



Maisons-Alfort, le 20 avril 2010

AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement
modifié MON 87460, développé pour limiter les pertes de rendement en cas de
sécheresse, pour l'importation et la transformation ainsi que l'utilisation en
alimentation humaine et animale de cet OGM, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003**

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le jeudi 4 février 2010 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes d'une demande d'avis relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié MON 87460, développé pour limiter les pertes de rendement en cas de sécheresse, pour l'importation et la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003.

CONTEXTE

Conformément au Règlement (CE) N° 1829/2003, notamment aux articles 6 et 18, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) est chargée de procéder à l'évaluation des dossiers concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, issus de plantes génétiquement modifiées et de rendre un avis à la Commission Européenne. L'EFSA 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.

METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective été réalisée par le Comité d'expert spécialisé "Biotechnologie", réuni le 15 avril 2010.

ARGUMENTAIRE

L'argumentaire suit les sections des lignes directrices de l'EFSA relatives aux demandes d'autorisation de mise sur le marché d'OGM pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003.

(A) Information générale

Cette demande est une première demande d'autorisation de mise sur le marché de maïs

MON87460 génétiquement modifié, pour limiter les pertes de rendement en cas de sécheresse, pour l'importation et l'utilisation de la plante de maïs fourrage en alimentation animale, des grains et des produits dérivés en l'alimentation humaine et animale. La sécheresse est la cause majeure de pertes de rendement. En Amérique du Nord, il est estimé que 40% des pertes annuelles sont dus à des ressources en eau limitée. Il s'agit du premier maïs présentant ce caractère agronomique. La demande ne concerne pas sa mise en culture dans l'Union Européenne.

Le maïs MON87460 exprime une protéine nouvelle, la Cold Shock Protéine B (CspB). Celle-ci permet de réduire la perte de rendement de ce maïs par rapport à un maïs conventionnel dans des conditions de culture limitées en eau. Dans des conditions normales d'arrosage, le rendement en grains pour MON87460 est équivalent à celui d'un maïs conventionnel. En condition de sécheresse intense, le maïs MON87460 reste soumis à une perte de rendement.

Le gène inséré dans les maïs MON87460 provient de *Bacillus subtilis* et code la protéine CspB dont le rôle est connu pour favoriser l'adaptation de cette bactérie à des stress environnementaux. La CspB interagit et supprime les structures secondaires de l'ARN et favorise ainsi la traduction. En condition de déficit hydrique, CspB contribue à préserver le fonctionnement cellulaire normal en facilitant la traduction des ARN impliquées dans l'ensemble des fonctions de la plante : la photosynthèse, la conductance stomatique et la fixation du carbone. Au final, l'expression de la protéine Csp améliore le rendement en grains du maïs.

Le maïs MON87460 exprime aussi la protéine néomycine phosphotransférase II (NPTII). Cette protéine est utilisée comme marqueur de sélection. La protéine NptII est capable d'inactiver les antibiotiques aminoglycosides, comme la néomycine et la kanamycine.

(C) Informations relatives à la modification génétique

Le maïs MON87460 a été obtenu par transformation d'embryons de la lignée de maïs LH59 par *Agrobacterium tumefaciens* (souche ABI). Cette souche contient un vecteur binaire de 9,4kb dans lequel est inséré un ADN-T (4,2kb) qui contient deux cassettes d'expression, l'une du gène *cspB* et l'autre du gène *nptII*. Le maïs portant l'événement de transformation MON87460 a été sélectionné, il est tolérant à la kanamycine et homozygote pour le gène *cspB*.

L'ADN-T est constitué des éléments suivants :

- les bordures droite et gauche de l'ADN-T ;
- le promoteur et la séquence de tête du gène de l'actine 1 de riz (*P-ract1*) ;
- l'intron du même gène (*I-ract1*) ;
- la séquence codante modifiée selon les codons préférentiellement utilisés chez les végétaux du gène *cspB* ;
- la région 3' transcrite non traduite du gène transcrit 7 (T-tr7) d'*Agrobacterium tumefaciens* ;
- les séquences de recombinaison *loxP* du bactériophage P1, entourant la cassette d'expression du gène *nptII* ; ces séquences sont reconnues par la recombinase Cre et permettent l'élimination du gène marqueur après la transformation ;
- le promoteur 35S ;
- la séquence codante *nptII* (provenant du transposon Tn5 d'*E. Coli*) ;
- la séquence de terminaison de la transcription *nos 3'* de la nopaline synthétase d'*Agrobacterium tumefaciens*.

Le plasmide de transformation contient de plus d'autres éléments en particulier des origines nécessaires à sa réplique et le gène *aadA*, gène de résistance à la streptomycine et à la spectinomycine issu du transposon Tn 7. Ces éléments ne sont pas destinés à être insérés dans la plante.

(D) Informations relatives à la plante génétiquement modifiée

(1) Les maïs portant l'événement de transformation MON87460 expriment deux nouveaux caractères non présents dans les maïs initiaux :

La protéine CspB est un polypeptide de 67 acides aminés d'environ 7 kDa. La protéine CspB a été introduite dans le génome de MON87460 afin de maintenir un rendement élevé en condition de déficit hydrique modéré. CspB est une protéine chaperonne, elle possède deux motifs RNP capable de se fixer aux acides nucléiques simples brins et de limiter la formation des structures secondaires. En cas de stress osmotique, les ARNm ont tendance à former des structures secondaires qui

empêchent leur traduction. La protéine CspB rend ces structures secondaires moins stables et permet ainsi à la traduction de continuer malgré les conditions cellulaires défavorables.

La protéine CspB a été identifiée chez la bactérie *Bacillus subtilis* où elle s'accumule préférentiellement en situation de stress. Des protéines analogues ont été identifiées chez les plantes mais elles sont dépourvues de tout motif de fixation connu, leur localisation dans les méristèmes apicaux, les ovules, les embryons et les graines suggère qu'elles pourraient avoir des fonctions dans la vitesse de croissance, la date de floraison et le développement de la graine.

La séquence protéique de CspB produite dans MON87460 est identique à celle de la protéine native de *Bacillus subtilis* à l'exception de la leucine en position 2 qui remplace la valine de la protéine native. Cette modification n'altère pas les composants fonctionnels ou structuraux de CspB.

Des études réalisées *in vitro* montrent que la protéine CspB exprimée dans les maïs se lie à l'ARN (ARN total de MON87460 et ARNm de luciférase transcrit *in vitro*) et désorganise des structures secondaires d'ARN. Des interactions entre CspB et l'ARN ont été observées *in vivo* chez le maïs par co-immunoprécipitation.

L'expression de CspB est constitutive dans MON87460 et l'accumulation de la protéine est observée dans les zones de croissance des feuilles (ELISA). Enfin la localisation de CspB est cytoplasmique et nucléaire.

En conditions de stress hydrique les plantes exprimant CspB montrent de meilleures performances durant la phase végétative grâce à un meilleur taux de fixation du CO₂.

La protéine NptII ou Néomycine phosphotransférase II inactive les antibiotiques aminoglycosides comme la kanamycine ou la néomycine mais n'a pas d'effet sur les antibiotiques de la même classe (comme la gentamycine) à application médicale. L'enzyme de 29 kDa (264 acides aminés) a été isolée à partir du transposon Tn5 d'*E. coli*, elle est utilisée ici comme marqueur de sélection pour les cellules transformées.

- (2) La caractérisation moléculaire des séquences insérées dans le génome des maïs MON87460 a été réalisée par des hybridations de type Southern sur de l'ADN génomique issu de plantes transgéniques et de plantes non transformées témoins quasi-isogéniques. L'ensemble des résultats montre que le génome de MON87460 contient une seule et unique copie de l'ADN-T tronquée à ses extrémités. Aucune autre séquence initialement présente dans le plasmide de transformation n'a été transférée.

L'insertion a été séquencée et mesure 3309 pb, l'analyse de ces séquences a confirmé que la bordure droite ainsi que 733 pb du promoteur P-*Ract1* n'ont pas été intégrés avec le reste de l'ADN-T. La délétion partielle du promoteur P-*Ract1* ne semble avoir de conséquence sur l'expression du gène *cspB*. Elle a montré également que la bordure gauche est tronquée de 194 pb. La séquence de l'insert est identique à la région correspondante du plasmide binaire, aucune mutation ou délétion à l'intérieur de l'insertion n'a été détectée.

La séquence génomique de la région où s'est produit l'insertion a été déterminée à partir de l'ADN génomique amplifié de la lignée parentale LH59. Cette séquence a été comparée aux 1121 pb et 784 pb respectivement séquencées dans les régions 5' et 3' bordant l'insertion. Ainsi, cette comparaison a montré qu'une délétion de 22pb s'est produite au niveau du site d'insertion.

Enfin la comparaison de ces séquences avec les séquences disponibles dans les bases de données met en évidence une identité de l'extrémité 5' de l'insert avec les 81 premières paires de bases de la séquence d'un ARNm de maïs, cette EST a une séquence de 2204 nucléotides et code une protéine de fonction inconnue. Dans l'hypothèse ou la courte homologie de séquence correspond bien à cet ARNm, le codon initiateur de la protéine hypothétique se trouve à 1312 nucléotides du site d'insertion. L'analyse réalisée à partir des mêmes séquences sur la base de données de séquences traduites ne met pas en évidence d'homologie significative.

Afin de s'assurer qu'aucune nouvelle séquence codante n'a été créée par l'insertion, une étude bioinformatique de ces séquences frontalières entre l'insertion et le génome du maïs a été réalisée pour rechercher la présence de phases ouvertes de lectures (ORF) putatives entre deux codons stop et dans les 6 cadres de lecture.

La séquence des polypeptides de 8 acides aminés ou plus a été comparée avec les séquences contenues dans les bases de données de toxines ou d'allergènes connus. Neuf séquences correspondant à ces critères (5 en 5' et 4 en 3') ont été comparées et n'ont pas montré d'homologie significative.

(3) Informations relatives à l'expression des produits du transgène

Les mesures d'accumulation des protéines ont été déterminées par la méthode ELISA sur 19 tissus prélevés à 4 stades de développement de la plante et à la récolte pour CspB et sur 4 tissus (feuilles jeunes, racines jeunes, fourrage et grain) pour NPTII. Les échantillons de maïs proviennent de deux campagnes d'essais, l'une menée aux USA en 2006 sur 5 localisations dans 5 états (3 répétitions par site) et l'autre au Chili en 2006/2007 sur 4 sites (3 répétitions par site). Un protocole d'application d'un stress hydrique par limitation de l'arrosage a été mis en place sur 3 des sites Chilien.

Les résultats obtenus à partir des échantillons prélevés dans les deux essais (Etats unis et Chili) sont similaires. La protéine CspB s'accumule préférentiellement dans le pollen puis dans les jeunes feuilles au stade V1. Les principaux résultats, présentés dans le tableau 1, montrent que la protéine CspB s'accumule préférentiellement dans les tissus en croissance. Un déficit hydrique modéré ne semble avoir aucune influence sur le niveau d'expression de CspB.

Tableau 1 : Teneurs moyennes en protéine CspB mesurées dans divers tissus du maïs MON87460 au cours d'essais réalisés au Etats-Unis en 2006 et au Chili en 2006-2007.

Organe	CspB (µg/g poids sec)		
	Essai Etats-Unis	Essai Chilien (sans stress)	Essai Chilien (stress hydrique)
Pollen	13	25	27
Jeunes Feuilles (V1)	3,1	2,8	2,8
Jeunes Racines (V1)	1,4	1,3	1,5
Soies	1,2	0,82	1,1
Fourrage	0,1	0,11	0,15
Grain	0,072	0,048	0,038
Fourrage post récolte	0,042	0,033	0,072

Les mesures de NPTII ont été réalisées sur un nombre plus limité de tissu. Les niveaux d'accumulation de NPTII les plus élevés ont été mesurés dans les jeunes feuilles (2,6 µg/g poids sec). Les niveaux dans le grain sont inférieurs à la limite de quantification de la méthode (soit 0,0047 µg/g poids sec). Les niveaux d'accumulation mesurés sont similaires dans les deux types d'essai (Etats unis et Chili).

(4) Caractéristiques agronomiques

Les caractéristiques agronomiques, phénotypiques et la capacité du maïs MON87460 à tolérer les stress abiotiques ont été étudiées sur près de 30 paramètres. Le maïs MON87460 a été comparé à un maïs quasi isogénique non transgénique et à une gamme de lignées commerciales. Les données ont été récoltées sur des plantes cultivées selon trois protocoles distincts, i) conditions agronomiques normales, ii) irrigation abondante, et iii) irrigation limitée.

Aucune différence significative entre les maïs dans tous les essais n'a été mise en évidence en ce qui concerne les paramètres agronomiques et les observations phénotypiques effectuées entre MON87460 et les autres maïs. En cas de stress hydrique modéré mais entraînant une perte importante de rendement, il semblerait que le maïs MON87460 puisse limiter cette perte. En cas de stress hydrique fort, MON87460 est aussi sensible au stress que les plantes non transformées.

(5) Informations relatives à la stabilité génétique de l'insert et à la stabilité phénotypique de la plante

L'insertion de la séquence d'ADN-T a été analysée par Southern blot au cours de 7 générations (par auto-fécondation et croisement). Les résultats montrent une stabilité génétique de l'intégration, aucun nouveau signal n'apparaît. L'absence de séquence du plasmide vecteur est confirmée au cours des différentes générations.

La ségrégation de la cassette d'expression CspB est caractérisée par PCR au cours de 7 générations de MON87460. Les résultats obtenus sont en accord avec une insertion unique de l'ADN-T et une ségrégation mendélienne.

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

(7.1-3) Analyse de composition chimique

L'analyse comparative de composition concerne le fourrage et le grain provenant de deux expérimentations en champ 1) maïs cultivés sur 6 sites différents aux Etats-Unis pendant la saison 2006 2) maïs cultivés sur 4 sites au Chili en 2006-2007. Dans les deux expérimentations, les maïs cultivés sont des hybrides différents (LH59R3xLH244 pour les US et LH244xLH59 pour le Chili), cependant les maïs hybrides portant l'événement MON87460 sont comparés aux hybrides provenant du même croisement ne comportant pas l'événement de transformation. Les maïs ont été cultivés conjointement avec 3 (EU) ou 4 (Chili) maïs hybrides non transgéniques commerciaux, tous différents entre les sites. Les cultures ont été menées en conditions normales d'irrigation aux Etats-Unis et au Chili et en conditions restreintes d'irrigation au Chili.

Pour chaque traitement la composition du fourrage et des grains MON87460 a été comparée par une analyse de variance (p-value <0.05) au témoin quasi isogénique tous sites confondus ou site par site pour les deux traitements en eau. Un site de l'expérimentation Chilien a été éliminé de l'analyse combinée comprenant les 4 sites Chiliens car les données agronomiques montraient une réponse non satisfaisante vis à vis du traitement différentiel en eau. Les données issues des hybrides commerciaux ont été utilisées pour établir les intervalles de confiance de chaque composé analysé. Les données sont aussi comparées aux données de la littérature et de la base de données de composition ILSI.

L'analyse suit les recommandations de l'OCDE et concerne 9 composés du fourrage, 68 du grain dont les facteurs antinutritionnels (acide phytique, raffinose, acide férulique et acide coumarique). Elle comprend en plus des données complémentaires sur plusieurs métabolites secondaires mesurés dans le grain considérés comme associé au stress hydrique (sacharose, glucose, fructose, glycérol, proline, glycine bêtaïne, choline, acide abscisique et acide salicylique).

Résultats des études en condition d'irrigation normale

La composition chimique du fourrage et du grain de maïs MON87460 en condition standard de culture présente quelques différences significatives avec celle du maïs témoin et des variétés commerciales. Toutefois les valeurs restent dans l'intervalle de confiance calculé à partir des données des hybrides commerciaux. De même, les résultats de l'analyse ne mettent pas en évidence de différence significative pour les teneurs mesurées dans le fourrage et dans les grains des métabolites osmo-protectants et associés au stress hydrique excepté pour quelques composés. Cependant, les teneurs mesurées entrent toujours dans l'intervalle de confiance déterminé par les hybrides commerciaux.

Résultats des études en condition d'irrigation restreinte

Les résultats sont similaires pour les composés chimiques habituellement mesurés dans ce type d'étude et pour les métabolites osmo-protectants et associés au stress hydrique. La composition chimique du fourrage et des grains de maïs MON87460 n'est pas différente de celles des maïs témoins quasi isogéniques dans des conditions restreintes en eau.

Il aurait été intéressant de faire une analyse statistique multicritère pour comparer l'interaction génotype (MON87460 ou isogénique) avec l'application du stress.

(7.6) Effet du procédé de traitement

Toutes les utilisations et processus de transformations des grains de maïs sont applicables aux grains de maïs MON87460. Les niveaux d'expression des protéines CspB et NptII ont été estimés dans les produits dérivés du grain à partir de la concentration mesurée dans le grain. La teneur de CspB dans le gluten et la farine de gluten (alimentation animale) est de 0,168 et de 0,480 µg/g de poids sec respectivement.

(7.7) Utilisation et consommation prévue

L'alimentation animale est la principale destination du maïs (80% de la consommation de grains et 100% de la consommation de gluten et de farine). Considérant 100% des grains de maïs et des produits dérivés consommés du maïs MON 87460, l'exposition des animaux aux protéines CspB et NptII représenterait moins de 1 µg/g de leur consommation totale de protéines. L'exposition chronique de la population générale et l'exposition aiguë d'une fraction de la population (adultes et enfants de moins de 6 ans) consommant des quantités importantes de produits à base de maïs (farine, maïs doux et popcorn)¹ a été calculée à partir de données d'exposition de l'OMS dans une approche maximalisée considérant que la totalité du maïs consommé était du maïs MON 87460.

(7.8) Toxicologie

Évaluation de la sécurité des protéines CspB et NptII

La sécurité de la protéine CspB est basée sur les données suivantes :

- L'organisme donneur est *Bacillus Subtilis* dont plusieurs enzymes sont autorisées à être employées dans l'industrie agroalimentaire. *Bacillus Subtilis* est aussi un probiotique vendu dans plusieurs régions du monde dont l'Europe.
- La protéine CspB appartient à la famille des Cold shock protein (CSD) possédant un domaine CSD très conservé. Cette famille est très répandue dans les organismes vivants qui sont, de plus, fréquemment retrouvées dans l'alimentation humaine. Les sources principales sont les produits laitiers (yaourts), le blé et le riz.
- Une recherche dans des bases de données a montré que la protéine CspB présente une analogie de séquence (35 à 98,5%) avec des protéines naturelles contenant un CSD retrouvées dans différentes espèces végétales ou dans des miro-organismes utilisés dans l'industrie laitière.
- Une recherche *in silico* montre qu'il n'y a pas d'homologie de séquence entre la protéine CspB et des protéines toxiques pour l'homme ou l'animal répertoriées dans les bases de données actualisées.
- La rapide dégradation *in vitro* de la protéine CpsB en milieu gastrique et intestinal simulé (cf 7.9 allergénicité).

Les résultats d'une étude de toxicité aiguë par administration de la dose maximale de 4,7 mg/kg par voie orale chez la souris montrent que la protéine produite par *E. coli* équivalente² à la celle du maïs MON87460 n'induit pas de mortalité après 14 jours d'observation.

Toutefois, la dose utilisée est insuffisante et incompatible avec les objectifs d'une telle étude. Une nouvelle étude mettant en œuvre une dose supérieure conformément au protocole OCDE 420 devra être présentée et ce d'autant plus que la protéine CspB est nouvelle et n'a jamais été exprimée dans des plantes génétiquement modifiées destinées à l'alimentation.

La sécurité de la protéine NptII est basée sur les données suivantes :

- La protéine NptII est ubiquitaire chez *E. coli* et donc normalement présente dans le tractus gastro-intestinal humain.
- Une recherche *in silico* (FASTA) montre qu'il n'y a pas d'homologie de séquence entre la protéine NptII et des protéines toxiques pour l'homme ou l'animal répertoriées dans des banques de données récentes.
- La protéine NptII³ n'entraîne pas de mortalité chez la souris 7 jours après administration de la dose maximale de 5000 mg/kg par voie orale.
- La protéine NptII est exprimée dans plusieurs plantes transgéniques comme marqueur de sélection (maïs MON863, cotons MON1445 et MON15985, pommes de terre Amflora). Les éléments permettant de démontrer la sécurité de la protéine ont déjà été apportés et évalués par l'Afssa⁴ et l'EFSA⁵ lors des demandes de mise sur le marché de ces plantes.

¹ La consommation d'huile de maïs n'est pas prise en compte dans la consommation de denrées alimentaires à base de maïs.

² L'équivalence entre la protéine CspB exprimée dans les maïs MON87460 et celle produite dans *E coli* a été démontrée : séquence N terminale, analyse MALDI TOF des peptides après digestion par la trypsine, masse moléculaire, absence de glycosylation, fonction biologique.

³ L'équivalence entre la protéine NptII exprimée dans les maïs MON87460 et celle produite dans *E coli* a été démontrée comme pour CspB.

⁴ <http://www.afssa.fr/Documents/BIOT-Ra-ConsoOGM.pdf>

- La rapide dégradation *in vitro* de protéine NptII en milieu gastrique et intestinal simulé (cf. 7.9 allergénicité)

De plus, la sécurité de la protéine NPTII a fait l'objet de rapports détaillés par les agences d'évaluation :

- En 2002, l'Afssa⁵ conclut que « la consommation par l'homme ou les animaux de produits alimentaires composés ou issus de plantes génétiquement modifiées contenant des gènes de résistance à la kanamycine et/ou à l'ampicilline ne présente qu'un risque théorique et en tout état de cause négligeable pour la santé humaine et animale ».
- Plus récemment, l'EFSA conclut dans son rapport de mars 2009⁶ que l'occurrence d'effet néfaste sur la santé lié à consommation de plantes génétiquement modifiées contenant des gènes de résistance à la kanamycine et/ou à l'ampicilline est improbable.

Toutefois, l'Afssa recommande d'éviter, la présence, dans des plantes génétiquement modifiées destinées à la consommation humaine et animale, de gènes de résistance à un antibiotique susceptible d'avoir des effets préjudiciables sur la santé humaine et animale.

(7.8.4) Étude de toxicité sub-chronique

Une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours a été réalisée chez le rat selon un protocole conforme aux lignes directrices internationales (ODCE 408) et aux Bonnes Pratiques de Laboratoires. Trois groupes de vingt animaux par sexe ont reçus une alimentation contenant 33 % ou 11% de grains de maïs MON87460, ou de maïs témoin quasi-isogénique.

La composition chimique des grains et des régimes a été déterminée et leur analyse ne révèle pas de différence significative.

L'analyse statistique (ANOVA) des données de cette étude met en évidence quelques différences significatives entre les rats nourris avec le maïs génétiquement modifiés et ceux nourris dans les mêmes conditions avec le maïs témoin sur certains paramètres sanguins et urinaires et sur le poids des organes. Cependant, ces différences restent dans la limite des valeurs observées dans les données historiques fournies et ne sont pas significatives d'un point de vue toxicologique.

Les autres paramètres observés (croissance, consommation, observations cliniques, évaluation ophtalmologique, comportement, pathologie clinique macro et microscopie des organes en fin d'expérience) dans l'étude ne sont pas significativement différents entre les groupes.

Au regard de ces résultats, il est possible de conclure que l'administration *via* l'alimentation de maïs génétiquement modifiés MON87460 à des rats durant 90 jours n'induit pas d'effet néfaste sur les animaux. La dose la plus forte correspond à 23,6 g/kg/jour (pour les mâles et 28,2 g/kg/jour pour les femelles).

Il aurait été souhaitable de préciser les conditions de cultures des maïs (soumission éventuelle à un stress hydrique) à l'origine du matériel évalué dans l'étude de toxicité subchronique.

(7.9) Allergénicité

L'évaluation de l'allergénicité des protéines CspB et NptII est basée sur les critères suivants :

- La source des protéines d'intérêt, *B. subtilis* et *E. coli* sont des organismes qui n'ont jamais été décrit comme étant à l'origine d'une allergie.
- La très faible teneur en protéines dans les grains de maïs, CspB et NptII représentent 70 10⁻⁶ % et 5 10⁻⁶ % (limite de quantification) des protéines du grain de maïs, respectivement.
- L'absence d'homologie de séquence des protéines avec des protéines toxiques ou allergènes connues ; l'homologie a été réalisée sur des banques mises à jour en 2009 (comparaison de séquences de 80 acides aminés et recherche de 8 acides aminés contigus)
- La dégradation rapide *in vitro* des protéines en milieu gastrique et intestinal simulé,

La digestibilité de la protéine CspB a été évaluée dans un fluide gastrique simulé (SGF). Au moins 99,4% de la protéine ont été hydrolysés en 30 s. Cependant, un fragment de 2,5 kDa persiste jusqu'à 30 min de digestion pour disparaître après 60 min. Une digestion en milieu intestinal simulé (SIF) a été couplée à la digestion en SGF. Dans ces conditions, le peptide est

⁵ <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/1108.htm>

digéré en moins de 30 s. En SIF uniquement, la protéine CspB est entièrement dégradée en 5 min sans apparition de peptides.

La protéine NptII est dégradée intégralement en moins de 10 sec en SGF et en 2 à 5 min en SIF.

- L'absence de glycosylation de ces protéines.

Au regard de ces éléments, l'existence d'un potentiel allergénique de ces deux protéines ne peut pas être suspectées.

Il convient toutefois de noter que ces données ne suffisent pas, pour autant, à conclure de façon certaine à l'absence d'un potentiel toxique et allergénique mais, 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 chez 800 poulets (8 poulets par sexe, 5 répétitions par traitement, 8 traitements) nourris pendant 42 jours avec deux régimes, un régime de "démarrage", un régime de "croissance/finition" contenant respectivement 59% et 63% de grain de maïs génétiquement modifiés MON87460 ou de maïs témoin quasi isogénique ou de six variétés commerciales non transgéniques. Dans cette étude, la valeur nutritionnelle du grain de maïs MON87460 a été comparée au grain de maïs témoin ainsi qu'aux six variétés commerciales.

Les grains ont été produits au Chili en 2006 – 2007 sur le site Quillota. L'analyse comparée de composition chimique (énergie métabolique, teneur en protéine, minéraux, acides aminés) des grains de maïs a été réalisée. La composition des matières premières, ne montre pas de différence significative entre elles. Dix neuf mycotoxines ont été recherchées dans les régimes alimentaires utilisés et ne sont pas détectables.

La composition des 2 régimes alimentaires (démarrage, croissance /finition) est présentée pour chaque maïs utilisé. Ils sont identiques, bien équilibrés et montrent une formulation en accord avec les recommandations internationales pour le poulet en croissance.

Le taux de mortalité des animaux nourris avec le maïs transgénique est de 2,5% pour la période 0-7 jours et de 2% entre 7-42 jours de mortalité et n'est pas lié au traitement.

Les résultats, après analyse statistique (ANOVA), ne montrent pas de différence entre les animaux nourris avec le maïs MON87460 et le maïs témoin en ce qui concerne les performances de croissance et de consommation (5 paramètres), les rendements de carcasse (carcasse entière, tissu adipeux abdominal, muscles pectoraux, cuisses, ailes), l'analyse de la composition de la viande (muscles pectoraux et cuisses). Les caractéristiques de carcasse et la composition de la viande ont été mesurées en fin d'étude sur 4 mâles et 4 femelles.

Sur la base de l'analyse de ces résultats, on peut conclure que la consommation de grain de maïs MON87460 par des poulets en croissance n'induit pas de différence significative sur la croissance et sur les caractéristiques de carcasse avec des poulets ayant reçu du maïs non génétiquement modifié.

CONCLUSION

Le maïs MON87460 exprime les protéines CspB et NPTII. CspB permet de limiter la perte de rendement en condition de stress hydrique modéré. NPTII a été utilisé comme marqueur de sélection. Le niveau d'information apporté dans le dossier concernant la caractérisation moléculaire de l'évènement de transformation MON87460 est satisfaisant.

Les résultats de l'analyse de la composition chimique du fourrage et du grain de maïs MON87460 montrent qu'ils ne sont pas différents en substance avec des maïs témoins sur les composés analysés. Il en est de même concernant les qualités nutritionnelles de ces maïs, comparables à celles des témoins.

Concernant l'évaluation toxicologique des maïs MON87460, le dossier comporte des études par administration unique de la protéine nouvellement exprimée CpsB (4,7mg/kg) et NPTII (5000

mg/kg). Cependant, la dose de protéine CspB évaluée dans l'étude est insuffisante et incompatible avec les objectifs d'une telle étude. Une nouvelle étude mettant en œuvre une dose supérieure conformément au protocole OCDE 420 devra être présentée.

A propos de l'étude par administration répétée du grain de maïs incorporé dans l'aliment (à 11 et 33%) pendant 90 jours chez le rat, le pétitionnaire devra apporter les informations sur les conditions de culture des maïs utilisés.

Par conséquent, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ne peut se prononcer sur la sécurité sanitaire des maïs portant l'événement de transformation MON87460 de leurs grains et de leurs produits dérivés.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

Mots clés : OGM, maïs MON87460, rendement, sécheresse.