

Maisons-Alfort, le 24 novembre 2004

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur les compléments d'information relatifs au dossier d'autorisation de mise sur le marché d'un colza contenant les événements Ms8, Rf3 et Ms8xRf3 pour l'importation pour tous usages sur le territoire de l'Union européenne au titre de la directive 2001/18/CE

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 4 novembre 2004 par la Direction générale de l'alimentation d'une demande d'avis sur des compléments d'information, en réponse aux objections des Etats membres, relatifs au dossier d'autorisation de mise sur le marché d'un colza contenant les événements Ms8, Rf3 et Ms8xRf3 pour l'importation pour tous usages sur le territoire de l'Union européenne au titre de la directive 2001/18/CE (dossier déposé en Belgique n° C/BE/96/01).

Cette demande porte sur une actualisation de la notification conformément à l'article 35 de la directive 2001/18/CE d'un dossier initial déposé en 1996 auprès des autorités compétentes belges, complété en 1997 puis en 2001 dans le cadre de la procédure 90/220/CE.

Contexte

Dans son avis du 13 mai 2004, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estimait que les données disponibles relatives à l'étude de valeur nutritive des graines de colza chez le lapin ne permettaient pas d'évaluer la sécurité sanitaire du colza génétiquement modifié Ms8xRf3 destiné à l'alimentation animale.

Pour évaluer la sécurité sanitaire d'un colza portant les événements de transformation Ms8 et Rf3, il conviendrait de disposer des informations suivantes :

- l'étude d'alimentarité chez le poulet dont il est fait état à l'annexe II du complément d'information de décembre 2002 (§ 7.2 page 38/51) ;
- une étude de toxicité/tolérance de 90 jours sur animal de laboratoire nourri avec des graines de colza portant les événements de transformation Ms8 et Rf3 afin de vérifier l'absence d'effets néfastes ou toxiques de ces graines de colza.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé "Biotechnologie", réuni le 18 novembre 2004, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments émet l'avis suivant.

Recherche d'un potentiel allergénique par bioanalyse

Considérant que des bioanalyses sur les gènes *barnase* et *barstar* ont permis d'identifier 11 ORF (open reading frame) putatives dans les régions de jonction des constructions insérées (3 ORF pour l'événement Ms8 et 8 ORF pour l'événement Rf3) ;

Considérant que les 11 séquences nucléotidiques traduites dans les 6 cadres de lecture possibles conduisent à 66 séquences protéiques putatives ;

Considérant qu'il n'a pas été trouvé d'identité, dans les 7 bases de données protéiques citées, entre des séquences de 8 acides aminés consécutifs, appartenant à ces 66 séquences putatives, et celles de protéines allergéniques, permettant de considérer que les ORF identifiées ne codent pas pour un épitope d'une protéine allergénique connue ;

Considérant que la bioanalyse de la séquence de la protéine PAT n'a montré aucune identité (séquences de 8 acides aminés consécutifs) avec les séquences des protéines allergéniques disponibles dans ces mêmes bases de données, ni même avec des séquences de protéines qui seraient reliées phylogénétiquement ;

Considérant qu'aucun site putatif de N-glycosylation n'a été trouvé ;

Recherche d'un potentiel allergénique de la protéine PAT : études d'inactivation thermique et de digestibilité

Considérant que la protéine PAT reste détectable par SDS-PAGE après un chauffage pendant 10 minutes à 90 °C ;

Considérant que l'activité de la protéine PAT est inhibée à des températures supérieures à 40-45 °C pendant 15 minutes et que la protéine est complètement inactivée après 10 minutes à 60 °C ;

Considérant que :

- dans les essais de digestibilité *ex vivo* réalisés avec des fluides d'estomacs de porc et de bovin, la protéine est totalement inactivée à pH 1,7 après 1 minute et que, dans le rumen dont le pH est voisin de la neutralité (pH 7,1), l'inactivation complète est alors atteinte après 30 minutes ;
- dans les essais de digestibilité *in vitro* utilisant des fluides gastriques (SGF) et intestinaux (SIF) simulés et le suivi de la dégradation par Western blot, la protéine PAT est dégradée en 15 à 30 secondes (SGF) et en 5 à 15 minutes (SIF), selon les études ;

il est possible d'estimer qu'en raison d'une dégradation rapide de la protéine PAT par les protéases gastriques et intestinales, il est peu probable que cette protéine reste intacte dans le tractus digestif ;

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 allergénique mais, qu'en l'état actuel des connaissances, une telle certitude ne pourrait être obtenue pour aucune protéine ;

Etude de toxicité aiguë chez la souris de la protéine PAT

Considérant que la toxicité aiguë de la protéine PAT produite par *E. coli* a été étudiée en injectant par voie intraveineuse (administration unique) à des souris femelles (5 par groupe) 1 et 10 mg/kg de poids corporel et qu'aucune létalité et aucun signe clinique particulier ne sont rapportés lors de 14 jours d'observation ;

Considérant cependant que ce test de toxicité aiguë par voie intraveineuse n'est pas approprié pour une évaluation de la sécurité alimentaire ;

Etude de toxicité sur l'animal de laboratoire, de tolérance et de valeur nutritive chez l'animal cible

Considérant que les compléments d'information fournis ne présentent aucune nouvelle étude permettant d'évaluer la sécurité sanitaire du colza Ms8xRf3, notamment :

- une étude de toxicité/tolérance de 90 jours sur animal de laboratoire nourri avec des graines de colza portant les événements de transformation Ms8 et Rf3 afin de vérifier l'absence d'effets néfastes ou toxiques de ces graines de colza ; et
- l'étude d'alimentarité chez le poulet mentionnée, mais non présentée, à l'annexe II du complément d'information de décembre 2002 (§ 7.2 page 38/51) dans le dossier initial,

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime, après examen des compléments d'information fournis et des données disponibles dans le dossier initial, que la sécurité sanitaire du colza génétiquement modifié Ms8xRf3 ne peut être assurée.

Par ailleurs, il est fait remarquer que les éléments figurant dans ce dossier ne répondent pas aux lignes directrices de l'Autorité européenne de sécurité alimentaire pour l'évaluation des risques des plantes génétiquement modifiées et des produits dérivés destinés à l'alimentation humaine et animale, notamment en matière d'évaluation de l'alimentarité et de la toxicité de la plante entière.

Martin HIRSCH