Canada <sup>a</sup> (annexe 1, tableau A-4) <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Données confirmées pour la souche inscrite à la *Liste intérieure* par observation directe de la souche ATCC 700368.

<sup>b</sup>Données générales pour les descriptions de l'espèce *E. hermannii*.

**Tableau 1-3. Analyse moléculaire de *E. hermannii***

Caractéristique	<i>E. hermannii</i>	Références
Taux de GC	De 43 à 58 % (variable)	Brenner <i>et al.</i> , 1982 <sup>b</sup>
Séquence génomique (numéro d'enregistrement de GenBank)	N° d'enregistrement de GenBank BAFF00000000 (souche type)	NCBI <sup>b</sup>
Taille du génome (N° d'enregistrement de GenBank)	Chromosome de 4,5 Mb (souche type)	NCBI <sup>b</sup>
Nombre total de protéines (N° d'enregistrement de GenBank)	4 160 séquences codantes de protéines annotées (souche type)	NCBI <sup>b</sup>
<b>Méthodes et marqueurs moléculaires utilisés dans le cadre des analyses phylogénétiques</b>	Zymotype (profile enzymatique)	Goulet <i>et al.</i> , 1986 <sup>b</sup>
	Schéma PLFR	Picard-Pasquier <i>et al.</i> , 1993 <sup>b</sup>
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF (ARNr)	Muroi <i>et al.</i> , 2011 <sup>b</sup>
	Polypeptides de faible masse moléculaire (phosphatases acides)	Thaller <i>et al.</i> , 1995 <sup>b</sup>
	Profil d'activité propre à l'estérase	Goulet et Picard, 1990
	Chaîne de l'antigène O du LPS (D-rhamnane)	Perry et Richards 1990 <sup>b</sup> Perry et Bundle 1990 <sup>b</sup>
	Nucléotides (GenBank) : <a href="#">AX109563</a> séquence 296 (facteur d'élongation Tu, facteur G d'élongation de la traduction, sous-unité catalytique d'ATPase responsable de la translocation des protons et recombinaison RecA)	ATCC, <sup>a</sup> Brevet WO0123604 <sup>b</sup>
Nucléotides (GenBank) : <a href="#">M63346</a> gène de la protéine II (ompA) de la membrane externe de <i>E. hermannii</i> , séquences codantes partielles	ATCC, <sup>a</sup> Lawrence <i>et al.</i> , 1991 <sup>b</sup>	
Nucléotides (GenBank) : <a href="#">M63361</a> gène (gap) du glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase de <i>E. hermannii</i> , séquences codantes partielles	ATCC, <sup>a</sup> Lawrence <i>et al.</i> , 1991 <sup>b</sup>	
Analyse effectuée avec l'outil BLAST des gènes <i>recN</i> , <i>rpoA</i> et <i>thdF</i>	Données non publiées de Santé Canada <sup>a</sup> (annexe 1, figure A-2)	

<sup>a</sup>Données confirmées pour la souche inscrite à la *Liste intérieure* par observation directe de la souche ATCC 700368.

<sup>b</sup>Données générales pour les descriptions de l'espèce *E. hermannii*.

Les tests sérologiques rapides peuvent ne pas être adaptés à *E. hermannii* en raison de la réactivité croisée avec les antigènes O d'autres pathogènes tels que *E. coli* O157:H7 (Rice *et al.*, 1992; Perry et Bundle, 1990; Perry et Richards, 1990), *Brucella abortus* et *Brucella melitensis* (Perry et Bundle, 1990; Jacques et Dubray 1991; Beynon *et al.*, 1990), *Yersinia enterocolitica* sérotype O:9, *Vibrio choléra* O1 et *Salmonella* groupe N (O:30) (Godfroid *et al.*, 1998; Reeves et Wang, 2002; Muñoz *et al.*, 2005).

## 1.1.2 Propriétés biologiques et écologiques

### 1.1.2.1 Habitats naturels

La bactérie *E. hermannii* a été observée dans de nombreux pays et on la retrouve dans une grande variété d'habitats, y compris des sites associés à des hôtes, des sites terrestres, aquatiques et marins ainsi que dans des aliments crus et transformés :

Organismes vivants

- Poulets (coquilles d'œufs, 1 isolat provenant de matières fécales) [Chang, 2000; Praxedes *et al.*, 2013]
- Oiseaux marins (2 isolats) [Bogomolni *et al.*, 2008]
- Porcs (4 isolats) [Jackson *et al.*, 1992]
- Moules exposées aux effluents municipaux (Douville *et al.*, 2010)
- Ouaouarons (Tee et Najiah, 2011)
- Espèces du genre *Citrus*, sous la forme d'endophyte sur les feuilles (Liu *et al.*, 2011)
- Plantes poussant sur les plages sablonneuses (rhizosphère) [Seo et Song, 2013]
- Humains (isolats provenant de plaies, d'expectorations ou de sécrétions pulmonaires, de selles, notamment de diarrhées, du sang, de l'urine, du liquide céphalorachidien, de conjonctives, du liquide péritonéal, d'ulcères duodénaux, et de tissus parodontaux) [voir le tableau 1-6]

Sites terrestres, aquatiques et marins :

- Galets (Fernandez, 2011)
- Eau de mer (Palmer *et al.*, 1993)
- Réseaux de distribution d'eau potable (Rice *et al.*, 1991)
- Agroécosystème de la canne à sucre (De Lima *et al.*, 1999)
- Boues contenant du chlorobenzène provenant d'une usine de traitement des eaux usées industrielles (Kiernicka *et al.*, 1999)
- Sol contaminé d'une raffinerie pétrolière (Hernández *et al.*, 1998)

Aliments crus et transformés :

- Lait, produits laitiers et préparations pour nourrissons (Borczyk *et al.*, 1987; Estuningsih *et al.*, 2006; Loaiza *et al.*, 2011; Saad *et al.*, 2012)
- Œufs (Loaiza *et al.*, 2011; Shin *et al.*, 2009; Chang, 2000)
- Floculation précoce de la levure du malt de bière (Zhao *et al.*, 2011)
- Sirop de maïs (Robison, 1984)
- Lait maternisé et lait transformé, notamment substituts du lait en poudre (Muytjens *et al.*, 1988; Hwang *et al.* 2008; Estuningsih *et al.* 2006; Robison, 1984)

Malgré la diversité des environnements desquels la bactérie a été isolée, les rapports d'isolement concernant *E. hermannii* sont rares (entre 60 et 70 isollements déclarés depuis 1982), ce qui pourrait résulter 1) d'un manque de surveillance de *E. hermannii*, 2) d'un manque de signalement, 3) d'un manque d'importance (elle ne provoque pas de maladies), 4) de l'impossibilité de cultiver la bactérie (viable, mais impossible à produire par culture), 5) d'une identification inexacte, 6) d'un manque de capacité d'adaptation ou de compétition ou 7) de la rareté réelle de la bactérie.

#### 1.1.2.2 Paramètres de croissance et métabolisme

L'ATCC recommande de cultiver la souche inscrite à la LIS sur une gélose ou dans un bouillon nutritifs (ATTC medium n° 3), à une température de 30 °C, en aérobiose. Les données de Santé Canada concernant les caractéristiques de croissance de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* (annexe 1, tableaux A-2 et A-3) indiquent que la souche se cultive aussi bien en milieu liquide que sur un milieu solide d'usage général (gélose ou bouillon de trypticase soja [TSB]). Dans le TSB, la croissance est la meilleure à une température de 28 à 30 °C, mais la bactérie peut également croître à 37 °C, et elle présente un faible taux de croissance à 42 °C. Toutefois, la croissance de la bactérie a été retardée dans du plasma de mouton (SP), du sérum de fœtus de bovin (FBS) et du milieu Eagle modifié de Dulbecco (DMEM) à 28 °C. À 37 °C, la croissance n'a été constatée que dans le FBS et cette croissance n'a été observée qu'au bout de 15 heures. Dans ces trois milieux (SP, FBS, DMEM), il n'y a pas eu de croissance à 42 °C. On a également constaté une croissance de la souche sur des milieux solides spécifiques tels que la gélose MacConkey et la gélose TSI (sans fermentation). Les tests de la catalase, de la lysine décarboxylase, de l'amidon, de l'urée se sont avérés positifs, alors que les tests d'hémolyse, du citrate et du mannitol étaient négatifs.

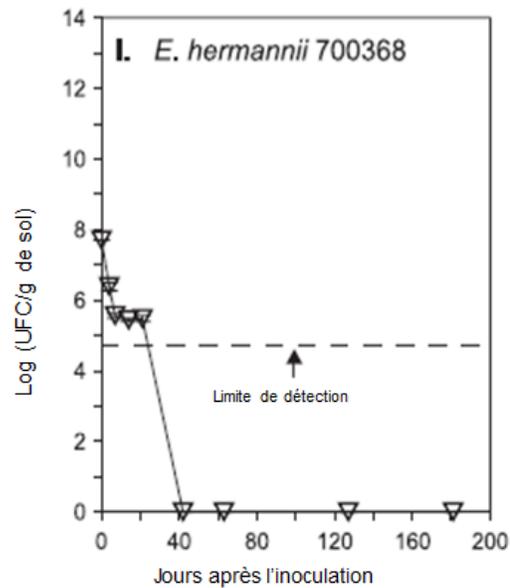
À l'instar d'autres membres du genre *Escherichia*, *E. hermannii* réduit les nitrates en nitrites (Brenner *et al.*, 1982), probablement (comme la bactérie *E. coli*) uniquement dans des conditions anaérobies, jouant ainsi un rôle dans le cycle de l'azote. La souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* joue également un rôle dans le cycle du soufre, dans la mesure où elle a été choisie pour sa capacité à oxyder les sulfures et à réduire les sulfites.

*E. hermannii* a été isolée dans des environnements contaminés dans lesquels elle peut tolérer et métaboliser des hydrocarbures toxiques tels que le chlorobenzène (Kiernicka *et al.*, 1999) et des métaux tels que le nickel et le vanadium (Hernández *et al.*, 1998). Ces caractéristiques qui viennent s'ajouter à son rôle dans le cycle de l'azote rendent la bactérie intéressante aux fins d'utilisation dans des produits commerciaux visant à améliorer la biodégradation des déchets et le traitement de l'eau.

### 1.1.2.3 Survie, persistance et dispersion

Il existe très peu de renseignements écologiques ou portant sur la survie et la persistance de la souche ATCC 700368 ou d'*E. hermannii* en tant qu'espèce. Étant donné qu'*E. hermannii* a été isolée de porcs, d'oiseaux, de grenouilles, de moules, dans le sol, l'eau douce et l'eau de mer, elle peut, de toute évidence, survivre dans des milieux naturels et chez certains organismes. On sait que certaines souches d'*E. hermannii* produisent des biofilms, ce qui peut augmenter leur capacité à survivre et à persister. Bien qu'*E. hermannii* ne forme pas de spores, elle a été cultivée à partir de lait maternisé en poudre, et, par conséquent, survit à la chaleur et à la dessiccation. *E. hermannii* peut également survivre dans des environnements contaminés par des hydrocarbures et des métaux lourds.

Xiang *et al.* (2010) ont étudié la persistance de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* dans un microcosme de sol limoneux argileux (50,3 % de sable, 41,6 % de limon, 9,7 % d'argile, 9,5 % de matière organique) et ont signalé que les populations de cette souche ont chuté de  $10^8$  UFC/g lorsque l'inoculum a été ajouté à un sol sec pour atteindre, au bout de 21 jours, une taille de population inférieure au seuil de détection, lequel se situe à  $6,41 \times 10^4$  UFC/g de sol (figure 1-1). La persistance observée peut être ou non due à des cellules viables, mais les populations qui ont été inoculées ont chuté brusquement en deçà de la limite de détection. Les renseignements ci-dessus indiquent que la persistance de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* est courte, en raison principalement de sa faible capacité à coloniser les sols ayant fait l'objet d'essais. De plus, le maintien de nombres élevés de bactéries au-delà des concentrations de fond est peu probable en raison de la concurrence (Leung *et al.*, 1995) et de la microbiostase (Van Veen *et al.*, 1997), un effet inhibiteur du sol qui entraîne un déclin rapide des populations de bactéries introduites.



**Figure 1-1. Persistance de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* dans le sol (Xiang *et al.*, 2010)**

#### 1.1.2.4 Résistance aux antibiotiques

*E. hermannii* est résistante ou peu sensible aux bêta-lactamines, tels que la pénicilline, l'ampicilline, la carbénicilline, la ticarcilline et l'amoxicilline, en raison de sa capacité à produire des bêta-lactamases qui serait codées par les chromosomes (Beauchef-Havard *et al.*, 2003). Ces auteurs ont montré qu'*E. hermannii* produit de nouvelles bêta-lactamase de classe A (HER1). La bactérie est sensible aux céphalosporines, à l'exception des céfopérazone et céféprime (Stock et Wiedemann, 1999). Par rapport à *E. coli* et à *Shigella*, *E. hermannii* est moins sensible à la nitrofurantoïne et légèrement plus sensible à plusieurs aminoglycosides (tableau 1-4; Fitoussi *et al.*, 1995; Stock et Wiedemann, 1999; Beauchef-Havard *et al.*, 2003).

La résistance multimédicamenteuse est associée à l'expression des systèmes cachés de pompes à efflux et à la réduction de l'expression des protéines de la membrane extérieure associées au transport des antibiotiques dans les cellules bactériennes. Des types de pompe similaires sont impliqués dans la résistance aux métaux lourds (Hernández *et al.*, 1998; Nies, 1999). Les gènes codants des pompes à efflux associées à la résistance multimédicamenteuse et aux métaux lourds peuvent être acquis par transmission horizontale et peuvent être situés à proximité les uns des autres sur un même plasmide. Ils sont donc plus susceptibles d'être transférés ensemble dans l'environnement au cours de la transmission horizontale des gènes (Spain et Alm, 2003). Certaines souches d'*E. hermannii* sont connues pour leur résistance aux métaux lourds. La croissance de ces souches d'*E. hermannii* en présence de vanadium a induit des phénotypes d'*E. hermannii* multirésistants pouvant impliquer une régulation positive du système de pompe à efflux (Hernández *et al.*, 1998). On ignore si la souche ATCC 700368 est résistante aux métaux lourds.

**Tableau 1-4. Sensibilité aux antimicrobiens de 32 souches de *E. hermannii* (adapté de Brenner *et al.*, 1982)**

Antibiotique	Diamètre de la zone (moyenne) mm	Nombre de souches sensibles <sup>a</sup> (n = 32)
Colistine	de 10 à 16 (14)	31
Acide nalixidique	de 22 à 26 (24)	32
Sulfadiazine	de 17 à 28 (22)	32
Gentamicine	de 23 à 26 (24)	32
Streptomycine	de 9 à 20 (18)	31
Kanamycine	de 14 à 26 (23)	31
Tétracycline	de 6 à 23 (21)	31
Chloramphénicol	de 16 à 29 (20)	30
Pénicilline	de 6 à 14 (7)	1
Ampicilline	de 6 à 24 (12)	1
Carbenicilline	de 6 à 29 (12)	1
Céfalocone	de 22 à 27 (25)	32

<sup>a</sup>Une zone de taille intermédiaire, entre celle reconnue comme sensible et celle reconnue comme résistante a été observée chez une seule souche avec la colistine, la kanamycine et la pénicilline et chez deux souches testées avec le chloramphénicol.

La sensibilité aux antibiotiques de la souche ATCC 700368 a été confirmée par Santé Canada (tableau 1-5), et est semblable à celle signalée pour l'espèce, à l'exception de la résistance à la triméthoprimine. La résistance à la triméthoprimine est codée par un certain nombre de gènes de dihydrofolate réductase (DHFR) et elle est transmise par transfert horizontal (THG) aux bactéries à Gram négatif et à Gram positif (Kadlec et Schwarz, 2009; Brolund *et al.*, 2010).

**Tableau 1-5. Concentration minimale inhibitrice (CMI) et sensibilité aux antibiotiques de la souche ATCC 700368 de *E. hermannii***

Antibiotique	CMI <sup>a</sup> (µg/mL)	Sensibilité <sup>b</sup>
Amoxicilline <sup>c</sup>	> 24	Résistante
Aztréonam <sup>c</sup>	2,0 ± 4,4	Sensible
Céfotaxime	0,4 ± 0,0	Sensible
Ceftazidime <sup>c</sup>	1,5 ± 0	Sensible
Ciprofloxacine	0,4 ± 0,0	Intermédiaire
Colistine	0,9 ± 0,6	Non disponible
Doxycycline <sup>c</sup>	1,2 ± 0,9	Sensible
Érythromycine <sup>c</sup>	> 24	Non disponible
Gentamicine <sup>c,e</sup>	5,7 ± 3,5	Intermédiaire
Méropénème <sup>c</sup>	0,4 ± 0,0	Sensible
Acide nalidixique <sup>e</sup>	2,4 ± 0,8	Sensible
Triméthoprimine <sup>d</sup>	> 24	Résistante

<sup>a</sup>Travaux menés selon la méthode d'essai liquide TSB-MTT (Seligy *et al.*, 1997). Les valeurs rapportées s'appuient sur un minimum de trois expériences indépendantes. Les valeurs correspondent à la concentration inhibitrice minimale (en µg/mL) pour la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* (20 000 UFC/puits) cultivée en présence de l'antibiotique pendant 24 h à 37 °C.

<sup>b</sup>CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty Fourth Informational Supplement. Document M100-S24 du CLSI Wayne, PA: CLSI 2014.

<sup>c</sup>correspond aux données de Stock et Wiedmann, 1999.

<sup>d</sup>ne correspond pas aux données de Stock et Wiedmann, 1999.

<sup>e</sup>correspond aux données de Brenner *et al.*, 1982.

Comme bon nombre de micro-organismes, *E. hermannii* contient ou produit des composés, tels que des lipopolysaccharides et des enzymes, qui peuvent agir en tant qu'immunostimulants ou sensibilisants. L'hypersensibilité ou la réaction allergique à des micro-organismes pourrait se produire par voie cutanée ou respiratoire chez des personnes fréquemment exposées ou vulnérables (Martel *et al.*, 2010; Ring *et al.*, 1992). La littérature scientifique ne révèle aucun cas d'hypersensibilité à *E. hermannii*.

#### **1.1.2.5 Caractéristiques pathogéniques et toxigènes**

Selon une étude approfondie de la littérature, rien n'indique un lien direct entre *E. hermannii* et la production de toxines connues. Les essais visant à détecter des vérotoxines, des toxines thermolabiles (LT) et thermostables (ST) dans des organismes dont on a d'abord pensé qu'il s'agissait d'*E. coli*, mais qui, par la suite, ont été confirmés comme étant *E. hermannii* se sont tous avérés négatifs (Robison, 1984; Borczyk *et al.*, 1987), et les tests d'hybridation sur colonies ont donné des résultats négatifs pour les toxines thermolabiles et les gènes STa et STb (Robison, 1984). Aucune souche d'*E. hermannii* produisant de shigatoxine n'a été signalée (Nataro et Kaper, 1998).

On trouve peu de cas dans la littérature scientifique montrant que des souches d'*E. hermannii* peuvent contenir des déterminants de pathogénicité. Chaudhury *et al.* (1999) ont démontré une possible entéropathogénicité d'*E. hermannii* dans un modèle d'anse iléale de rats albinos Charles Foster et ont émis l'hypothèse que cette entéropathogénicité était due à une ou plusieurs entérotoxines. Yamanaka *et al.*, (2010) ont montré qu'une autre souche d'*E. hermannii* (YS-11) produisait, dans son biofilm, de la persoamine, un épitope de la chaîne O du lipopolysaccharide (LPS) ce qui rendait possible la persistance, la survie et l'invasion des tissus comme mécanisme de pathogénèse. On ignore si la souche ATCC 700368 inscrite à la *Liste intérieure* contient cette composante de biofilm.

## **1.2 Effets**

### **1.2.1 Environnement**

Une recherche documentaire scientifique approfondie a révélé peu de signalements d'isolement d'*E. hermannii* dans l'environnement, mais les sites d'isolement déclarés étaient variés et comprenaient notamment des sites terrestres, aquatiques et marins ainsi que des sites associés à des hôtes. Il n'existe pas de cas déclarés de l'infectiosité et de la pathogénicité d'*E. hermannii* chez les espèces non humaines dans des conditions environnementales naturelles.

Cependant, *E. hermannii* a été isolée chez des porcs sains (Jackson *et al.*, 1992). Dans un cas de diarrhée sanglante chez un humain attribuée à *E. hermannii*, il y avait des antécédents d'exposition à de la diarrhée sanglante de porcs coïncidant avec le début de la maladie (McCollum, 1988). Il n'a pas été possible de déterminer

si l'épidémie de diarrhée sanglante chez les porcs avait été causée par *E. hermannii*. De même, *E. hermannii* et de nombreuses autres espèces ont été isolées dans les organes internes de ouaouarons qui présentaient des signes extérieurs d'ulcères, de pattes rouges et de torticolis, mais il n'a pas été possible de déterminer si *E. hermannii* était à l'origine de ces effets morbides (Tee et Najiah, 2011).

Des études de pathogénicité chez les rongeurs ont montré que certaines souches d'*E. hermannii* ont la capacité d'envahir les tissus et de provoquer des abcès (une capacité associée à la présence de persoamine dans le biofilm) ainsi que de causer une accumulation de liquide dans l'anse iléale, ce qui indique la présence possible de déterminants d'entéropathogénicité (Chaudhury *et al.*, 1999; Yamanaka *et al.*, 2010). Une autre étude n'a indiqué aucun effet pathogène chez les rongeurs après injection (voir la section 1.2.2 pour plus de détails) [Pien *et al.*, 1985]. Il est possible qu'*E. hermannii* possède d'autres facteurs de virulence liés à sa capacité d'adhérer aux plaies ainsi qu'aux sites stériles et de les coloniser. Les données in vitro de Santé Canada indiquent que la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* a des effets cytotoxiques sur les cellules épithéliales du côlon humain (HT29) après 6 à 24 heures d'exposition (sans gentamicine). L'administration de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* à un modèle murin à Santé Canada n'a révélé aucun effet nocif après une exposition endotrachéale (voir la section 1.2.2 pour plus de détails).

Les essais effectués dans les laboratoires d'Environnement Canada à l'aide de méthodes standard (Environnement Canada, 2004, SPE 1/RM/44) en vue d'évaluer des effets de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* sur l'invertébré terricole *Folsomia candida* (collembole nivicole) n'ont montré aucun effet significatif sur la survie des adultes, mais ont révélé une réduction importante du taux de reproduction des juvéniles de 35 % et 42 % à des concentrations de  $10^9$  et  $10^8$  UFC/g respectivement, dans un sol sec de limon argileux (données non publiées). L'essai a confirmé des risques d'effets secondaires sublétaux de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* sur la reproduction de *F. candida*. Cependant, compte tenu de la réduction en pourcentage observée, il est peu probable qu'un essai de dilution donnerait une CI50 (concentration inhibitrice médiane 50 %) pour la production de juvéniles. Des tests avec des concentrations plus élevées comporteraient un risque de formation de moisissure qui pourrait compromettre les résultats de l'expérience.

D'autres essais effectués par les scientifiques d'Environnement Canada à l'aide de méthodes standard (Environnement Canada, 2004, SPE 1/RM/44) n'ont pas permis de déceler d'effets nocifs importants sur le trèfle des prés (*Trifolium pretense*) lors de l'application de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* à une concentration de  $10^{10}$  UFC/g de sol sec (une concentration de  $10^4$  fois supérieure à la concentration du danger maximal établie à  $10^6$  UFC/g de sol) [données non publiées].

Il n'existe pas d'études concernant les effets sur les espèces aquatiques de la souche ATCC 700368 inscrite à la *Liste intérieure* ou de toute autre souche d'*E. hermannii*.

## 1.2.2 Santé humaine

*E. hermannii* a parfois été décrite comme un pathogène opportuniste chez l'humain; cependant, un examen approfondi de la littérature ne révèle que trois cas dans lesquels *E. hermannii* a été isolée dans les selles de patients souffrant de diarrhée, et seulement quelques cas où *E. hermannii* était associée à une infection humaine touchant un site extra-intestinal (tableau 1-6). La plupart des infections signalées étaient polymicrobiennes et on a jugé que les autres bactéries ou champignons concernés étaient les agents pathogènes principaux. Les infections impliquant *E. hermannii* en tant que pathogène primaire putatif sont survenues chez des personnes présentant des prédispositions aux infections en raison d'une immunité compromise ou d'une maladie invalidante ou se situant aux extrémités de l'échelle d'âge ou il s'agissait de cas où les barrières normales contre l'infection étaient sérieusement compromises. Comme la plupart des micro-organismes, *E. hermannii* peut causer des effets nocifs lorsqu'elle est introduite dans des parties du corps normalement stériles. Les décès associés à *E. hermannii* en tant qu'agent étiologique potentiel (septicémie) ne sont survenus que chez des nouveau-nés et impliquaient des co-infections avec des pathogènes connus. Dans l'ensemble, les autres cas pour lesquels des problèmes avaient été signalés ont été traités avec succès au moyen d'antibiotiques.

**Tableau 1-6. Rapports de cas chez les humains dans lesquels *E. hermannii* a été isolée**

Numéro de cas	Description du cas	Bactéries associées	Détails cliniques	Références
1.	Plaie à l'orteil 12 plaies 6 expectorations ou sécrétions pulmonaires 5 selles 1 sang 1 liquide céphalorachidien	Non précisé Non précisé Non précisé  Non précisé Non précisé Non précisé	Sites d'isolement recensés dans la description originale de <i>E. hermannii</i> en tant que nouvelle espèce. Aucune spécificité clinique n'a été fournie.	Brenner <i>et al.</i> , 1982
2.	Conjonctivite chronique  Lacération du genou	<i>S. aureus</i> , <i>Corynebacterium</i> sp.  <i>Enterobacter cloacae</i>  <i>Streptococcus</i> sp. (hors streptocoques bêta hémolytiques du groupe A)	Examen des cas hawaïens à l'origine des premiers isolats identifiés comme <i>E. hermannii</i> (Brenner <i>et al.</i> , 1982); On n'a pas jugé qu' <i>E. hermannii</i> était le principal agent pathogène dans aucun de ces cas.	Pien <i>et al.</i> , 1985

	<p>Impétigo récidivant (joue)</p> <p>Abcès spontané (talon)</p> <p>Péritonite maligne (liquide péritonéal)</p>	<p><i>S. aureus</i>, <i>Enterococcus sp.</i> <i>A. Iwoffi</i>, <i>Enterobacter agglomerans</i></p> <p>Streptocoques du groupe A, <i>S. epidermidis</i></p> <p><i>C. freundii</i>, <i>Candida sp.</i>, <i>K. pneumoniae</i></p>		
3.	Septicémie mortelle avec perforation duodénale chez un nouveau-né prématuré	Hémoculture comportant <i>Serratia liquefaciens</i> et <i>Candida albicans</i> . Cultivée seule à partir des liquides céphalorachidien et péritonéal. Post-mortem, <i>C. albicans</i> a été cultivée à partir du sang et de l'ulcère perforé.	Ulcère duodéal	Ginsberg et Daum, 1987
4.	Infection d'une plaie après une blessure avec un bâton souillé	<i>Enterobacter cloacae</i>	Des résidus de bois enfoncés dans la plaie ont été découverts lors de l'intervention chirurgicale. On n'a pas jugé qu' <i>E. hermannii</i> était l'agent pathogène principal.	Berman et Baron, 1987
5.	Diarrhée sanglante	<i>E. hermannii</i> a été signalée comme étant l'« organisme prédominant » dans les selles	Antécédent de 6 à 7 ans de maladie intestinale inflammatoire chronique; apparition de plus en plus fréquente de diarrhées sanglantes associées à une exposition à des porcs souffrant	McCollum, 1988

			de diarrhées sanglantes.	
6.	Diarrhée	On a observé dans l'ensemble des coprocultures une croissance prédominante ou pure d' <i>Escherichia</i> sp.	<i>E. hermannii</i> a été isolée dans les selles de deux des 50 patients atteints de diarrhée. On a observé, dans les selles, une croissance d' <i>Escherichia spp.</i> accompagnée d'une absence de bactéries diarrhéiques, de protozoaires, d'helminthes ou de champignons. La présence de virus n'a pas été vérifiée. L'agent étiologique est donc inconnu.	Chaudhury <i>et al.</i> , 1999
7.	Bactériémie nosocomiale contractée à partir d'un cathéter contaminé utilisé dans le cadre d'une chimiothérapie.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Corée du Sud	Lee <i>et al.</i> , 1999
8.	Septicémie nosocomiale chez un patient cardiaque à la suite d'une intervention chirurgicale.	<i>L. adecarboxylata</i> , <i>E. faecalis</i>	Belgique	De Baere <i>et al.</i> , 2001
9.	Gastroentérite aiguë chez des enfants	Aucune	Isolée, mais agent étiologique inconnu	Güney <i>et al.</i> , 2001
10.	Céphalématome septique chez un nourrisson (cultivée à partir du liquide céphalorachidien)	Aucune : seul agent pathogène envahissant.	Rôle éventuel d'un traitement maternel péripartum avec ampicilline (à laquelle <i>E. hermannii</i> est résistante).	Dahl <i>et al.</i> , 2002

11.	Septicémie nosocomiale contractée d'un site d'injection septique	<i>E. hermannii</i> a été isolée dans le liquide céphalorachidien et l'urine. <i>S. aureus</i> a été isolé dans le liquide pleural et le sang.	Patient diabétique; on a jugé qu' <i>E. hermannii</i> était un « agent pathogène associé » dans le cadre d'une infection polymicrobienne ( <i>S. aureus</i> ).	Popescu <i>et al.</i> , 2004
12.	Conjonctivite purulente	Aucune : seul agent pathogène.	Infection associée à une blessure oculaire causée par une écharde de bois; aucun autre facteur prédisposant constaté.	Poulou <i>et al.</i> , 2008
13.	Septicémie	Aucune : seul agent pathogène (cultivé à partir de sang, d'ulcères et de selles)	Chez un patient atteint du cancer, après un an de chimiothérapie; la contamination fécale d'une escarre semble être la voie de pénétration dans la circulation sanguine.	Shetty <i>et al.</i> , 2009
14.	Lésion de parodontite	Aucune : agent pathogène envahissant	Japon	Yamanaka <i>et al.</i> , 2010
15.	Septicémie liée à l'injection chez 11 nouveau-nés (3 décès, 4 maladies graves) de solution nourissante parentérale (iv) contaminée	<i>Enterobacter cloacae</i> était le principal isolat, <i>E. hermannii</i> était, elle, l'isolat secondaire	Tous les nouveau-nés se trouvaient en soins intensifs. Les décès impliquaient des conditions préexistantes : deux des nouveau-nés étaient atteints d'une malformation cardiaque congénitale, le troisième était un grand prématuré (24 semaines).	Bhakdi <i>et al.</i> , 2012

16.	Septicémie chez un patient en dialyse (sang)	Aucune : seul agent pathogène.	Singapour	Choudhury et Seet, 2013
17.	Septicémie liée à un cathéter	Aucune : seul agent pathogène.	Patient diabétique sous dialyse souffrant d'une insuffisance rénale terminale	Kaewpoowat <i>et al.</i> , 2013

Phylogénétiquement, *E. hermannii* est étroitement liée à d'autres Entérobactériacées, notamment les espèces des genres *Enterobacter*, *Cronobacter*, *Klebsiella* et *Citrobacter*, dont certaines ont été associées à des maladies humaines. On a parfois confondu *E. hermannii* avec les bactéries *Citrobacter diversus* (ATCC, communication 55236), *C. freundii* (Fernandez *et al.*, 2011), *Shigella sonnei* (Biomérieux) et *E. coli* (Tardio *et al.*, 1988) et *Cronobacter sakazakii* (Choudhury et Seet, 2013). Toutefois, des méthodes biochimiques normalisées peuvent, en général, différencier *E. hermannii* de ses proches parents phylogénétiques comme le montre le tableau 1-7. *Leclercia adecarboxylata* est, d'un point de vue biochimique, très semblable à *E. hermannii*, mais elle est génétiquement distincte (Tamura *et al.*, 1986). Les laboratoires de diagnostic qui se bornent à appliquer des méthodes biochimiques peuvent ne pas être en mesure de différencier les infections causées par *L. adecarboxylata* de celles dues à *E. hermannii*.

**Tableau 1-7. Caractéristiques biochimiques d'*E. hermannii* par rapport aux autres membres de la famille des Entérobactériacées**

Organisme <sup>a</sup>	Production d'H <sub>2</sub> S	Motilité	Production indole	PV	Rouge de méthyle	Citrate de Simmons	Lysine décarboxylase	Ornithine décarboxylase
<i>Escherichia hermannii</i>	-	+	+	-	+	(-)	(-)	+
<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	+	-	+	-	+	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	+	-	+	-	+	-	+
<i>Cronobacter sakazaki</i>	-	+	-	+	-	+	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	+	d	d	+	-
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	-	+	+	-	+	-	-	-
Espèces <i>Salmonella</i>	+	+	-	-	+	+	+	+
<i>Shigella sonnei</i>	-	-	-	-	+	-	-	+
<i>Shigella dysenteriae</i>	-	-	d	-	+	-	-	-

<i>Escherichia hermannii</i>	-	+	+	-	+	(-)	(-)	+
<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	-	-	+	+	-	-

<sup>a</sup>données tirées de l'ABIS Encyclopedia; de Brenner et Farmer, 2005; de Tamura *et al.*, 1986; de Iversen *et al.*, 2007; et de Hansen *et al.*, 2004

Légende : +, résultat positif de 90 à 100 %, - résultat négatif de 90 à 100 % ; d, résultat positif entre 25 et 74 %; (-), résultats négatifs entre 75 et 89 %

Dans un modèle murin, 12 isolats d'*E. hermannii* provenant d'infections polymicrobiennes des tissus mous ont été injectés à une souris ICR âgée de quatre semaines par voie sous-cutanée, intramusculaire et intradermique. Hormis quelques cas d'œdème non récurrent au site d'injection, aucun isolat n'a entraîné, chez la souris, d'infection persistante des plaies (Pien *et al.*, 1985).

Dans les essais de cytotoxicité effectués à Santé Canada, la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* était toxique pour les cultures de cellules épithéliales du côlon humain (HT29) à une concentration élevée ( $1 \times 10^6$  UFC/mL) et pouvait induire l'expression d'IL-8 dans les cellules HT29. La cytotoxicité n'a pas pu être évaluée pour les cellules macrophages murines J774A.1, car la phagocytose des bactéries a perturbé l'essai. Les cellules J774A.1 ont produit de l'IL-6 et du TNF-alpha après avoir été exposées à des concentrations élevées de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* (annexe 2, Tableau A-5).

Dans les expériences in vivo menées par les scientifiques de Santé Canada, il n'y avait aucun signe de pathogénicité ou de toxicité chez les souris ayant reçu une dose de  $10^6$  UFC de souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* administrées dans un volume de 25 µL par nébuliseur endotrachéal dans l'exposition par voie pulmonaire (annexe 2, tableau A-6). Les souris n'ont montré aucun signe de comportement anormal et ont rapidement éliminé les bactéries des poumons (en deux jours). On a constaté une petite inflammation locale transitoire qui s'est résorbée en même temps que l'élimination des bactéries.

## 1.3 Gravité du danger

### 1.3.1 Environnement

On constate dans la littérature scientifique, une ambiguïté reconnue concernant la classification de *E. hermannii*. Cependant, la bonne classification taxonomique d'après l'analyse phylogénétique ne fournirait pas de renseignements suffisants concernant son potentiel pathogène. Aucun rapport dans la littérature ne mentionne la toxicité, l'infectivité ou la pathogénicité de *E. hermannii* chez les espèces non humaines dans des conditions environnementales naturelles, en général, et il n'existe aucun rapport sur la souche ATCC 700368 inscrite à la Liste intérieure.

Seulement trois études portaient sur les facteurs déterminants de la pathogénicité pour d'autres souches d'*E. hermannii*. Bien que l'on ait pu observer certains effets nocifs à la suite d'essais expérimentaux avec des concentrations élevées de la souche ATCC 700368 inscrite à la Liste intérieure sur des invertébrés terricoles, le

pourcentage de réduction de la production de juvéniles constaté n'est pas suffisamment important pour permettre de déterminer une valeur de CI50. On n'a observé aucun effet chez les plantes testées.

Il existe des sources d'incertitudes pour ce qui est de l'évaluation du danger en raison du manque de connaissances relativement à ce micro-organisme et de la difficulté d'identification d'un substitut convenable pour lever cette incertitude. Par ailleurs, si la rareté de l'isolement de la souche illustre la rareté du micro-organisme (section 1.1.2.1), il se peut que l'exposition à *E. hermannii* n'ait pas été suffisante pour que des effets se manifestent chez d'autres espèces que l'humain. Ces lacunes nuisent à la détermination du comportement de la souche ainsi qu'à ses effets dans l'environnement, et augmentent le niveau d'incertitude.

Par conséquent, le peu de données scientifiques disponibles sur le devenir et les effets de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* dans l'environnement indiquent que celle-ci n'est pas dangereuse. En outre, compte tenu de l'incertitude liée au manque de connaissances, la gravité du danger que constitue la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* pour l'environnement est considérée comme faible.

### 1.3.2 Humains

Bien qu'il y ait un risque d'erreur d'identification, on peut se servir d'une combinaison de caractères morphologiques, biochimiques et physiologiques afin de différencier *E. hermannii* d'organismes pathogènes apparentés, notamment *E. coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella spp.*, *Shigella sonnei* et *Shigella dysenteriae* (tableau 1-7).

Depuis sa reconnaissance en tant que nouvelle espèce, en 1982, on a signalé dans la littérature scientifique, un petit nombre d'infections de plaies liées à *E. hermannii* (tableau 1-6). Il s'agissait principalement d'infections polymicrobiennes, et dans les cas où la bactérie a été isolée avec d'autres micro-organismes, on a rarement jugé qu'*E. hermannii* était le principal pathogène. Vraisemblablement, *E. hermannii* est un pathogène opportuniste rare. Des rapports plus récents désignent *E. hermannii* comme l'agent pathogène unique responsable de cas de conjonctivites, de parodontites ou de septicémies; toutefois, chacun de ces cas comportait des facteurs contributifs, notamment une rupture des barrières physiques et chimiques naturelles aux infections; la contamination d'instruments médicaux tels que des cathéters; des antécédents d'antibiothérapie, de maladies invalidantes ou d'affaiblissement du système immunitaire. La plupart des infections ont été traitées avec succès par l'administration d'antibiotiques. Dans un modèle murin, il n'y a pas eu d'effets nocifs à la suite de l'injection d'isolats provenant de plaies humaines par voie sous-cutanée, intramusculaire ou intradermique.

On ignore si *E. hermannii* peut provoquer la diarrhée. Bien que la bactérie ait été isolée dans de selles de diarrhées et que son surnageant de culture a induit une accumulation de liquide dans des modèles d'anse iléale de souris, son rôle d'agent étiologique n'a jamais été démontré de manière définitive.

Il n'existe pas d'antécédents de pathogénécité chez l'homme pour la souche ATCC 700368 inscrite à la *Liste intérieure* et celle-ci n'a pas provoqué d'effets dommageables chez la souris à la suite d'une administration endotrachéale. D'après ces résultats, la gravité du danger pour la santé humaine que constitue la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* est faible pour la population générale, mais peut s'avérer faible à moyenne chez les individus que l'affaiblissement des défenses immunitaires, les maladies invalidantes ou l'âge extrême ont rendus vulnérables.

Les dangers liés à l'utilisation des micro-organismes en milieu de travail doivent être classés conformément au Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT)<sup>5</sup>.

## 2. Évaluation de l'exposition

### 2.1 Sources d'exposition

Cette évaluation tient compte de l'exposition à la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* par suite de son ajout à des produits commerciaux ou à des produits de consommation et de son utilisation dans des procédés industriels au Canada.

La souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* a été inscrite à la *Liste intérieure* en 1997 et bien qu'elle ait été inscrite pour être utilisée dans différents produits pour le traitement de l'eau et des eaux usées ainsi que pour la biodégradation et la biorestauration, elle n'est pas actuellement utilisée par le propriétaire des droits qui a déclaré ne pas prévoir de l'utiliser à l'avenir. Une deuxième entreprise qui a importé la souche, aux fins de recherche uniquement, a également déclaré qu'elle n'avait pas l'intention de l'utiliser dans des produits commerciaux.

Les réponses à un questionnaire volontaire envoyé en 2007 à un sous-ensemble d'entreprises de biotechnologie clés ainsi que les renseignements obtenus d'autres programmes fédéraux réglementaires et non réglementaires indiquent que la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* n'a pas été utilisée à des fins commerciales en 2006.

Le gouvernement a procédé à une collecte obligatoire de renseignements en application de l'article 71 de la LCPE (1999), dont l'avis a été publié dans la Partie I de la *Gazette du Canada* le 3 octobre 2009 (Avis en vertu de l'article 71). L'Avis en vertu de l'article 71 s'appliquait à toute personne qui, au cours de l'année civile 2008, avait fabriqué ou importé la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii*, que ce soit

---

<sup>5</sup> La détermination de la conformité à l'un ou plusieurs des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE (1999) est basée sur une évaluation des risques pour l'environnement et/ou la santé humaine liés à l'exposition dans l'environnement en général. Pour les humains, cela inclut, sans toutefois s'y limiter, l'exposition par l'air, l'eau et l'utilisation de produits contenant la substance. Une conclusion établie en vertu de la LCPE (1999) sur la souche ATCC 700368 de *E. hermannii* ne présente pas un intérêt pour une évaluation, qu'elle n'empêche pas non plus, en fonction des critères de risque prévus dans le SIMDUT, qui sont définis dans le Règlement sur les produits contrôlés visant les produits destinés à être utilisés au travail.

seule, dans un mélange ou dans un produit. Aucune activité commerciale ou de consommation associée à la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* n'a été signalée en réponse à l'Avis.

Bien qu'il semble que la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* ne soit plus utilisée dans le commerce, elle peut être achetée de l'ATCC. Étant donné qu'elle est inscrite à la *Liste intérieure*, elle peut être utilisée au Canada sans avis préalable, et pourrait constituer un choix judicieux à des fins de commercialisation. Une recherche dans les documents publics (fiches signalétiques, littérature scientifique et brevets) a révélé les utilisations suivantes par des consommateurs ainsi que les applications commerciales et industrielles indiquées ci-dessous d'autres souches de *E. hermannii*. Il s'agit donc des utilisations possibles de la souche inscrite à la *Liste intérieure*, étant donné que la souche ATCC 700368 est susceptible de posséder des caractéristiques (modes d'action) en commun avec d'autres souches d'*E. hermannii* utilisées dans le commerce. (Se reporter à l'annexe 3, tableau A-7 pour obtenir des détails.)

- Biodégradation, biorestauration, traitement des déchets et des eaux usées pour l'élimination d'huile et de graisse, boues d'épuration; et métaux lourds,
- Traitement des aquariums et des élevages aquacoles,
- Vaccins sous-unités vivants atténués,
- Engrais,
- Additif antisalissure dans la peinture,
- Additif dans l'alimentation des poulets pour la lutte biologique contre *Campylobacter jejuni*,
- Produits antiparasitaires comme les répulsifs contre les moustiques.

Les utilisations déclarées sont en grande partie industrielles, mais comprennent des applications possibles pour certains produits de consommation, notamment des produits pour le traitement des fosses septiques, des nettoyeurs pour canalisation, des dégraissants, des produits de contrôle des odeurs, des activateurs de compost et des produits de traitement des aquariums.

## **2.2 Caractérisation de l'exposition**

### **2.2.1 Environnement**

Étant donné l'absence d'activité des consommateurs et d'activité commerciale aux termes de l'Avis en vertu de l'article 71, l'exposition environnementale à la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* est considéré comme faible. Néanmoins, en raison de l'éventail et de l'échelle des applications connues et possibles de l'espèce *E. hermannii* mentionnées à la section 2.1, l'exposition environnementale à cette souche pourrait augmenter et des scénarios d'exposition découlant d'utilisations possibles ont donc été considérés.

Si les utilisations potentielles de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* mentionnées à la section 2.1 devenaient réalité au Canada, les voies d'introduction

les plus probables de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* dans l'environnement seraient par des écosystèmes aquatiques par l'intermédiaire du traitement des eaux usées, par les eaux de ruissellement provenant d'une application directe sur le sol de produits contenant des bactéries *E. hermannii* ou de boues d'épuration traitées épandues sur le sol, ou d'effluents d'activités commerciales ou industrielles. En outre, la souche pourrait pénétrer dans les écosystèmes terrestres par épandages directs et fréquents au cours d'activités de biorestauration, de biodégradation et de compostage des déchets organiques et des boues. Les applications aquatiques pourraient également exposer les espèces terrestres par l'intermédiaire des systèmes d'irrigation.

Des souches naturelles d'*E. hermannii* ont été isolées d'animaux et de leurs produits alimentaires, de même que de milieux terrestres, aquatiques et marins. Les isollements dans l'environnement sont rares; aucune donnée relative aux concentrations de fond d'*E. hermannii* dans l'environnement n'a été relevée; les analyses systématiques normalisées de dépistage de coliformes fécaux faites pour déterminer la qualité de l'eau ne permettent pas de détecter la présence d'*E. hermannii* (Rice *et al.*, 1991). La souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* n'est pas persistante dans les sols dont la teneur en matière organique est faible, mais la bactérie peut survivre et persister dans les environnements riches en carbone organique tels que les effluents industriels, les eaux usées, les sols riches en matières organiques, et les sédiments. L'écologie et le cycle de vie d'*E. hermannii* ne sont pas entièrement connus.

Les milieux naturels et les espèces qui seront exposés à la souche inscrite sur la Liste intérieure dépendront des utilisations mentionnées dans les scénarios d'exposition décrits ci-dessus. La commercialisation de certaines de ces utilisations pourrait entraîner l'épandage d'importantes quantités de l'organisme sur des terres fertiles ou son rejet dans des eaux riches en matières organiques. Cette exposition pourrait provoquer le rejet de grandes quantités de l'organisme, ce qui pourrait conduire à la survie ou à la persistance de celui-ci lorsque l'approvisionnement en carbone organique est suffisant pour maintenir sa croissance. Néanmoins, il est généralement reconnu que la concentration des micro-organismes introduits dans le sol diminue pour atteindre l'équilibre avec les autres concurrents microbiens (Leung *et al.*, 1995; Van Veen *et al.*, 1997).

### **2.2.2 Humains**

Étant donné l'absence d'activité des consommateurs et d'activité commerciale aux termes de l'Avis en vertu de l'article 71, l'exposition globale des humains à la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* est faible. Néanmoins, en raison de l'éventail et de l'échelle des applications connues et possibles de l'espèce *E. hermannii* mentionnées à la section 2.1, l'exposition des humains à cette souche pourrait augmenter et des scénarios d'exposition découlant d'utilisations possibles ont donc été considérés.

On s'attend à ce que l'exposition humaine à la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* soit faible, d'après l'absence d'activités de consommation ou d'activités commerciales au Canada, selon les réponses obtenues à la suite de l'Avis publié en vertu de l'article 71 et la confirmation du déclarant selon laquelle *E. hermannii* n'est plus importée, fabriquée ni utilisée dans des produits commerciaux au Canada. Néanmoins, un certain nombre d'utilisations possibles ont été recensées à la section 2.1 et, par conséquent, un risque d'augmentation de l'exposition humaine existe.

Si les utilisations potentielles de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* mentionnées à la section 2.1 devenaient réalité au Canada, la plus importante voie d'exposition humaine à la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* serait par la manipulation et l'application de produits de consommation destinés au traitement des eaux usées (p. ex. additifs pour fosse septique), au dégraissage (p. ex. nettoyeurs pour canalisation) ou pour le traitement des aquariums et des bassins ornementaux. Ces utilisations pourraient donner lieu à une exposition directe de la peau et à l'inhalation de gouttelettes pulvérisées ou de poussières contenant *E. hermannii*. Après l'application du produit, la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* résiduelle sur les surfaces et dans les réservoirs, tels que les canalisations traitées, pourrait entraîner une exposition cutanée, son ingestion fortuite si l'organisme persiste sur les surfaces de préparation des aliments et son inhalation, lorsque des aérosols sont générés (p. ex. les broyeurs à ordures dans les cuisines). Étant donné qu'*E. hermannii* peut être persistante dans des sites riches en carbone organique tels que des siphons, une telle exposition pourrait ne pas avoir lieu au moment de l'application.

La population générale pourrait être exposée de manière fortuite à la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* lors de l'application de ces produits commerciaux. La voie et le degré d'exposition fortuite dépendraient de la nature du produit, du mode d'application, du volume appliqué et de la proximité des tierces personnes par rapport au lieu de l'application, mais ils devraient en général être faibles à modérés.

L'exposition humaine indirecte à la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* rejetée dans l'environnement après son utilisation dans le traitement de l'eau et l'assainissement des eaux usées ou les activités de biorestauration du sol est susceptible de se produire à proximité des sites traités, mais ne devrait pas être plus importante que l'exposition directe découlant de l'utilisation de cet organisme dans les produits de consommation. L'exposition humaine à des plans d'eau et à des sols traités avec la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* (p. ex. par l'intermédiaire d'activités récréatives) pourrait également conduire à l'exposition de la peau et des yeux, ainsi qu'à une ingestion fortuite; toutefois, les seuils d'exposition seront probablement bas pour ce qui est des scénarios d'applications ménagères.

Bien qu'*E. hermannii* ait été isolé de réseaux de distribution d'eau potable (Rice *et al.*, 1991), probablement en tant que bactérie résidente, le procédé de traitement de l'eau potable municipale qui comprend la coagulation, la floculation, l'ozonisation, la filtration et la chloration devrait éliminer de façon efficace *E. hermannii* de la source d'eau qui pénètre dans le système.

Si l'utilisation commerciale, industrielle ou de consommation de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* devait se réaliser, on considère que l'exposition humaine à ce micro-organisme changerait en fonction des scénarios d'exposition décrits ci-dessus. De telles utilisations pourraient entraîner une exposition directe et éventuellement répétée à des quantités plus élevées de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii*.

### 3. Caractérisation des risques

Dans cette évaluation, le risque est caractérisé selon un paradigme intégré à l'article 64 de la LCPE (1999) qui veut qu'un danger et l'exposition à ce danger soient tous deux nécessaires pour qu'il y ait un risque. La conclusion de l'évaluation des risques est basée sur le danger et sur ce que l'on connaît de l'exposition due aux utilisations actuelles.

Le danger que présente la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* est considéré comme faible pour l'environnement et la santé humaine (faible pour la population générale, et faible à moyen pour les personnes rendues vulnérables par l'affaiblissement des défenses immunitaires, les maladies invalidantes ou dont les barrières normales à l'infection sont endommagées). On ne s'attend pas actuellement à une exposition de l'environnement ni à une exposition humaine à la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* due à son utilisation volontaire dans des procédés industriels ou des produits de consommation ou commerciaux au Canada (faible exposition); on estime donc que le risque associé à ces utilisations actuelles devrait être faible pour l'environnement et la santé humaine.

La détermination du risque que présentent les utilisations actuelles est suivie par la prise en compte du danger estimé lié à de futures expositions prévisibles (découlant de nouvelles utilisations).

Rien, dans les ouvrages scientifiques, ne permet de conclure que la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* causera des effets écologiques nocifs au niveau des populations de vertébrés, d'invertébrés et de plantes dans les scénarios d'utilisation raisonnablement envisageables. Les espèces aquatiques et terrestres peuvent être exposées à la souche inscrite à la LIS lorsqu'elle est utilisée pour la biorestauration et le traitement des eaux usées, mais, en tenant compte de l'ensemble des éléments de preuve présents dans le présent rapport et de l'état de la science pour ce micro-organisme, il est peu probable que la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* présente un risque pour l'environnement au niveau des populations et des écosystèmes. Par conséquent, on considère comme faible le risque environnemental découlant de ses futures utilisations prévisibles dans les procédés industriels.

L'exposition des humains à la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* pourrait augmenter si les (nouvelles) utilisations potentielles se concrétisaient. Depuis sa reconnaissance en tant que nouvelle espèce, en 1982, *E. hermannii* a rarement été associée à des infections humaines malgré le fait qu'elle ait été isolée d'une grande variété d'habitats dans plusieurs pays. À quelques reprises, la bactérie a été

considérée comme l'agent étiologique de maladies, mais ces cas impliquaient des facteurs prédisposants : immunodéficiences ou barrières aux infections sérieusement endommagées. Dans le cas peu probable d'une infection par la souche ATCC 700368 inscrite à la LIS, celle-ci est sensible à plusieurs antibiotiques cliniquement efficaces. Compte tenu de ces conclusions, et malgré la possibilité d'une exposition accrue à la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii*, si des produits commerciaux ou de consommation contenant cette souche devenaient disponibles au Canada, les risques que cette bactérie pourrait poser à la santé humaine sont faibles pour ce qui est de ses futures utilisations prévisibles dans des procédés industriels ou pour des produits commerciaux ou de consommation au Canada.

## 4. Conclusion

À la lumière de l'information présentée dans cette évaluation préalable, on peut conclure que la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou une concentration ou dans des conditions de nature à :

- avoir, immédiatement ou à long terme, un effet nocif sur l'environnement ou sur la diversité biologique;
- mettre en danger l'environnement essentiel à la vie;
- constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaines.

Par conséquent, on peut conclure cette substance ne satisfait pas aux critères établis à l'article 64 de la LCPE (1999).

## 5. Références

ABIS Encyclopedia. Accès : <http://www.tgw1916.net/ABIS/encyclopedia.html> (consulté en mai 2014).

Beauchef-Havard, A., Arlet, G., Gautier, V., Labia, R., Grimont, P., Philippon, A. 2003. Molecular and biochemical characterization of a novel class A  $\beta$ -lactamase (HER-1) from *Escherichia hermannii*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 47, p. 2669-2673.

Berman, M., Baron, E.J. 1987. *Escherichia hermannii* wound infection. *Clin. Microbiol. Newsl.* 9, p. 38-39.

Beynon, L.M., Bundle, D.R., Perry, M.B. 1990. The structure of the antigenic lipopolysaccharide O-chain produced by *Escherichia hermannii* ATCC 33650 and 33652. *Can. j. Chem.* 68, p. 1456-1466.

Bhakdi, S., Krämer, I., Siegel, E., Jansen, B., Exner, M. 2012. Use of quantitative microbiological analyses to trace origin of contamination of parenteral nutrition solutions. *Med. Microbiol. Immunol.* 201, p. 231-237.

Bogomolni, A.L., Gast, R.J., Ellis, J.C., Dennett, M., Pugliares, K.R., Lentell, B.J., Moore, M.J. 2008. Victims or vectors: a survey of marine vertebrate zoonoses from coastal waters of the Northwest Atlantic. *Dis. Aquat. Organ.* 81, p. 13-38.

Borczyk, A.A., Hermy, L., and Ciebin, B. 1987. False-positive identifications of *Escherichia coli* O157 in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 4, p. 347-349.

Brenner, D.J., Davis, B.R., Steigerwalt, A.G., Riddle, C.F., McWhorter, A.C., Allen, S.D., Farmer III, J.J., Saitoh, Y., and Fanning, G.R. 1982. Atypical biogroups of *Escherichia coli* found in clinical specimens and description of *Escherichia hermannii* sp. nov. *J. Clin. Microbiol.* 15, p. 703-713.

Brenner, D.J., and Farmer III, J.J. 2005. Family 1: *Enterobacteriaceae*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Garrity, G., Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.R. (éd.), deuxième édition, vol. 2, partie B, p. 587-730.

Brolund, A., Sundqvist, M., Kahlmeter, G., and Grape, M. 2010. Molecular characterisation of trimethoprim resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during a two year intervention on trimethoprim use. *Plos One* 5, e9233.

Carlos, C., Pires, M.M., Stoppe, N.C., Hachich, E.M., Sato, M.I., Gomes, T.A., Amaral, L.A., and Ottoboni, L.M. 2010. *Escherichia coli* phylogenetic group determination and its application in the identification of the major animal source of fecal contamination. *BMC Microbiol.* 10:161 1471-2180.

Chang, Y.H. 2000. Prevalence of *Salmonella* spp. in poultry broilers and shell eggs in Korea. *J. Food Prot.* 63, p. 655-658.

Chaudhury, A., Nath, G., Tikoo, A., and Sanyal, S.C. 1999. Enteropathogenicity and antimicrobial susceptibility of new *Escherichia* spp. *J. Diarrhoeal Dis. Res.* 17, p. 85-87.

Choudhury, S., and Seet, C. 2013. *Escherichia hermannii* bloodstream infection in a long-term haemodialysis patient. *Pathology* 45, p. 531.

Christensen, H., Nordentoft, S., and Olsen, J.E. 1998. Phylogenetic relationships of *Salmonella* based on rRNA sequences. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48, p. 605-610.

Cilia, V., Lafay, B., and Christen, R. 1996. Sequence heterogeneities among 16S ribosomal RNA sequences, and their effect on phylogenetic analyses at the species level. *Mol. Biol. Evol.* 13, p. 451-461.

Clermont, O., Gordon, D.M., Brisse, S., Walk, S.T., and Denamur, E. 2011. Characterization of the cryptic *Escherichia* lineages: rapid identification and prevalence. *Environ. Microbiol.* 13, p. 2468-2477.

Clermont, O., Christenson, J.K., Denamur, E., and Gordon, D.M. 2013. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: Improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Env. Microbiol. Rep.* vol. 5, p. 58-65.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty Fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S24. Wayne (PA) : Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.

Dahl, K.M., Barry, J., and DeBiasi, R.L. 2002. *Escherichia hermannii* infection of a cephalohematoma: case report, review of the literature, and description of a novel invasive pathogen. *Clin. Infect. Dis.* 35, e96-98.

De Baere, T., Wauters, G., Huylenbroeck, A., Claeys, G., Peleman, R., Verschraegen, G., Allemeersch, D., and Vaneechoutte, M. 2001. Isolations of *leclercia adecarboxylata* from a patient with a chronically inflamed gallbladder and from a patient with sepsis without focus. *J. Clin. Microbiol.* 39, p. 1674-1675.

De Lima, T.C.S., Grisi, B.M., and Bonato, M.C.M. 1999. Bacteria isolated from a sugarcane agroecosystem: their potential production of polyhydroxyalcanoates and resistance to antibiotics. *Revista de Microbiologia* 30, p. 214-224.

Douville, M., Gagné, F., Zhu, B., Fortier, M., and Fournier, M. 2010. Characterization of commercial microbial products by polymorphic DNA markers and enzymatic activity diversity: Occurrence and potential effects on freshwater mussels exposed to municipal effluents. *Res. J. Biotechnol.* 5, p. 31-48.

Environnement Canada. 2004. Guide des essais de pathogénicité et de toxicité de nouvelles substances microbiennes pour les organismes aquatiques et terrestres. Ottawa (Ont.) : Service de la protection de l'environnement, rapport SPE 1/RM/44, 171 p., mars 2004.

Environnement Canada, 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)*. Accès : <http://www.ec.gc.ca/subsnouvelles-news/subs/default.asp?lang=Fr&n=120842D5-1>

Estuningsih, S., Kress, C., Hassan, A.A., Akineden, Ö., Schneider, E., and Usleber, E. 2006. *Enterobacteriaceae* in dehydrated powdered infant formula manufactured in Indonesia and Malaysia. *J. Food Protection* 69, p. 3013-3017.

Fernandez, A., Vela, A.I., Andrada, M., Herraiez, P., Diaz-Delgado, J., Dominguez, L., and Arbelo, M. 2011. *Citrobacter freundii* septicemia in a stranded newborn Cuvier's beaked whale (*Ziphius cavirostris*). *J. Wildl. Dis.* 47, p. 1043-1046.

Fitoussi, F., Arlet, G., Grimont, P.A.D., Lagrange, P., and Philippon, A. 1995. *Escherichia hermannii*: Susceptibility pattern to  $\beta$ -lactams and production of  $\beta$ -lactamase. *J. Antimicrob. Chemother.* 36, p. 537-543.

Ginsberg, H.G., and Daum, R.S. 1987. *Escherichia hermannii* sepsis with duodenal perforation in a neonate. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 6, p. 300-301.

Godfroid, F., Taminiau, B., Danese, I., Denoel, P., Tibor, A., Weynants, V., Cloeckert, A., Godfroid, J., and Letesson, J.J. 1998. Identification of the perosamine synthetase gene of *Brucella melitensis* 16M and involvement of lipopolysaccharide O side chain in *Brucella* survival in mice and in macrophages. *Infect. Immun.* 66, p. 5485-5493.

Goulet, P., Picard, B., and Richard, C. 1986. Characterization of *Escherichia hermannii* by electrophoresis of esterases, acid phosphatase and glutamate and malate dehydrogenases. *Ann. Inst. Pasteur Microbiol.* 137 A, p. 295-299.

Goulet, P., and Picard, B. 1990. Characterization of *Enterobacteriaceae* by esterase specific-activity profiles. *J. Gen. Microbiol.* 136, p. 431-40.

Güney, C., Aydoğan, H., Saracli, M.A., Basustaoglu, A., and Doganci, L. 2001. No isolation of *Escherichia coli* O157:H7 strains from faecal specimens of Turkish children with acute gastroenteritis. *J. Health Popul. Nutr.* 19, p. 336-337.

Hansen, D.S., Aucken, H.M., Abiola, T., and Podschun, R. 2004. Recommended test panel for differentiation of *Klebsiella* species on the basis of a trilateral interlaboratory evaluation of 18 biochemical tests. *J. Clin. Microbiol.* 42, p. 3665-3669.

Hartl, D.L. 1992. Population genetics of microbial organisms. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2, p. 937-942.

Hernández, A., Mellado, R.P., and Martínez, J.L. 1998. Metal accumulation and vanadium-induced multidrug resistance by environmental isolates of *Escherichia hermannii* and *Enterobacter cloacae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, p. 4317-4320.

- Hwang, J.Y., Lee, J.Y., and Park, J.H. 2008. Microbiological quality and potential pathogen monitoring for powdered infant formulas from the local market. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 28, p. 555-561.
- Ingraham, J.L., and Marr, A.G. 1996. Effect of temperature, pressure, pH, and osmotic stress on growth. In : Neidhardt, Curtiss, Ingraham, Lin, Low, Magasanik, Reznikoff, Riley, Schaecter and Umbarger (éd.). *Escherichia coli* and *Salmonella*: Cellular and Molecular Biology, 2<sup>e</sup> éd., vol. 2, Washington (D.C.) : ASM Press, p. 1570-1578.
- Iversen, C., Lehner, A., Mullane, N., Bidlas, E., Cleenwerck, I., Marugg, J., Fanning, S., Stephan, R., and Joosten, H. 2007. The taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: proposal of a new genus *Cronobacter* gen. nov. and descriptions of *Cronobacter sakazakii* comb. nov., *Cronobacter sakazakii* subsp. *sakazakii*, comb. nov., *Cronobacter sakazakii* subsp. *malonaticus* subsp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov. and *Cronobacter genomospecies* 1. *BMC Evol. Biol.* 7, 64.
- Jackson, L., Langlois, B.E., and Dawson, K.A. 1992. Beta-glucuronidase activities of fecal isolates from healthy swine. *J. Clin. Microbiol.* 30, p. 2113-2117.
- Jacques, I., and Dubray, G. 1991. *Escherichia hermannii* (ATCC 33651) polysaccharide-protein conjugates: Comparison of two conjugation methods for the induction of humoral responses in mice. *Vaccine* 9, p. 559-563.
- Kadlec, K., and Schwarz, S. 2009. Identification of a novel trimethoprim resistance gene, *dfrK*, in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 strain and its physical linkage to the tetracycline resistance gene *tet(L)*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, p. 776-778.
- Kaewpoowat, Q., Permpalung, N., and Sentochnik, D.E. 2013. Emerging *Escherichia* pathogen. *J. Clin. Microbiol.* 51, p. 2785-2786.
- Kiernicka, J., Seignez, C., and Peringer, P. 1999. *Escherichia hermannii* - A new bacterial strain for chlorobenzene degradation. *Lett. Appl. Microbiol.* 28, p. 27-30.
- Lawrence, J.G., Ochman, H., and Hartl, D.L. 1991. Molecular and evolutionary relationships among enteric bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 137, p. 1911-1921.
- Lee, N.Y., Ki, C.S., Kang, W.K., Peck, K.R., Kim, S., and Song, J.H. 1999. Hickman catheter-associated bacteremia by *Leclercia adecarboxylata* and *Escherichia hermannii*: A case report. *Korean J. Infect. Dis.* 31, p. 167-170.
- Liu, B., Zheng, X., Sun, D., Ruan, C., Fan, G., and Duan, Y. 2011. The community structure of endophytic bacteria in different parts of huanglongbing-affected citrus plants. *Shengtai Xuebao Acta Ecol. Sin.* 31, p. 7325-7342.

- Leung, K., Trevors, J.T., Lee, H. 1995. Survival of and lacZ expression in recombinant *Pseudomonas* strains introduced into river water microcosms. *Rev. Can. Microbiol.* 41:461-469.
- Loaiza, E.J., Sánchez, J.M., Henao, V.S., and Cardona-Castro, N. 2011. Detection of contaminant bacteria in eggs for consumption in Medellín and its Metropolitan area. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* 6, p. 20-28.
- Luo, C., Walk, S.T., Gordon, D.M., Feldgarden, M., Tiedje, J.M., and Konstantinidis, K.T. 2011. Genome sequencing of environmental *Escherichia coli* expands understanding of the ecology and speciation of the model bacterial species. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, p. 7200-7205.
- Martel, C., Nielsen, G.D., Mari, E., Licht, T.R., Poulsen, L.K. 2010. Scientific / Technical Report Submitted to EFSA – Bibliographic Review on the Potential of Microorganisms, Microbial Products and Enzymes to Induce Respiratory Sensitization. CFP/EFSA/FEEDAP/2009/02. Accès : <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/75e.htm> [consulté en mai 2013].
- McCollum, E.N. 1988. Case report on *Escherichia hermannii* isolated in an Arkansan. *J. Ark. Med. Soc.* 84, p. 520-521.
- Muñoz, P.M., Marín, C.M., Monreal, D., González, D., Garin-Bastuji, B., Díaz, R., Mainar-Jaime, R.C., Moriyón, I., and Blasco, J.M. 2005. Efficacy of several serological tests and antigens for diagnosis of bovine brucellosis in the presence of false-positive serological results due to *Yersinia enterocolitica* O:9. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 12, p. 141-151.
- Muroi, M., Shima, K., Nakagawa, Y., and Tanamoto, K. 2011. Application of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for discrimination of *Escherichia* strains possessing highly conserved ribosomal RNA gene sequences. *Biol. Pharm. Bull.* 34, p. 430-432.
- Muytjens, H.L., Roelofs-Willemse, H., and Jaspar, G.H. 1988. Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the family *Enterobacteriaceae*. *J. Clin. Microbiol.* 26, p. 743-746.
- Nataro, J.P., and Kaper, J.B. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.* 11, p. 142-201.
- Nies, D.H. 1999. Microbial heavy-metal resistance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51, p. 730-750.
- Oh, S., Buddenborg, S., Yoder-Himes, D.R., Tiedje, J.M., and Konstantinidis, K.T. 2012. Genomic diversity of *Escherichia* isolates from diverse habitats. *PLoS One* 7, e47005.

[OIE] Organisation mondiale de la santé animale. 1997. Groupe de travail de l'OIE sur les maladies des animaux sauvages. Paris, 13 novembre 1997.

Palmer, C.J., Tsai, Y.L., Lang, A.L., and Sangermano, L.R. 1993. Evaluation of colilert-marine water for detection of total coliforms and *Escherichia coli* in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, p. 786-790.

Paradis, S., Boissinot, M., Paquette, N., Belanger, S.D., Martel, E.A., Boudreau, D.K., Picard, F.J., Ouellette, M., Roy, P.H., and Bergeron, M.G. 2005. Phylogeny of the *Enterobacteriaceae* based on genes encoding elongation factor Tu and F-ATPase beta-subunit. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55, p. 2013-2025.

Perry, M.B., and Bundle, D.R. 1990. Antigenic relationships of the lipopolysaccharides of *Escherichia hermannii* strains with those of *Escherichia coli* O157:H7, *Brucella melitensis*, and *Brucella abortus*. *Infect. Immun.* 58, p. 1391-1395.

Perry, M.B., and Richards, J.C. 1990. Identification of the lipopolysaccharide O-chain of *Escherichia hermannii* (ATCC 33651) as a d-rhamnan. *Carbohydr. Res.* 205, p. 371-376.

Pham, H.N., Ohkusu, K., Mishima, N., Noda, M., Monir Shah, M., Sun, X., Hayashi, M., and Ezaki, T. 2007. Phylogeny and species identification of the family *Enterobacteriaceae* based on dnaJ sequences. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 58, p. 153-161.

Picard-Pasquier, N., Picard, B., Krishnamoorthy, R., and Goulet, P. 1993. Characterization of *Escherichia hermannii* by ribosomal DNA restriction fragment length polymorphism. *Res. Microbiol.* 144, p. 485-488.

Pien, F.D., Shrum, S., Swenson, J.M., Hill, B.C., Thornsberry, C., and Farmer III, J.J. 1985. Colonization of human wounds by *Escherichia vulneris* and *Escherichia hermannii*. *J. Clin. Microbiol.* 22, p. 283-285.

Popescu, G.A., Daha, I., Popescu, C., and Mitache, E. 2004. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia hermannii* in diabetes patient. *Emerg. Infect. Dis.* 10, p. 1335-1337.

Poulou, A., Dimitroulia, E., Markou, F., and Tsakris, A. 2008. *Escherichia hermannii* as the sole isolate from a patient with purulent conjunctivitis. *J. Clin. Microbiol.* 46, p. 3848-3849.

Praxedes, C.I.S., Bastos, P.A.M.B., Zuniga, N.O.C., Franco, R.M., and Mano, S.B. 2013. *Enterobacteriaceae* identification of the broiler intestinal microbiota submitted to nitrofurans diet. *Rev. de Ciências Agrárias* 36, p. 41-47.

Reeves, P.P., and Wang, L. 2002. Genomic organization of LPS-specific loci. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 264, p. 109-135.

Retchless, A.C., and Lawrence, J.G. 2010. Phylogenetic incongruence arising from fragmented speciation in enteric bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, p. 11453-11458.

Rice, E.W., Allen, M.J., Brenner, D.J., and Edberg, S.C. 1991. Assay for  $\beta$ -glucuronidase in species of the genus *Escherichia* and its applications for drinking-water analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, p. 592-593.

Rice, E.W., Sowers, E.G., Johnson, C.H., Dunnigan, M.E., Strockbine, N.A., and Edberg, S.C. 1992. Serological cross-reactions between *Escherichia coli* O157 and other species of the genus *Escherichia*. *J. Clin. Microbiol.* 30, p. 1315-1316.

Ring, J., Abeck, D., and Neuber, K. 1992. Atopic eczema: Role of microorganisms on the skin surface. *Allergy* 47, p. 265-269.

Robison, B.J. 1984. Evaluation of a fluorogenic assay for detection of *Escherichia coli* in foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 48, p. 285-288.

Saad, N.M., Sabreen, M.S., Amin, W.F., and Gendi, M.K. 2012. Prevalence of *Escherichia albertii* and other *Escherichia* species in raw milk and some dairy products in Assiut city, Egypt. *J. Am. Sci.* 8, p. 333-341.

Scheutz, F., and Strockbine, N.A. 2005. Genus I. *Escherichia* Castellani and Chalmers 1919, 941T<sup>AL</sup>. In : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, deuxième édition, vol. 2, partie B., p. 607-624.

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

Seo, M.S., and Song, H.G. 2013. Growth promotion of tomato plant under drought conditions by treatment of rhizobacteria producing ACC deaminase and phytohormones. *Korean J. Microbiol.* 49, p. 46-50.

Shetty, J.P., Shetty, B., Rao, C., Makannavar, J.H., and Karnaker, V.K. 2009. Septicaemia by *Escherichia hermannii*: a perplexing diagnostic problem for a physician. *Sci. Med.* 1 (2), p. 1-2.

Shin, W., Kim, Y., Lee, J., and Kim, M. 2009. Analysis of *Salmonella* species from eggs using immunoliposomes and comparison with a commercial test kit. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 29, p. 533-538.

Spain, A., and Alm, E. 2003. Implications of Microbial Heavy Metal Tolerance in the Environment. *Rev. Undergrad. Res.* 2, p. 1-6.

Stackebrandt, E., Frederiksen, W., Garrity, G.M., Grimont, P.A., Kampfer, P., Maiden, M.C., Nesme, X., Rossello-Mora, R., Swings, J., Truper, H.G., Vauterin, L., Ward, A.C., Whitman, W.B. 2002. Report of the ad hoc committee for the re-

evaluation of the species definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52, 1043-1047.

Stock, I., and Wiedemann, B. 1999. Natural antibiotic susceptibility of *Escherichia coli*, *Shigella*, *E. vulneris*, and *E. hermannii* strains. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 33, p. 187-199.

Tamura, K., Sakazaki, R., Kosako, Y., and Yoshizaki, E. 1986. *Leclercia adecarboxylata* gen. nov., comb. nov., formerly known as *Escherichia adecarboxylata*. *Curr. Microbiol.* 13, p. 179-184.

Tardio, J.L., O'Brien, K., and Latt, T. 1988. Identification of *Escherichia coli* from shellfish and related environments by automicrobic system. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 71, p. 582-584.

Tee, L.W., and Najiah, M. 2011. Antibigram and heavy metal tolerance of bullfrog bacteria in Malaysia. *Open Vet. J.* 1, p. 39-45.

Thaller, M.C., Berlutti, F., Schippa, S., Iori, P., Passariello, C., and Rossolini, G.M. 1995. Heterogeneous patterns of acid phosphatases containing low-molecular-mass polypeptides in members of the family *Enterobacteriaceae*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45, p. 255-261.

Tindall, B.J., Rossello-Mora, R., Busse, H.J., Ludwig, W., and Kampfer, P. 2010. Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60, p. 249-266.

van Veen, J.A., van Overbeek, L.S., Van Elsas, J.D. 1997. Fate and activity of microorganisms introduced into soil. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61, p. 121-135.

Walk, S.T., Alm, E.W., Gordon, D.M., Ram, J.L., Toranzos, G.A., Tiedje, J.M., and Whittam, T.S. 2009. Cryptic lineages of the genus *Escherichia*. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, p. 6534-6544.

Wertz, J.E., Goldstone, C., Gordon, D.M., and Riley, M.A. 2003. A molecular phylogeny of enteric bacteria and implications for a bacterial species concept. *J. Evol. Biol.* 16, p. 1236-1248.

Xiang, S., Cook, M., Saucier, S., Gillespie, P., Socha, R., Scroggins, R., Beaudette, L.A. 2010. Development of amplified fragment length polymorphism-derived functional strain-specific markers to assess the persistence of 10 bacterial strains in soil microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, p. 7126-7135.

Yamanaka, T., Sumita-Sasazaki, Y., Sugimori, C., Matsumoto-Mashimo, C., Yamane, K., Mizukawa, K., Yoshida, M., Hayashi, H., Nambu, T., Leung, K., *et al.* 2010. Biofilm-like structures and pathogenicity of *Escherichia hermannii* YS-11, a clinical isolate from a persistent apical periodontitis lesion. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 59, p. 456-465.

Zhao, L., Rong, L., Jiang XiaoLu, J., Yan, L. 2011. Microbiological analysis on premature yeast flocculation of malt. *Chinese J. Bioprocess Eng.* 9, p. 48-52.

## A. Annexes

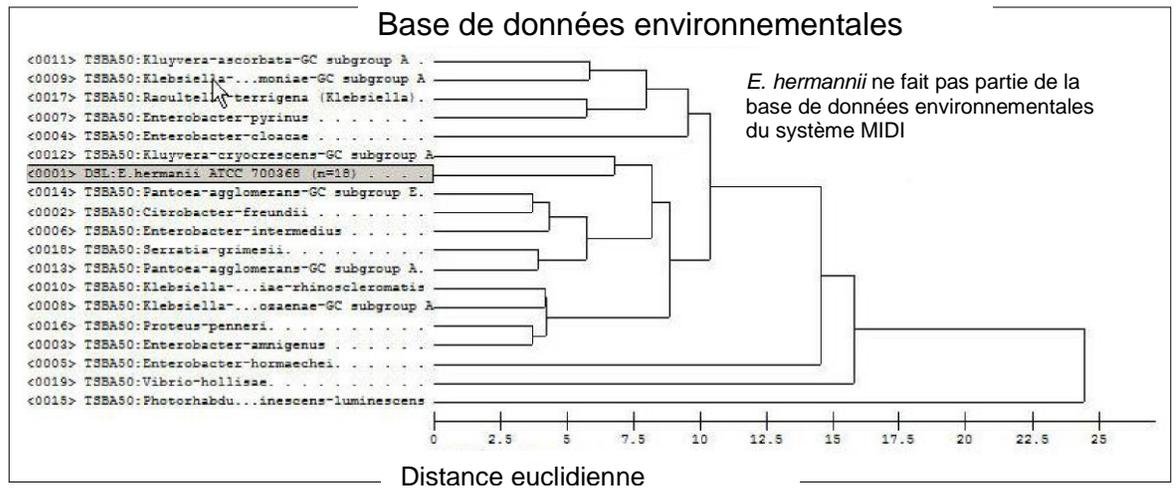
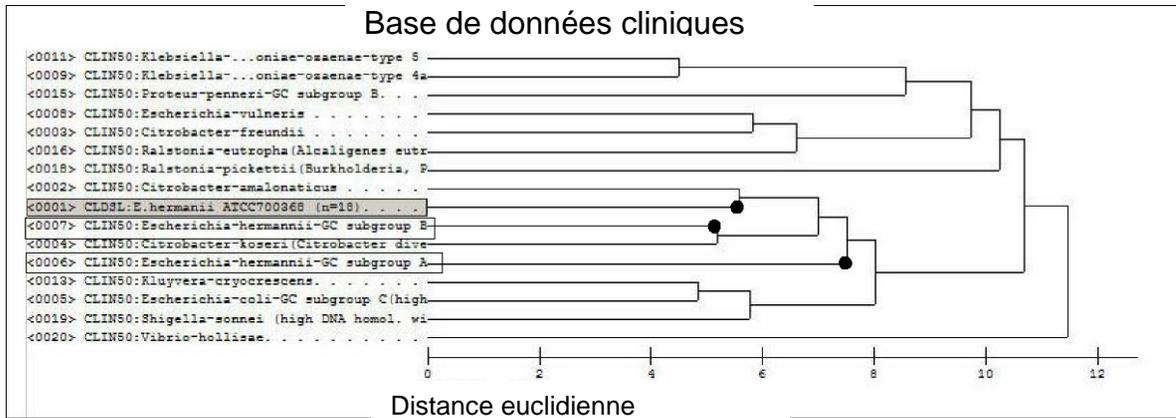
### Annexe 1. Caractérisation de la souche ATCC 700368 d'*Escherichia hermannii*<sup>a</sup>

MIDI est un système d'identification commercial basé sur l'analyse chromatographique en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras cellulaires. Les données présentées montrent la meilleure correspondance entre l'échantillon et différentes bases de données MIDI (cliniques et environnementales) ainsi que le nombre de correspondances (fraction du nombre total d'essais) et l'indice de similarité du profil d'acides gras (entre parenthèses : moyenne de l'ensemble des correspondances).

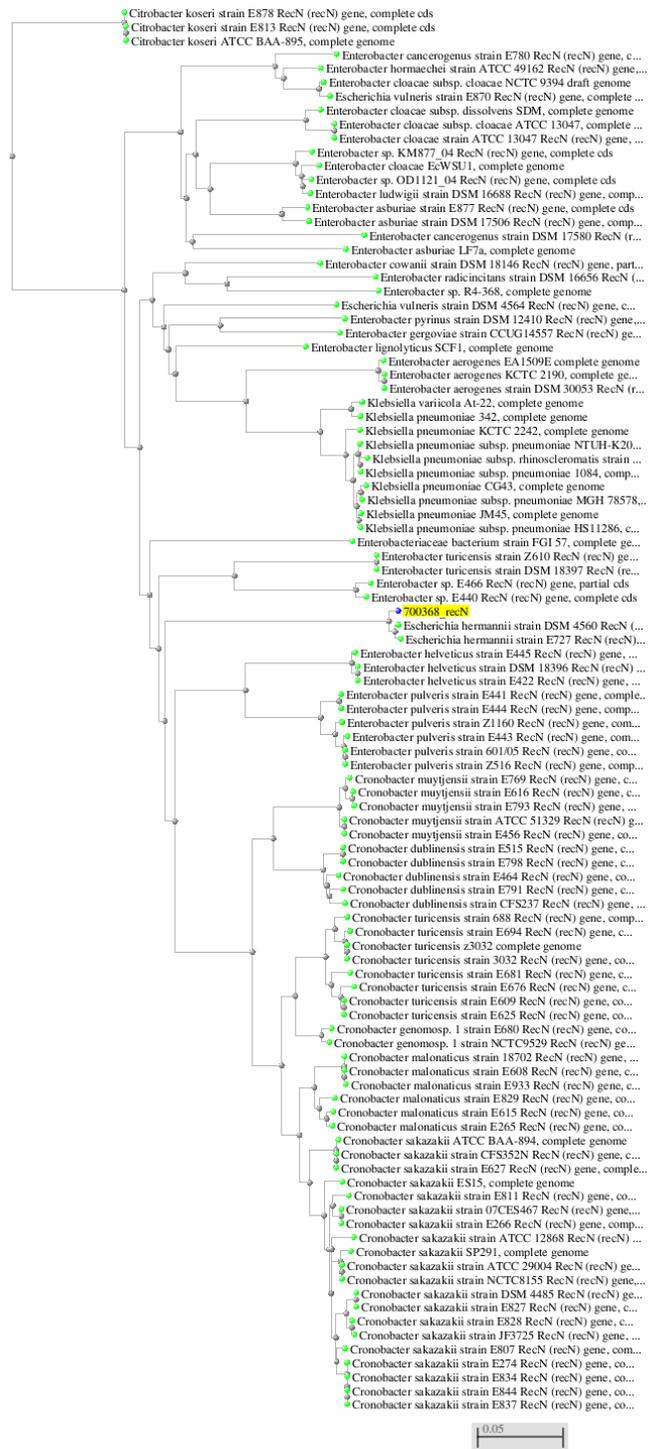
**Tableau A-1. Analyse des esters méthyliques d'acides gras (EMAG) de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* à l'aide de la base de données cliniques et environnementales MIDI**

Souche d'essai	Base de données environnementales	Base de données cliniques
<i>Escherichia hermannii</i> 700368	12/25 <i>Citrobacter freundii</i> (0,799)	17/22 <i>Shigella sonnei</i> (homologie élevée en matière d'ADN avec <i>E. coli</i> ) [0,731]
	5/25 <i>Photobacterium luminescens luminescens</i> ( <i>Xenobacter</i> ) [0,235]	3/22 Aucune correspondance
	3/25 <i>Vibrio hollisae</i> (0,395)	1/22 L'analyse ne convient pas pour la recherche en bibliothèque
	2/25 <i>Enterobacter cloacae</i> (0,613)	1/22 <i>Aeromonas sobria</i> (0,238)
	1/25 <i>Enterobacter hormaechei</i> (0,136)	
	1/25 <i>Klebsiella pneumoniae ozaenae</i> - CG sous-groupe A (0,658)	
	1/25 <i>Kluyvera ascorbata</i> - CG sous-groupe A (0,752)	

<sup>a</sup> Données non publiées provenant du Bureau de la science de la santé environnementale et de la recherche de Santé Canada



**Figure A-1. Analyse des esters méthyliques d'acides gras (EMAG) de la souche ATCC 17587 de *P. stutzeri* à l'aide de la base de données MIDI cliniques et environnementales**



**Figure A-2. Analyse génomique multilocus de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii***

**Tableau A-2. Croissance de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* dans des milieux liquides à différentes températures**

Moyenne	28 °C	32 °C	37 °C	42 °C
Bouillon de trypticase soja	+	+	+	~
Plasma de mouton	(+)	-	-	-
Sérum fœtal bovin	(+)	(+)	(+)	-
Milieu Eagle modifié de Dulbecco (culture de cellules de mammifères)	(+)	-	-	-

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

**Tableau A-3. Croissance de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* sur des milieux solides**

Milieu	Caractéristiques de croissance <sup>a</sup>
Gélose de trypticase soja	Colonies blanc cassé, crèmes
Gélose de MacConkey	Colonies rose clair
Gélose mannitol-sel	Aucune croissance
Gélose sélective <i>B. cereus</i> .	Aucune croissance

<sup>a</sup>La croissance de la souche ATCC 700368 de *E. hermannii* a été meilleure à 28 °C qu'à 37 °C.

**Tableau A-4. Caractéristiques biochimiques de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii***

Essais	Résultats
Coloration de Gram	Négatif
Production de pigment jaune <sup>a</sup>	Négatif/jaune pâle
Croissance sur KCN <sup>b</sup>	Négatif
Motilité	Positif
Catalase	Positif
Citrate	Positif
Cellobiose	Positif
ONPG	Positif
ONPG-PA-N	Négatif
Mannitol	Positif
Ornithine décarboxylase	Positif
Arginine dihydrolase	Négatif
Liquéfaction de la gélatine	Négatif
Croissance sur amidon	Oui
Hydrolyse de l'amidon	Non
Croissance dans l'urée	Oui
Hydrolyse de l'urée	Non
Croissance sur gélose au sang	Oui
Hémolyse	Non

<sup>a</sup>Les essais effectués par les scientifiques de Santé Canada n'ont pas permis de reproduire les résultats publiés par Brenner *et al.* (1982) pour la souche ATCC 700368. La pigmentation jaune n'était pas directement visible lors de l'observation des colonies. Une coloration jaune pâle n'a été visible que lorsqu'un grand nombre de colonies ont été raclées sur la gélose à l'aide d'une lamelle. Une pigmentation jaune a été observée chez la souche type, ATCC 33650, alors que les colonies de *E. coli* (témoin négatif) étaient de couleur crème pâle.

<sup>b</sup>Les essais effectués par les scientifiques de Santé Canada n'ont pas permis de reproduire les résultats publiés par Brenner *et al.* (1982) pour la souche ATCC 700368 inscrite à la LIS. Il n'y avait qu'une faible croissance de la souche type sur KCN.

## Annexe 2. Essai de virulence et de pathogénicité de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii*

Le test MTT a été utilisé pour déterminer le potentiel cytotoxique de la souche ATCC 700368 d'*E. hermannii* envers les cellules HT29 (cellules épithéliales du côlon) et J774A.1 (macrophages). Le MTT est un sel de bromure soluble jaune, qui est réduit à du cristal de formazan insoluble violet par les enzymes déshydrogénases des cellules vivantes (ce qui indique une activité mitochondriale). À l'état de cristal, après la réduction, il est piégé dans la cellule. Le DMSO, ou un autre solvant tel que de l'isopropanol ou de l'huile minérale, peut être utilisé pour solubiliser le formazan, qui peut ensuite sortir de la cellule, transformant ainsi la couleur du solvant en violet qui est détectable avec un spectrophotomètre. Ce test convient aux cellules animales adhérentes. Des cellules bactériennes actives sur le plan métabolique peuvent également réduire le MTT. Étant donné que la plupart des bactéries ne sont pas adhérentes, celles-ci peuvent être rincées avec du PBS avant la solubilisation. Les cellules HT29 et J774A.1 ont été incubées à 37 °C en présence de 5 % de dioxyde de carbone. Les cellules mammaliennes ont reçu une dose de 106 UFC/puits de cellules végétatives pendant 2, 4 et 24 heures. Les cellules traitées ont été lavées deux fois avec du PBS avant l'ajout de MTT. La perte d'activité de bioréduction a été mesurée afin de déterminer le potentiel cytotoxique des souches du groupe ATCC 700368 d'*E. hermannii*. La cytotoxicité est liée à une augmentation des pertes dans l'activité de bioréduction des lignées cellulaires.

**Tableau A-5. Culture de cellules in vitro : Cytotoxicité**

Espèces mises à l'essai	Réponse <sup>a</sup>
<b>Cellules épithéliales du côlon humain (HT29)</b>	<p><i>E. hermannii</i> (2x10<sup>5</sup> UFC/puits)<sup>b</sup> est cytotoxique comme l'indique l'activité de bioréduction entre 6 et 24 heures d'exposition, si on lui permet de croître sans gentamicine.</p> <p>Au cours des 24 heures d'exposition, les cellules HT-29 exposées à <i>E. hermannii</i> ont accumulé l'agent chimiotactique neutrophile IL-8 en des quantités de 5,4 fois supérieures à celles observées dans les cellules témoins traitées avec la solution saline tamponnée au phosphate pendant la même durée. Ce résultat est supérieur à celui obtenu lors de l'exposition au lipopolysaccharide (LPS) d'<i>E. coli</i> (quantité 2,2 fois plus élevée que la quantité observée dans les cellules témoins), et est généralement environ deux fois supérieure aux quantités observées avec d'autres bactéries Gram négatif (<i>Enterobacter</i>, <i>Pseudomonas stutzeri</i>) qui ont fait l'objet de tests en même temps.</p>
<b>Cellules macrophages murines J774A.1</b>	<p>Les cellules J774A.1 n'ont pas pu être utilisées pour les essais de bioréduction, car la phagocytose des bactéries a perturbé l'expérimentation.</p> <p>Il y avait dans les surnageants des concentrations élevées d'interleukine (IL), IL-6 et de facteur de nécrose tumorale (TNF) alpha, ce qui semble indiquer que <i>E. hermannii</i> peut induire une réponse inflammatoire in vitro.</p>

<sup>a</sup> Données non publiées provenant de la Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs de Santé Canada.

<sup>b</sup> Volume des puits = 200 µL.

**Tableau A-6. Modèle murin : Données sur l'exposition endotrachéale**

Essai	Réponse
Apparence/ Comportement	Normal. Aucun changement du comportement ou de l'apparence physique. Les animaux étaient asymptomatiques.
Clairance	Presque toutes les bactéries ont été éliminées du tissu pulmonaire cible en 24 heures, ce qui est généralement plus rapide que la plupart des autres espèces mises à l'essai par le passé (habituellement, plus de 96 h). Certaines bactéries résiduelles ont persisté dans la trachée et l'œsophage, mais comme seules les UFC ont été dénombrées, il peut s'agir de sources de bactéries environnementales ou endogènes non-Eh. Par ailleurs, les faibles niveaux peuvent être liés au fait qu'il s'agit de la voie qu'empruntent les bactéries lors de leur élimination (c'est-à-dire, à partir des poumons, vers l'extérieur par la trachée ou l'appareil gastro-intestinal).
Cytokines pulmonaires	De façon transitoire, les concentrations d'interleukine, IL-1b, étaient nettement élevées 24 heures après l'exposition. Toutefois, cette concentration n'était élevée que pour deux des trois souris, entraînant un taux d'erreur élevé. La cytokine IL-6 a augmenté graduellement pour atteindre un niveau 2,6 fois plus élevé 24 h après l'exposition et est ensuite redescendue au niveau des valeurs témoins 48 heures après l'exposition. Ces résultats sont le signe d'une inflammation transitoire.
Inflammation pulmonaire	Les granulocytes ont été dénombrés à partir de coupes du poumon. Le nombre de granulocytes a augmenté de manière transitoire pour atteindre un niveau 2,2 fois supérieur à celui des valeurs témoins 24 heures après l'exposition. Les quantités de granulocytes sont redescendues au niveau des valeurs témoins 48 heures après l'exposition. On ne considère pas que cette inflammation transitoire soit atypique dans le cadre d'une infection bactérienne et elle ressemble à celle d'autres inflammations d'origine bactérienne qui ont été examinées par le passé.
Réponse en phase aiguë	On a utilisé l'amyloïde A sérique comme indicateur des effets systémiques. Les concentrations ont été mesurées par la méthode ELISA. Au cours de la semaine suivant l'exposition, la concentration d'amyloïde A sérique a été multipliée par 2,2 par rapport à la valeur témoin. Il ne s'agit, cependant, pas d'une réponse en phase aiguë forte dans la mesure où les concentrations sériques peuvent être multipliées par 1 000 au cours d'une réponse en phase aiguë violente.

### Annexe 3. Utilisations potentielles d'*Escherichia hermannii*

**Tableau A-7. Liste des brevets et des utilisations potentielles d'*Escherichia hermannii***

Utilisation	Référence ou numéro de brevet	Secteur	Demandeur	Pays
Ingrédient probable dans les produits Alken-Murray distribués au Canada ( <i>E. hermannii</i> utilisée pour dégrader le H <sub>2</sub> S a été retirée de CERTAINS produits Clear-Flo servant dans l'aquaculture et a été remplacée par un autre organisme plus stable)	s.o.	Biorestauration Épuration des eaux usées municipales et industrielles Traitement des fosses septiques, des séparateurs de graisse, des stations de relèvement et des canalisations Contrôle des odeurs Désémulsionnant	s.o.	États-Unis/Canada
Produits pour les aquariums Hong Tai (dégrade les matières organiques)	s.o.	Traitement de l'eau des aquariums et des élevages aquacoles	s.o.	Singapour
Dégradation du chlorobenzène dans les eaux de surface, les eaux souterraines, les eaux d'égout, le sol et les eaux usées (rejet d'organismes vivants)	s.o.	Biodégradation	Kiernicka <i>et al.</i> , 1999	Suisse
Bioaccumulation de métaux lourds (nickel et vanadium) dans les sols contaminés d'une raffinerie de pétrole (rejet d'organismes vivants)	s.o.	Biorestauration	Hernandez <i>et al.</i> , 1998	Espagne
Utilisation dans un bioréacteur afin de retirer le sélénium se trouvant dans des effluents industriels contaminés	US20090152194 18 juin 2009 US20110011798 20 janvier 2011	Bioaccumulation	Borg <i>et al.</i>	États-Unis
Débit passant dans un incubateur bactérien contenant des organismes vivants à utiliser dans un système de collecte des matières organiques. Les bactéries sont libérées	5 911 877 15 juin 1999	Traitement des déchets (dégraissage/nettoyage des canalisations) Traitement biologique des déchets/compostage	John, Christiansen, Perez	États-Unis

graduellement et se fixent à la matrice interne. Dégradation du pétrole et des graisses (séparateurs de graisse).				
Dispositif distribuant des bactéries pour l'ensemencement de cultures bactériennes visant à dégrader les boues d'égout (eaux usées, pétrole, graisse, odeurs de H <sub>2</sub> S, matières organiques) dans le cadre de systèmes de collecte des eaux usées et de séparateurs de graisse	4 810 385 7 mars 1989	Traitement des eaux usées	Hater <i>et al.</i> (Sybron)	États-Unis
Traitement des eaux usées municipales Dispositif de biorestauration soluble dans l'eau visant à libérer des organismes vivants aux fins d'utilisation dans les réseaux municipaux de collecte des eaux usées et les séparateurs de graisse en vue de dégrader les graisses et autres matières organiques et de contrôler les odeurs	US20120298577 29 novembre 2012 et US20120255901 11 octobre 2012  5925252A 20 juillet 1999	Traitement des effluents	Thorgersen <i>et al.</i>  Cline	États-Unis  États-Unis
Porteur soluble dans l'eau contenant des enzymes et des bactéries vivantes aux fins de libération pour le traitement des boues d'épuration	US 5543309 A 6 août 1996	Traitement des effluents	Pischel	États-Unis
Libération d'organismes vivants pour le traitement des effluents industriels et domestiques	WO2012079140 21 juin 2012	Traitement des eaux usées (effluents industriels)	Casal de Rey	Brésil
Poudre multi-enzymatique stabilisée contenant des bactéries vivantes pour le traitement des déchets ménagers et industriels (canalisations, fosses	US5464766 A 7 novembre 1995	Traitement des déchets, des eaux d'égout et des effluents	Bruno  Enzyme Research & Development Corporation	États-Unis

septiques, bassins de répartition, réservoirs de stockage, terrains de vidange, canalisations d'égout, puits secs, séparateurs de graisse, silos de compost, broyeurs à déchets) <i>E. hermannii</i> consomme la cellulose et réduit les sulfites.				
Peinture marine antisalissure : des organismes vivants contenus dans de la peinture comme additifs de peinture servant à recouvrir les coques des navires afin de réduire les salissures de celles-ci en empêchant la végétation marine ainsi que les champignons d'oïdium (produit des enzymes hydrolytiques telles que les enzymes amylolytiques ou protéolytiques ainsi que des surfactants qui agissent en tant qu'agent de dispersion pour empêcher ou réduire la fixation de la végétation ou des organismes marins sur la coque; par ailleurs ils entrent en compétition avec la croissance des organismes marins)	5 919 689 6 juillet 1999	Additif de peinture	Selvig <i>et al.</i>	États-Unis
Lutte contre la colonisation par <i>Campylobacter jejuni</i> chez les volailles en produisant des métabolites anti- <i>Campylobacter</i>	US 5 302 388 12 avril 1994	Additif pour l'alimentation animale, lutte biologique	Doyle <i>et al.</i>	États-Unis
Culture de cellules vivantes produisant de l'acide nonanoïque, de l'acide tétradécanoïque ou du tétradécanoate de méthyle qui agissent	US20100192451 5 août 2010	Contrôle antiparasitaire	Ponnusamy <i>et al.</i>	États-Unis

en attirant les moustiques, sous une forme à libération rapide ou prolongée				
Organismes vivants aux fins de libération et d'utilisation en tant qu'engrais microbiens (stimule la croissance par le traitement des rhizobactéries)	s.o.	Engrais	Seo and Song, 2013	Corée
Vaccin vivant atténué pour les Entérobactériacées dont le lipopolysaccharide n'est pas fonctionnel et qui peuvent provoquer des infections, mais pas de pathogénèse	7 655 241 Février 2010	Produits pharmaceutiques	Klimpel <i>et al.</i>	États-Unis