

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 23 mai 2018

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 MZIR098, développé pour être résistant à certains coléoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-DE-2017-142)

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 17 août 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 MZIR098, développé pour être résistant à certains coléoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-DE-2017-142).

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 les 16 novembre et 21 décembre 2017 ainsi que le 19 avril 2018, sur la base de rapports initiaux rédigés par cinq rapporteurs. Elle a été menée en se basant sur les documents guides du Panel GMO de l'EFSA (2006, 2011) 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, le Mexique, l'Ukraine et l'Inde, qui représentent plus de 75 % de la production mondiale. En 2016, cette production était de 1 060 107 470 tonnes (dont 62 667 522 tonnes pour une surface récoltée de 8 818 956 hectares dans l'Union européenne, FAOSTAT¹) et 33 % du maïs cultivé était génétiquement modifié (James, 2016).

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 MZIR098 a été génétiquement modifié afin d'introduire dans son génome les cassettes d'expression des gènes *ecry3.1Ab* et *mcry3A*. Les protéines codées par ces gènes, eCry3.1Ab et mCry3A, confèrent à la plante la résistance à certains coléoptères. La cassette d'expression du gène *pat-08* a également été introduite dans le génome du maïs MZIR098. Ce gène code une phosphinothricine N-acétyltransférase (PAT), qui confère à la plante la tolérance au glufosinate-ammonium. Ce caractère n'est pas revendiqué par le pétitionnaire, qui indique l'avoir utilisé pour sélectionner les transformants. Toutefois, dans la mesure où il est effectivement présent chez le maïs MZIR098, il est évalué dans cet avis au même titre que ceux conférés par les gènes *ecry3.1Ab* et *mcry3A*.

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.

¹ <http://faostat3.fao.org/home/F>

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*. Cette souche contenait le plasmide pSYN17629, qui porte les cassettes d'expression des gènes *ecry3.1Ab*, *mcry3A* et *pat-08* entre les bordures droite et gauche de l'ADN-T, ainsi que le plasmide auxiliaire (helper) pSB1, qui porte 3 gènes de virulence d'*A. tumefaciens* (*virB*, *virC* et *virG*) nécessaires au transfert 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 pSYN17629 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 *ecry3.1Ab*, *mcry3A* et *pat-08* et sur l'absence du gène *aadA-03* (marqueur de sélection) porté par le squelette du vecteur pSYN17629. Elles ont ensuite été transférées en serre pour poursuivre la multiplication.

L'ADN-T inséré dans le maïs MZIR098 contient les cassettes d'expression des gènes *ecry3.1Ab*, *mcry3A* et *pat-08*, dont les caractéristiques sont les suivantes :

- 1) la cassette codant la protéine eCry3.1Ab comprend la séquence codante du gène *ecry3.1Ab* placée sous le contrôle d'une séquence enhancer du gène de la nopaline synthase (NOS) d'*A. tumefaciens*, du promoteur CMP-04 du virus des feuilles jaunes en cuillère du *Cestrum* (CmYLCV) et de la séquence terminatrice NOS-05-01 issue du gène NOS d'*A. tumefaciens* ;
- 2) la cassette codant la protéine mCry3A comprend la séquence codante du gène *mcry3A* placée sous le contrôle du promoteur Ubi1-18 d'un gène de maïs codant une polyubiquitine et du terminateur NOS-20 issu du gène NOS d'*A. tumefaciens* ;
- 3) la cassette codant la protéine PAT comprend la séquence codante du gène *pat-08* placée sous le contrôle de la région promotrice 35S-04 du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV) et de la séquence terminatrice NOS-05-01 issue du gène NOS d'*A. tumefaciens*.

Les promoteurs utilisés permettent d'obtenir une expression constitutive des gènes *ecry3.1Ab*, *mcry3A* et *pat-08*. La séquence de ces 3 gènes a été modifiée afin d'optimiser l'usage des codons pour une expression dans le maïs. Les protéines eCry3.1Ab, mCry3A et PAT codées par ces gènes sont identiques à celles exprimées dans les maïs 5307, MIR604 et Bt11, respectivement.

Les protéines eCry3.1Ab et mCry3A sont des protéines chimériques, définies pour présenter une activité insecticide accrue contre certains coléoptères, dont *Diabrotica virgifera virgifera*. La protéine eCry3.1Ab (653 acides aminés) est constituée par la fusion d'un motif de 22 acides aminés (MTSNGRQCAGIRPYDGRQQHRG) avec l'extrémité 5' (domaine I, domaine II et 15 acides aminés du domaine III, soit 459 acides aminés) de la protéine mCry3A décrite ci-après et l'extrémité 3' (domaine III et région variable 6, soit 172 acides aminés) d'une protéine Cry1Ab synthétique dérivée de *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki*, souche HD-1. Contrairement à la protéine Cry1Ab native, cette région de la protéine Cry1Ab ne présente pas d'activité vis-à-vis des lépidoptères. La protéine mCry3A (598 acides aminés) correspond à la séquence native de la

protéine Cry3A de *B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis*, dont les 47 premiers acides aminés ont été supprimés et dans laquelle un site de reconnaissance de la cathepsine G (protéase à sérine) a été inséré en position 155 (substitution des acides aminés VSS par les acides aminés AAPF).

La protéine PAT (183 acides aminés) exprimée dans le maïs MZIR098 correspond à la protéine native codée par le gène *pat* de *Streptomyces viridochromogenes*, souche Tü494, modifié pour éliminer un site de restriction XmaI. Cette protéine confère à la plante la tolérance au glufosinate-ammonium *via* sa métabolisation en N-acétyl-glufosinate (NAG), qui n'est pas phytotoxique.

II.1.2.2. Informations concernant la plante génétiquement modifiée

L'analyse moléculaire du maïs MZIR098 repose sur des analyses de type Southern blot et sur l'amplification par PCR et le séquençage de l'insert (8467 pb) et des régions flanquantes en 5' et en 3' de l'insert (1175 et 1296 pb, respectivement). Ces analyses ont été menées sur l'événement MZIR098 placé dans le fonds génétique NP2222, en utilisant à juste titre la lignée non génétiquement modifiée NP2222 comme témoin négatif.

La séquence du génome de la lignée NP2222 au niveau du site d'insertion de l'ADN-T a également été déterminée. Elle a été comparée avec celles des régions flanquantes en 5' et en 3' de l'insert obtenues sur le maïs MZIR098, afin d'identifier d'éventuelles modifications du génome du maïs qui résulteraient de l'intégration de l'ADN-T.

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 MZIR098 avec celles de l'ADN-T présent dans le vecteur pSYN17629, à l'exception d'une délétion de 10 pb dans la bordure gauche de l'ADN-T et d'une délétion de 35 pb correspondant à la bordure droite de l'ADN-T (25 pb) et aux 10 pb adjacentes à cette bordure. Ces délétions ne semblent pas affecter la fonctionnalité des cassettes d'expression des gènes *ecry3.1Ab*, *mcry3A* et *pat-08* ;
- une délétion de 24 pb dans le génome de la plante au site d'insertion ;
- l'absence de séquences issues du squelette du vecteur plasmidique.

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

Les analyses bioinformatiques ne mettent pas en évidence de nouveau cadre ouvert de lecture (ORF) homologue d'une toxine ou d'un allergène connu(e) et susceptible d'être exprimé. La modification génétique ne semble pas avoir interrompu un gène du maïs.

Les teneurs des protéines eCry3.1Ab, mCry3A et PAT dans les plantes entières et dans différents organes (feuilles, racines, pollen et grains) ont été mesurées à différents stades de développement de la plante à l'aide de tests ELISA. Les plantes ont été cultivées sur 4 sites aux USA en 2013, avec et sans traitement avec du glufosinate-ammonium (T et NT, respectivement). Les concentrations des protéines eCry3.1Ab et mCry3A sont quantifiables dans tous les tissus analysés, à l'exception du pollen, dans lequel la protéine eCry3.1Ab n'est pas détectable. Dans les grains au stade mature (R6), la concentration moyenne de protéine eCry3.1Ab est de 1,58 (\pm 0,62) et de 1,23 (\pm 0,58) μ g/g de matière fraîche et la concentration moyenne de protéine mCry3A est de 9,76 (\pm 2,36) et de 9,73 (\pm 2,27) μ g/g de matière fraîche pour le maïs MZIR098 NT et T, respectivement. La teneur en protéine PAT est quantifiable dans tous les tissus analysés aux stades V6 (6 feuilles ligulées) et R1 (floraison femelle), à l'exception du pollen, dans lequel la protéine n'est pas détectable. Elle n'est ensuite plus quantifiable au stade mature (R6) et au moment de la sénescence de la plante dans aucun des tissus analysés, à l'exception des feuilles

du maïs MZIR098 T au stade mature (R6), dans lesquelles elle est de 0,35 (\pm 0,20) $\mu\text{g/g}$ de matière fraîche.

II.1.2.3. Informations complémentaires relatives à la plante génétiquement modifiée requises pour l'évaluation des risques pour l'environnement

Hors du périmètre de la saisine.

II.1.2.4. Conclusions de la caractérisation moléculaire

La caractérisation moléculaire du maïs MZIR098 est correctement réalisée. L'analyse des résultats présentés par le pétitionnaire ne soulève pas de question particulière en termes de sécurité sanitaire.

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 MZIR098 est comparé avec une variété témoin non génétiquement modifiée de même fonds génétique (NP2391/NP2222) 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 « E06 » 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 comparative de la composition et des caractéristiques agronomiques et phénotypiques, le maïs MZIR098, 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. Sur chaque site, un dispositif expérimental en blocs randomisés à quatre répétitions a été utilisé.

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 les raisons exactes qui l'ont amené à écarter ces 2 sites.

Le pétitionnaire indique également que sur chaque site, le maïs MZIR098 a été cultivé avec ou sans traitement herbicide avec du glyphosate et du glufosinate-ammonium (respectivement T et NT). Or, le maïs MZIR098 n'est pas tolérant au glyphosate. Lorsque l'on compare le rapport de l'étude menée sur le maïs MZIR098 et celui de l'étude menée sur le maïs MZHG0JG (dossier n° EFSA-GMO-DE-2016-133), précédemment évalué par l'Anses (2017), il semble que le 1^{er} ait été adapté du second, les deux maïs génétiquement modifiés ayant visiblement été évalués dans les mêmes essais au champ. Sachant que le maïs MZHG0JG est tolérant au glyphosate, alors que le maïs MZIR098 est tolérant au glufosinate-ammonium, cette indication d'un traitement au glyphosate dans l'étude relative au maïs MZIR098 jette un doute sur l'ensemble des études et données fournies dans le présent dossier. Il est donc nécessaire que le pétitionnaire le passe en revue, afin de garantir que toutes les informations qu'il contient concernent le maïs MZIR098 et pas un autre OGM.

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 MZIR098 NT ou T, de la variété témoin ou des variétés commerciales) ;
- des effets aléatoires : « site », « bloc dans le site » et « variété commerciale ».

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 (2011). Les données brutes sous format électronique et les programmes de calcul sont fournis.

Le maïs MZIR098 est comparé à la variété témoin par des tests de différence et aux variétés commerciales de référence 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 qui figurent dans le document consensus de l'OCDE (2002) ont tous été analysés, à l'exception du DIMBOA pour le grain. Le pétitionnaire a dosé une quinzaine d'acides gras supplémentaires par rapport à ceux du document consensus de l'OCDE (2002). Bien que ces choix ne soient pas expliqués dans le dossier, ces analyses 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. En effet, les grains ayant été séchés afin d'en garantir la bonne conservation, leurs teneurs en eau n'ont pas été comparées. Par ailleurs, 15 composés mesurés dans les grains ont été exclus de l'analyse, car un nombre important des valeurs mesurées, voire la totalité de ces valeurs, étaient inférieures à la limite de quantification (LOQ) de la méthode de mesure.

L'analyse combinée de l'ensemble des sites d'expérimentation montre que le maïs MZIR098 (grains et fourrage) est équivalent aux variétés commerciales de référence. Les seules exceptions sont la teneur des grains en ADF (Acid Detergent Fibre) du maïs MZIR098 NT, classée dans le type 5 (pas de différence significative et équivalence moins probable que la non-équivalence), et la teneur des grains en NDF (Neutral Detergent Fiber) du maïs MZIR098 T, classée dans le type 6 (différence significative et équivalence moins probable que la non-équivalence). Les valeurs mesurées sur le maïs MZIR098 et la variété témoin sont très proches (3,96 % vs 3,88 % et 11,5 % vs 11,1 %, respectivement) 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 MZIR098 et le témoin, mais que l'équivalence du maïs MZIR098 avec les variétés commerciales de référence n'est pas démontrée. Les valeurs observées pour le maïs MZIR098 restent dans la plage des valeurs de la base de données de l'ILSI (2014)². Cependant, de même que pour les teneurs en ADF et NDF, il serait plus intéressant de situer ces valeurs par rapport aux plages 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 11 paramètres, dont 6 ont pu être utilisés pour les analyses statistiques, les 5 autres ne réunissant pas les conditions d'application de l'ANOVA. Sur la base de ces résultats, le maïs MZIR098 apparaît équivalent aux variétés commerciales sur le plan agronomique et phénotypique.

² ILSI (2014). International Life Sciences Institute Crop Composition Database, v. 5.1.

II.1.3.6. Effets de la transformation

Le pétitionnaire affirme que les produits issus du maïs MZIR098 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

Dans l'état actuel du dossier, il n'est pas possible de conclure concernant l'évaluation comparative du maïs MZIR098. En effet, le dossier comporte des imprécisions concernant le témoin utilisé dans les essais et les raisons pour lesquelles 2 sites ont été exclus. Par ailleurs, la mention d'un traitement herbicide avec du glyphosate, auquel le maïs MZIR098 n'est pas tolérant, jette un doute sur le fait que les données présentées dans le dossier concernent ce maïs et pas un autre OGM. Enfin, les plantes ayant été traitées avec du glufosinate-ammonium dans cet essai, le pétitionnaire aurait dû mentionner la tolérance à cet herbicide parmi les caractères revendiqués.

II.1.4. Toxicologie

II.1.4.1. Analyse des protéines nouvellement exprimées

Les protéines eCry3.1Ab, mCry3A et PAT exprimées dans le maïs MZIR098 sont identiques à celles exprimées dans les maïs 5307, MIR604 et Bt11, respectivement (Cf. II.1.2.1.). Concernant les maïs MIR604 et Bt11, l'Afssa³ a conclu que ces maïs et leurs produits dérivés présentent le même niveau de sécurité sanitaire que les maïs conventionnels et leurs produits dérivés (Afssa, 2005 et 2008a). De nombreux dossiers de plantes génétiquement modifiées empilées comportant les événements MIR604 et/ou Bt11 ont été évalués par l'Agence (Afssa, 2008b, c, d et e, 2009a et b ; Anses, 2012, 2016a et b) : lorsque les avis sont défavorables, les réserves ne portent pas sur la sécurité des protéines mCry3A et PAT. De la même manière, l'avis de l'Anses relatif au maïs 5307 est défavorable (Anses, 2011a), mais les réserves ne portent pas sur la sécurité de la protéine eCry3.1Ab.

L'évaluation de la sécurité des protéines eCry3.1Ab, mCry3A et PAT exprimées dans le maïs MZIR098 est donc fondée sur les éléments suivants :

- des analyses *in silico*, réalisées à l'aide de bases de données actualisées (2017), montrent que ces protéines 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 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 eCry3.1Ab, mCry3A et PAT du maïs MZIR098 a été démontrée, n'induisent pas de mortalité chez la souris aux doses maximales de 2 000 mg/kg p.c. (eCry3.1Ab et PAT) et 2 377 mg/kg p.c. (mCry3A) administrées par voie orale (gavage) ;
- les protéines mCry3A et PAT disposent d'un historique d'utilisation sûre, ce qui justifie qu'elles n'aient pas fait l'objet de nouvelles études de toxicité par administration orale répétée pendant 28 jours chez le rongeur ;
- la protéine eCry3.1Ab n'a pas induit d'effet ayant une signification biologique sur les paramètres mesurés dans une étude menée avec des souris traitées pendant 28 jours à la dose de 1 000 mg/kg p.c./jour ;
- les trois protéines sont rapidement dégradées en condition de digestion gastrique simulée (SGF) et en condition de digestion intestinale simulée (SIF).

³ Depuis le 1^{er} juillet 2010, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) et l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset) ont fusionné pour devenir l'Agence nationale chargée de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses).

Le pétitionnaire fournit également un argumentaire sur les interactions potentielles entre les protéines eCry3.1Ab, mCry3A et PAT. Ce point aurait dû être davantage documenté.

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 MZIR098.

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 2016-2017, 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, souche Wistar, ont été nourris avec des régimes alimentaires contenant :

- 10 % (p/p) d'un témoin non génétiquement modifié de même fonds génétique que le maïs MZIR098 (groupe 1) ;
- 41,5 % (p/p) de ce même témoin (groupe 2) ;
- 10 % (p/p) de la variété génétiquement modifiée MZIR098 (groupe 3) ;
- 41,5 % (p/p) de la variété génétiquement modifiée MZIR098 (groupe 4).

Les régimes contenant 10 % de maïs témoin ou MZIR098 n'ont pas été équilibrés de manière à contenir 41,5 % de maïs au total.

Le pétitionnaire indique que le maïs génétiquement modifié a été traité avec l'herbicide auquel il est tolérant. Il est nécessaire qu'il confirme qu'il s'agit de glufosinate-ammonium, compte tenu des imprécisions relatives aux traitements herbicides appliqués dans les essais au champ (Cf. II.1.3.2.). 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.

Les données brutes sous format électronique et les programmes de calcul sont 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, génotype et dose, et l'interaction des 3 termes, sexe, génotype et dose. Par ailleurs, les tableaux de résultats ne mentionnent pas de façon explicite les paramètres pour lesquels des différences significatives sont observées. Enfin, le nombre d'animaux (10 rats/groupe/sexe) ne correspond pas aux recommandations de l'Anses (2011b) 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 eCry3.1Ab, mCry3A et PAT exprimées dans le maïs MZIR098 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, notamment l'étude de puissance, 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 (2011) et fonde l'évaluation de l'allergénicité des protéines eCry3.1Ab, mCry3A et PAT exprimées dans le maïs MZIR098 sur quatre critères :

- 1) absence d'allergénicité connue des organismes source (*B. thuringiensis* pour eCry3.1Ab et mCry3A et *S. viridochromogenes* pour PAT) ;
- 2) absence d'homologies de séquences entre les protéines eCry3.1Ab, mCry3A 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 trois protéines à la protéolyse digestive ;
- 4) faible teneur en protéines eCry3.1Ab, mCry3A et PAT des grains du maïs MZIR098 (Cf. II.1.2.2.).

Les analyses bioinformatiques ne mettent pas en évidence d'identité de séquence entre les protéines eCry3.1Ab, mCry3A et PAT et des toxines ou des protéines adjuvantes confirmées. Par ailleurs, les faibles teneurs de ces protéines dans le maïs MZIR098 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.

Sur la base de l'ensemble de ces résultats, le potentiel allergénique des protéines eCry3.1Ab, mCry3A et PAT exprimées dans le maïs MZIR098 paraît extrêmement faible.

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

Le pétitionnaire rappelle, à juste titre, que la fréquence des allergies alimentaires liées au maïs est faible. Il indique qu'une augmentation de l'allergénicité du maïs MZIR098 par rapport à un maïs non génétiquement modifié est peu probable, en se fondant sur les résultats des analyses concernant l'allergénicité des protéines eCry3.1Ab, mCry3A et PAT et sur un argumentaire relatif aux interactions potentielles entre ces protéines. Le GT « Biotechnologie » considère que le pétitionnaire aurait dû détailler davantage les raisons qui lui permettent d'aboutir à cette conclusion.

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 eCry3.1Ab, mCry3A et PAT exprimées dans le maïs MZIR098 peut être considéré comme négligeable. Par ailleurs, ces protéines n'ont apparemment pas de propriétés adjuvantes. En revanche, le GT « Biotechnologie » considère que le pétitionnaire aurait dû détailler davantage les raisons qui lui permettent de considérer que l'allergénicité du maïs MZIR098 est vraisemblablement comparable 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 MZIR098 et les variétés commerciales conventionnelles.

II.2 Évaluation de l'exposition - Prévion 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 eCry3.1Ab, mCry3A et PAT au moment de la sénescence de la plante. A ce stade, la protéine PAT n'est pas détectable dans les grains (Cf. II.1.2.2.). Aussi, seule l'exposition aux protéines eCry3.1Ab, mCry3A a été calculée, en prenant pour chacune d'elles la valeur la plus élevée parmi toutes les mesures réalisées sur les grains (2,62 et 10,34 µg/g de matière fraîche, respectivement).

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 des protéines eCry3.1Ab et mCry3A est au maximum de 0,006 % et 0,024 % de l'ingéré protéique total, respectivement, pour les vaches laitières, les béliers, les brebis et les agneaux.

Chez l'Homme, l'estimation de l'exposition 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 protéines eCry3.1Ab et mCry3A est de 0,0256 et 0,1012 mg/kg p.c./j, respectivement, pour la catégorie « Other Children » en Suède.

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 des études de toxicité aiguë sur la souris par administration orale unique des protéines eCry3.1Ab et mCry3A (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 MZIR098. 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 »

La caractérisation moléculaire du maïs MZIR098 est correctement réalisée. L'analyse des résultats présentés par le pétitionnaire ne soulève pas de question particulière en termes de sécurité sanitaire. L'évaluation de la sécurité des protéines eCry3.1Ab, mCry3A et PAT exprimées dans le maïs MZIR098 ne met pas en évidence d'éléments permettant de conclure que ces protéines ont un effet toxique sur la santé humaine et animale. Sur la base des éléments fournis par le pétitionnaire, le potentiel allergénique de ces protéines peut être considéré comme négligeable. Par ailleurs, ces protéines n'ont apparemment pas de propriétés adjuvantes.

En revanche, dans l'état actuel du dossier, il n'est pas possible de conclure concernant l'évaluation comparative du maïs MZIR098. Il en est de même pour l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours sur rongeur. Par ailleurs, le GT « Biotechnologie » considère que le pétitionnaire aurait dû détailler davantage les raisons qui lui permettent de considérer que l'allergénicité du maïs MZIR098 est vraisemblablement comparable à celle d'un maïs conventionnel. Enfin, la tolérance au glufosinate-ammonium devrait figurer parmi les caractères revendiqués.

Dans ces conditions le GT « Biotechnologie » ne peut pas se prononcer sur la sécurité sanitaire du maïs MZIR098.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de 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 MZIR098 au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003. Cet avis défavorable est fondé sur le caractère incomplet ou imprécis du dossier fourni par le pétitionnaire qui, en l'état, ne répond pas pleinement aux exigences du Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013. Sachant que des études ou données complémentaires pourraient être versées au dossier à la demande de l'EFSA, le contenu du présent avis ne préjuge pas des conclusions qui pourraient être rendues ultérieurement par l'Anses au vu d'un dossier complété pour répondre pleinement aux exigences du règlement européen.

Dr Roger GENET

MOTS-CLES

OGM, maïs MZIR098, résistance aux coléoptères, eCry3.1Ab, mCry3A, tolérance au glufosinate-ammonium, PAT

GMO, MZIR098 maize, resistance to coleopteran insects, eCry3.1Ab, mCry3A, glufosinate-ammonium tolerance, PAT

BIBLIOGRAPHIE

- Afssa. 2005. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments du 2 décembre 2005 relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché d'un maïs génétiquement modifié MIR 604 résistant à des insectes, 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.
- Afssa. 2008a. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments du 3 juin 2008 relatif à la demande de renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché d'un maïs génétiquement modifié Bt11, résistant à des lépidoptères et tolérant au glufosinate d'ammonium, pour l'importation, la transformation de grains ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de grains et de produits dérivés, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003.
- Afssa. 2008b. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments du 15 mai 2008 relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché d'un maïs hybride génétiquement modifié Bt11 x GA21, résistant aux lépidoptères et tolérant au glufosinate d'ammonium et au glyphosate, pour l'importation et la transformation de cet OGM ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de graines et de ses produits dérivés, au titre du règlement (CE) n°1829/2003.

- Afssa. 2008c. Avis du 8 juillet 2008 relatif à une demande de mise sur le marché d'un maïs hybride génétiquement modifié MIR604xGA21, résistant aux chrysomèles des racines et tolérant au glyphosate, pour l'importation et la transformation de cet OGM ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de grains et de ses produits dérivés, au titre du règlement (CE) n°1829/2003.
- Afssa. 2008d. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments du 10 juin 2008 relatif à une demande de mise sur le marché d'un maïs hybride génétiquement modifié Bt11xMIR604, résistant aux insectes (lépidoptères et chrysomèles des racines) et tolérant au glufosinate d'ammonium, pour l'importation et la transformation de cet OGM ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de grains et de produits dérivés, au titre du règlement (CE) n°1829/2003.
- Afssa. 2008e. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments du 14 novembre 2008 relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de maïs hybride génétiquement modifié Bt11xMIR604xGA21, résistant à des insectes (lépidoptères et chrysomèles des racines) et tolérant aux herbicides glufosinate ammonium et glyphosate, pour l'importation et la transformation de cet OGM ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de ses grains et de produits dérivés, au titre du règlement (CE) n°1829/2003.
- Afssa. 2009a. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments du 22 octobre 2009 relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché du maïs hybride génétiquement modifié Bt11 x MIR162 x GA21, résistant à des insectes et tolérant à des herbicides, pour l'importation et la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de grains et de leurs produits dérivés, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003.
- Afssa. 2009b. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments du 22 octobre 2009 relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché du maïs hybride génétiquement modifié Bt11 x MIR162 x MIR604 x GA21, résistant à des insectes et tolérant à des herbicides, pour l'importation et la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de grains et de leurs produits dérivés, au titre du règlement (CE) n°1829/2003.
- Anses. 2011a. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail du 20 septembre 2011 relatif à un dossier de demande de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié 5307, développé pour être résistant à certains insectes (*Diabrotica virgifera*) pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM au titre du règlement (CE) n° 1829/2003.
- Anses. 2011b. 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.
- Anses. 2012. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail du 13 septembre 2012 relatif à une demande de mise sur le marché au titre du règlement (CE) n° 1829/2003 du maïs génétiquement modifié Bt11xMIR162x1507xGA21, développé pour être tolérant à certains herbicides et résistant à certains insectes, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n°EFSA-DE-2010-86).
- Anses. 2016a. Note d'appui scientifique et technique de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail du 18 février 2016 relatif à l'évaluation conduite par le Panel GMO de l'EFSA sur la demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié Bt11 x MIR162 x MIR604 x GA21 (dossier n° EFSA-GMO-DE-2009-66).

- Anses. 2016b. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail du 5 octobre 2016 relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003, du maïs génétiquement modifié Bt11 x 59122 x MIR604 x 1507 x GA21, développé pour être tolérant au glufosinate-ammonium et au glyphosate et résistant à certains insectes, pour l'importation, la transformation, ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-DE-2011-99).
- Anses. 2017. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail du 31 mars 2017 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).
- 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. 2010. "Statistical considerations for the safety evaluation of GMOs." *EFSA Journal* 8(2): 1250, 59 pp.
- EFSA GMO Panel. 2011. "Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants." *EFSA Journal* 9(5): 2150, 37 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.
- James, C. 2016. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2016. ISAAA Brief No. 52. 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).
- 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.