

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 31 mars 2017

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003, du maïs génétiquement modifié MZHGOJG, développé pour être tolérant au glyphosate et au glufosinate-ammonium, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-DE-2016-133)

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.
L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.
Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.
Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).
Ses avis sont publiés sur son site internet.*

L'Anses a été saisie le 23 janvier 2017 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003, du maïs génétiquement modifié MZHGOJG, développé pour être tolérant au glyphosate et au glufosinate-ammonium, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-DE-2016-133).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

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 offert la possibilité aux États membres de faire connaître leurs observations sur les dossiers initiaux. C'est dans ce cadre que la DGCCRF a sollicité l'avis de l'Anses.

Le Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013 s'applique pour ce dossier.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X50-110 « Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le Groupe de Travail (GT) « Biotechnologie », réuni le 16 mars 2017. Elle a été menée en se basant sur les lignes directrices du Panel GMO de l'EFSA

(2006, 2011a) et sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts du GT « Biotechnologie ».

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GROUPE DE TRAVAIL

Les sections, telles que définies dans le formulaire de commentaires de l'EFSA, sont reprises ci-dessous.

PARTIE I - INFORMATIONS GÉNÉRALES

Le maïs est une culture des zones tempérées à tropicales. Les principaux pays producteurs sont les USA, la Chine, le Brésil, l'Argentine, l'Ukraine, l'Inde, le Mexique et le Canada, qui représentent plus de 75 % de la production mondiale. En 2014, cette production était de 1.021.616.583 tonnes (dont 61.334.089 tonnes pour une surface récoltée de 9.618.499 hectares dans l'Union européenne, FAOSTAT¹) et 30 % du maïs cultivé était génétiquement modifié (James, 2014).

Les plantes sont récoltées entières avant la maturité complète des grains pour produire du fourrage ou de l'ensilage destiné à l'alimentation animale, ou bien sous forme de grains mûrs utilisés en alimentation animale ou humaine. Le maïs est également utilisé pour la production de biocarburants, de biogaz ou de bioplastique. Il est pauvre en protéines et la teneur des grains en deux acides aminés essentiels, la lysine et le tryptophane, est faible.

Le maïs MZHG0JG a été génétiquement modifié afin d'introduire dans son génome les cassettes d'expression des gènes *mepsps-02* et *pat-09*. Ces gènes codent une 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (mEPSPS) et une phosphinothricine N-acétyltransférase (PAT) qui confèrent à la plante la tolérance au glyphosate et au glufosinate-ammonium.

Ce dossier correspond à une première demande d'autorisation de mise sur le marché pour l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de ce maïs. Il ne concerne pas sa mise en culture. Il convient de rappeler que si des maïs tolérants à un (des) herbicide(s) venaient à être importés, ils devraient satisfaire à la réglementation européenne relative aux limites maximales de résidus de produits phytosanitaires.

PARTIE II - INFORMATIONS SCIENTIFIQUES

II.1. Identification et caractérisation des dangers

II.1.1. Informations concernant les plantes réceptrices ou (le cas échéant) parentales

La transformation génétique a été réalisée sur la lignée NP2222.

II.1.2. Caractérisation moléculaire

II.1.2.1. Informations concernant la modification génétique

La transformation génétique a été réalisée sur des embryons immatures avec la souche LBA4404 d'*Agrobacterium tumefaciens*. Le plasmide pSYN18857 utilisé pour la transformation porte les cassettes d'expression des deux gènes d'intérêt, *mepsps-02* et *pat-09*, entre les bordures droite et gauche de l'ADN-T. La souche d'*A. tumefaciens* utilisée pour la transformation contenait ce plasmide ainsi que le plasmide auxiliaire (helper) pSB1, qui porte 3 gènes de virulence

¹ <http://faostat3.fao.org/home/F>

d'*A. tumefaciens* (*virB*, *virC* et *virG*) et a été utilisé pour faciliter la transduction de l'ADN-T dans les cellules de la plante.

Les embryons ont été collectés après pollinisation, puis co-cultivés avec la souche LBA4404 d'*A. tumefaciens* désarmée de son pouvoir pathogène et portant les plasmides pSYN18857 et pSB1. Les cals transformés ont été sélectionnés sur un milieu de culture contenant du glufosinate-ammonium (sélection des cellules végétales transformées) et du céfotaxime (élimination des agrobactéries). Ils ont ensuite été placés sur un milieu favorisant la différenciation des plantes. Les plantes transformées ont été sélectionnées, *via* une analyse par PCR en temps réel, sur la présence des gènes *mepsps-02* et *pat-09* et sur l'absence du gène *aadA-03* (marqueur de sélection) porté par le squelette du vecteur pSYN18857. Elles ont ensuite été transférées en serre pour poursuivre la multiplication.

L'ADN-T inséré dans le maïs MZHG0JG contient les cassettes d'expression des gènes *mepsps-02* et *pat-09*, dont les caractéristiques sont les suivantes :

- 1) la cassette codant la protéine mEPSPS comprend le gène *mepsps-02* placé sous le contrôle d'un promoteur et d'un terminateur dérivés du gène ZmU29158-3, qui code une ubiquitine de maïs, ainsi que d'un peptide d'adressage de la protéine au chloroplaste et de séquences enhancer issues du virus de la mosaïque de la scrofulaire (FMV), du virus de la mosaïque du tabac (TMV) et du promoteur 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV).
- 2) la cassette codant la protéine PAT comprend le gène *pat-09* placé sous le contrôle du promoteur 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV) et du terminateur du gène de la nopaline synthase (NOS) d'*A. tumefaciens*.

Le gène *mepsps-02* diffère du gène de maïs natif par une double mutation. Il code une 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (mEPSPS) qui diffère de la protéine native par 2 acides aminés. La protéine mEPSPS a une faible affinité pour le glyphosate et confère à la plante la tolérance à cet herbicide. Le gène *pat-09*, issu de *Streptomyces viridochromogenes*, code une phosphinothricine N-acétyltransférase (PAT) qui confère à la plante la tolérance au glufosinate-ammonium.

II.1.2.2. Informations concernant la plante génétiquement modifiée

L'analyse moléculaire du maïs MZHG0JG repose sur des analyses de type Southern blot et sur l'amplification par PCR et le séquençage de l'insert (8910 pb) et des régions flanquantes en 5' et 3' de l'insert (1 kb dans les deux cas). Cette analyse a été réalisée sur le maïs MZHG0JG et sur un témoin non génétiquement modifié de même fonds génétique.

Les résultats montrent :

- une insertion unique de l'ADN-T ;
- l'identité d'organisation et de séquence de l'ADN-T inséré dans le génome du maïs MZHG0JG avec celles de l'ADN-T présent dans le vecteur pSYN18857, à l'exception de deux délétions dans les bordures droite et gauche de l'ADN-T (22 pb et 21 pb, respectivement). Ces délétions ne semblent pas affecter la fonctionnalité des cassettes d'expression des gènes *mepsps-02* et *pat-09* ;
- une délétion de 22 pb dans le génome de la plante au site d'insertion ;
- l'insertion de 4 et 39 pb respectivement aux jonctions 5' et 3' entre les séquences insérées et les régions flanquant les insertions ;
- l'absence de séquences issues du vecteur plasmidique.

L'absence de séquences issues du plasmide auxiliaire pSB1 devrait également être vérifiée, même si la présence de telles séquences dans la plante est très peu probable.

Les analyses bioinformatiques ne mettent pas en évidence d'ORF putative, sur l'ADN-T et au niveau des jonctions, présentant des homologies avec des gènes codant une toxine ou un allergène connu. La modification génétique ne semble pas avoir interrompu un gène du maïs.

Les teneurs des protéines mEPSPS et PAT dans différents tissus (feuilles, racines, plantes entières, pollen et grains) prélevés à différents stades de développement de la plante ont été mesurées à l'aide de tests ELISA. Les plantes ont été cultivées sur 4 sites aux USA en 2013, avec et sans traitement avec du glyphosate et du glufosinate-ammonium (T et NT, respectivement). Les échantillons sont issus de plantes de maïs MZHG0JG et d'un comparateur de même fonds génétique utilisé comme témoin négatif. Les résultats montrent que quel que soit le tissu et le stade de développement considéré, la teneur des protéines mEPSPS et PAT dans le maïs MZHG0JG NT est similaire à celle du maïs MZHG0JG T. Dans les grains au stade mature (R6), la teneur en protéine PAT est au-dessous de la limite de détection de la méthode de mesure et la concentration moyenne de protéine mEPSPS est de 40,21 (\pm 8,04) et 42,40 (\pm 10,43) μ g/g de matière fraîche pour le maïs MZHG0JG NT et T, respectivement.

Une analyse de ségrégation a été réalisée. Elle permet de conclure que l'insertion est stable, unique et à hérédité mendélienne.

II.1.2.4. Conclusions de la caractérisation moléculaire

Les éléments présentés dans le dossier concernant la caractérisation moléculaire du maïs MZHG0JG permettent de caractériser ce maïs et ne sont pas évocateurs d'un risque lié à l'utilisation de ce maïs en alimentation animale ou humaine. Toutefois, l'absence de séquences issues du plasmide auxiliaire pSB1 devrait être vérifiée, même si la présence de telles séquences dans la plante est très peu probable.

II.1.3. Evaluation comparative

II.1.3.1. Choix de l'équivalent non transgénique et des comparateurs supplémentaires

Le pétitionnaire indique que le maïs MZHG0JG est comparé avec une variété témoin non génétiquement modifiée de même fonds génétique et 6 variétés commerciales de référence représentatives des variétés cultivées dans les zones géographiques où les essais au champ ont été menés. Toutefois, le témoin est codé "E01" dans les Annexes 1.3-1 et 1.3-2, qui ne précisent pas clairement que ce code correspond au témoin de même fonds génétique présenté dans les schémas de croisements de ces mêmes annexes.

II.1.3.2. Dispositif expérimental et analyse statistique des données issues des essais au champ pour l'analyse comparative

Pour l'analyse de composition chimique des grains et du fourrage, ainsi que l'analyse des caractéristiques agronomiques et phénotypiques, le maïs MZHG0JG, la variété témoin et les 6 variétés commerciales ont été cultivés sur 10 sites aux USA en 2013. Les 6 variétés commerciales ont été cultivées sur chacun des sites.

Parmi les 10 sites de départ, le pétitionnaire n'en a ensuite utilisé que 8 pour l'évaluation comparative. Il indique que 2 sites ont été exclus du fait de déviations au protocole dans les applications d'herbicides qui ont compromis les essais sur ces 2 sites. Il serait utile que le pétitionnaire donne davantage de détails sur les raisons qui l'ont amené à écarter ces 2 sites. Toutefois, les études présentées dans le dossier sont jugées recevables, dans la mesure où les 8 sites restants représentent une large zone géographique, représentative de la culture de maïs aux USA.

Sur chaque site, le maïs MZHG0JG a été cultivé avec ou sans traitement herbicide avec du glyphosate et du glufosinate-ammonium (respectivement T et NT). Chaque modalité (variété

témoin, variétés commerciales et variété génétiquement modifiée T et NT) a été répétée quatre fois sur chaque site selon un plan d'expérience en blocs randomisés.

Les caractéristiques de ce plan d'expérience respectent les recommandations du Panel GMO de l'EFSA (2011a).

Les caractéristiques agronomiques, phénotypiques et de composition sont comparées à l'aide d'analyses de variance (ANOVA) en regroupant les résultats de tous les sites expérimentaux. Les ANOVA sont réalisées avec un modèle linéaire à effets mixtes incluant :

- un effet fixe "génotype" (indiquant s'il s'agit du maïs MZHG0JG NT ou T, de la variété témoin ou des variétés commerciales) ;
- des effets aléatoires : "site", "bloc dans le site" et "variété commerciale".

Les données brutes sous format électronique et les programmes de calcul sont fournis. De plus, les hypothèses du modèle sont testées et les interactions entre les sites et les génotypes sont étudiées dans les cas de différence et/ou de non-équivalence.

Le modèle statistique utilisé, qui inclut un effet fixe "génotype" et un effet aléatoire "variété commerciale", correspond à celui proposé par le Panel GMO de l'EFSA (2011a).

Le maïs MZHG0JG est comparé à la variété témoin par des tests de différence et aux variétés commerciales par des tests d'équivalence. Les erreurs de type 1 retenues par le pétitionnaire sont de 10 % pour les tests de différence et de 5 % pour les tests d'équivalence. Les résultats des tests statistiques sont interprétés selon l'approche décrite par le Panel GMO de l'EFSA (2010), en classant les variables en 4 catégories selon les résultats du test d'équivalence et 7 types après combinaison avec les résultats des tests de différence.

II.1.3.3. Sélection du matériel et des composés pour analyse

Les composés analysés correspondent à ceux du document consensus de l'OCDE (2002), à l'exception du DIMBOA pour le grain. Le pétitionnaire a dosé une quinzaine d'acides gras supplémentaires par rapport à ceux qui figurent dans le document consensus de l'OCDE (2002). Bien que ces choix ne soient pas expliqués dans le dossier, les analyses réalisées sont jugées recevables par le GT « Biotechnologie ».

II.1.3.4. Analyse comparative de la composition

Les mesures de 66 composés (57 pour les grains et 9 pour le fourrage) parmi les 82 analysés sont utilisables pour les analyses statistiques. L'analyse combinée de l'ensemble des sites d'expérimentation montre que le maïs MZHG0JG (grains et fourrage) est équivalent aux variétés commerciales. Les seules exceptions sont les teneurs des grains en ADF (Acid Detergent Fibre) et en acide férulique. En effet, la teneur en ADF des grains du maïs MZHG0JG NT est classée dans le type 5 (pas de différence significative et équivalence moins probable que la non-équivalence). Les valeurs mesurées sur le maïs MZHG0JG et la variété témoin sont très proches (3,97 % vs 4,04 % de la matière sèche) et restent dans la plage des valeurs de la base de données de l'ILSI (2014)². Toutefois, il serait plus intéressant de situer ces valeurs par rapport aux plages de valeurs mesurées sur les variétés commerciales de référence, mais ces données ne figurent pas dans le dossier (seules les valeurs moyennes sont disponibles). Par ailleurs, la teneur en acide férulique n'est pas catégorisée : les résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre le maïs MZHG0JG et le témoin, mais que l'équivalence du maïs MZHG0JG avec les variétés commerciales de référence n'est pas démontrée. Les valeurs observées pour le maïs MZHG0JG restent dans la plage des valeurs de la base de données de l'ILSI (2014)². Cependant, de même que pour la teneur en ADF, il serait plus intéressant de situer ces valeurs par rapport aux plages

² ILSI (2014). International Life Sciences Institute Crop Composition Database, v. 5.0

de valeurs mesurées sur les variétés commerciales de référence, qui ne sont pas fournies dans le dossier.

II.1.3.5. Analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques

Les caractéristiques agronomiques et phénotypiques ont été évaluées sur 10 paramètres. Le maïs MZHG0JG apparaît équivalent aux variétés commerciales sur le plan agronomique et phénotypique, à l'exception de la tolérance au glyphosate et au glufosinate-ammonium, ce qui est attendu, et du nombre de plantes debout en début de végétation (early stand count) : ce paramètre est classé dans le type 7 (différence significative et non-équivalence) pour le maïs MZHG0JG NT et il n'est pas catégorisé (pas de différence significative et non-équivalence) pour le maïs MZHG0JG T, mais ces non-équivalences ne sont pas évocatrices d'un risque sanitaire pour une utilisation de ce maïs en alimentation animale ou humaine.

II.1.3.6. Effets de la transformation

Le pétitionnaire affirme que les produits issus du maïs MZHG0JG ne devraient pas être différents de ceux issus de maïs conventionnels et ne présente aucune analyse des produits transformés.

II.1.3.7. Conclusions de l'évaluation comparative

La caractérisation agronomique et phénotypique et l'analyse de composition du maïs MZHG0JG montrent qu'à l'exception de la tolérance au glyphosate et au glufosinate-ammonium, ce maïs peut être considéré comme équivalent à un maïs conventionnel. En effet, les non-équivalences statistiques observées pour certains paramètres ne sont pas évocatrices d'un risque pour une utilisation en alimentation animale et humaine de ce maïs.

Aucune analyse n'a été réalisée sur les produits issus du maïs MZHG0JG.

II.1.4. Toxicologie

II.1.4.1. Analyse des protéines nouvellement exprimées

Les protéines mEPSPS et PAT exprimées dans le maïs MZHG0JG sont identiques à celles exprimées dans les maïs GA21 et Bt11, respectivement. Le pétitionnaire renvoie aux évaluations du Panel GMO de l'EFSA concernant ces maïs et à leurs conclusions favorables (EFSA GMO Panel, 2007, 2011b pour le maïs GA21 ; EFSA GMO Panel, 2009 pour le maïs Bt11).

Par ailleurs, l'évaluation de la sécurité des protéines mEPSPS et PAT exprimées dans le maïs MZHG0JG est fondée sur les données suivantes :

- la protéine mEPSPS présente de fortes analogies de séquence avec des protéines de la même famille qui sont très répandues dans de nombreux organismes vivants (végétaux et micro-organismes) et ont par conséquent un historique d'utilisation sûre dans l'alimentation ;
- des analyses *in silico*, réalisées à l'aide de bases de données actualisées (2016), montrent que les protéines mEPSPS et PAT ne présentent pas d'homologie de séquence avec des protéines toxiques ou allergiques connues et répertoriées dans ces bases de données ;
- ces protéines sont présentes en très faible quantité dans les parties de la plante qui sont consommées ;
- des protéines produites dans *E. coli*, dont l'équivalence (structure, propriétés physico-chimiques et activité enzymatique) avec les protéines mEPSPS et PAT du maïs MZHG0JG a été démontrée, n'induisent pas de mortalité chez la souris à la dose maximale de 2.000 mg/kg p.c. administrée par voie orale (gavage) ;
- les protéines sont rapidement dégradées en condition de digestion gastrique simulée (SGF) et en condition de digestion intestinale simulée (SIF), et elles perdent leur activité fonctionnelle sous l'effet de températures élevées.

II.1.4.2. Analyse des nouveaux constituants autres que les protéines

Le pétitionnaire ne fournit pas d'information sur la présence éventuelle de nouveaux constituants.

II.1.4.3. Informations sur les constituants naturels de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux

Aucune analyse n'a été réalisée sur des denrées alimentaires ou des aliments pour animaux dérivés du maïs MZHG0JG.

II.1.4.4. Analyse de l'aliment (denrée alimentaire ou aliment pour animaux) génétiquement modifié entier

Une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours a été menée en 2015-2016, selon un protocole s'appuyant sur la ligne directrice OCDE 408 (1998) et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).

Quatre groupes de 10 rats mâles et 10 rats femelles, lignée Wistar, ont été nourris avec des régimes alimentaires contenant :

- 10 % d'un témoin non génétiquement modifié de même fonds génétique que le maïs MZHG0JG (groupe 1) ;
- 41,5 % de ce même témoin (groupe 2) ;
- 10 % de la variété génétiquement modifiée MZHG0JG (groupe 3) ;
- 41,5 % de la variété génétiquement modifiée MZHG0JG (groupe 4).

Les régimes contenant 10 % de maïs témoin ou MZHG0JG n'ont pas été équilibrés de manière à contenir 41,5 % de maïs au total.

Le maïs génétiquement modifié a été traité avec les herbicides auxquels il est tolérant. Les analyses réalisées sur les aliments distribués aux 4 groupes d'animaux montrent qu'ils sont équivalents sur le plan nutritionnel et en termes de teneurs en contaminants. Il aurait été utile de doser également les herbicides utilisés lors de la culture ainsi que leurs métabolites.

Les données brutes sous format électronique et les programmes de calcul ne sont pas fournis. Le pétitionnaire a utilisé un modèle statistique jugé complexe par le GT « Biotechnologie », car il inclut un effet sexe, un effet bloc dans le sexe, un effet génotype, un effet dose, les interactions 2 à 2 entre sexe et génotype, sexe et dose, génotype et dose et l'interaction des 3 termes, sexe, génotype et dose. Pour le poids absolu d'organes, le poids final de l'animal est également ajouté comme covariable. Selon le pétitionnaire, les différences significatives observées entre les groupes traités et les groupes témoins concernant les résultats des analyses hématologiques et biochimiques et le poids de la rate et de la thyroïde ne sont pas biologiquement pertinentes. Cependant, les tableaux de résultats ne mentionnent pas de façon explicite les paramètres pour lesquels des différences significatives sont observées. Par ailleurs, le nombre d'animaux (10 rats/groupe/sexe) ne correspond pas aux recommandations de l'Anses (2011) et du Comité scientifique de l'EFSA (2011) en la matière, et le pétitionnaire ne fournit pas d'analyse de la puissance, alors qu'il s'agit d'une exigence du Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013 en vigueur pour ce dossier. Dans ces conditions, il n'est pas possible de conclure concernant cette étude de toxicité sub-chronique de 90 jours.

II.1.4.5. Conclusions de l'évaluation toxicologique

L'évaluation de la sécurité des protéines mEPSPS et PAT exprimées dans le maïs MZHG0JG ne met pas en évidence d'éléments permettant de conclure que ces protéines ont un effet toxique sur la santé humaine et animale. En revanche, le pétitionnaire devra fournir les informations manquantes concernant l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours sur rongeur, car dans l'état actuel du dossier, il n'est pas possible de conclure en ce qui concerne cette étude.

II.1.5. Allergénicité

II.1.5.1. Évaluation de l'allergénicité de la (des) protéine(s) nouvellement exprimée(s)

Le pétitionnaire suit les recommandations du Panel GMO de l'EFSA (2011a) et fonde l'évaluation de l'allergénicité des protéines mEPSPS et PAT exprimées dans le maïs MZHG0JG sur quatre critères :

- 1) absence d'allergénicité connue des organismes source (maïs pour mEPSPS et *Streptomyces viridochromogenes* pour PAT) ;
- 2) absence d'homologies de séquence entre les protéines mEPSPS et PAT et des allergènes connus lorsque la recherche est effectuée avec l'algorithme FASTA et des fenêtres glissantes de 80 et 8 résidus ;
- 3) faible résistance des deux protéines à la protéolyse digestive ;
- 4) faible teneur en protéines mEPSPS et PAT des grains du maïs MZHG0JG.

Le pétitionnaire démontre également que les protéines mEPSPS et PAT présentent une faible résistance à la dénaturation thermique (cuisson).

Les analyses bioinformatiques ne mettent pas en évidence d'homologie de séquence entre les protéines mEPSPS et PAT et les adjuvants classiques comme les toxines bactériennes. Par ailleurs, les faibles teneurs de ces protéines dans le maïs MZHG0JG et leur sensibilité aux protéases digestives sont *a priori* incompatibles avec un éventuel effet adjuvant significatif dans le cadre d'un apport alimentaire modéré en maïs génétiquement modifié.

L'ensemble de ces résultats suggère que le potentiel allergénique des protéines mEPSPS et PAT exprimées dans le maïs MZHG0JG est extrêmement faible.

II.1.5.2. Évaluation de l'allergénicité de la plante génétiquement modifiée entière

Le pétitionnaire rappelle, à juste titre, que le maïs n'est pas considéré comme un allergène alimentaire majeur. Bien qu'il renferme différents allergènes comme la protéine de transfert des lipides (LTP) Zea m 14 (Pastorello *et al.* 2000) et des protéines de stockage (Fasoli *et al.* 2009, Pasini *et al.* 2002, Scibilia *et al.* 2008), il ne figure pas dans la liste des allergènes dont l'étiquetage est obligatoire. En France, les statistiques du Réseau d'Allergo-Vigilance (RAV), qui recense les cas d'allergie alimentaire graves (chocs anaphylactiques), ne mentionnent pas le maïs dans la liste des 10 premiers allergènes dangereux (qui représentent 60 % des urgences allergologiques).

Le pétitionnaire fournit une analyse de la teneur des grains en Zea m 14. L'étude, menée en 2014, a porté sur des échantillons issus de :

- plantes de maïs MZHG0JG et d'un témoin non génétiquement modifié de même fonds génétique cultivées sur 2 sites aux USA en 2013 ;
- 15 variétés commerciales conventionnelles cultivées sur 6 sites aux USA, 1 site en France et 1 site au Chili en 2008 et en 2010, afin de mesurer la variabilité naturelle de la teneur des grains de maïs en Zea m 14.

Les dosages ont été réalisés par spectrométrie de masse avec un étalon interne marqué (technique Aqua), ce qui permet de quantifier l'allergène. Les résultats montrent que les teneurs en Zea m 14 des grains du maïs MZHG0JG ne sont pas significativement différentes de celles des grains du maïs témoin et qu'elles restent dans la plage des valeurs mesurées sur les variétés commerciales.

Aucune des informations disponibles ne laisse donc supposer que le maïs MZHG0JG puisse développer une allergénicité différente de celle des variétés de maïs non génétiquement modifiées. Le risque allergénique du maïs MZHG0JG est faible et *a priori* équivalent à celui des variétés de maïs conventionnelles.

II.1.5.3. Conclusions de l'évaluation de l'allergénicité

Sur la base des données et des commentaires fournis par le pétitionnaire, le potentiel allergénique des protéines mEPSPS et PAT exprimées dans le maïs MZHG0JG peut être considéré comme négligeable. Par ailleurs, ces protéines n'ont apparemment pas de propriétés adjuvantes. Enfin, l'allergénicité du maïs MZHG0JG reste vraisemblablement identique à celle d'un maïs conventionnel.

II.1.6. Evaluation nutritionnelle

Le pétitionnaire n'a pas réalisé d'évaluation nutritionnelle, estimant avoir démontré l'équivalence de composition entre le maïs MZHG0JG et les variétés de maïs conventionnelles.

II.2 Évaluation de l'exposition - Prédiction de la quantité consommée ou de l'étendue de l'utilisation

L'estimation de l'exposition est fondée sur la teneur des grains en protéines mEPSPS et PAT au stade mature (R6). A ce stade, la protéine PAT n'est pas détectable dans les grains (Cf. II.1.2.2.). Aussi, seule l'exposition à la protéine mEPSPS a été calculée, en prenant la valeur la plus élevée parmi toutes les mesures réalisées sur les grains (42,79 µg/g de matière fraîche).

Chez l'animal, l'exposition est calculée sur la base des données de l'OCDE (2013). Dans un scénario du "pire des cas", la consommation maximale de protéine mEPSPS est comprise entre 2,36 mg/kg p.c./j pour les porcs et 9,33 mg/kg p.c./j pour les agneaux.

L'estimation de la consommation maximale de protéine mEPSPS par l'Homme est fondée sur l'utilisation de la Comprehensive European Food Consumption Database de l'EFSA (2015). Dans un scénario du "pire des cas", la consommation maximale de protéine mEPSPS serait de 0,4076 mg/kg p.c./j pour la catégorie "Other Children" en Crête et en Grèce.

II.3 Caractérisation des risques

En l'absence d'études de toxicité et d'alimentarité réalisées sur des animaux de rente (vaches laitières, poulets et porcs), le risque ne peut pas être caractérisé pour ces animaux.

Chez l'Homme, le pétitionnaire présente un calcul des marges de sécurité fondé sur les résultats de l'étude de toxicité aiguë sur la souris par administration orale unique de la protéine mEPSPS (Cf. II.1.4.1.). Le GT « Biotechnologie » considère que cette démarche n'est pas adaptée, car elle ne permet pas d'estimer le risque associé à une consommation répétée de produits issus du maïs MZHG0JG. Il aurait été plus pertinent de calculer une marge de sécurité à partir de la NOAEL pouvant être déduite de l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours plutôt que de celle déduite des études de toxicité aiguë.

II.4 Surveillance de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifié(e) consécutive à sa mise sur le marché

Le pétitionnaire n'a pas proposé de plan de surveillance de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifié(e) consécutive à sa mise sur le marché.

Conclusions du Groupe de travail « Biotechnologie »

Les éléments présentés dans le dossier concernant la caractérisation moléculaire du maïs MZHG0JG ne sont pas évocateurs d'un risque lié à l'utilisation de ce maïs en alimentation animale ou humaine. Toutefois, l'absence de séquences issues du plasmide auxiliaire pSB1 dans le génome de la plante devrait être vérifiée. Sur la base des éléments fournis par le pétitionnaire, le potentiel allergénique de ce maïs et de ses produits dérivés paraît négligeable. La caractérisation agronomique et phénotypique et l'analyse de composition du maïs MZHG0JG montrent qu'à

l'exception de la tolérance au glyphosate et au glufosinate-ammonium, ce maïs peut être considéré comme équivalent à un maïs conventionnel.

L'évaluation de la sécurité des protéines mEPSPS et PAT exprimées dans le maïs MZHG0JG ne met pas en évidence d'éléments permettant de conclure que ces protéines ont un effet toxique sur la santé humaine et animale. En revanche, le pétitionnaire devra fournir les informations manquantes concernant l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours sur rongeur, car dans l'état actuel du dossier, il n'est pas possible de conclure en ce qui concerne cette étude.

Dans ces conditions, le GT « Biotechnologie » ne peut se prononcer sur la sécurité sanitaire du maïs MZHG0JG.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du GT « Biotechnologie » et émet un avis défavorable à la demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs MZHG0JG au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003.

Dr Roger GENET

MOTS-CLES

OGM, maïs MZHG0JG, tolérance au glyphosate, mEPSPS, tolérance au glufosinate-ammonium, PAT

GMO, MZHG0JG maize, glyphosate tolerance, mEPSPS, glufosinate-ammonium tolerance, PAT

BIBLIOGRAPHIE

- Anses (2011). Recommandations pour la mise en œuvre de l'analyse statistique des données issues des études de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché d'OGM. Avis de l'ANSES, rapport d'expertise collective, 95 pages.
- EFSA. 2015. "Use of EFSA Comprehensive European Food Consumption Database for estimating dietary exposure to genetically modified foods." *EFSA Journal* 13 (2): 4034, 11 pp.
- EFSA GMO Panel. 2006. "Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed." *EFSA Journal* 99: 1-100.

- EFSA GMO Panel. 2007. "Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on applications (references EFSA-GMO-UK-2005-19 and EFSA-GMO-RX-GA21) for the placing on the market of glyphosate-tolerant genetically modified maize GA21, for food and feed uses, import and processing and for renewal of the authorisation of maize GA21 as existing product, both under Regulation (EC) No 1829/2003 from Syngenta Seeds S.A.S. on behalf of Syngenta Crop Protection AG." *EFSA Journal* 541: 1-25.
- EFSA GMO Panel. 2009. "Opinion on application reference EFSA-GMO-RX-Bt11 for renewal of the authorisation of existing products produced from insect-resistant genetically modified maize Bt11, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Syngenta." *EFSA Journal* 7 (2): 977, 1-13.
- EFSA GMO Panel. 2010. "Statistical considerations for the safety evaluation of GMOs." *EFSA Journal* 8 (2): 1250, 59 pp.
- EFSA GMO Panel. 2011a. "Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants." *EFSA Journal* 9 (5): 2150, 37 pp.
- EFSA GMO Panel. 2011b. "Scientific Opinion on application (EFSA-GMO-UK-2008-60) for placing on the market of genetically modified herbicide tolerant maize GA21 for food and feed uses, import, processing and cultivation under Regulation (EC) No 1829/2003 from Syngenta Seeds." *EFSA Journal* 9 (12): 2480, 94 pp.
- EFSA Scientific Committee. 2011. "Guidance on conducting repeated-dose 90-day oral toxicity study in rodents on whole food/feed." *EFSA Journal* 9 (12): 2438, 21 pp.
- Fasoli, E., E.A. Pastorello, L. Farioli, J. Scibilia, G. Aldini, M. Carini, A. Marocco, E. Boschetti et P.G. Righetti. 2009. "Searching for allergens in maize kernels via proteomic tools." *Journal of Proteomics* 72 (3): 501-510.
- James, C. 2014. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2014. ISAAA Brief No. 49. ISAAA: Ithaca, NY.
- NF X50-110:2003 Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).
- OCDE. 1998. "OECD Guideline for the testing of chemicals N°408. Repeated dose 90-day oral toxicity study in rodents." Organization of Economic Cooperation and Development (OECD), Paris (France).
- OCDE. 2002. "Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Maize (Zea Mays): Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Secondary Plant Metabolites." Series on the Safety of Novel Foods and Feeds No. 6. Organization of Economic Cooperation and Development (OECD), Paris (France).
- OCDE. 2013. "Guidance Document on Residues in Livestock." Series on Pesticides No. 73. Organization of Economic Cooperation and Development (OECD), Paris (France).
- Pasini, G., B. Simonato, A. Curioni, S. Vincenzi, A. Cristaudo, B. Santucci, A. Dal Belin Peruffo et M. Giannattasio. 2002. "IgE-mediated allergy to corn: a 50 kDa protein, belonging to the Reduced Soluble Proteins, is a major allergen." *Allergy* 57 (2): 98-106.
- Pastorello, E.A., L. Farioli, V. Pravettoni, M. Ispano, E. Scibola, C. Trambaioli, M.G. Giuffrida, R. Ansaloni, J. Godovac-Zimmermann, A. Conti, D. Fortunato et C. Ortolani. 2000. "The maize major allergen, which is responsible for food-induced allergic reactions, is a lipid transfer protein." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 106 (4): 744-751.

Règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement Européen et du Conseil du 22 septembre 2003 concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux génétiquement modifiés. JO L 268 du 18.10.2003, pp. 1-23.

Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013 de la Commission du 3 avril 2013 relatif aux demandes d'autorisation de denrées alimentaires et d'aliments pour animaux génétiquement modifiés introduites en application du règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement européen et du Conseil et modifiant les règlements de la Commission (CE) n° 641/2004 et (CE) n° 1981/2006. JO L 157 du 8.6.2013, pp. 1-48.

Scibilia, J., E. A. Pastorello, G. Zisa, A. Ottolenghi, B. Ballmer-Weber, V. Pravettoni, E. Scovena, A. Robino et C. Ortolani. 2008. "Maize food allergy: a double-blind placebo-controlled study." *Clinical & Experimental Allergy* 38 (12): 1943-1949.