

Substances nouvelles : résumé de l'évaluation des risques, déclarations de substances nouvelles nos 21737, 21738, 21739 et 21740

Titre officiel : Substances nouvelles: résumé de l'évaluation des risques, déclarations de substances nouvelles nos 21737, 21738, 21739 et 21740 – Annexe 2 du *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)*, [RRSN (organismes)]

Organismes déclarés:

- *E. coli* BL21 Δ rhaB M1RI_pLMAR (DSN-21737)
- *E. coli* BL21 Δ rhaB A1RI_pLMAR (DSN-21738)
- *E. coli* BL21 Δ rhaB M2RI_pLMAR (DSN-21739)
- *E. coli* BL21 Δ rhaB LacZ::Taq (DSN-21740)

Annexe du RRSN(organismes) : Annexe 2 - Renseignements exigés à l'égard des micro-organismes fabriqués ou importés dans une installation étanche qui ne sont pas destinés à être introduits à l'extérieur de l'installation étanche ou qui sont destinés uniquement à l'exportation

Type d'organismes : bactéries

Utilisation : fabrication des organismes déclarés destinés à la production de protéines recombinantes, à savoir des inhibiteurs de ribonucléase (RI) et une protéine ADN polymérase, Taq, destinés à être utilisés dans des applications de diagnostic moléculaire et de recherche

Quantité anticipée : environ 7,5 kg de chacun des trois premiers organismes déclarés devraient être fabriqués sur une période de 12 mois, ce qui permettra de produire au maximum 10 g de chaque RI modifié par an. Environ 15 kg du quatrième organisme déclaré devraient être fabriqués sur une période de 12 mois, ce qui permettra de produire au maximum 24 g de l'ADN polymérase modifiée par an.

Évaluation du degré de préoccupation:

- Danger pour la santé humaine: faible
- Exposition humaine: faible
- Danger pour l'environnement: faible
- Exposition environnementale: faible

Conclusion de l'évaluation (en vertu de l'article 64 de la LCPE) : risque faible, toxicité non soupçonnée

Catégorie : non admissible à la Liste intérieure

Mesures recommandées: aucune

Dérogation : Une dérogation à l'obligation de soumettre les données des essais de sensibilité aux antibiotiques en vertu de l'alinéa 4b) de l'annexe 2 du *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles* (organismes) a été accordée en vertu de l'alinéa 106(8)a) de la LCPE étant donné que *E. coli* BL21, l'ancêtre des organismes déclarés, est une souche courante en laboratoire qui est utilisée depuis longtemps sans danger dans la production de protéines modifiées. De plus, les matériaux génétiques insérés ou les protéines exprimées dans les souches déclarées ne devraient pas modifier la sensibilité des souches déclarées aux antibiotiques couramment utilisés.

Résumé

Des souches d'*E. coli* génétiquement modifiées ont été déclarées au Programme des substances nouvelles pour la production de protéines recombinantes qui seront utilisées pour détecter le virus responsable de la COVID-19 (SARS-CoV-2), d'autres agents pathogènes ou toute séquence cible d'ADN ou d'acide ribonucléique (ARN) d'intérêt liée à des applications de diagnostic moléculaire ou de recherche.

Il n'existe aucune donnée probante laissant entendre que la fabrication ou l'utilisation de ces organismes déclarés pourrait entraîner des risques de causer des effets nocifs pour l'environnement et la santé humaine aux niveaux d'exposition prévus pour l'environnement et la population générale au Canada.

Il est établi que les organismes déclarés ne sont pas toxiques ou susceptibles de le devenir selon les critères de l'article 64 de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement de 1999* (LCPE), car rien n'indique qu'ils puissent pénétrer dans l'environnement en une quantité ou concentration, ou dans des conditions qui :

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

Aucune mesure de gestion des risques n'est recommandée.

Renseignements généraux

Les organismes déclarés sont des bactéries *E. coli* génétiquement modifiées. Elles ont été modifiées à l'aide de plasmides d'expression codant pour les protéines d'intérêt, à savoir les inhibiteurs de ribonucléase recombinants (RI) et une protéine ADN polymérase, Taq.

Les protéines obtenues seront purifiées et utilisées à des fins de diagnostic moléculaire ou de recherche.

Danger

Le potentiel de danger pour l'environnement et de danger humain de l'organisme déclaré est analysé comme étant faible car:

- 1) Les quatre organismes déclarés sont génétiquement modifiés à partir d'une souche parentale dérivée d'*E. coli* BL21. *E. coli* BL21 est utilisée depuis longtemps en toute sécurité dans des applications industrielles et en laboratoire, notamment pour la production de protéines spécialisées et de médicaments à usage humain, ainsi que dans le cadre de recherches en biologie moléculaire et d'études génétiques menées couramment dans le monde entier. Les seules différences phénotypiques entre les souches déclarées et la souche *E. coli* BL21 sont leur résistance à la kanamycine (utilisée comme marqueur), leur incapacité à utiliser certains sucres comme source de carbone et la production de protéines recombinantes RI ou Taq dans des conditions spécifiques.
- 2) Les quatre organismes déclarés sont génétiquement modifiés par la transformation d'*E. coli* BL21 avec des plasmides pour la production de protéines modifiées, de RI ou d'une ADN polymérase. Les modifications génétiques sont bien définies et les plasmides ne contiennent aucun élément génétique connu pour conférer des propriétés de virulence aux souches déclarées.
- 3) *E. coli* BL21 a perdu tous les gènes de virulence couramment présents dans les souches pathogènes d'*E. coli*, en raison de son niveau élevé de mutation et de sa croissance prolongée dans des conditions de laboratoire. L'analyse de la séquence complète du génome d'*E. coli* BL21 n'a révélé aucun gène de virulence ou de production de toxines. Par conséquent, tout retour à la pathogénicité est improbable.
- 4) *E. coli* BL21 est classée comme agent pathogène pour les humains et les animaux terrestres du groupe de risque (GR) 1¹ par l'Agence de la santé publique du Canada. Elle est considérée comme non pathogène, non infectieuse et non toxique. De plus, elle ne devrait pas survivre dans l'environnement, car cette souche d'*E. coli* a subi diverses manipulations et est désormais beaucoup plus adaptée à l'environnement de laboratoire qu'à l'environnement naturel.
- 5) Aucun test de pathogénicité ou de toxicité n'a été effectué sur les organismes déclarés, car les tests ne sont pas requis pour les notifications en vertu de l'annexe 2 du Règlement sur les organismes génétiquement modifiés. Cependant, ni la présence des plasmides insérés ni la production des protéines RI ou ADN polymérase ne devraient modifier les propriétés d'infectiosité, de pathogénicité, de toxicité, de toxigénicité et de survie d'*E. coli* BL21.
- 6) Aucun rapport ne suggère que *E. coli* BL21 puisse nuire aux plantes aquatiques et terrestres, ni aux vertébrés terrestres. Aucune information n'a été trouvée dans la littérature concernant l'utilisation des souches *E. coli* BL21 sur les invertébrés terrestres, les invertébrés aquatiques et les vertébrés aquatiques. Cependant, aucun effet négatif n'est à prévoir sur ces espèces, car les souches déclarées ne possèdent pas de facteurs virulents ou de pouvoir pathogène.

¹ [Les agents pathogènes RG1](#) présentent un faible risque pour la santé des humains et des animaux, et un risque faible ou nul pour la santé publique et les populations animales. Les agents pathogènes RG1 peuvent nuire aux personnes immunocompromises ou immunodéprimées (par exemple, par traitement médical, grossesse, diabète ou autres affections).

- 7) Aucun test de sensibilité aux antibiotiques n'a été effectué sur les organismes déclarés. Les organismes déclarés sont résistants à l'antibiotique kanamycine en raison de la présence du gène de résistance à la kanamycine (marqueur). Cependant, *E. coli* BL21 est connu pour être sensible à un large éventail d'antibiotiques. Par conséquent, dans le cas improbable d'une infection par les souches déclarées, plusieurs antibiotiques cliniquement pertinents sont disponibles pour traiter l'infection.

Exposition

Le potentiel d'exposition de l'environnement et d'exposition indirecte de l'humain à l'organisme déclaré est analysé comme étant faible car:

- 1) Les souches déclarées seront produites dans deux installations au Canada dans des conditions de confinement qui satisfont aux exigences du niveau de confinement 1 (NC-1) de la Norme canadienne de biosécurité, troisième édition, de l'ASPC. Elles ne seront ni vendues ni distribuées au Canada.
- 2) Les installations de fabrication sont conçues pour empêcher tout rejet des organismes déclarés (p. ex. utilisation d'équipements de traitement, systèmes fermés). Tout le personnel a reçu une formation adéquate et des procédures opérationnelles normalisées sont en place pour faire face à tout déversement accidentel.
- 3) Un maximum de 30 L (7,5 kg) de chacun des trois premiers organismes déclarés sera fabriqué par période de 12 mois. Ils ne produiront pas plus de 10 g par protéine RI par an. Un maximum de 60 L (15 kg) du quatrième organisme déclaré sera fabriqué pour toute période de 12 mois. Il ne produira pas plus de 24 g de la protéine Taq ADN polymérase par an.
- 4) Au cours du processus de fabrication, aucune cellule vivante ne devrait être rejetée dans l'environnement. Des procédures de décontamination et d'élimination des déchets ont été fournies et jugées acceptables par le Programme des substances nouvelles. Le rejet d'organismes vivants et de protéines modifiées provenant de déchets liquides et solides est estimé faible. Les gaz résiduels générés par la fabrication des organismes déclarés devraient être négligeables.
- 5) En cas de perte du confinement permettant la libération des cellules vivantes de souches déclarées dans les eaux usées, l'effet néfaste potentiel sur le milieu aquatique devrait être faible, car la plupart des stations d'épuration des eaux au Canada disposent de la technologie nécessaire pour réduire la concentration d'*E. coli*.
- 6) Les protéines recombinantes seront extraites et la quantité de protéines modifiées atteignant l'environnement aquatique ou terrestre devrait être extrêmement faible.
- 7) La souche parentale ne devrait pas survivre, persister, se disperser ou s'établir dans l'environnement, et les souches déclarées devraient se comporter de manière similaire en cas de rejet accidentel dans l'environnement.
- 8) Si le niveau de confinement diminue pour atteindre celui prévu dans les bonnes pratiques à grande échelle de l'annexe K des lignes directrices du NIH, l'exposition humaine aux souches d'*E. coli* déclarées ou à leurs protéines de production devrait rester minime. Ce niveau de confinement exige que les rejets contenant des organismes modifiés ou synthétiques viables

soient traités conformément à la réglementation environnementale gouvernementale applicable. Dans ce cas, le ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec réglemente les rejets de contaminants, y compris les micro-organismes, dans l'environnement en vertu de la *Loi sur la qualité de l'environnement*.

Caractérisation du risque

En raison du faible potentiel de danger et de la faible exposition potentielle, les risques pour l'environnement et la santé humaine associés à l'utilisation des organismes notifiés pour produire des protéines RI et ADN polymérase sont faibles.

Conclusion de l'évaluation des risques

Il n'existe aucune preuve suggérant un risque d'effets néfastes sur l'environnement et la santé humaine aux niveaux d'exposition prévus pour l'environnement et la population générale résultant de la fabrication des organismes déclarés. Le risque pour l'environnement et la santé humaine associé aux organismes déclarés ne semble pas répondre aux critères énoncés aux alinéas 64 a), b) ou c) de la LCPE. Aucune autre mesure n'est recommandée.