

Maisons-Alfort, le 14 novembre 2008

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de maïs hybride
génétiquement modifié Bt11xMIR604xGA21, résistant à des insectes (lépidoptères
et chrysomèles des racines) et tolérant aux herbicides glufosinate ammonium et
glyphosate, pour l'importation et la transformation de cet OGM ainsi que
l'utilisation en alimentation humaine et animale de ses grains et de produits
dérivés, au titre du règlement (CE) n°1829/2003.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) a été saisie le 2 octobre 2008 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes d'une demande d'avis sur un dossier d'autorisation de mise sur le marché de maïs hybride génétiquement modifié Bt11xMIR604xGA21, résistant à des insectes (lépidoptères et chrysomèles des racines) et tolérant aux herbicides glufosinate ammonium et glyphosate, pour l'importation et la transformation de cet OGM ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de ses grains et de produits dérivés, au titre du règlement (CE) n°1829/2003.

Conformément au Règlement (CE) n°1829/2003, notamment aux articles 6 et 18, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA) est chargée de procéder à l'évaluation des dossiers concernant les denrées alimentaires et les aliments issus de plantes génétiquement modifiés pour animaux, et de rendre un avis à la Commission européenne. L'AESA a cependant décidé de permettre aux Etats-membres de faire connaître leurs observations sur le dossier initial. C'est dans ce cadre que la DGCCRF a sollicité l'avis de l'AFSSA.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé "Biotechnologie", réuni le 10 octobre 2008, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments émet l'avis suivant :

(A) Information générale

Cette demande de mise sur le marché concerne le maïs Bt11xMIR604xGA21 qui comporte les trois événements de transformation Bt11, MIR604 et GA21, l'hybride étant obtenu par croisements conventionnels des lignées de maïs génétiquement modifiées :

- **Bt11** portant le gène codant la protéine Cry1Ab, toxique pour la pyrale (*Ostrinia nubilalis* ou European corn borer) et la sésamie (*Sesamia non agroides* ou Mediterranean Corn Borer) et le gène codant la protéine PAT (phosphinothricine acétyl transférase) qui confère la tolérance à l'herbicide glufosinate ammonium.
- **MIR604** portant le gène codant une protéine Cry3A, toxique pour les chrysomèles des racines (coléoptères *Diabrotica*) et le gène marqueur codant une phospho-mannose isomérase conférant aux cellules de la plante génétiquement modifiée l'aptitude à cataboliser le mannose-6-phosphate en fructose-6-phosphate.
- **GA21** portant le gène codant la protéine mEPSPS (5-énoyl pyruvyl-3-phosphoshikimique acide synthétase) mutée de maïs conférant la tolérance au glyphosate.

Historique des autorisations de mise sur le marché de Bt11

Les maïs portant l'événement Bt11 ont été évalués par le comité scientifique des plantes (SCP) et autorisés par la communauté européenne en 1998 pour l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation animale au titre de la directive 90/220/CEE. L'importation de variétés de maïs doux Bt11 pour la consommation humaine a été autorisée par la Commission le 19 mai 2004 (2004/657/EC, JOCE L131/28). Dans le cadre du renouvellement de l'autorisation (après 10 ans) de mise sur le marché des variétés de maïs Bt11 selon le règlement communautaire n°1829/2003, l'AFSSA a rendu un avis favorable le 3 juin 2008.

Historique des autorisations du maïs MIR604

L'AFSSA a rendu un avis favorable à la mise sur le marché des maïs portant l'événement MIR604 au titre du règlement CE N°1829/2003 (avis du 2 décembre 2005).

Historique des évaluations du maïs GA21

Les maïs portant l'événement GA21 ont fait l'objet de plusieurs évaluations par l'AFSSA au titre de la directive 90/220/CE, des règlements (CE) N°258/97 et N°1829/2003. L'avis AFSSA, le plus récent (15 juin 2006) est favorable à sa mise sur le marché. Les maïs portant l'événement GA21 ont été autorisés par la commission européenne le 28 mars 2008 pour l'importation et la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale.

Evaluation des hybrides

Tous les maïs hybrides comportant deux événements de transformations à savoir : Bt11xGA21, MIR604XGA21, Bt11XMIR604 ont été évalués par l'AFSSA en 2008. L'AFSSA donnait un avis favorable à leurs mises sur le marché pour l'importation et la transformation de l'OGM ainsi que pour l'utilisation en alimentation humaine et animale dans le cadre du règlement CE N°1829/2003¹.

Le présent avis s'appuie sur les évaluations précédentes des maïs portant l'événement simple Bt11, MIR604, GA21 et des maïs portant deux événements de transformation Bt11xGA21, MIR604XGA21, Bt11XMIR604. Cet avis considère les points spécifiques de la présence, dans la même plante, des trois événements de transformation.

Il aurait été souhaitable que les données provenant de plusieurs dossiers aient fait l'objet d'une synthèse afin de pouvoir comparer plus aisément les résultats entre eux.

(C) Informations relatives à la modification génétique

Les hybrides de maïs Bt11xMIR604xGA21 ont été obtenus par croisements conventionnels de trois lignées de maïs génétiquement modifié Bt11, MIR604 et GA21. Aucune autre modification génétique n'a été introduite dans ces maïs qui comportent les trois événements de transformation apportés par les lignées parentales.

La description moléculaire des événements Bt11, MIR604 et GA21 est détaillée, respectivement, dans les avis du 3 juin 2008, du 2 décembre 2005 et du 28 mars 2008.

(D) Informations relatives à la plante génétiquement modifiée

(1) Les maïs hybrides Bt11xMIR604xGA21 expriment les cinq protéines suivantes :

- la protéine tronquée Cry1Ab, un variant de la protéine issue de *Bacillus thuringiensis* qui apporte la résistance à certains lépidoptères tels que l'ECB (*Ostrinia nubilalis*) et le MCB (*Sesamia nonagroides*) ;
- la phosphinothricine acétyl-transférase (PAT) issue de *Streptomyces viridochromogenes* confère la résistance aux herbicides contenant du glufosinate ammonium par un mécanisme de détoxification de l'herbicide ;
- la protéine Cry3A de maïs, comportant une séquence synthétique codant une version modifiée du gène cry3A de *Bacillus thuringiensis*, qui apporte la résistance aux chrysomèles des racines ;
- la phospho-mannose isomérase (PMI) issue du colibacille *pmi*, enzyme catalysant l'isomérisation du mannose-6-phosphate en fructose-6-phosphate et permettant la sélection des plantes transformées sur milieu contenant uniquement du mannose comme source de carbone ;
- la mEPSPS de maïs insensible au glyphosate par la modification de deux acides aminés en position 102 (Thr→Ile) et en position 106 (Pro→Ser). La présence d'une EPSPS insensible au glyphosate s'exprimant dans les chloroplastes permet le maintien de la synthèse d'acides aminés et donc la survie de la plante lorsqu'elle est soumise à un traitement par l'herbicide.

(2) Des analyses de type Southern, utilisant des sondes spécifiques des inserts Bt11, MIR604 et GA21, montrent que les inserts présents chez les maïs hybrides

¹ Avis du 15 mai 2008, saisine 2008-SA-0041 ; Avis du 10 juin 2008, saisine 2008-SA-0094 ; Avis du 08 juillet 2008, saisine 2008-SA-0093.

Bt11xMIR604xGA21 correspondent bien à ceux hérités de chacun des parents, que la structure moléculaire des inserts décrite chez les parents est préservée chez les hybrides et que les inserts sont présents en une seule copie dans le génome nucléaire des hybrides.

L'analyse des régions flanquant les insertions avait été réalisée chez les lignées parentales Bt11, MIR604 et GA21. Ces régions ne diffèrent pas chez les maïs Bt11xMIR604xGA21.

(3) **Informations relatives à l'expression des produits des transgènes.**

Les teneurs en protéines Cry1Ab, PAT, Cry3A, PMI et mEPSPS ont été mesurées par ELISA dans les feuilles, les racines, le pollen, les plantes entières et les grains à maturité. Les analyses ont été réalisées à partir d'échantillons de maïs Bt11, de maïs MIR604, de maïs GA21 et des maïs hybrides Bt11xMIR604xGA21. Ces maïs ont été cultivés simultanément aux États-Unis en 2006.

Une analyse de variance montre que le niveau d'expression des protéines recombinantes ne fluctue pas chez l'hybride comportant les trois événements et dans les lignées parentales respectives. Les seules différences statistiquement significatives observées concernent les concentrations de Cry1Ab et mEPSPS dans les racines dont le niveau est plus faible dans les maïs Bt11xMIR604xGA21.

Les concentrations des protéines mesurées dans le grain lors de l'évaluation des précédents maïs hybrides ont été comparées à celles présentées dans l'étude décrite ci-dessus. Elles se situent dans la même plage des valeurs observées.

(5) **Informations relatives à la stabilité génétique des inserts et à la stabilité phénotypique de leurs expressions.**

La présence des inserts dans les hybrides Bt11xMIR604xGA21 a été vérifiée par Southern, ainsi que la stabilité phénotypique des lignées Bt11, MIR604 et GA21.

(7) **Informations relatives aux effets toxiques, allergiques, et autres effets délétères pour la santé humaine et animale.**

(7-1-3) L'analyse de composition chimique visant à montrer l'équivalence substantielle de l'hybride Bt11xMIR604xGA21 avec son témoin non transformé a été réalisée à partir d'échantillons de maïs Bt11xMIR604xGA21 et de maïs témoins non transformés cultivés conjointement sur 6 sites (3 répétitions par site) aux États-Unis en 2006.

Cette étude de composition chimique a été présentée dans tous les dossiers hybrides comportant 2 événements de transformation et a permis de conclure à l'équivalence en substance entre les maïs Bt11xMIR604xGA21 et leurs témoins isogéniques ne comportant aucun événement de transformation (voir avis du 15 mai 2008, du 10 juin 2008, et du 08 juillet 2008).

(7.8) **Toxicologie**

Considérant que :

- ✓ les données toxicologiques des maïs portant l'événement de transformation simple Bt11, MIR604 et GA21 ont été analysées lors de l'examen de chacun des maïs « parents » ;
- ✓ les mécanismes d'action des cinq protéines Cry1Ab, PAT, Cry3A, PMI et mEPSPS font intervenir des cibles moléculaires et des voies métaboliques suffisamment différenciées pour qu'aucune interaction ne puisse être suspectée ;
- ✓ le niveau d'expression des protéines, produits des transgènes, ne diffère pas significativement entre les maïs comportant les 3 événements de transformation et les lignées parentales comportant chacune des événements simples ;

il n'apparaît pas nécessaire de disposer d'une étude toxicologique spécifique de l'hybride portant les 3 événements de transformation.

(7.9) **Allergénicité**

Cette évaluation est basée sur l'allergénicité putative des protéines exprimées par les transgènes. Le risque allergène des protéines Cry1Ab, PAT, Cry3A, PIM et mEPSPS a été évalué lors des demandes d'autorisation de mise sur le marché des maïs Bt11, des maïs MIR604 et des maïs GA21.

Il convient de noter que ces données ne suffisent pas, pour autant, à conclure de façon certaine à l'absence d'un potentiel toxique et allergénique maïs, qu'en l'état actuel des connaissances, une telle certitude ne pourrait être obtenue pour aucune protéine.

(7.10) **Evaluation nutritionnelle**

Une étude d'alimentarité a été réalisée avec 540 poulets (6 répétitions de 15 poulets par sexe et par traitement, 3 traitements) nourris pendant 49 jours avec trois régimes successifs (correspondant aux périodes de démarrage, croissance et finition) contenant environ 50%, 58% et 61% de grains de maïs Bt11xMIR604xGA21 en comparaison avec des poulets nourris dans les mêmes conditions avec du grain de maïs témoin (isogénique ne comportant aucun événement de transformation) et une variété commerciale de maïs cultivés conjointement aux USA en 2006.

L'équivalence de composition chimique (7 paramètres proximaux, 13 acides aminés) entre les grains provenant du maïs Bt11xMIR604xGA21 et ceux provenant des maïs témoins incorporés dans les rations a été vérifiée. Les protéines recombinantes ont été dosées dans les grains. Les concentrations maximales mesurées dans les trois régimes sont de 0.59, 0.80 et 1.52 µg/g de grain pour Cry1Ab, PMI, mEPSPS, respectivement. Les protéines PAT et mCry3A ne sont pas détectables ou se situent à la limite de détection. Les teneurs en 5 mycotoxines ont été mesurées, seule la fumonisine B1 est détectée dans les grains de maïs non transgéniques².

Les observations des animaux ont porté sur 4 mesures de croissance, sur 10 données d'efficacité alimentaire, sur le taux de mortalité enregistré au cours de l'expérimentation qui ne montre pas de lien avec le traitement et sur 7 données de découpe pour les deux sexes.

Les résultats, après analyse statistique, ne montrent :

- ✓ aucune différence due aux traitements entre les animaux nourris avec le maïs Bt11x MIR604xGA21, le maïs témoin ou la variété commerciale pour ce qui concerne les performances pondérales, l'efficacité alimentaire et le taux de survie des oiseaux ;
- ✓ aucune différence, à l'issue de l'expérience, en ce qui concerne les données relatives aux caractéristiques de la carcasse ;

Sur la base de l'analyse de ces résultats, on peut conclure à une équivalence nutritionnelle des maïs Bt11xMIR604xGA21 avec leur témoin non génétiquement modifié.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments émet les conclusions suivantes :

- Les maïs hybrides Bt11xMIR604xGA21 sont obtenus par croisements conventionnels des lignées de maïs génétiquement modifiées Bt11, MIR604 et GA21. Par conséquent, ils expriment simultanément cinq protéines codées par les trois inserts correspondant aux événements de transformation Bt11, MIR604 et GA21. Les protéines PAT, PMI et mEPSPS agissent dans des voies métaboliques différentes et les deux protéines Bt (Cry1Ab et Cry3A) se différencient par leur toxicité envers des cibles spécifiques (pyrales et sésamies pour Cry1Ab et chrysomèles des racines pour Cry3A). Le CES estime qu'il n'y a pas d'interactions fonctionnelles connues qui pourraient modifier la sécurité sanitaire des maïs exprimant simultanément les 5 protéines.

² On notera que, comme cela a déjà été constaté, la teneur en certaines mycotoxines (ici la fumonisine B1) est plus faible dans les grains de maïs Bt11xMIR604xGA21 exprimant des protéines « Bt » par rapport aux grains de maïs non transgéniques.

- Les résultats de l'analyse de composition chimique permettent de conclure à l'équivalence en substance entre les maïs génétiquement modifiés Bt11xMIR604xGA21 et leurs témoins.
- L'évaluation toxicologique a été conduite à partir des maïs comportant un événement de transformation simple et a permis de conclure à l'absence de toxicité de ces maïs. L'AFSSA estime que l'étude de la toxicité des maïs comportant les trois événements de transformation simultanément n'est pas nécessaire.
- Le risque d'allergie a été correctement évalué pour chacune des protéines nouvelles exprimées dans l'hybride.
- L'étude d'alimentarité réalisée chez le poulet permet de conclure à l'équivalence nutritionnelle des maïs Bt11xMIR604xGA21 et de leurs témoins.

En conséquence, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments considère que les variétés de maïs portant les trois événements de transformation Bt11, MIR604 et GA21 et leurs produits dérivés présentent le même niveau de sécurité sanitaire que les variétés de maïs conventionnelles et leurs produits dérivés.

Mots clés : OGM, hybride, maïs Bt11, maïs MIR604, maïs GA21, résistance aux lépidoptères, tolérance au glufosinate ammonium, résistance aux chrysomèles, Phospho-Mannose Isomérase, tolérance au glyphosate.

**La Directrice Générale
Pascale BRIAND**