

Maisons-Alfort, le 13 septembre 2005

## **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 NK 603 x MON 810, tolérant au glyphosate et résistant à des insectes, pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de grains et de produits dérivés, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003**

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 21 juillet 2005 par la Direction générale de 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 du maïs génétiquement modifié NK 603 x MON 810, tolérant au glyphosate et résistant à des insectes, pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de grains et de produits dérivés, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003 (dossier n°EFSA-GMO-UK-2004-01).

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 pour animaux, génétiquement modifiés 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'expert spécialisé "Biotechnologie", réuni le 8 septembre 2005, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments émet l'avis suivant.

**(A) Information générale**

La demande, objet du présent avis, porte sur un maïs hybride issu du croisement conventionnel entre la lignée NK 603 rendue tolérante au glyphosate par introduction de deux gènes *CP4 EPSPS* et *CP4 EPSPS L214P* et la lignée MON 810 rendue résistante à des insectes par l'introduction du gène *Cry1Ab*.

Le maïs portant l'événement de transformation NK 603 a été examiné par le Comité "Biotechnologie" de l'Afssa en mars 2003 et en novembre 2003 et par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA) en novembre 2003. La consommation de maïs NK 603 a été considérée comme ne présentant pas de risque pour la santé du consommateur et des animaux. Des variétés de maïs génétiquement modifié portant l'événement de transformation NK 603 et destinées à l'alimentation animale sont autorisées en Europe par décision de la Commission 2004/643/CE du 19 juillet 2004.

Des variétés de maïs génétiquement modifié portant l'événement de transformation MON 810 sont autorisées en Europe pour leur culture et leur utilisation par décision de la Commission 98/294/CE du 22 avril 1998 et en France par arrêté du 5 août 1998.

**(C.) Informations relatives à la modification génétique**

***Evénement NK 603***

Considérant que la construction introduite par biolistique est constituée de deux gènes *CP4 EPSPS* et *CP4 EPSPS L214P* en tandem permettant l'expression de deux protéines *CP4 EPSPS* et *CP4 EPSPS L214P* impliquées dans la tolérance au glyphosate et que le premier gène est contrôlé par le promoteur de l'actine de riz, le second par le promoteur

35S du virus de la mosaïque du chou-fleur, et que dans le génome du maïs, il y a une seule insertion et cette insertion contient une seule construction (vérification par Southern) ;

Considérant que deux changements de nucléotides sont observés dans le second gène, présents dès la transformation initiale, que le premier de ces nucléotides correspond à une mutation silencieuse et que le second entraîne la substitution d'un acide aminé en position 214 : la leucine est remplacée par une proline ;

Considérant que la construction finale ne comprend pas de gène de résistance à un antibiotique (vérification faite) ;

**Evénement MON 810**

Considérant que la lignée MON 810 est porteuse du gène tronqué *Cry1Ab* de *Bacillus thuringiensis* codant une protéine "toxique" spécifique de certains lépidoptères notamment *Ostrinia nubilalis* et *Sesamia* spp. ;

**Hybride NK603 x MON 810**

Considérant que l'hybride résulte d'un croisement conventionnel des deux lignées de maïs, NK 603 et MON 810 ;

(D) **Informations relatives à la plante génétiquement modifiée**

(2.a) Considérant que le génome de l'hybride NK 603 x MON 810 contient deux inserts localisés sur des chromosomes différents, l'un correspond aux gènes *CP4 EPSPS* et *CP4 EPSPS L214P* localisé sur le chromosome 6, l'autre au gène tronqué *Cry1Ab* localisé sur le chromosome 8, après vérification par Southern blot et que ce croisement n'a pas altéré la fonctionnalité des inserts ;

(3) **Informations relatives à l'expression des produits de gène**

Considérant que le dosage quantitatif des protéines exprimées (méthode ELISA) dans le grain et le fourrage (plantes cultivées en 2000 sur trois sites expérimentaux français) ;

Considérant que les teneurs en protéines dans le témoin non génétiquement modifié, les lignées NK 603 et MON 810, et l'hybride NK 603 x MON 810 sont les suivantes :

Maïs	Teneur en protéine Cry 1A(b) (résistance aux insectes) (µg/g de poids frais)		Teneur en protéine CP4EPSPS (tolérance au glyphosate) (µg/g de poids frais)	
	Fourrage	Grain	Fourrage	Grain
Témoin (non GM)	< 0,27 (LD <sup>(1)</sup> )	< 0,13 (LD)	< 0,38 (LD)	< 0,08 (LD)
NK 603 (glyphosate)	< 0,27 (LD)	< 0,13 (LD)	<b>37,2</b> (8,5-78)	<b>13,4</b> (1,2-18)
MON 810 (Cry1Ab)	<b>6,40</b> (2-9,9)	<b>0,72</b> (0,4-1,1)	< 0,38 (LD)	< 0,08 (LD)
NK 603 x MON 810	<b>6,06</b> (2,8-8,8)	<b>0,73</b> (0,5-1,0)	<b>36,3</b> (12,6-61,4)	<b>12,7</b> (2-21,9)

<sup>(1)</sup> : Limite de détection

Considérant que la protéine Cry1Ab se stocke dans le cytoplasme tandis que la protéine CP4EPSPS se stocke dans les chloroplastes ;

Considérant que ces données indiquent clairement que l'hybride "hélite" quantitativement, notamment dans le cas du fourrage, de la haute teneur en Cry1Ab de son parent MON 810 et de la haute teneur en CP4 EPSPS de son parent NK 603 ;

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

Considérant que la stabilité génétique et phénotypique des lignées parentales NK 603 et MON 810 a été vérifiée au cours de plusieurs générations ;

Considérant que les risques d'une recombinaison entre les deux événements de transformation reste hautement improbable, notamment du fait que :

- ces événements sont localisés sur des chromosomes différents et qu'il n'existe pas, à ce jour, de mécanisme connu qui permette une telle recombinaison ;
- chez les eucaryotes, le processus de recombinaison intervient lors de la méiose et entre séquences alléliques ;
- l'existence d'un nombre important de séquences répétées dans le génome du maïs sont sans doute plus à même de générer des recombinaisons que n'importe lequel des inserts (transposons et rétrotransposons) ;
- des recombinaisons mitotiques peuvent éventuellement se produire avec une fréquence de  $10^{-4}$ - $10^{-5}$  si des homologies significatives existent entre les deux cibles (c'est à dire une homologie sur au moins 500 nucléotides) et si ces séquences sont physiquement liées, ce qui n'est pas le cas des événements NK 603 et MON 810 ;
- si toutefois, de tels événements se produisaient, les conséquences en seraient minimales, entraînant potentiellement une différence d'expression de ces gènes qui pourrait représenter une augmentation de l'ordre de 1% pour la protéine concernée. L'exposition à cette teneur plus élevée en protéine ne remettrait pas en cause le facteur de sécurité établi pour la consommation de ces protéines ;
- si malgré tout cette recombinaison se produisait, elle ne serait pas "disséminée" dans l'environnement puisque le grain F2 est destiné à la consommation et non à la culture ;

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

- (7.1-3) Considérant que les analyses de composition de l'hybride NK 603 x MON 810 (traité au glyphosate) comparées à celles d'une variété similaire non transgénique et de 5 variétés d'hybrides commercialisées ont porté sur le grain et le fourrage issus de plantes cultivées sur trois sites (4 répétitions par site) en France en 2000 ; pour le grain, 52 composants ont été analysés dont : humidité, protéine brute, matière grasse, cendres, ADF<sup>1</sup>, NDF<sup>2</sup>, acides aminés, acides gras, calcium, cuivre, fer, magnésium, manganèse, phosphore, potassium, sodium, zinc, acide phytique et facteurs anti-trypsique, métabolites secondaires (acide férulique, inositol, raffinose et acide p-coumarique) et pour le fourrage, 7 composants dont : humidité, protéine brute, matière grasse, cendres, ADF NDF ;

Considérant que les résultats disponibles font apparaître 56 différences statistiquement significatives (à  $p < 0,05$ ) sur 236 comparaisons site par site, que ces différences se limitent à 14 lorsque l'analyse porte sur tous sites confondus mais qu'elles ne reflètent pas une signification biologique précise car comprises dans la gamme de variation que l'on observe systématiquement lorsque les génotypes sont cultivés dans des endroits différents et d'une année sur l'autre ;

Considérant que, bien que restant dans la fourchette des teneurs observées dans les tables, une valeur significativement plus faible en arginine, histidine et cystine et une teneur supérieure en phénylalanine et en leucine du grain de l'hybride par rapport au témoin dans l'analyse globale effectuée sur trois sites avait été observée dans les essais réalisés en France ;

Considérant qu'une analyse complémentaire, réalisée aux Etats-Unis, sur deux sites en Illinois en 2001 et 2002, montrant que les teneurs en arginine, histidine, cystine, phénylalanine et leucine mesurées dans l'hybride NK 603 x MON 810 sont dans la fourchette des teneurs mesurées dans les grains récoltés en 2001 et 2002, permet de considérer le maïs NK 603 x MON 810 comme présentant une équivalence de composition aux autres maïs grain ;

<sup>1</sup> ADF : résidu après traitement par un détergent acide

<sup>2</sup> NDF : teneur en paroi cellulaire estimée par le résidu obtenu à la suite d'un traitement contenant un détergent neutre

**(7.4) Caractéristiques agronomiques**

Considérant qu'une comparaison des caractéristiques agronomiques et phénotypiques sur des semis, effectués sur 4 sites aux USA avec 4 répétitions par site, n'a mis en évidence aucune différence entre la plante témoin et l'hybride sur 14 paramètres dont la teneur en matière sèche, ce qui renforce l'équivalence en substance ;

**(7.8) Toxicologie**

(7.8.a) Considérant que les protéines CP4 EPSPS et Cry1Ab ont déjà fait l'objet :

- d'une étude de toxicologie aiguë chez la souris et qu'aucun effet toxique aigu n'a été observé ;
- de tests de digestion protéolytique *in vitro* et que ces protéines sont rapidement dégradées ;

**(7.8.d) Etude de toxicité chez l'animal de laboratoire**

Considérant que les lignées parentales NK 603 et MON 810 ont fait l'objet d'une étude de toxicité subchronique de 90 jours chez le rat et qu'aucun effet néfaste n'a été observé ;

Considérant que l'hybride NK 603 x MON 810 n'a volontairement pas été testé pendant 90 jours chez le rat, le pétitionnaire estimant que :

- les deux essais de toxicité sub-chronique réalisés avec chacun des maïs parents ont démontré l'innocuité de l'hybride,
- les protéines CP4 EPSPS et Cry1Ab ont des modes d'actions différents et s'accumulent dans des compartiments cellulaires différents, respectivement les chloroplastes et le cytoplasme,
- leur niveau d'expression est très faible dans la plante limitant leur risque d'interaction,
- l'étude réalisée chez le poulet ne met pas en évidence d'effets délétères liés à la présence des deux gènes dans l'hybride (voir 7.10.2) ;

Considérant que la probabilité que la combinaison des 2 insertions conduisent à la production d'une toxine dans l'hybride NK 603 x MON 810 peut être considérée comme négligeable ;

**(7.9) Allergénicité**

Considérant que la comparaison des séquences d'acides aminés des protéines CP4 EPSPS et Cry1Ab avec celle des allergènes connus permet d'écarter un risque d'allergénicité de ces protéines ;

Considérant qu'il convient de noter que les données disponibles (résultats de dégradation *in vitro* et comparaison de séquences) ne suffisent pas, pour autant, pour 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 de l'hybride**

Considérant que l'analyse de composition de l'hybride n'a pas mis en évidence de différences significatives sortant des fourchettes de variations habituelles des composants analysés (voir 7.1-3) ;

Considérant qu'un essai d'alimentarité a été réalisé sur 800 poulets nourris (50 à 65 % de la ration alimentaire) pendant 42 jours avec du maïs hybride NK 603 x MON 810 et que 8 paramètres zootechniques et 13 paramètres mesurés sur la carcasse des animaux abattus à l'issue de l'expérimentation ;

Considérant que les données relatives à ces paramètres ont été comparées à celles obtenues chez des poulets nourris dans les mêmes conditions avec un maïs témoin RX730 et 5 variétés commerciales cultivées en 2000 ;

Considérant que, bien qu'une réduction significative ( $p < 0,05$ ) de la teneur en protéines du muscle pectoral chez les animaux recevant le maïs hybride NK 603 x MON 810 soit

observée mais que de telles différences sont historiquement observées chez cette souche de poulet, l'analyse statistique de toutes les autres données ne montre pas de différences entre l'hybride NK 603 x MON 810 et l'ensemble des témoins, permettant de considérer que le maïs hybride présente une équivalence nutritionnelle par rapport aux maïs témoins,

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que les données fournies dans ce dossier initial permettent de conclure à l'équivalence de composition chimique et nutritionnelle entre les maïs génétiquement modifiés et les variétés témoins et que la consommation de maïs NK 603 x MON 810 ne présente pas de risques nutritionnels pour l'homme et l'animal.

**Pascale BRIAND**