



ÉVALUATION DES RISQUES POUR L'ENVIRONNEMENT ET DES RISQUES INDIRECTS POUR LA SANTÉ HUMAINE POSÉS PAR LES BARBUS *PUNTIGRUS TETRAZONA* GLOFISH^{MD}, STARFIRE RED^{MD}, ELECTRIC GREEN^{MD}, SUNBURST ORANGE^{MD} ET GALACTIC PURPLE^{MD} : DES POISSONS D'ORNEMENT TRANSGÉNIQUES



Figure 1. Quelques variantes de *Puntigrus tetrazona*. *P. tetrazona* commun domestiqué (A), *P. tetrazona* albinos domestiqué (B), barbus Electric Green^{MD} GB2011 (C), barbus Sunburst Orange^{MD} (D), barbus Starfire Red^{MD} (E) et barbus Galactic Purple^{MD} (F). Toutes les images sont fournies par Spectrum Brands, à l'exception de l'image B, qui provient de Petco.com.

Contexte :

Les dispositions relatives à la biotechnologie de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement (LCPE 1999) adoptent une approche préventive en matière de protection de l'environnement, en exigeant de déclarer et d'évaluer tous les nouveaux organismes vivants [issus de la biotechnologie](#), y compris les poissons génétiquement modifiés, avant qu'ils soient fabriqués ou importés au Canada, afin de déterminer s'ils sont « toxiques¹ » ou s'ils peuvent le devenir. Environnement et Changement climatique Canada (ECCC) et Santé Canada (SC) ont pour mandat de mener toutes les évaluations des risques aux termes de la LCPE.

¹ Aux termes de la LCPE, une substance ou un organisme vivant sont considérés comme « toxiques » s'ils pénètrent ou peuvent pénétrer dans l'environnement en une quantité ou concentration, ou dans des conditions qui : a) ont ou peuvent avoir, immédiatement ou à long terme, un effet nocif sur l'environnement; b) mettent ou peuvent mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie; c) constituent ou peuvent constituer un danger pour la vie ou la santé humaines au Canada.

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

Le 21 janvier 2022, Spectrum Brands a présenté quatre avis à ECCC au titre du Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes) [RRSN(O)] aux fins de l'évaluation des barbus GloFish^{MD} Electric Green[®] (GB2011), GloFish^{MD} Starfire Red^{MD} (RB2015), GloFish^{MD} Sunburst Orange^{MD} (OB2019) et GloFish^{MD} Galactic Purple^{MD} (PB2019) qui consistent en des lignées de barbus tigrés (*Puntigrus tetrazona*) génétiquement modifiées pour être fluorescentes (vert, rouge, orange et violet, respectivement) et qui sont destinées à servir de poissons d'ornement dans les aquariums domestiques.

En application d'un protocole d'entente (PE) entre Pêches et Océans Canada (le MPO), ECCC et SC, le MPO mène une évaluation du risque environnemental servant d'avis scientifique à l'intention d'ECCC, et collabore avec SC pour mener une évaluation des risques indirects pour la santé humaine pour tout nouvel organisme vivant qui est un produit du poisson issu de la biotechnologie et déclaré en vertu de la LCPE et du RRSN(O). L'avis en question sera transmis à ECCC et à SC sous la forme du présent Avis scientifique de manière à éclairer l'évaluation des risques que ces deux ministères réaliseront en vertu de la LCPE.

Le présent avis scientifique découle de la réunion sur les avis scientifiques national du 13 au 14 avril 2022 sur l'Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les poissons barbeau GloFish^{MD}, Starfire Red^{MD}, Electric Green^{MD}, Sunburst Orange^{MD}, et Galactic Purple^{MD} : poissons d'ornements transgéniques. Toute autre publication découlant de cette réunion sera publiée, lorsqu'elle sera disponible, sur le [calendrier des avis scientifiques de Pêches et Océans Canada \(MPO\)](#).

En ce qui a trait à la présente évaluation des risques, des avis concernant les lignées fluorescentes des poissons d'ornement génétiquement modifiés ont été présentés pour six lignées du tétras GloFish^{MD} (*Gymnocorymbus ternetzi*) [MPO 2018, 2019], trois lignées de poissons-zèbres GloFish^{MD} (*Danio rerio*) [MPO 2020a, 2020b], et trois lignées de combattants GloFish[®] (*Betta splendens*) [MPO 2021].

SOMMAIRE

- Conformément à la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (LCPE), Spectrum Brands a présenté à Environnement et Changement climatique Canada (ECCC), au titre du *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)* [RRSN(O)], quatre avis concernant des barbus *Puntigrus tetrazona* génétiquement modifiés : GloFish^{MD} Electric Green^{MD} (GB2011), GloFish^{MD} Starfire Red^{MD} (RB2015), GloFish^{MD} Sunburst Orange^{MD} (OB2019) et GloFish^{MD} Galactic Purple^{MD} (PB2019).
- Des évaluations des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine ont été menées et comprenaient une analyse des dangers potentiels, des probabilités d'exposition et des incertitudes connexes afin de tirer des conclusions sur les risques et fournir un Avis scientifique à ECCC et à Santé Canada (SC) de manière à éclairer leur évaluation des risques aux termes de la LCPE. Les évaluations ont été comparées à celles des lignées de tétras, de poissons-zèbres et de combattants GloFish^{MD} précédemment notifiées.

Évaluation du risque environnemental

- L'évaluation de l'exposition environnementale a permis de conclure que la présence du GB2011, du RB2015, de l'OB2019 et du PB2019 dans l'environnement canadien, hormis les aquariums, devrait être rare, isolée et éphémère en raison de leur incapacité à survivre aux températures généralement basses dans les milieux d'eau douce canadiens en hiver. Par

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

conséquent, la probabilité d'exposition de l'environnement canadien au GB2011, au RB2015, à l'OB2019 et au PB2019 est jugée faible.

- L'incertitude associée à cette estimation de l'exposition environnementale est faible au vu des données disponibles sur la tolérance des lignées déclarées et des espèces comparables pertinentes à l'égard de la température et du fait que, malgré un long historique d'utilisation du *P. tetrazona* non transgénique en Amérique du Nord, le poisson ne s'y est jamais établi.
- L'évaluation du danger pour l'environnement a conclu que les dangers liés au GB2011, au RB2015, à l'OB2019 et au PB2019 sont négligeables, qu'il s'agisse des dangers relatifs à la toxicité environnementale, aux interactions trophiques, à l'hybridation et à la transmission de maladies ou encore des dangers pour la biodiversité, le cycle biogéochimique ou l'habitat. Le risque associé au transfert horizontal de gènes est faible.
- Les niveaux d'incertitude associés au classement du danger pour l'environnement varient de faible à modéré en raison des données limitées sur les organismes substitués et déclarés, ou d'une certaine dépendance à l'égard de l'opinion d'experts et de preuves anecdotiques.
- Il existe un faible risque d'effets environnementaux négatifs aux niveaux d'exposition prévus pour l'environnement canadien découlant de l'utilisation du GB2011, du RB2015, de l'OB2019 et du PB2019 comme poissons ornementaux d'aquarium ou à d'autres fins.

Évaluation des risques indirects pour la santé humaine

- L'évaluation des risques indirects pour la santé humaine de l'exposition a permis de conclure que le potentiel de l'exposition humaine au GB2011, au RB2015, à l'OB2019 et au PB2019 variait de faible à moyen, car ces espèces sont destinées à être utilisées comme poissons d'ornement d'aquarium, ce qui limite donc largement l'exposition du public aux personnes qui possèdent de tels poissons dans des aquariums domestiques (p. ex. l'exposition découlant de l'entretien du réservoir), ce qui peut comprendre des personnes vulnérables (p. ex. personnes immunodéficientes, enfants, personnes ayant des problèmes de santé).
- L'incertitude associée à cette évaluation des risques indirects pour la santé humaine est modérée, car les renseignements dont on dispose sur le nombre de poissons devant être importés, la pénétration du marché et les scénarios d'exposition au Canada sont limités.
- L'évaluation des risques indirects pour la santé humaine a permis de conclure que les risques indirects pour la santé humaine du GB2011, du RB2015, de l'OB2019 et du PB2019 étaient faibles, car aucun cas d'infection zoonotique liée aux autres lignées GloFish^{MD} ou au type sauvage de *P. tetrazona* n'a été signalé après leur utilisation en aquarium. Bien que le matériel génétique inséré provienne de certains organismes sources produisant des toxines, rien n'indique qu'il soit associé à une quelconque toxicité, allergénicité ou pathogénicité chez l'être humain.
- L'incertitude associée à l'évaluation des risques indirects pour la santé humaine est faible, d'après les données disponibles concernant l'organisme, les renseignements tirés des publications relatives à la variété non transgénique de *P. tetrazona* et aux autres poissons

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

d'ornement, et d'après l'absence d'effets nocifs soutenue par un historique d'utilisation sans risque de toutes les lignées GloFish^{MD} et de la variété non transgénique de *P. tetrazona* disponibles dans le commerce au Canada et dans d'autres pays.

- Il existe un faible risque d'effets environnementaux négatifs aux niveaux d'exposition prévus pour la population canadienne découlant de l'utilisation du GB2011, du RB2015, de l'OB2019 et du PB2019 comme poissons d'ornement d'aquarium ou à d'autres fins.

Conclusion et sommaire

- Dans l'ensemble, le GB2011, le RB2015, l'OB2019 et le PB2019 importés pour être utilisés dans des aquariums présentent un faible risque pour l'environnement canadien et un faible risque indirect pour la santé des Canadiens. Malgré un niveau d'incertitude modéré concernant certains éléments de l'évaluation, ceux-ci n'influent pas sur la confiance à l'égard des cotes de risque globales. Les conclusions de l'évaluation étaient cohérentes avec celles des tétras, des poissons-zèbres et des combattants GloFish^{MD}.

RENSEIGNEMENTS DE BASE

Le 21 janvier 2022, Spectrum Brands (une division de GloFish LLC) a présenté quatre dossiers réglementaires (avis) à Environnement et Changement climatique Canada (ECCC) aux termes du *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)* [RRSN(O)] de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (LCPE 1999) pour les barbus GloFish^{MD} Electric Green^{MD} GB2011, Starfire Red^{MD} (RB2015), Sunburst Orange^{MD} (OB2019), et Galactic Purple^{MD} (PB2019), ci-après dénommés collectivement barbus GloFish^{MD} (figure 1). Ces poissons d'ornement sont des poissons domestiqués de l'espèce *Puntigrus tetrazona* (barbu tigré) qui ont été génétiquement modifiés pour produire des couleurs et une fluorescence uniques et être utilisés dans les aquariums domestiques. Leur utilisation est autorisée aux États-Unis depuis 2012 (GB2011), 2016 (RB2015) et 2020 (OB2019 et PB2019). Il convient de noter que des évaluations des risques similaires ont été réalisées au Canada pour six couleurs distinctes de tétras GloFish^{MD} (MPO 2018, 2019), trois couleurs distinctes de poissons-zèbres GloFish^{MD} (MPO 2020a, 2020b) et trois couleurs distinctes de combattants GloFish^{MD} (MPO 2021).

Production des lignées déclarées

Les barbus GloFish^{MD} ont été produits à l'aide de méthodologies et de protocoles d'essai semblables à celles des lignées GloFish^{MD} précédemment déclarées et approuvées, à l'exception de l'utilisation du système CRISPR/Cas9 pour les lignées d'OB2019 et de PB2019, qui n'avait été utilisé auparavant qu'avec les lignées de combattants. Des cassettes d'expression de transgènes contenant les gènes pour différentes protéines fluorescentes colorées ont été incorporées dans les génomes des lignées déclarées, provoquant une coloration omniprésente des organismes à la lumière ambiante. Toutes les lignées GloFish^{MD} déclarées précédemment et aujourd'hui ont été produites à l'aide de cassettes d'expression de transgènes et d'éléments (promoteurs, séquences de terminaison et gènes de protéines fluorescentes) analogues.

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

Des précisions supplémentaires concernant la production initiale des lignées transgéniques ont été fournies par la société aux fins d'examen, mais ces renseignements sont considérés comme des renseignements commerciaux confidentiels et ne figurent pas dans le présent rapport.

Les lignées ont été propagées par un élevage en lots dans des populations composée à la fois d'individus hémizygotes et d'individus homozygotes, les *P. tetrazona* non fluorescents étant retirés de la population au fur et à mesure de leur apparition. Ces modifications ont pour objet de créer de nouveaux phénotypes de couleurs de l'espèce *P. tetrazona* destinés au commerce des poissons d'ornement d'aquarium.

Caractérisation des organismes déclarés

Des précisions supplémentaires concernant la structure, le développement et la fonction de la construction transgénique ont été fournies par la société aux fins d'examen, mais ces renseignements sont considérés comme des renseignements commerciaux confidentiels et ne figurent pas dans le présent rapport. En outre, les détails concernant la conception des expériences menées par l'entreprise pour caractériser les modifications génétiques et phénotypiques ont été expurgés.

Barbu Electric Green^{MD} (GB2011)

Le GB2011 possède un seul site d'insertion qui contient plusieurs copies d'une construction transgénique. La modification génétique se traduit par une coloration verte omniprésente de l'organisme sous une lumière blanche ambiante et par une couleur verte fluorescente sous des rayons ultraviolets (figure 1). La société déclarante rapporte que les individus GB2011 hémizygotes et homozygotes pour l'insérat transgénique ne peuvent être distingués les uns des autres par leur phénotype et qu'ils sont tous destinés à la vente. La société a indiqué deux autres modifications, à savoir une diminution du succès reproducteur (lié à la concurrence pour les partenaires avec les *P. tetrazona* non transgéniques domestiqués) et une diminution de la tolérance au froid.

Barbu Starfire Red^{MD} (RB2015)

Le RB2015 possède un seul site d'insertion qui contient plusieurs copies d'une construction transgénique. La modification génétique se traduit par une coloration rouge omniprésente de l'organisme sous une lumière blanche ambiante et par une couleur rouge fluorescente sous des rayons ultraviolets (figure 1). La société déclarante rapporte que les individus RB2015 hémizygotes et homozygotes pour l'insérat transgénique ne peuvent être distingués les uns des autres par leur phénotype et qu'ils sont tous destinés à la vente. La société a indiqué une autre modification, à savoir une diminution du succès reproducteur (lié à la concurrence pour les partenaires avec les *P. tetrazona* non transgéniques domestiqués).

Barbu Sunburst Orange^{MD} (OB2019)

L'OB2019 possède un seul site d'insertion qui contient plusieurs copies d'une construction transgénique en tandem. La modification génétique se traduit par une coloration orange omniprésente de l'organisme sous une lumière blanche ambiante et par une couleur orange fluorescente sous des rayons ultraviolets (figure 1). La société déclarante rapporte que les individus OB2019 hémizygotes et homozygotes pour l'insérat transgénique ne peuvent être distingués les uns des autres par leur phénotype et qu'ils sont tous destinés à la vente. La société a indiqué deux autres modifications, à savoir une diminution du succès reproducteur (lié

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbues *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

à la concurrence pour les partenaires avec les *P. tetrazona* non transgéniques domestiqués) et une diminution de la tolérance au froid.

Barbu Galactic Purple^{MD} (PB2019)

L'OB2019 possède un seul site d'insertion qui contient plusieurs copies d'une construction transgénique en tandem, FP635. La modification génétique se traduit par une coloration violette omniprésente de l'organisme sous une lumière blanche ambiante et par une couleur violette fluorescente sous des rayons ultraviolets (figure 1). La société déclarante rapporte que les individus PB2019 hémizygotés et homozygotés pour l'insérat transgénique ne peuvent être distingués les uns des autres par leur phénotype et qu'ils sont tous destinés à la vente. La société a indiqué une autre modification, à savoir une diminution du succès reproducteur (lié à la concurrence pour les partenaires avec les *P. tetrazona* non transgéniques domestiqués).

Espèces comparables

Aux fins de la présente évaluation des risques, le *Puntigrus tetrazona* (barbu tigré) domestique a été choisi comme espèce comparable. Le *P. tetrazona* est une espèce ornementale populaire qui est produite et commercialisée dans le monde entier. Le barbu tigré fait partie de la famille des cyprinidés et a été décrit pour la première fois en 1855 dans la région de Palembang, à Sumatra, sous le nom de *Capoeta tetrazona* (Kottelat 2013). Depuis lors, son nom scientifique a subi de nombreuses évolutions, y compris : *Puntius tetrazona*, *Barbus tetrazona*, *Systemus tetrazona*, *Systemus sumatranus*, et *Systemus sumatrensis* (Froese and Pauly 2019). Parmi ces noms, *Puntius tetrazona* est encore largement utilisé par la communauté scientifique, bien que les sources taxonomiques recommandent désormais l'utilisation de *Puntigrus tetrazona* (Kortmulder pers. comm., Kottelat 2013).

Le barbu tigré est vraisemblablement originaire de Sumatra et de Bornéo (Froese and Pauly 2019), bien que la présence de cette espèce ait été signalée dans d'autres régions d'Asie, y compris en Thaïlande, en Malaisie et au Cambodge (Tamaru *et al.* 1998). On les trouve généralement dans des eaux peu profondes (environ deux pieds) et le long des rives des cours d'eau forestiers à débit modéré et des affluents avec des substrats de sable ou de roches/galets de différentes tailles (Kortmulder 1972). Leur tolérance à la température les confine aux climats tropicaux, où ils préfèrent les habitats à végétation dense, probablement en raison de leur stratégie de reproduction qui consiste à déposer leurs œufs sur la végétation submergée (Innes 1979). Les lacs où l'on trouve le barbu tigré contiennent souvent des marécages, et les niveaux d'oxygène y sont généralement faibles (Kortmulder 1982). Le barbu tigré tolère un pH compris entre 6 et 8 (Vajargah and Rezaei 2015), mais semble préférer une eau légèrement acide (Sakurai *et al.* 1993), en particulier pendant la période de reproduction. On sait qu'ils se nourrissent de plantes, de crustacés et de débris (Mills and Vevers 1989). Plus récemment, on a découvert que les barbues tigrés étaient des prédateurs efficaces des larves de moustiques dans des conditions de laboratoire et semi-naturelles (Barik *et al.* 2018).

Les barbues tigrés sont des sténothermes, capables de survivre dans une gamme étroite de températures environnementales (Yanar *et al.* 2019). Les températures recommandées pour l'élevage du barbu tigré sont comprises entre 21,1 °C et 26,7 °C (Innes 1979) et entre 23 °C et 28 °C pendant la période de reproduction (Tamaru *et al.* 1998). Récemment, des études contrôlées ont déterminé les tolérances de température pour le barbu tigré : Leggatt *et al.* (2018) ont découvert que 50 % des individus ne pouvaient plus s'acclimater (DL₅₀) à une

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

température de 13,2 °C, et que la température minimale létale chronique moyenne (CL_{min}) était de 13,36 °C lorsque les poissons étaient initialement acclimatés à 20 °C. Une autre étude a montré que, lorsque les poissons étaient acclimatés à des températures comprises entre 20 °C et 28 °C, la température critique minimale (CT_{min}) du barbu tigré variait de 11,66 à 13,94 °C, et que le maximum thermique critique (CT_{max}) variait de 34,54 à 39,91 °C (Yanar *et al.* 2019). Les différences dans les tolérances au froid rapportées dans les études peuvent être liées à des procédures expérimentales différentes (c.-à-d. le rythme de réduction de la température), ainsi qu'à des différences potentielles dans l'histoire de l'élevage ou la génétique de base des poissons (p. ex. Tuckett *et al.* 2016). Lorsque la baisse de la température était lente (c.-à-d. 1 °C par jour), le barbu tigré réduisait son activité à 19 °C, réduisait son alimentation en dessous de 17 °C et cessait de s'alimenter et d'être actif en dessous de 14 °C (Leggatt *et al.* 2018). De même, Liu *et al.* (2020) ont signalé des lésions tissulaires importantes dans le cerveau, les branchies, le foie et les muscles des barbus tigrés lorsque la température était abaissée à 13 °C.

Bien que la présence du barbu tigré dans la partie continentale des États-Unis soit connue depuis les années 1970 (Nico *et al.* 2019), aucun cas d'établissement et de reproduction n'a été signalé, même avec la découverte d'un mâle et d'une femelle sexuellement matures près d'une source chaude à des températures pourtant idéales pour le frai (Dill and Cordone 1997). Des études récentes menées en Floride subtropicale à l'aide du protocole Fish Invasiveness Screening Kit (FISK) [Copp *et al.* 2005] ont évalué le potentiel envahissant du barbu tigré comme étant faible à moyen (Hill *et al.* 2014, Lawson 2015); ce potentiel serait probablement beaucoup plus faible dans les climats tempérés.

Milieu récepteur

Bien que les profils de température annuels de nombreux lacs et cours d'eau du Canada varient, la plupart atteignent 4 °C ou moins à un moment ou à un autre de l'année, et seuls quelques lacs isolés situés dans le sud de la région côtière de la Colombie-Britannique affichent des températures minimales égales ou supérieures à 6 °C. Si un poisson introduit ne peut survivre à 4 °C ou moins, sa présence dans l'environnement canadien sera, au mieux, saisonnière avec de possibles poches localisées pouvant passer l'hiver (p. ex. dans des effluents industriels, des sources hydrothermales ou des lacs isolés). Pendant l'été, de nombreux lacs canadiens peuvent atteindre des températures de surface supérieures à 20 °C, mais seuls quelques systèmes ont été observés à plus de 25 °C. Il convient également de noter que les températures moyennes des eaux douces de surface au Canada augmentent en raison du changement climatique, et on prévoit qu'elles devraient connaître une hausse de 1,5 à 4,0 °C au cours des 50 prochaines années (MPO 2013). Par conséquent, le nombre de lacs dans lesquels des organismes ayant une tolérance modérée au froid sont susceptibles de survivre pourrait augmenter. Une caractérisation plus détaillée des milieux récepteurs potentiels au Canada dans le contexte de l'introduction de poissons est présentée dans Leggatt *et al.* (2018).

ÉVALUATION DES RISQUES POUR L'ENVIRONNEMENT

Les conclusions de l'évaluation de l'exposition, du danger et des risques pour l'environnement du GB2011, du RB2015, de l'OB2019 et du PB2019 sont conformes aux évaluations des risques menées précédemment sur les lignées GloFish^{MD}, et les classements ainsi que la

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

plupart des cotes d'incertitude équivalent à ceux des lignées GloFish^{MD} déclarées antérieurement (tableau 1). Les nouvelles preuves pertinentes dans la documentation scientifique et les différences dans les avis en cours concernant les poissons GloFish^{MD} n'ont pas modifié les conclusions précédentes concernant le risque. On trouvera des évaluations détaillées des risques environnementaux dans MPO 2018, 2019, 2020a, 2020b, 2021. Un résumé abrégé des évaluations antérieures et actuelles suit.

Tableau 1. Résumé de tous les classements et niveaux d'incertitude pour les évaluations des risques environnementaux des lignées de barbus GloFish^{MD} actuellement déclarées, ainsi que des lignées de tétras, de poissons-zèbres et de combattants GloFish^{MD} précédemment déclarées (MPO 2018, 2019, 2020a, 2020b, 2021). Le texte souligné indique où les évaluations précédentes diffèrent de l'évaluation actuelle. Nég. désigne les classements négligeables et Mod. désigne les classements modérés.

| Évaluation | Classement/Incertainude | | | |
|------------------------------------|-------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| | Barbus | Combattants | Poissons-zèbres | Tétras |
| Exposition | Faible/Faible | Faible/Faible | Faible/Faible | Faible/Faible |
| Dangers : | | | | |
| 1. Toxicité pour l'environnement | Nég./Mod. | Nég./Mod. | Nég./Mod. | Nég./Mod. |
| 2. THG | Faible/Mod. | Faible/Mod. | Faible/Mod. | Faible/ Faible |
| 3. Interactions trophiques | Nég./Mod. | Nég./Mod. | Nég./Mod. | Nég./Mod. |
| 4. Hybridation | Nég./ Faible | Nég./Nég. | Nég./ Mod. | Nég./Nég. |
| 5. Vecteur de maladies | Nég./Mod. | Nég./Mod. | Nég./Mod. | Nég./Mod. |
| 6. Biogéochimiques | Nég./Mod. | Nég./Mod. | Nég./Mod. | Nég./Mod. |
| 7. Habitat | Nég./Faible | Nég./Faible | Nég./Faible | Nég./Faible |
| 8. Biodiversité | Nég./Faible | Nég./Faible | Nég./Faible | Nég./Faible |
| Risque pour l'environnement | Faible | Faible | Faible | Faible |

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

Évaluation de l'exposition environnementale

L'évaluation de l'exposition pour les quatre organismes vivants aborde à la fois la probabilité qu'ils pénètrent dans l'environnement (rejet) et leur devenir une fois dans l'environnement. La probabilité et l'ampleur de l'exposition environnementale sont déterminées au moyen d'une évaluation exhaustive qui détaille le potentiel de rejet, de survie, de persistance, de reproduction, de prolifération et de propagation dans l'environnement canadien.

Bien que le but soit de vendre ces organismes sur le marché des poissons d'ornement, une fois qu'ils seront vendus sur le marché de détail, rien ne garantira le respect des mesures de confinement et d'élimination appropriées. Étant donné la forte probabilité que les barbus GloFish^{MD} pénètrent dans l'environnement canadien, la mesure dans laquelle l'environnement sera exposé à ces organismes dépendra fortement de leur capacité à survivre et à se reproduire dans les lacs et les rivières du Canada.

En tant qu'espèce tropicale, on ne s'attend pas à ce que *P. tetrazona* survive pendant plusieurs saisons dans une région tempérée où les températures de l'eau ont tendance à être inférieures à la température optimale. Dans l'aquarium, les barbus tigrés sont généralement maintenus à des températures comprises entre 21 et 27 °C (voir l'espèce comparable). Les données fournies par la société déclarante révèlent que lorsque la température de l'eau chute relativement rapidement, environ 50 % des barbus GloFish^{MD} meurent avant que la température n'atteigne 11,3 °C, et que 100 % des poissons meurent avant que la température n'atteigne 10 °C. Ces résultats concordent avec les données relatives à la tolérance à la température pour le *P. tetrazona* non transgénique domestiqué issues de la documentation spécialisée (Leggatt *et al.* 2018; Yanar *et al.* 2019).

Aucun lac au Canada ne présente des températures constamment supérieures à 7 °C toute l'année ou à 6 °C pendant plusieurs années, et presque aucun ne présente une température demeurant au-dessus de 4 °C tout au long de l'année (Leggatt *et al.* 2018). Par conséquent, même si les températures nécessaires à la survie des lignées déclarées peuvent se produire dans plusieurs lacs canadiens pendant l'été, il est très peu probable que le GB2011, le RB2015, l'OB2019 et le PB2019 puissent survivre à l'hiver canadien. Au mieux, la présence des barbus GloFish^{MD} dans des milieux d'eau douce canadiens serait éphémère.

Même si les températures de l'eau au Canada limiteront la persistance de spécimens de barbus GloFish^{MD} introduits dans l'environnement, ceux-ci pourraient encore avoir le temps de se reproduire s'ils sont introduits au début de la saison chaude. Les températures idéales pour la reproduction des barbus GloFish^{MD} (à savoir de 23 à 28 °C; Tamaru *et al.* 1998) existent de façon saisonnière dans certains lacs et dans des zones isolées de tout le Canada, comme les rivages. Par exemple, le lac Osoyoos, dans l'intérieur de la Colombie-Britannique, est l'un des plus chauds au Canada pendant l'été, avec des températures moyennes supérieures à 20 °C pendant deux mois de l'année, les températures plus élevées (p. ex. 25 °C) étant limitées à une période de plusieurs semaines (BCLSS 2021).

Compte tenu de l'analyse ci-dessus, la présence des barbus GloFish^{MD} dans l'environnement canadien devrait être rare, isolée et éphémère. Par conséquent, la probabilité d'exposition de l'environnement canadien aux barbus GloFish^{MD} est considérée comme **faible**. L'incertitude associée à cette estimation est **faible** compte tenu de la qualité des données (tolérance à la température) disponibles sur les barbus GloFish^{MD} et sur les substituts valides, des signes d'une faible variabilité, ainsi que des données dont on dispose sur les paramètres

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

environnementaux du milieu récepteur au Canada. Cette cote est conforme à la cote de faible exposition avec une faible incertitude attribuée aux six lignées de tétras GloFish^{MD} (MPO 2018, 2019), aux trois lignées de poissons-zèbres GloFish^{MD} (MPO 2020a, 2020b), et aux trois lignées de combattants GloFish^{MD} (MPO 2021).

Évaluation des dangers pour l'environnement

L'évaluation des dangers examine les répercussions potentielles sur l'environnement qui pourraient découler de l'exposition aux barbus GloFish^{MD}. Le processus de détermination des dangers tient compte des voies possibles des dommages, y compris ceux liés à la toxicité environnementale (c.-à-d. la toxicité potentielle), à la transmission de gènes, aux interactions trophiques, en tant que vecteur d'agents pathogènes, ainsi qu'à la capacité d'influer sur les composantes de l'écosystème (p. ex. habitat, cycle des éléments nutritifs, biodiversité). Les paragraphes qui suivent évaluent l'incertitude et les dangers associés à la modification transgénique de la protéine fluorescente dans les lignées déclarées, puis présentent une analyse générale des effets potentiels sur le classement de l'incertitude et du danger associés à d'éventuelles mutations imprévues découlant de l'utilisation de la technologie CRISPR/Cas9.

Un rapport analysant la séquence d'acides aminés de la protéine fluorescente n'a révélé aucune similitude fonctionnelle avec des allergènes connus pour les humains. Aucun effet toxique découlant d'une exposition à des barbus GloFish^{MD} ou à toute autre espèce de GloFish^{MD} contenant des transgènes codant les mêmes protéines que celles des lignées de barbus GloFish^{MD} n'a été signalé au Canada ou aux États-Unis. Par conséquent, le danger potentiel pour l'environnement lié à la toxicité des barbus GloFish^{MD} pour l'environnement est jugé **négligeable**. L'incertitude liée à ce classement est **modérée** en raison des données directes limitées sur des organismes substitués ou déclarés, et du recours à des preuves anecdotiques et indirectes provenant d'autres organismes.

Graham et Davis (2021) ont récemment démontré qu'un transfert horizontal de gènes (THG) pouvait se produire entre des organismes d'un niveau trophique plus élevé; cependant, les transgènes présents ne devraient pas proliférer dans une population en raison de l'absence d'avantage sur le plan de la valeur adaptative. Compte tenu des rares rapports faisant état d'effets nocifs liés aux transgènes porteurs de protéines fluorescentes malgré leur utilisation relativement répandue, toute introduction éventuelle des transgènes en question dans un nouvel hôte par l'intermédiaire d'un THG ne devrait pas entraîner d'effets nocifs. La faible probabilité d'occurrence, de permanence et de dommages associés à un événement de THG fait que ce danger est jugé **faible**. L'emplacement inconnu des transgènes dans le génome de *P. tetrazona* ainsi que l'absence d'études examinant directement le THG des transgènes et les conséquences qui en découlent donnent lieu à une incertitude **modérée**.

Si des barbus GloFish^{MD} étaient relâchés dans l'environnement, ils pourraient interagir avec d'autres organismes présents dans les écosystèmes d'eau douce canadiens, dont de possibles proies, concurrents et prédateurs. On sait que le barbu tigré mange des plantes, des crustacés, des détritiques et des larves de moustiques (Mills et Vevers 1989; Barik *et al.* 2018) et qu'il présente souvent des comportements agonistiques envers ses congénères et les poissons plus grands (Innes 1979; Kortmulder 1972; Sakurai *et al.* 1993). Par conséquent, il peut avoir un effet sur les populations localisées de petites proies ou de compétiteurs occupant des niches semblables au lieu de sa libération. Compte tenu de la faible activité de *P. tetrazona* dans les eaux plus froides et de l'absence de modifications constatées dans le comportement trophique

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

des lignées déclarées, les barbus GloFish^{MD} ne devraient pas avoir de répercussions sur les interactions trophiques des organismes indigènes au-delà des fluctuations naturelles. Le danger qui leur est associé est donc **négligeable** par rapport à leurs homologues non transgéniques. Le manque d'études portant directement sur les dangers liés aux barbus GloFish^{MD} et la mauvaise compréhension des interactions entre le génotype et l'environnement sur le plan de l'agressivité et de la vulnérabilité aux prédateurs conduisent à un niveau d'incertitude **modéré**.

P. tetrazona est un membre de la famille des cyprinidés qui compte 53 espèces réparties dans plusieurs genres présentes au Canada. L'hybridation intergénérique a été observée entre deux genres de cyprinidés en Europe (Hayden *et al.* 2010), ce qui laisse entendre qu'il serait possible d'assister à une hybridation entre *P. tetrazona* et des cyprinidés canadiens. Les tentatives de croisements *in vitro* de *P. tetrazona* et de genres de cyprinidés très proches [barbu de Schwanenfeld (*Barbonymus schwanenfeldii*), barbu cerise (*Puntius titteya*) et barbu rosé (*Pethia conchonius*)] n'ont pas donné lieu à une progéniture viable, et une plus grande distance phylogénétique devrait entraîner une diminution de la viabilité des hybrides (Kirschbaum *et al.* 2016). Puisque les genres de cyprinidés canadiens sont plus éloignés de *P. tetrazona* que les genres susmentionnés, il est peu probable que les cyprinidés canadiens forment des hybrides viables avec *P. tetrazona*. Les barbus tigrés devraient subir un isolement reproductif supplémentaire par rapport aux cyprinidés indigènes en raison de la fécondation directe des œufs (pas de frai à la volée) et des préférences incompatibles en matière de température de reproduction. Par conséquent, le risque que le barbu GloFish^{MD} présente un danger en raison d'une hybridation avec un poisson indigène au Canada est **négligeable**. Les données de haute qualité sur la répartition des cyprinidés et les besoins de reproduction de *P. tetrazona*, ainsi que la présence de certaines données sur l'hybridation intergénérique font que l'incertitude associée à cette évaluation est **faible**.

La question de savoir si les barbus GloFish^{MD} ou tout autre organisme fluorescent transgénique ont une capacité modifiée à agir comme vecteurs d'agents pathogènes n'a pas été directement examinée; toutefois, certaines études portant sur des modèles de cellules fluorescentes cultivées ont révélé une modification potentielle de la vulnérabilité aux maladies. Par exemple, il a été démontré que l'expression de la GFP diminuait l'activation des lymphocytes T (Koelsch *et al.* 2013), induisait une sécrétion de cytokine IL-6 (Mak *et al.* 2007), inhibait les voies de signalisation immunitaire (Baens *et al.* 2006) et modifiait l'expression des gènes en jeu dans la fonction immunitaire (Coumans *et al.* 2014) et la réponse au stress (Coumans *et al.* 2014). De plus, Chou *et al.* (2015) ont signalé que des souris transgéniques pour le DsRed présentaient une modification du nombre de lymphocytes et de monocytes. Par conséquent, il existe une possibilité **négligeable** que les barbus GloFish^{MD} présentent une capacité modifiée comme vecteurs de maladie par rapport aux *P. tetrazona* non transgéniques. Comme ce paramètre n'a pas été directement observé chez les barbus GloFish^{MD}, qu'il existe peu de données sur un substitut et qu'on doit compter sur l'avis d'experts, le niveau d'incertitude pour ce classement est **modéré**.

Les barbus GloFish^{MD} devraient contribuer aux cycles des éléments nutritifs au sein des habitats en ingérant des proies et d'autres aliments ainsi qu'en éliminant des déchets métaboliques. Alors que les souris transgéniques eGFP présentent des modifications sur le plan du cycle de l'urée, du métabolisme de l'acide nucléique et de l'acide aminé et de l'utilisation de l'énergie (Li *et al.* 2013), aucune modification semblable n'a été notée ou étudiée chez les barbus GloFish^{MD}. Au vu de la petite taille de *P. tetrazona* et du faible nombre d'individus

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

susceptibles de pénétrer dans un écosystème, le potentiel que les barbus GloFish^{MD} aient un effet sur le cycle biogéochimique dans les milieux naturels, même en cas de modification des voies métaboliques, s'avère **négligeable**. Le niveau d'incertitude est **modéré** en raison du manque d'études portant expressément sur ce danger.

Le barbu tigré ne construit pas de structures susceptibles d'avoir des répercussions sur l'habitat d'autres espèces. Aucun rapport, anecdotique ou autre, ne fait état d'une modification du comportement du barbu GloFish^{MD}, par rapport au *P. tetrazona* domestiqué non transgénique, qui pourrait avoir des répercussions sur la structure de l'habitat. Par conséquent, les barbus GloFish^{MD} devraient avoir des effets **négligeables** sur l'habitat avec une **faible** incertitude associée à ce classement.

Les barbus GloFish^{MD} ne devraient pas avoir de répercussions négatives sur la biodiversité indigène en raison d'interactions trophiques ou d'hybridation ni être vecteurs d'agents pathogènes préoccupants au Canada; en outre, ils ne devraient pas perturber le cycle biogéochimique ni nuire à l'habitat. L'ajout de la construction transgénique et de la protéine fluorescente chez les barbus GloFish^{MD} ne devrait pas provoquer de toxicité environnementale ni de dangers par l'intermédiaire de la THG du transgène. Dans l'ensemble, le danger que les barbus GloFish^{MD} nuisent à la biodiversité des écosystèmes canadiens est **négligeable**. L'utilisation de données sur le caractère envahissant et les effets sur la biodiversité issues d'espèces comparables entraîne un niveau d'incertitude **faible** pour ce classement.

Les dangers examinés ont été jugés négligeables à faibles (tableau 1), tandis que l'incertitude varie de faible à modérée, en raison du caractère limité des données propres aux barbus GloFish^{MD}, des données directes limitées sur les espèces comparables, de la variabilité des données provenant de modèles substituts et du fait que l'évaluation de certains dangers repose fortement sur l'opinion d'experts. Tous les classements des dangers et de l'incertitude pour le barbu GloFish^{MD} concordent avec les classements des tétras, des poissons-zèbres et des combattants GloFish^{MD} précédemment déclarés, à l'exception des points suivants : le classement de l'incertitude associée au THG était supérieur à celui des tétras en raison d'une meilleure reconnaissance des limites dans les données; l'incertitude faible associée à l'hybridation se distingue de celle concernant les tétras et les combattants (négligeable) qui ne présentent pas d'espèces apparentées au Canada, et de celle des poissons-zèbres (modérée) qui se reproduisent à la volée et pour lesquels on manque de données sur l'hybridation intergénérique (MPO 2018, 2019, 2020a, 2020b, 2021). Les barbus GloFish^{MD} ne devraient pas présenter de risques particuliers autres que ceux liés à l'utilisation prévue en tant que poissons d'ornement dans des aquariums fixes.

L'utilisation de la technologie CRISPR/Cas9 dans la création de deux des lignées de barbus GloFish^{MD} ajoute une incertitude supplémentaire à l'évaluation globale des dangers en raison des mutations involontaires potentielles (sur cible et hors cible) dans les populations de barbus. Des mutations peuvent théoriquement entraîner une modification de la structure ou de l'expression des protéines modifiant le phénotype des barbus et avoir des conséquences en aval sur l'environnement. Le risque de mutations involontaires découlant de l'utilisation de la technologie CRISPR a été étudié pour d'autres modèles dans le contexte d'une nocivité ou d'une toxicité potentielle pour l'organisme lui-même, et les phénotypes de ces mutations, lorsqu'ils sont examinés, sont généralement neutres ou négatifs. Les éventuels effets nocifs des mutations involontaires sur l'environnement n'ont pas fait l'objet d'études expérimentales et n'ont pas été rapportés dans d'autres modèles, et il n'existe pas non plus de rapports

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

anecdotes concernant des individus des populations de barbus GloFish^{MD} présentant des phénotypes modifiés susceptibles de nuire à l'environnement. Bien que ce facteur supplémentaire ne modifie pas les classements de danger pour les barbus GloFish^{MD}, il augmente le niveau d'incertitude dans l'évaluation globale du danger.

Évaluation du risque environnemental

Conformément aux évaluations des risques similaires, une conclusion générale sur le risque se fonde sur le paradigme habituel suivant : $Risque \propto Danger \times Exposition$. Le risque global est estimé en illustrant le danger global par rapport à l'exposition, au moyen d'une matrice ou d'une carte des risques, comme le montre la figure 4. La matrice peut servir d'outil facilitant les communications et les discussions à propos du risque. Le niveau d'incertitude associé au risque est abordé dans le cadre du niveau d'incertitude dans les évaluations du danger et de l'exposition. Les niveaux d'incertitude concernant les dangers et l'exposition sont associés à la qualité des données utilisées dans les évaluations, et la question de savoir si l'incertitude peut accroître l'éventail des classements possibles dépend du contexte.

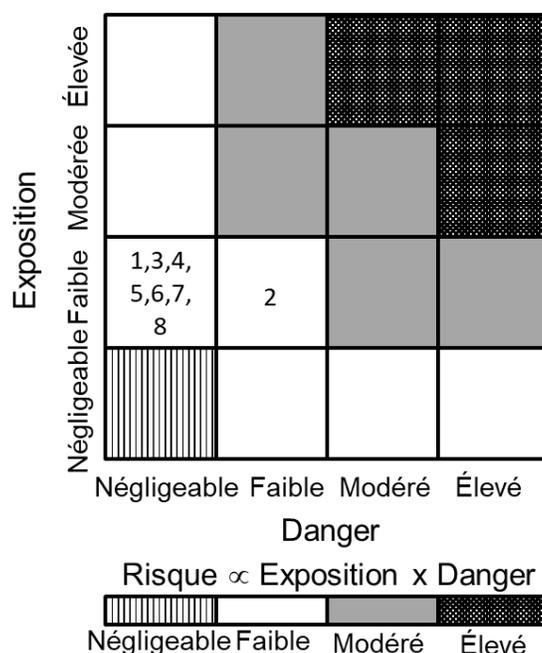


Figure 2. Matrice de risques et échelle de spectres pour illustrer l'intégration de l'exposition et des dangers pour établir un niveau de risque dans l'évaluation du risque pour l'environnement. Les évaluations du risque associées aux composantes de danger au niveau d'exposition évalué sont désignées par des chiffres : 1) risques liés à la toxicité pour l'environnement; 2) risques liés à la transmission horizontale de gènes; 3) risques liés aux interactions avec d'autres organismes; 4) risques liés à l'hybridation; 5) risques en tant que vecteur de maladies; 6) risques pour le cycle biogéochimique; 7) risques pour l'habitat; 8) risques pour la biodiversité.

Selon l'évaluation de l'exposition, les barbus GloFish^{MD} utilisés dans le commerce des poissons ornementaux destinés aux aquariums ou à d'autres fins seraient peu susceptibles d'être présents dans l'environnement canadien. Cette situation est attribuable à la forte probabilité de

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

libération dans l'environnement d'un petit nombre de poissons en provenance d'aquariums personnels, ainsi qu'à une probabilité négligeable que des barbus GloFish^{MD} survivent à l'hiver dans les écosystèmes aquatiques canadiens. À ce titre, toute exposition des barbus GloFish^{MD} aux écosystèmes d'eau douce canadiens serait isolée, rare et éphémère. La qualité des données démontrant l'intolérance au froid des barbus GloFish^{MD} et des *P. tetrazona* domestiqués en ce qui concerne les températures dans les eaux douces canadiennes permet d'obtenir un faible niveau d'incertitude pour le classement de ce danger.

L'évaluation des dangers a permis de conclure que les barbus GloFish^{MD} représentaient un danger négligeable à faible pour l'environnement canadien, au vu de l'absence de dangers liés au *P. tetrazona* domestiqué, et de l'absence de preuve directe que le danger serait accru par la protéine fluorescente exprimée par rapport au *P. tetrazona* domestiqué. Le niveau d'incertitude lié à chaque paramètre de danger varie de négligeable à modéré, en raison du caractère limité des données propres aux barbus GloFish^{MD} et des données directes sur les espèces comparables et de la dépendance à l'égard de l'opinion des experts pour l'évaluation de certains dangers.

D'après la matrice des risques de la figure 2, les barbus GloFish^{MD}, s'ils sont utilisés dans le commerce des espèces d'ornement destinées aux aquariums ou à d'autres fins au Canada, représentent un **risque faible** pour l'environnement canadien. Selon les évaluations des dangers individuels, en fonction du degré d'exposition évalué, il n'y aura pas d'effets nocifs au-delà des variations naturelles attendues de l'environnement canadien. Les sources d'incertitude dans l'évaluation de l'exposition et des dangers pour l'environnement qui peuvent influencer sur le niveau d'incertitude dans l'évaluation des risques pour l'environnement comprennent l'absence de données directes sur les dangers des organismes déclarés et des espèces comparables, la variabilité des données tirées des substituts ainsi qu'une certaine dépendance à l'égard de l'opinion des experts dans certains cas.

En dépit de l'incertitude modérée associée à certains paramètres individuels d'évaluation, rien n'indique pour le moment que les cotes de risque globales attribuées aux barbus GloFish^{MD} peuvent être plus élevées que le niveau faible de risque mesuré pour l'environnement canadien. Cela concorde avec la cote de risque faible attribuée lors des évaluations portant sur les tétras, les poissons-zèbres et les combattants GloFish^{MD} déclarés précédemment (MPO 2018, 2019, 2020a, 2020b, 2021).

ÉVALUATION DES RISQUES INDIRECTS POUR LA SANTÉ HUMAINE

La présente évaluation des risques porte sur le potentiel d'effets nocifs pour l'humain au Canada des lignées GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 à la suite d'une exposition dans l'environnement, y compris une exposition en milieu naturel ou dans le cadre de son utilisation prévue (c.-à-d., dans un aquarium domestique), comparativement à l'espèce sauvage *P. tetrazona*.

Les conclusions de l'évaluation de l'exposition indirecte à la santé humaine, des dangers et des risques pour les barbus GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 concordent avec les précédentes évaluations des risques pour des lignées similaires de tétras et de poissons-zèbres GloFish^{MD} déjà déclarées (voir tableau 2). Aucune nouvelle preuve pertinente n'a été publiée dans la documentation scientifique, et aucune différence n'a été relevée dans les avis sur le barbu Glofish^{MD} par rapport aux lignées GloFish^{MD} déclarées antérieurement qui modifierait les

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus puntigrus tetrazona glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

conclusions sur les risques indirects pour la santé humaine. Comme pour l'évaluation du risque environnemental, l'utilisation de la technologie CRISPR/Cas9 pour la création de ces lignées peut avoir donné lieu à des mutations involontaires dont les effets sont inconnus; toutefois, ces mutations ne devraient pas modifier les conclusions générales de l'évaluation des risques pour la santé humaine. Bien que cela accroisse l'incertitude globale concernant les risques indirects des lignes déclarées pour la santé humaine, cela n'augmente pas le classement de l'incertitude.

Tableau 2. Résumé de tous les classements et niveaux d'incertitude pour les évaluations des risques indirects pour la santé humaine des lignées de barbus actuellement déclarées, de six lignées de tétras GloFish^{MD} précédemment déclarées, de trois lignées de poissons-zèbres GloFish^{MD} précédemment déclarées et de trois lignées de combattants GloFish^{MD} précédemment déclarées (MPO 2018, 2019, 2020a, 2020b, 2021).

| | Barbus | Combattants | Poissons-zèbres | Tétras |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Risque indirect pour la santé humaine | Classement/ Incertain | Classement/ Incertain | Classement/ Incertain | Classement/ Incertain |
| Exposition | Faible à moyenne/Modérée | Faible à moyenne/Modérée | Faible à moyenne/Modérée | Faible à moyenne/Modérée |
| Danger | Faible/Faible | Faible/Faible | Faible/Faible | Faible/Faible |
| Risque indirect pour la santé humaine | Faible | Faible | Faible | Faible |

Évaluation de l'exposition à des risques indirects pour la santé humaine

Les risques liés à une exposition à la souche déclarée en milieu de travail ne sont pas pris en compte dans la présente évaluation².

Le potentiel d'exposition humaine aux barbus GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 est jugé faible à moyen pour les raisons suivantes :

² La détermination du respect ou du non-respect d'un ou de plusieurs des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE s'appuie sur une évaluation des risques potentiels pour l'environnement ou la santé humaine associés à une exposition dans l'environnement général. Pour les humains, cela inclut notamment l'exposition par l'air, l'eau et l'utilisation de produits contenant la substance. Une conclusion établie en vertu de la LCPE 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 dangereux*, 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.

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

1. Les principales sources d'exposition humaine proviendraient de l'importation proposée de poissons par des points d'entrée non déterminés au Canada et de leur distribution dans des magasins de détail.
2. La seule utilisation prévue des barbus GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 est comme poissons d'ornement d'aquarium, ce qui limite l'exposition potentielle principalement à ceux qui possèdent un aquarium domestique.
3. À l'instar d'autres poissons d'aquarium, l'exposition humaine peut comprendre des personnes immunodéprimées, des enfants, des personnes souffrant de pathologies sous-jacentes ou d'autres personnes vulnérables. En raison du comportement agressif de *P. tetrazona* en présence d'un petit nombre d'individus, il est recommandé de garder des groupes de cinq poissons ou plus.
4. L'exposition humaine typique aux poissons vivants ou morts dans un contexte domestique est le plus souvent liée aux activités d'entretien, comme le nettoyage du réservoir et les changements de l'eau. Les basses températures hivernales de l'eau dans les eaux canadiennes et la faible tolérance au froid des poissons déclarés limitent l'exposition humaine dans l'environnement.
5. Aucune augmentation importante de l'exposition humaine ne devrait découler des autres utilisations potentielles des barbus GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019, comme pour le contrôle des moustiques ou la recherche.

Incertitude liée à l'évaluation de l'exposition à des risques indirects pour la santé humaine

Le classement des incertitudes associées aux données utilisées pour évaluer l'exposition indirecte à la santé humaine pour les barbus GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 est présenté dans le tableau 2. Comme il est indiqué, les organismes déclarés ne seront pas produits au Canada, et la source d'exposition sera limitée à l'importation de poissons. Dans l'environnement, les données empiriques permettent de conclure que la survie de ces poissons devrait être limitée en raison de leur faible tolérance aux températures inférieures à 10 °C. Toutefois, cela n'exclut pas la possibilité d'une exposition humaine (grand public et personnes vulnérables [c.-à-d., personnes immunodéprimées, enfants, personnes souffrant de problèmes de santé, etc.]) au Canada par l'entremise des aquariums domestiques, principalement lors des activités d'entretien et de nettoyage. Cette évaluation de l'exposition est également limitée par le manque de renseignements sur le nombre d'organismes déclarés qui seront importés durant les années suivantes et les données d'enquête inadéquates sur les ménages possédant des poissons d'ornement. Il est donc difficile d'évaluer l'adhésion et la popularité du public au-delà du nombre d'importations de la première année. De plus, les données relatives à la possession de poissons d'aquarium au Canada s'appuient sur des rapports datant de plus de 10 ans (Duggan *et al.* 2006; Gertzen *et al.* 2008; Perrin 2009; Marson *et al.* 2009). Ces rapports ne concernent pas précisément les lignées GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 et ne portent pas sur l'étude des facteurs influençant l'exposition humaine aux poissons d'aquarium. Par conséquent, en raison de l'information limitée sur les scénarios d'exposition précis dans le marché canadien, l'exposition humaine aux organismes déclarés est considérée faible à moyenne avec une incertitude modérée.

Évaluation des dangers indirects pour la santé humaine

Le potentiel de danger pour la santé humaine présenté par les barbus GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 est jugé faible (tableau 1) pour les raisons suivantes :

1. Les barbus GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 sont des poissons tropicaux génétiquement modifiés contenant de multiples copies de constructions transgéniques dans un seul site d'insertion (bien qu'il puisse y avoir d'autres modèles d'insertion dans la population), lesquelles sont intégrées de manière stable grâce à de multiples croisements.
2. Les méthodes utilisées pour produire les barbus GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 ne soulèvent aucune préoccupation indirecte pour la santé humaine. Cependant, le potentiel d'effets hors cible liés à l'utilisation de la technologie CRISPR/Cas9 chez les barbus OB2019 et PB2019 reste inconnu. Même si certains des organismes sources d'où provient le matériel génétique inséré semblent produire des toxines, rien n'indique que le matériel génétique inséré ou les protéines exprimées dans ces lignées soient associés à une toxicité ou à une pathogénicité chez les humains.
3. Bien que des cas d'infections zoonotiques associées aux poissons tropicaux d'aquarium aient été signalés, en particulier chez des personnes immunodéprimées et des enfants, aucun cas n'a été attribué à l'une ou l'autre des lignées de GloFish^{MD} disponibles dans le commerce ou aux barbus tigrés de type sauvage.
4. L'identité de séquence des transgènes insérés ne correspond à aucun allergène connu ni à aucune toxine connue. Les séquences d'acides aminés des quatre protéines fluorescentes sont identiques à celles utilisées dans les lignées GloFish^{MD} évaluées précédemment. Bien que les analyses effectuées sur les autres cadres de lecture potentiels aient relevé des correspondances potentielles pour les barbus GB2011 et PB2019, les résultats indiquent qu'il y a peu de preuves d'une réactivité croisée.
5. Il existe un historique d'utilisation sûre aux États-Unis pour les lignées déclarées (et, même si cet historique est limité pour les barbus OB2019 et PB2019 en raison de leur introduction récente, aucune préoccupation supplémentaire en matière d'utilisation sûre n'est attendue par rapport aux barbus GB2011 et RB2015). L'espèce de type sauvage est quant à elle utilisée en toute sécurité à l'échelle mondiale comme poisson d'aquarium ornemental depuis les années 1950.

Incertitude liée à l'évaluation des dangers indirects pour la santé humaine

Le tableau 2 présente le classement de l'incertitude liée à l'évaluation des dangers indirects pour la santé humaine. Des renseignements adéquats fournis par l'entreprise déclarante ou tirés d'autres sources ont confirmé l'identification des organismes déclarés. Des renseignements appropriés ont également été apportés pour décrire en détail les méthodes utilisées pour modifier génétiquement le type sauvage de *P. tetrazona*, y compris les sources du matériel génétique et la stabilité des génotypes et phénotypes obtenus. Les analyses de la séquence des constructions transgéniques insérées pour les quatre lignées déclarées ne correspondaient à aucune toxine et à aucun allergène, et aucun effet nocif attribué aux protéines insérées n'a été signalé chez les humains.

Bien qu'aucun effet nocif directement attribuable aux organismes déclarés n'ait été signalé chez l'humain, des renseignements de substitution trouvés dans la documentation portant sur

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

d'autres poissons d'ornement semblent indiquer que la transmission d'agents pathogènes humains est possible. Toutefois, de tels cas d'infection sont communs à tous les poissons d'ornement et ne sont pas propres aux barbus tigrés. Les protéines fluorescentes insérées sont utilisées depuis plusieurs années dans d'autres lignées de GloFish^{MD}, et aucun effet nocif sur la santé humaine n'a été signalé. Par conséquent, en combinant à la fois des données empiriques sur les organismes déclarés, des données de substitution tirées de la littérature scientifique sur d'autres poissons d'ornement d'aquarium, et l'absence d'effets nocifs corroborée par l'historique d'utilisation sans danger pour d'autres lignées de GloFish^{MD}, les risques indirects pour la santé humaine des lignées GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 sont évalués comme étant **faibles** avec une **faible incertitude**. Bien qu'il existe une possibilité théorique que des mutations imprévues découlant de l'utilisation de la technologie CRISPR/Cas9 puissent produire des effets inconnus, comme des protéines altérées présentant une allergénicité accrue, cela n'a pas été observé dans d'autres modèles. Par conséquent, on ne s'attend pas à ce que cette possibilité modifie la cote de danger. Elle augmente l'incertitude, mais pas suffisamment pour que la cote dépasse le niveau faible. On considère qu'il existe une faible incertitude parce qu'une grande partie des renseignements relatifs aux effets sur la santé humaine proviennent de rapports portant sur d'autres poissons d'ornement, qu'il existe un historique limité d'utilisation sans danger pour deux de ces lignées déclarées (OB2019 et PB2019), et qu'aucune étude portant expressément sur les effets potentiels du poisson d'ornement transgénique fluorescent sur la santé humaine n'a été réalisée.

Évaluation des risques indirects pour la santé humaine

Dans cette évaluation, le risque est caractérisé selon un paradigme : Risque \propto Danger \times Exposition. Les deux composantes (« danger » et « exposition ») sont considérées comme faisant partie intégrante de la définition de « toxique » au sens de l'article 64 de la LCPE 1999 et, par conséquent, il n'y a pas de risque en l'absence de l'une ou l'autre. La conclusion de l'évaluation du risque s'appuie sur le danger, et sur ce que nous pouvons prévoir à propos de l'exposition à partir de l'utilisation déclarée.

Utilisation déclarée

Bien qu'il existe des cas rapportés d'infections zoonotiques attribuables à une exposition à des poissons d'aquarium, les barbus tigrés de type sauvage sont populaires dans les aquariums domestiques et ont un long historique d'utilisation sûre, puisqu'ils sont vendus comme poissons d'aquarium depuis les années 1950 (Innes 1950). Les quatre lignées déclarées ont fait l'objet de décisions de la Food and Drug Administration des États-Unis (USFDA) en 2011 (GB2011), en 2016 (RB2015) et en 2020 (OB2019, PB2019) relativement au pouvoir discrétionnaire d'application, et la lignée GB2011 est disponible dans le commerce aux États-Unis depuis le début de 2012. Les protéines fluorescentes utilisées dans les quatre lignées déclarées ont été utilisées dans d'autres lignées GloFish^{MD} désormais disponibles dans le commerce au Canada. D'une manière générale, aucun cas d'infection associé aux barbus tigrés de type sauvage n'a été signalé; les gènes de protéine fluorescente insérés ou les méthodes utilisées pour modifier les lignées déclarées permettent de conclure que les lignées déclarées ne présentent pas un potentiel pathogène ou toxique pour l'homme.

Au vu du potentiel de danger faible et du potentiel d'exposition faible à modéré, les risques pour la santé humaine liés à l'utilisation des barbus GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 en tant que poisson d'ornement dans des aquariums sont considérés comme faibles.

Autres utilisations potentielles

D'autres utilisations ont été répertoriées, notamment l'utilisation des organismes déclarés pour la lutte contre les moustiques et à des fins de recherche. Peu importe l'utilisation, les renseignements disponibles n'indiquent pas de répercussions possibles sur la santé humaine. Aucun risque supplémentaire pour la santé humaine n'est prévu autre que ceux auxquels on s'attend chez d'autres poissons d'aquarium communs.

Conclusion de l'évaluation des risques

Aucune preuve ne semble indiquer qu'il existe un risque d'effets nocifs sur la santé humaine aux degrés d'exposition prévus pour la population canadienne découlant de l'utilisation des barbus GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 comme poissons d'ornement d'aquarium ou de toute autre utilisation possible. Selon toute vraisemblance, le risque pour la santé humaine associé à l'utilisation des barbus GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 ne répond pas aux critères énoncés à l'alinéa 64c) de la LCPE 1999. Aucune autre mesure n'est recommandée.

La conclusion de faibles risques indirects pour la santé humaine (y compris les classements de l'exposition, du danger et des incertitudes pertinentes) concorde avec les conclusions de faibles risques indirects pour la santé humaine formulées pour les lignées de tétras (MPO 2018, 2019), de poissons-zèbres (MPO 2020a, 2020b) et de combattants (MPO 2021) GloFish^{MD} déclarées antérieurement.

SOURCES D'INCERTITUDE

Les sources d'incertitude liées aux évaluations de l'exposition environnementale et du danger qui peuvent influencer sur la cote d'incertitude dans l'évaluation du risque comprennent le manque de données traitant directement des dangers des organismes déclarés, la variabilité des données provenant des organismes substitués, et le recours à l'opinion d'experts pour certaines composantes (p. ex. les répercussions en tant que vecteur des agents pathogènes).

Les sources d'incertitude dans les évaluations des risques indirects et du danger pour la santé humaine qui peuvent influencer sur l'incertitude dans l'évaluation des risques comprennent les renseignements limités sur les scénarios d'exposition sur le marché canadien, le recours aux rapports sur les substitués et le manque de données directes sur les dangers propres au GB2011, au RB2015, à l'OB2019 et au PB2019.

Dans les deux évaluations, les effets involontaires potentiels de l'utilisation de la technologie CRISPR/Cas9 lors de la création des lignées augmentent l'incertitude dans les évaluations du danger sans modifier les classements globaux ni avoir de répercussions sur le niveau d'incertitude concernant les évaluations de l'exposition. Actuellement, aucune donnée d'étude n'existe concernant les effets hors cible ou les effets sur la région cible, dans d'autres modèles utilisant la technologie CRISPR, indiquant que le classement final des risques serait supérieur à faible. Dans l'ensemble, bien que les sources et les niveaux d'incertitude varient en fonction des classements du danger ou de l'exposition, les niveaux d'incertitude indiqués ne devraient pas avoir de répercussion sur les conclusions générales de l'évaluation des risques.

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

CONCLUSIONS ET AVIS

L'utilisation des barbus GloFish^{MD} dans les aquariums domestiques devrait entraîner des rejets répétés, mais de très faible ampleur, dans l'environnement canadien. Cependant, les données dont on dispose indiquent que les barbus GloFish^{MD} n'ont pas la capacité de passer l'hiver dans la plupart des écosystèmes d'eau douce canadiens. L'exposition environnementale est donc jugée faible, avec une incertitude faible. L'absence de preuves sur les dangers associés aux *P. tetrazona* non transgéniques, malgré leur utilisation prolongée à long terme, de même que le manque de données probantes sur l'augmentation des dangers posés par les barbus GloFish^{MD} par rapport aux poissons non transgéniques, indiquent des classements du danger des barbus GloFish^{MD} allant de négligeable à faible dans les environnements canadiens, avec une incertitude allant de négligeable à modérée. Dans l'ensemble, le risque global pour l'environnement canadien posé par les barbus GB2011, RB2015, OB2019 et PB2019 est faible, et l'on ne s'attend pas à ce que les organismes déclarés causent des effets nocifs dans les environnements canadiens au seuil d'exposition évalué.

L'utilisation de barbus GloFish^{MD} dans les aquariums domestiques devrait entraîner une exposition humaine faible à modérée, avec une incertitude modérée, principalement lors de l'entretien des réservoirs par les personnes qui s'occupent des poissons. Les risques indirects posés par les barbus GloFish^{MD} pour la santé humaine sont classés comme faibles (avec une faible incertitude), en raison de l'absence de pathogénicité, d'allergénicité ou de toxicité associée à la modification génétique, et de l'historique d'utilisation sans danger des lignées GloFish^{MD} disponibles dans le commerce et des espèces comparables non transgéniques. Dans l'ensemble, les preuves disponibles ne semblent pas indiquer un risque d'effets nocifs indirects sur la santé humaine pour l'ensemble de la population canadienne aux seuils d'exposition prévus découlant de l'utilisation des barbus GloFish^{MD} comme poissons d'ornement d'aquarium ou d'autres utilisations possibles déterminées.

L'importation des barbus GloFish^{MD} au Canada, dans le commerce de poissons d'ornement destinés aux aquariums domestiques, devrait représenter de faibles risques pour l'environnement et de faibles risques indirects pour la santé humaine au Canada. Alors que le niveau d'incertitude associé à certains classements de l'exposition et des dangers est modéré en raison du caractère limité ou inexistant de données directes à propos des organismes déclarés, aucune preuve ne semblait indiquer que les barbus GloFish^{MD}, dans le cadre de l'utilisation proposée ou d'autres utilisations potentielles, pouvaient nuire aux populations et à l'environnement canadiens en cas d'exposition. Bien que les données limitées actuelles suggèrent la possibilité de mutations involontaires liées à l'utilisation de la technologie CRISPR/Cas9, cela ne devrait pas modifier l'évaluation des risques. Toutefois, les conclusions formulées devraient être réévaluées au fur et à mesure de l'évolution des publications scientifiques sur cette question. Les conclusions de faibles risques pour l'environnement et de faibles risques indirects pour la santé humaine et l'environnement provenant des organismes déclarés sont conformes aux conclusions de toutes les lignées GloFish^{MD} déclarées antérieurement en vertu de la LCPE.

AUTRES CONSIDÉRATIONS

L'incidence des changements climatiques sur les conclusions de l'évaluation des risques a été prise en compte, mais n'a pas été entièrement évaluée. Les changements climatiques devraient

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

entraîner une augmentation de la température moyenne de l'eau de 1,5 à 4,0 °C au cours des 50 prochaines années (MPO 2013), mais seront peu susceptibles d'avoir une incidence sur la possibilité que les barbus GloFish^{MD} passent l'hiver au Canada. Dans la majorité des écosystèmes d'eau douce qui gèlent l'hiver, les températures devraient atteindre 4 °C ou moins à un moment donné au cours de l'hiver, ce qui empêcherait les barbus GloFish^{MD} de survivre toute l'année. L'augmentation des températures de l'eau en hiver dans les quelques lacs isolés où la couverture de glace est rare dans le sud-ouest de la Colombie-Britannique ne devrait pas accroître la possibilité de survie en hiver des barbus GloFish^{MD}.

L'utilisation de certains éléments dans les constructions de toutes les lignées GloFish^{MD} déclarées pourrait avoir des conséquences réglementaires pour l'Agence canadienne d'inspection des aliments, mais ne devrait pas avoir de conséquences sur les risques environnementaux ou les risques indirects pour la santé humaine.

L'évaluation actuelle met en évidence certaines des inconnues concernant les effets pertinents en termes de risque des mutations hors cible ou sur cible découlant de l'utilisation des technologies d'édition génomiques (p. ex. CRISPR) pour produire des poissons génétiquement modifiés. Des études sont requises dans ce domaine, en particulier pour les espèces indigènes ou de milieux tempérés modifiées par CRISPR, afin de mieux évaluer les risques pour l'environnement canadien et les risques indirects pour la santé humaine associés aux organismes produits à l'aide de cette technologie.

LISTE DES PARTICIPANTS DE LA RÉUNION

| Nom | Affiliation |
|----------------------------|---|
| Ali, Kassim | Santé Canada |
| Anoop, Valar | Santé Canada |
| Baillie, Shauna (Co-chair) | Pêches et Océans Canada |
| Dietrich, Charise | Pêches et Océans Canada |
| Dugan, Stephen | Santé Canada |
| Ghalami, Ayoob | University of Toronto |
| Hanwell, David | University of Toronto |
| Leggatt, Rosalind | Pêches et Océans Canada |
| Leung, Walter | Environnement et Changement climatique Canada |
| Lortie, Michel | Environnement et Changement climatique Canada |
| McGowan, Colin | Pêches et Océans Canada |
| McKay, Stephanie | University of Waterloo |
| Olivier, Gilles (Co-chair) | Pêches et Océans Canada |
| Parsons, Jay | Pêches et Océans Canada |

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* *glofish*^{MD}, *starfire red*^{MD}, *electric green*^{MD}, *sunburst orange*^{MD} et *galactic purple*^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

| Nom | Affiliation |
|-------------------|---|
| Sabourin, Melanie | Environnement et Changement climatique Canada |
| Siboo, Ian | Environnement et Changement climatique Canada |
| Wellband, Kyle | Pêches et Océans Canada |
| Zeidan, Noor | Environnement et Changement climatique Canada |

SOURCES DE RENSEIGNEMENTS

Le présent avis scientifique découle de la réunion sur les avis scientifiques national du 13 au 14 avril 2022 sur l'Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les poissons barbeau *GloFish*^{MD}, *Starfire Red*^{MD}, *Electric Green*^{MD}, *Sunburst Orange*^{MD}, et *Galactic Purple*^{MD} : poissons d'ornements transgéniques. Toute autre publication découlant de cette réunion sera publiée, lorsqu'elle sera disponible, sur le [calendrier des avis scientifiques de Pêches et Océans Canada \(MPO\)](#).

- Baens, J., Noels, H., Broeckx, V., Hagen, S., Fevery, S., Biliau, A.D., Vankelecom, H., and Marynen, P. 2006. The dark side of EGFP: Defective polyubiquitination. *PLoS ONE* 1(1): e54. doi:10.1371/journal.pone.0000054.
- Barik, M., Bhattacharjee, I., Ghosh, A., and Chandra, G. 2018. Larvivorous potentiality of *Puntius tetrazona* and *Hyphessobrycon rosaceus* against *Culex vishnui* subgroup in laboratory and field based bioassay. *BMC Res Notes* 11(1): 804.
- BCLSS. 2021. [Osoyoos Lake 2005-2020](#). British Columbia Lake Stewardship Society, Kelowna, BC, Kelowna, BC. p. 4. [Accessed 4/27/2022].
- Chou, C.J., Peng, S.Y., Wan, C.H., Chen, S.F., Cheng, W.T.K., Lin, K.Y., and Wu, S.C. 2015. Establishment of a DsRed-monomer-harboring ICR transgenic mouse model and effects of the transgene on tissue development. *Chinese J. Physiol.* 58(1): 27-37.
- Copp, G.H., Garthwaite, R., and Gozlan, R.E. 2005. Risk identification and assessment of non-native freshwater fishes: concepts and perspectives on protocols for the UK. *Sci. Ser. Tech Rep.*, Cefas Lowestoft, 129: 32pp.
- Coumans, J.V.F., Gau, D., Polijak, A., Wasinger, V., Roy, P., and Moens, P.R. 2014. Green fluorescent protein expression triggers proteome changes in breast cancer cells. *Exp. Cell Res.* 320: 33-45.
- Dill, W.A., and Cordone, A.J. 1997. History and status of introduced fishes in California, 1871-1996. *Fish Bulletin* 178.
- Duggan, I. C., Rixon, C. A., and MacIsaac, H. J. 2006. Popularity and propagule pressure: determinants of introduction and establishment of aquarium fish. *Biol. Invasions.* 8(2): 377-382.

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbues *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

- Froese, R., and Pauly, D. 2019. Species Details: *Puntigrus tetrazona* (Bleeker, 1855). Edited by Y. Roskov and G. Ower and T. Orrell and D. Nicolson and N. Bailly and P.M. Kirk and T. Bourgoïn and R.E. DeWalt and W. Decock and E.v. Nieuwerkerken and J. Zarucchi and L. Penev. Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 2019 Annual Checklist, Leiden, the Netherlands.
- Gertzen, E., Familiar, O., and Leung, B. 2008. Quantifying invasion pathways: fish introductions from the aquarium trade. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 65(7):1265-1273.
- Graham, L.A., and Davies, P.L. (2021) Horizontal Gene Transfer in Vertebrates: A Fishy Tale. *TIGS* 37(6):501-503.
- Hayden, B., Pulcini, D., Kelly-Quinn, M., O'grady, M., Caffrey, J., McGrath, A., and Mariani, S. 2010. [Hybridisation between two cyprinid fishes in a novel habitat: genetics, morphology and life-history traits](#). *BMC Evol. Biol.*10: 169.
- Hill, J.E., Lawson Jr., L.L., and Hardin, S. 2014. Assessment of the risks of transgenic fluorescent ornamental fishes to the United States using the Fish Invasiveness Screening Kit (FISK). *Trans. Am. Fish. Soc.* 143(3): 817-829.
- Innes, W.T. 1979. Exotic aquarium fishes. a work of general reference. 20th ed. Metaframe Corporation, Philadelphia, USA.
- Innes, W.T. 1950. Exotic Aquarium Fishes: A work of general reference. Philadelphia: Innes Publishing Company.
- Kirschbaum, F., Nguyen, L., Baumgartner, S., Chi, H.W.L., Wolfart, R., Elarbani, K., Eppenstein, H., Korniienko, Y., Guido-Böhm, L., Mamonekene, V., Vater, M., and Tiedemann, R. 2016. Intra-genus (*Campylomormyrus*) and inter-genus hybrids in mormyrid fish: Physiological and histological investigations of the electric organ ontogeny. *J. Physiol. (Paris)* 110: 281-301.
- Koelsch, K.A., Wang, Y., Maier-Moore, J.S., Sawalha, A.H., and Wren, J.D. 2013. GFP affects human T cell activation and cytokine production following *in vitro* stimulation. *PLoS ONE* 8(4): e50068. doi:10.1371/journal.pone.0050068.
- Kortmulder, K. 1972. A comparative study in colour patterns and behaviour in seven asiatic barbus species (*Cyprinidaw*, *Ostariophysis*, *Osteichthyes*): a progress report. Behaviour. E. J. Brill, Leiden, Netherlands.
- Kortmulder, K. 1982. Etho-ecology of seventeen Barbus species (*Pisces*; *Cyprinidae*). *Neth. J. Zool.* 32(2): 144-168. doi:10.1163/002829682X00111.
- Kottelat, M. 2013. The fishes of the inland waters of Southeast Asia: a catalogue and core bibliography of the fishes known to occur in freshwaters, mangroves and estuaries. *Raff. Bull. Zool.* 27: 1-663.
- Lawson, L.L., Hill, J.E., Hardin, S., Vilizzi, L., and Copp, G.H. 2015. Evaluation of the Fish Invasiveness Screening Kit (FISK v2) for Peninsular Florida. *Manage. Biol. Invasions.* 6(4):413-422.
- Leggatt, R.A., Dhillon, R.S., Mimeault, C., Johnson, N., Richards, J.G., and Devlin, R.H. 2018. Low-temperature tolerances of tropical fish with potential transgenic applications in relation to winter water temperatures in Canada. *Can. J. Zool.* 96(3): 253-260.

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

- Li, H., Wei, H., Wang, Y., Tang, H., and Wang, Y. 2013. Enhanced green fluorescent protein transgenic expression *in vivo* is not biologically inert. *J. Proteome Res.* 12(8): 3801-3808. doi:10.1021/pr400567g.
- Liu, L., Zhang, R., Wang, X. Zhu, H., Tian, Z. 2020. Transcriptome analysis reveals molecular mechanisms responsive to acute cold stress in the tropical stenothermal fish tiger barb (*Puntius tetrazona*). *BMC Genomics* 21: 737.
- Mak, G.W.-Y., Wong, C.-H., and Tsui, S.K.-W. 2007. Green fluorescent protein induces the secretion of inflammatory cytokine interleukin-6 in muscle cells. *Anal. Biochem.* 362: 296-298.
- Marson, D., Cudmore, B., Drake, D.A.R., and Mandrak, N.E. 2009. Summary of a survey of aquarium owners in Canada. *Can. Manuscr. Rep. Fish. Aquat. Sci.* 2905: iv + 20 p.
- Merzlyak, E.M., Goedhart, J., Shcherbo, D., Bulina, M.E., Shcheglov, A.S., Fradkov, A.F., Gaintzeva, A., Lukyanov, K.A., Lukyanov, S., Gadella, T.W.J., and Chudakov, D.M. 2007. Bright monomeric red fluorescent protein with an extended fluorescence lifetime. *Nat. Methods.* 4(7): 555-557. doi:10.1038/nmeth1062.
- Mills, D., and Vevers, G. 1989. *The Tetra Encyclopedia of Tropical Aquarium Fishes*. Tetra Press, London. p. 208.
- MPO. 2013. [Évaluation fondée sur les risques des impacts et des menaces que les changements climatiques présentent pour l'infrastructure et les systèmes biologiques qui relèvent du mandat de Pêches et Océans Canada – Grand bassin aquatique d'eau douce](#). Secr. can. de consult. sci. du MPO, Rép. des Sci. 2013/011.
- MPO. 2018. [Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine du tétra Glofish^{MD} Electric Green^{MD} et du tétra à longues nageoires Glofish^{MD} Electric Green^{MD} \(*Gymnocorymbus ternetzi*\) : un poisson d'ornement transgénique](#). Secr. can. de consult. sci. du MPO. Avis sci. 2018/027.
- MPO. 2019. [Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les tétras glofish^{MD} \(*gymnocorymbus ternetzi*\) : cinq lignées de poissons d'ornement transgéniques](#). Secr. can. de consult. sci. du MPO, Avis sci. 2019/002.
- MPO. 2020a. [Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par le danio \(*danio rerio*\) Glofish^{MD} sunburst orange^{MD} : un poisson d'ornement transgénique](#). Secr. can. de consult. sci. du MPO. Avis sci. 2020/015.
- MPO. 2019. [Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par le danio \(*Danio rerio*\) Glofish^{MD} Cosmic Blue^{MD} et Galactic Purple^{MD} : poissons d'ornement transgéniques](#). Secr. can. de consult. sci. du MPO, Avis sci. 2020/016.
- MPO. 2021. [Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine des bettas GloFish^{MD} : trois lignées de poissons ornementaux transgéniques](#). Secr. can. des avis sci. du MPO. Avis sci. 2021/046.
- Nico, L., Fuller, P., Neilson, M., and Loftus, B. 2019. [Puntigrus tetrazona](#) (Bleeker, 1855): U.S. Geological Survey, Nonindigenous Aquatic Species Database. [Accessed 7/16/2019].

- Perdikaris, C., Koutsikos, N., Vardakas, L., Kommatas, D., Simonović, P., Paschos, I., Detsis, V., Vilizzi, L., and Copp, G.H. 2016. Risk screening of non-native, translocated and traded aquarium freshwater fishes in Greece using Fish Invasiveness Screening Kit. *Fish. Manage. Ecol.* 23(1): 32-43. doi:10.1111/fme.12149.
- Perrin, T. 2009. The business of urban animals survey: the facts and statistics on companion animals in Canada. *Canadian Vet. J.* 50(1):48.
- Range, I.L. 2013. Applicability of Fish Risk Assessment (FISK) to Ornamental Species. Departamento de Biologia Animal, Universidade de Lisboa, Lisbon, Portugal.
- Sakurai, A., Sakamoto, Y., and Mori, F. 1993. *Aquarium Fish of the World: the Comprehensive Guide to 650 Species*. Chronicle Books, San Francisco.
- Tamaru, C.S., Cole, B., Bailey, R., and Brown, C. 1998. [A manual for commercial production of the tiger barb, *Capoeta tetrazona*, a temporary paired tank spawner](#). Center for Tropical and Subtropical Aquaculture. Publication Number 129. [Accessed 4/27/2022].
- Tuckett, Q.M., Ritch, J.L., Lawson, K.M., Lawson, L.L., and Hill, J.E. 2016. Variation in cold tolerance in escaped and farmed non-native green swordtails (*Xiphophorus hellerii*) revealed by laboratory trials and field introductions. *Biol. Invasions.* 18: 45-56.
- Vajargah, M.F., and Rezaei, H. 2015. Acute toxicity of trichlorophon on two ornamental fish: tiger barb (*Systemus tetrazona*) and glowlight tetra (*Hemigrammus erythrozonus*). *J. Coast. Life Med.* 3(2): 109-112. doi:10.12980/jclm.3.2015jclm-2014-0062.
- Yanar, M., Erdoğan, E., and Kumlu, M. 2019. Thermal tolerance of thirteen popular ornamental fish Species. *Aquaculture.* 501: 382-386. doi:10.1016/j.aquaculture.2018.11.041.

ANNEXE : CONSIDÉRATIONS RELATIVES AU CLASSEMENT DE L'EXPOSITION ET DU DANGER

Tableau A1. Classement de la probabilité d'exposition de l'environnement canadien à des poissons génétiquement modifiés.

| Classement de l'exposition | Évaluation |
|----------------------------|--|
| Négligeable | Aucune présence, aucune observation dans l'environnement canadien ¹ |
| Faible | Présence rare, isolée ou éphémère |
| Modérée | Présence fréquente, mais seulement à certaines périodes de l'année ou dans des régions isolées |
| Élevée | Présence fréquente tout au long de l'année et dans des régions diffuses |

¹Extrêmement improbable ou imprévisible

Tableau A2. Classement de l'incertitude associée à la probabilité de la présence de l'organisme et à son devenir dans l'environnement canadien (exposition de l'environnement).

| Classement de l'incertitude | Renseignements disponibles |
|-----------------------------|---|
| Négligeable | Données de grande qualité sur l'organisme (p. ex. stérilité, tolérance aux températures, valeur adaptative). Données sur les paramètres environnementaux du milieu récepteur et au point d'entrée. Preuve de l'absence d'interactions des géotypes selon l'environnement (G x E) ou parfaite compréhension de ces dernières dans les différentes conditions environnementales pertinentes. Signes d'une faible variabilité. |
| Faible | Données de grande qualité sur des organismes proches ou des substituts valides. Données relatives aux paramètres environnementaux du milieu récepteur. Compréhension des effets possibles des interactions G x E dans les conditions environnementales pertinentes. Signes de variabilité. |
| Modérée | Données limitées sur l'organisme, les organismes proches ou les substituts valides. Données limitées sur les paramètres environnementaux du milieu récepteur. Lacunes dans les connaissances. Dépendance à l'égard de l'historique d'utilisation ou l'expérience avec des populations dans d'autres zones géographiques dont les conditions environnementales sont semblables à celles du Canada ou meilleures. |
| Élevée | Importantes lacunes dans les connaissances. Dépendance importante à l'égard de l'opinion des experts. |

Tableau A3. Classement du danger pour l'environnement découlant de l'exposition à l'organisme.

| Classement du danger | Évaluation |
|----------------------|--------------------------------|
| Négligeable | Aucun effet ¹ |
| Faible | Aucun effet nocif ² |
| Modéré | Effets nocifs réversibles |
| Élevé | Effets nocifs irréversibles |

¹Aucune réponse biologique (au-delà de la variabilité naturelle) n'est attendue.

²Effet nocif : effet négatif immédiat ou à long terme sur la structure ou la fonction de l'écosystème, y compris la diversité biologique (au-delà de la variabilité naturelle).

Tableau A4. Classement de l'incertitude associée au danger pour l'environnement.

| Classement de l'incertitude | Renseignements disponibles |
|-----------------------------|---|
| Négligeable | Données de grande qualité sur l'organisme déclaré. Preuve de l'absence d'effets des interactions G x E ou parfaite compréhension de ces derniers dans les différentes conditions environnementales pertinentes. Signes d'une faible variabilité. |
| Faible | Données de grande qualité sur des organismes apparentés ou des substituts valides de l'organisme déclaré. Compréhension des effets des interactions G x E dans les conditions environnementales pertinentes. Une certaine variabilité. |
| Modérée | Données limitées sur l'organisme déclaré, ou sur des organismes apparentés ou des substituts valides de celui-ci. Compréhension limitée des effets des interactions G x E dans les différentes conditions environnementales pertinentes. Lacunes dans les connaissances. Dépendance à l'égard de l'opinion des experts. |
| Élevée | Importantes lacunes dans les connaissances. Dépendance importante à l'égard de l'opinion des experts. |

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Région de la capitale nationale

Tableau A5. Considérations relatives à l'exposition (risques indirects pour la santé humaine).

| Classement de l'exposition | Considérations |
|----------------------------|---|
| Élevée | <ul style="list-style-type: none"> • La quantité rejetée, la durée des rejets ou la fréquence des rejets sont élevées. • L'organisme est susceptible de survivre, de persister, de se disperser, de proliférer et de s'établir dans l'environnement. • La dispersion ou le transport de l'organisme vers d'autres compartiments environnementaux sont probables. • La nature du rejet rend vraisemblable le fait que des populations ou des écosystèmes vulnérables seront exposés ou que les rejets s'étendront au-delà d'une région ou d'un seul écosystème. • Chez l'humain exposé, les voies d'exposition permettraient la présence d'effets toxiques, d'effets zoonotiques ou d'autres effets nocifs. |
| Moyenne | <ul style="list-style-type: none"> • L'organisme est rejeté dans l'environnement, mais la quantité rejetée, la durée du rejet ou la fréquence du rejet sont modérées. • L'organisme peut persister dans l'environnement, mais en petits nombres. • Le potentiel de dispersion ou de transport de l'organisme est limité. • Du fait de la nature du rejet, certaines populations vulnérables peuvent y être exposées. • Chez l'humain exposé, les voies d'exposition ne devraient pas favoriser la présence d'effets toxiques, d'effets zoonotiques ou d'autres effets nocifs. |
| Faible | <ul style="list-style-type: none"> • L'organisme est utilisé en milieu confiné (aucun rejet intentionnel). • La nature du rejet ou de la biologie de l'organisme devrait permettre de contenir l'organisme de sorte que les populations ou les écosystèmes vulnérables ne seront pas exposés. • Les organismes sont rejetés en faibles quantités, les rejets sont de courte durée et peu fréquents, et les organismes ne devraient pas survivre, persister, se disperser ou proliférer dans l'environnement dans lequel ils sont rejetés. |

Région de la capitale nationale

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus puntigrus tetrazona glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Tableau A6. Classement de l'incertitude associée aux risques indirects de l'exposition pour la santé.

| Classement de l'incertitude | Renseignements disponibles |
|-----------------------------|--|
| Négligeable | Grande qualité des données sur l'organisme, les sources d'exposition humaine et les facteurs ayant une incidence sur l'exposition humaine à l'organisme. Signes d'une faible variabilité. |
| Faible | Grande qualité des données sur des organismes proches ou des substituts valides, les sources d'exposition humaine et les facteurs ayant une incidence sur l'exposition humaine à l'organisme ou à des substituts valides. Signes de variabilité. |
| Modérée | Données limitées sur l'organisme, des organismes proches ou des substituts valides, les sources d'exposition humaine et les facteurs ayant une incidence sur l'exposition humaine à l'organisme. |
| Élevée | Importantes lacunes dans les connaissances. Dépendance importante à l'égard de l'opinion des experts. |

Tableau A7. Considérations relatives à la gravité des dangers (risques indirects pour la santé humaine).

| Classement du danger | Considérations |
|----------------------|---|
| Élevé | <ul style="list-style-type: none">• Les effets chez l'humain en bonne santé sont graves, durent longtemps ou provoquent des séquelles ou la mort.• Les traitements prophylactiques n'existent pas ou ne présentent que peu de bienfaits.• Risque élevé d'effets à l'échelle communautaire. |
| Moyen | <ul style="list-style-type: none">• Les effets indirects sur la santé humaine devraient être modérés, mais rapidement résolus chez les personnes en bonne santé, que ce soit spontanément ou grâce à des traitements prophylactiques efficaces disponibles.• Risque possible d'effets à l'échelle communautaire. |
| Faible | <ul style="list-style-type: none">• Aucun effet indirect sur la santé humaine ou effets légers, asymptomatiques ou bénins chez des personnes en bonne santé.• Il existe des traitements prophylactiques efficaces.• Aucun risque d'effets à l'échelle communautaire. |

Région de la capitale nationale

Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *puntigrus tetrazona* ^{MD}, *starfire red* ^{MD}, *electric green* ^{MD}, *sunburst orange* ^{MD} et *galactic purple* ^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques

Tableau A8. Classement de l'incertitude liée aux dangers indirects pour la santé humaine.

| Classement de l'incertitude | Description |
|-----------------------------|--|
| Négligeable | Il existe de nombreux signalements d'effets indirects sur la santé humaine liés au danger, et la nature et la gravité des effets signalés sont cohérentes (c.-à-d. faible variabilité); OU Le potentiel d'effets indirects sur la santé humaine chez les personnes exposées à l'organisme a fait l'objet d'une surveillance et aucun effet n'a été signalé. |
| Faible | Il existe quelques signalements d'effets indirects sur la santé humaine liés au danger, et la nature et la gravité des effets signalés sont relativement cohérentes; OU Aucun effet indirect sur la santé humaine n'a été signalé et aucun effet lié au danger n'a été signalé chez d'autres mammifères. |
| Modérée | Il existe quelques signalements d'effets indirects sur la santé humaine qui peuvent être liés au danger, mais la nature et la gravité des effets signalés sont incohérentes; OU Des effets liés au danger ont été signalés chez d'autres mammifères, mais pas chez les êtres humains. |
| Élevée | Il existe des lacunes importantes dans les connaissances (p. ex. quelques signalements d'effets chez des personnes exposées à l'organisme, mais ces effets n'ont pas été attribués à l'organisme). |

Région de la capitale
nationale

**Évaluation des risques pour l'environnement et des risques
indirects pour la santé humaine posés par les barbus
puntigrus tetrazona glofish^{MD}, starfire red^{MD}, electric
green^{MD}, sunburst orange^{MD} et galactic purple^{MD} : des
poissons d'ornement transgéniques**

CE RAPPORT EST DISPONIBLE AUPRÈS DU :

Centre des avis scientifiques (CAS)
Région de la capitale nationale
Pêches et Océans Canada
200 Kent Street, Ottawa, ON K1A 0E6

Courriel : csas-sccs@dfo-mpo.gc.ca
Adresse Internet : www.dfo-mpo.gc.ca/csas-sccs/

ISSN 1919-5117

ISBN 978-0-660-68299-0 N° cat. Fs70-6/2023-043F-PDF

© Sa Majesté le Roi du chef du Canada, représenté par le ministre du
ministère des Pêches et des Océans, 2023



La présente publication doit être citée comme suit :

MPO. 2023. Évaluation des risques pour l'environnement et des risques indirects pour la santé humaine posés par les barbus *Puntigrus tetrazona* Glofish^{MD}, Starfire Red^{MD}, Electric Green^{MD}, Sunburst Orange^{MD} et Galactic Purple^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques. Secr. can. des avis sci. du MPO. Avis sci. 2023/043.

Also available in English:

DFO. 2023. *Environmental and Indirect Human Health Risk Assessment of GloFish® Starfire Red®, Electric Green®, Sunburst Orange®, and Galactic Purple® Barbs (Puntigrus tetrazona): Transgenic Ornamental Fish. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Sci. Advis. Rep. 2023/043.*