

Maisons-Alfort, le 17 septembre 2007

AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché d'un maïs
génétiquement modifié 1507 x 59122 résistant à des insectes et tolérant
à un herbicide, pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et
animale de grains et de ses 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 30 juillet 2007 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 d'un maïs génétiquement modifié 1507 x 59122 résistant à des insectes et tolérant à un herbicide, pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de grains et de ses produits dérivés, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003 (dossier n°EFSA-GMO-NL-2005-15).

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 14 septembre 2007, 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 1507 x 59122, obtenu par croisement conventionnel de deux lignées de maïs génétiquement modifié : le maïs 59122 portant deux gènes codant les protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1, toxiques pour les larves de coléoptères tels que les chrysomèles ou *Diabrotica* spp et un gène *pat* conférant à la plante la tolérance à un herbicide, le glufosinate d'ammonium, et le maïs 1507 portant un gène codant la protéine Cry1F, toxique pour les larves de lépidoptères telles que *Ostrinia nubilalis* et *Sesamia* spp ainsi qu'un gène *pat* (tolérance au glufosinate d'ammonium).

Les maïs portant l'événement 59122 ont été évalués par l'Afssa et ont fait l'objet d'un avis favorable (avis du 2 décembre 2005). Ils ont également été évalués par l'AESA avec un avis favorable [The EFSA Journal (2007) 470, 1-25] en vue de leur mise sur le marché au titre du règlement (CE) n°1829/2003.

Les maïs portant l'événement 1507 ont été évalués par l'Afssa et ont fait l'objet d'un avis favorable (avis du 28 janvier 2004) au titre du règlement (CE) n°258/97. Ils ont également été évalués par l'AESA avec un avis favorable [The EFSA Journal (2005) 182, 1-22] en vue de leur mise sur le marché au titre du règlement (CE) n°1829/2003. Les maïs portant l'événement de transformation 1507 sont autorisés pour la consommation humaine et animale (Décision de la Commission 2005/772/CE et 2005/197/CE).

Le présent avis s'appuie sur les évaluations déjà réalisées pour chacune de ces lignées et présentées dans les avis de l'Afssa et de l'AESA cités ci-dessus.

(C) Informations relatives à la modification génétique

Considérant que le maïs 1507 x 59122 a été obtenu par croisement conventionnel de deux lignées de maïs génétiquement modifié 59122 et 1507 et qu'aucune autre modification génétique n'a été introduite dans ce maïs. Il comporte les deux événements de transformation suivants apportés par les lignées parentales :

(1) Événement 59122

L'événement 59122 a été introduit par transformation d'embryons immatures de maïs avec une souche désarmée d'*Agrobacterium* portant le vecteur de transformation PHP17662. L'ADN-T comporte les éléments suivants :

- la bordure droite de l'ADN-T,
- le gène *cry34Ab1* originaire de *Bacillus thuringiensis* souche PS149B1 sous contrôle du promoteur ubiquitine *ubi1ZM* et d'un terminateur d'un gène de pomme de terre,
- le gène *cry35Ab1* originaire de *Bacillus thuringiensis* souche PS149B1 sous contrôle du promoteur du gène de la peroxydase du blé et du même terminateur que précédemment,
- le gène *pat* originaire de *Streptomyces viridochromogenes* sous contrôle des promoteur et terminateur 35S du CaMV (virus de la mosaïque du chou-fleur),
- la bordure gauche de l'ADN-T.

Événement 1507

L'événement 1507 a été introduit dans le génome nucléaire du maïs par biolistique. Il comporte deux gènes, le gène *cry1F*, isolé de *Bacillus thuringiensis ssp aizawai*, codant la protéine tronquée Cry1F et conférant la résistance à certains lépidoptères et le gène *pat*, isolé de *Streptomyces viridochromogenes*, codant la protéine phosphinotricine acétyl transférase (PAT) et conférant la tolérance au glufosinate-ammonium ; le gène *cry1F* est contrôlé par le promoteur constitutif de l'ubiquitine du maïs et le gène *pat* par le promoteur constitutif 35 S du virus de la mosaïque du chou-fleur.

(D) Informations relatives à la plante génétiquement modifiée

- (2)** Considérant que les analyses de type Southern, utilisant une large gamme d'enzymes de restriction et de sondes spécifiques des inserts 59122 et 1507, montrent que les inserts présents chez l'hybride correspondent bien aux inserts hérités de chacun des parents, que la structure moléculaire des inserts tels que décrits chez les parents est préservée chez l'hybride obtenu par croisement conventionnel et que les inserts sont situés dans le génome nucléaire de l'hybride ;

Considérant cependant qu'aucune information n'est donnée sur le mode de constitution de l'hybride porteur des deux événements de transformation ;

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

Considérant que la teneur en protéines Cry34Ab1, Cry35Ab1, PAT et Cry1F a été mesurée par la méthode ELISA dans différents organes (feuille, racine, tige, fourrage, pollen et grain) prélevés à différents stades de maturité sur des plantes, traitées et non traitées au glufosinate d'ammonium, cultivées aux Etats-Unis (4 sites) et au Canada (1 site) en 2003 ;

Considérant que les teneurs moyennes en protéines Cry34Ab1, Cry35Ab1, PAT et Cry1F dans le grain issu de maïs hybride 1507 x 59122 traité et non traité au glufosinate sont les suivants (tableau 1) :

Tableau 1 : Teneurs moyennes en protéines Cry34Ab1, Cry35Ab1, PAT et CRY1F mesurées dans des plantes traitées au glufosinate d'ammonium et comparées aux teneurs en protéines mesurées chez les parents

Événement et type de traitement	Teneur moyenne en protéine (ng/mg en poids sec de tissu) ^(a)	Ecart-type	Min/max (ng/mg en poids sec de tissu)
Protéine Cry34Ab1			
1507 x 59122 + glufosinate-ammonium	42,9	11,7	23,5 – 69,1
1507 x 59122 non traité	45,7	9,5	33,6 – 63,2
59122 + glufosinate-ammonium ^(b)	36,40	8,9	
Protéine Cry35Ab1			
1507 x 59122 + glufosinate-ammonium	1,41	0,50	0,82 – 2,78
1507 x 59122 non traité	1,61	0,70	0,64 – 3,35
59122 + glufosinate-ammonium ^(b)	2,00	0,7	
Protéine Cry1F			
1507 x 59122 + glufosinate-ammonium	1,70	0,58	0,56 – 2,86
1507 x 59122 non traité	2,04	0,74	0,96- 3,81
1507 + glufosinate-ammonium ^(b)	2,5	0,9	1,2 – 3,1
Protéine PAT			
1507 x 59122 + glufosinate-ammonium	0,10	0,14	< LOQ - 0,44
1507 x 59122 non traité	0,11	0,14	< LOQ - 0,37
59122 +glufosinate-ammonium ^(b)	0,1	0,2	< LOQ - 0,94
1507+glufosinate-ammonium ^(b)	< LOQ		< LOQ

(a) Valeurs moyennes des 5 sites.

(b) Rappel des niveaux d'expression mesurés chez le parent correspondant repris dans les dossiers originaux
LOQ de PAT = 0,068 ng/mg de tissu en poids sec

Considérant que le niveau d'expression des protéines Cry34Ab1, Cry35Ab1, PAT et Cry1F sont comparables à celui mesuré respectivement chez chacun des parents ;

Considérant que les analyses réalisées dans les lignées parentales n'ayant pas mis en évidence de protéines de fusion (voir avis Afssa relatifs aux deux lignées parentales) et que les niveaux d'expression dans l'hybride sont comparables à ceux des parents, il est peu probable que l'hybride exprime lui-même des protéines de fusion ;

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

Considérant qu'aucune instabilité n'a été observée sur les maïs 59122 et 1507, cultivés depuis plusieurs années dans un grand nombre de lieux ainsi que dans différents contextes génétiques ;

Considérant que la stabilité génétique et phénotypique des inserts dans l'hybride a été vérifiée par Southern sur une génération ;

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

(7.1-3) Considérant qu'une analyse de composition chimique a été réalisée à partir d'échantillons d'un maïs hybride portant les événements 59122 et 1507 cultivé sur 5 sites (3 répétitions par site) aux Etats-Unis et au Canada en 2003 traité deux fois au glufosinate ou non traité et d'échantillons d'un maïs témoin ayant le même fonds génétique cultivé conjointement avec le maïs hybride 1507 x 59122 ;

Considérant que cette analyse porte sur le grain pour un ensemble de paramètres dont notamment 9 minéraux, 5 vitamines, 18 acides aminés, 5 acides gras, 7 métabolites secondaires et facteurs antinutritionnels potentiels (furfural, acide phytique, inositol, raffinose, acide férulique, acide para-coumarique, inhibiteur de trypsine) ;

Considérant que les résultats montrent que l'on observe quelques différences significatives pour certains paramètres mais que :

- ces différences statistiquement significatives observées entre le maïs 1507 x 59122 et son témoin sont sporadiques et inconstantes entre les sites, sans lien avec le traitement ou non par le glufosinate et, par conséquent, ne présentent pas de signification biologique,
 - ces valeurs restent dans la limite des fourchettes des tables de composition établies pour le maïs grain au niveau international (OCDE 2002¹),
- l'ensemble de ces données conduit à conclure à une équivalence en substance entre maïs hybride 1507 x 59122 et son témoin, excepté la présence de très faibles quantités de protéines recombinantes ;

(7.8) **Toxicologie**

(7.8.1) **Etude de la toxicité des protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1**

Considérant que des études de toxicité aiguë (administration unique) ont été réalisées chez la souris par voie orale et qu'à la dose de 2700 mg/kg p.c. pour la protéine Cry34Ab1 et de 1850 mg/kg p.c. pour la protéine Cry35Ab1, on n'observe aucun effet néfaste chez l'animal ; les deux protéines sont produites par *Pseudomonas fluorescens* dont l'équivalence vis-à-vis de celles exprimées dans la plante génétiquement modifiée a été vérifiée ;

Considérant qu'une étude de toxicité aiguë visant à évaluer les effets toxiques des deux protéines administrées conjointement par voie orale a été réalisée chez la souris et qu'à la dose de 482 mg/kg p.c. pour la protéine Cry34Ab1 et de 1520 mg/kg p.c. pour la protéine Cry35Ab1 on n'observe aucun effet néfaste chez l'animal ;

Considérant qu'une étude de toxicité 28 jours par voie orale a été réalisée chez la souris par administration répétée des protéines Cry34Ab1, Cry35Ab1 et Cry34Ab1 + Cry35Ab1 et qu'aucun effet délétère n'a été observé à la dose maximale testée de 197 mg/kg p.c./j de Cry34Ab1 et 7,8 mg/kg p.c./j de Cry35Ab1 ;

Etude de la toxicité de la protéine Cry1F

Considérant que la protéine Cry1F a fait l'objet d'une étude de toxicité aiguë (administration unique) chez la souris par voie orale et qu'aucun effet néfaste n'a été observé à la dose maximale administrée de 576 mg/kg p.c. ;

Etude de la toxicité de la protéine PAT

Considérant que la protéine PAT a fait l'objet d'une étude de toxicité aiguë (administration unique) chez la souris par voie orale et qu'aucun effet néfaste n'a été observé à la dose maximale administrée de 5000 mg/kg p.c. ;

Considérant qu'une étude de toxicité de 14 jours par administration répétée de la protéine PAT a été réalisée chez la souris par voie orale et qu'aucun effet délétère n'a été observé à la dose maximale testée de 7,6 mg/kg p.c./j (femelles) et 7,9 mg/kg p.c./j (mâles) ;

Considérant que les protéines Cry34Ab1, Cry35Ab1, PAT et Cry1F ont été comparées avec des protéines répertoriées dans les banques de données, connues pour être toxiques, immunotoxiques ou avoir une activité pharmacologique, et qu'elles ne présentent pas d'homologie de structure avec ces protéines ;

Considérant que les protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1 ont été testées *in vitro* dans un milieu gastrique simulé et qu'elles sont rapidement dégradées (5 à 7 minutes) et qu'elles perdent leur activité lorsqu'elles sont chauffées à 60 °C pendant 30 minutes ;

Considérant que les protéines PAT et Cry1F, soumises à des tests de digestion protéolytique *in vitro*, sont dégradées en moins de 5 à 15 secondes (modèle fluide gastrique simulé) ;

¹ OECD (2002) Consensus document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea mays*): Key food and feed nutrients, anti nutrients and secondary plant metabolites. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris. ENV/JM/MONO(2002)25

(7.8.4) **Etude de toxicité subchronique****Maïs 59122**

Considérant qu'une étude de toxicité subchronique a été réalisée durant 90 jours sur des rats des deux sexes (20 rats de chaque sexe/traitement) en vue d'étudier l'effet de la consommation de maïs grain 59122 incorporé à hauteur de 35 % à la ration alimentaire en comparaison avec un maïs témoin 091 ayant le même fonds génétique et avec un régime type de référence ;

Considérant que l'on observe des différences statistiquement significatives sur quelques paramètres hématologiques et biochimiques sanguins entre les rats nourris avec du maïs 59122 et les rats témoins mais que ces différences, ne s'observent que chez un seul sexe, qu'elles sont généralement dans les limites des variations spontanées de ces paramètres et qu'il n'apparaît pas, par ailleurs, d'événements convergents laissant supposer une polarité toxique particulière ; en conséquence, il peut être conclu que le traitement par le maïs 59122 est sans effet toxique chez le rat exposé pendant 90 jours via l'alimentation ;

Maïs 1507

Considérant qu'une étude de toxicité subchronique, réalisée durant 90 jours sur des rats des deux sexes (12 rats de chaque sexe/traitement) en vue d'étudier l'effet de deux taux d'incorporation (11 et 33 %) du maïs grain 1507 en comparaison avec un maïs "isogénique" et une variété commerciale de maïs (taux d'incorporation 33 %) n'a pas mis en évidence de différences significatives pour l'ensemble des paramètres observés entre les rats témoins et ceux recevant l'aliment à base de maïs transgénique ;

Maïs 1507 x 59122

Considérant qu'aucune étude de toxicité subchronique n'a été réalisée chez le rat avec le maïs hybride 1507 x 59122 mais que, compte tenu du fait que :

- des études de toxicité subchronique de 90 jours ont été réalisées avec les maïs parentaux 1507 et 59122 et qu'aucun effet délétère n'a été observé chez l'animal pour ces maïs,
- aucun effet toxique ou délétère chez l'animal de laboratoire n'a été mis en évidence pour les 4 protéines d'intérêt (voir 7.8.1),
- les niveaux d'expression des protéines d'intérêt, compte tenu des écart-types observés, n'étant pas modifiés chez l'hybride comparés aux niveaux mesurés chez les parents, un tel élément est en faveur d'une absence d'interaction entre les événements de transformation,
- une étude d'alimentarité a été réalisée chez le poulet qui permet de conclure à l'équivalence nutritionnelle du maïs hybride avec son témoin (voir 7.10),

il est possible de considérer que ces éléments, notamment les résultats des deux essais de toxicité subchronique sur chacun des maïs parents, sont suffisants pour démontrer la non toxicité des produits de l'hybride 1507 x 52122 ;

(7.9) **Allergénicité**

Considérant :

- l'absence de glycosylation des protéines Cry34Ab1, Cry35Ab1, PAT et Cry1F d'origine microbienne ou extraites de la plante,
- leur instabilité à la chaleur et leur dégradation rapide *in vitro* en milieu gastrique simulé,
- l'absence d'homologie des séquences des acides aminés de ces protéines avec des séquences de protéines connues pour être allergènes,

l'existence d'un potentiel allergénique de ces protéines peut ne pas être suspecté ;

Considérant qu'il convient de noter que ces données (résultats de dégradation et digestion *in vitro* des protéines 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**

Considérant qu'une étude d'alimentarité a été réalisée chez le poulet nourri pendant 42 jours avec trois régimes 53 %², 58 % et 70 % [correspondant aux périodes de démarrage (0-21 jours), de croissance (22-35 jours) et de finition (36-42 jours)] de maïs 1507 x 59122 traité deux fois au glufosinate, en comparaison avec des poulets nourris dans les mêmes conditions avec du maïs témoin 091 ayant le même fonds génétique et trois variétés de maïs commercialisées (480 poulets mâles et femelles répartis en 7 traitements) ;

Considérant que les teneurs en protéines Cry34Ab1, Cry35Ab1, PAT et Cry1F ont été vérifiées dans les différentes rations et que l'analyse de composition du grain de maïs 1507 x 59122 donné aux animaux confirme l'équivalence en substance démontrée dans l'étude de composition (voir 7.1-3) ;

Considérant que (tableau 3) :

- les performances zootechniques des poulets, notamment l'indice de consommation, ne diffèrent pas significativement entre le témoin et le maïs testé et qu'elles ne sont pas affectées par le traitement herbicide de la plante ;
- le poids des organes (foie et reins) et le gras abdominal ainsi que les paramètres de carcasses ne présentent pas de différences significatives,

Tableau 3 : Paramètres mesurés dans l'étude réalisée chez le poulet en 2004 avec le maïs 1507 x 59122 et comparés à ceux de l'étude de 2000 réalisée avec le parent 1507

Evènement	Etude réalisée en 2004		Etude réalisée en 2000	
	Témoin 091	1507 x 59122	Témoin 7250	1507
Protéines (% MS)	7,92	6,92	7,25	8,90
Lysine	0,31	0,29	0,25	0,28
Méthionine + Cystine	0,33	0,28	0,31	0,34
Poids 42 j (g)	1913	1915	1739	1757
Ind. consommation (kg/kg)	1,903	1,874	1,802	1,775
Poids des organes (% p.v.)				
Reins	2,04	2,05	-	-
Foie	3,53	3,63	-	-
Gras abdominal	1,48	1,49	-	-

sur la base de l'analyse de ces résultats, il peut être conclu à la fois à une équivalence nutritionnelle du maïs hybride 1507 x 59122 avec son témoin non génétiquement modifié, ainsi qu'à une absence de toxicité de ce maïs pour le poulet, et partant pour l'homme,

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments considère qu'au regard notamment des données sur l'analyse des résultats de composition chimique, les données de toxicité chez les parents et de l'étude d'alimentarité chez l'animal cible, les produits dérivés des variétés de maïs portant dans le même génome les événements de transformation 1507 et 59122 présentent le même niveau de sécurité sanitaire que le maïs conventionnel et ses produits dérivés.

Il convient cependant de noter qu'aucune information n'est donnée sur le mode de constitution de l'hybride porteur des deux événements de transformation. Cette information, même si elle n'affecte pas l'évaluation des risques de cet organisme génétiquement modifié, devrait être fournie dans le dossier. En effet, dans ce type de dossier où les empilements de gènes sont plus nombreux, une telle information devient nécessaire pour rendre transparente au plan de la génétique formelle les constitutions génétiques et mieux comprendre la pertinence des témoins.

Pascale BRIAND

Mots clés : OGM, maïs, 59122, 1507, glufosinate, herbicide, résistance à des insectes

² correspondant à 8 % de Cry1F, 4 % de Cry34Ab1 et 7 % de Cry35Ab1. Les teneurs en PAT sont toutes inférieures à la limite de quantification.