

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 6 août 2015

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 relatif aux denrées et aux aliments pour animaux génétiquement modifiés, du maïs génétiquement modifié 4114, développé pour être résistant à certains insectes et tolérant au glufosinate-ammonium, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-NL-2014-123)

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 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 rendus publics.

L'Anses a été saisie le 31 mars 2015 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) pour la réalisation de l'expertise suivante : Demande d'avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003 relatif aux denrées et aux aliments pour animaux génétiquement modifiés, du maïs génétiquement modifié 4114, développé pour être résistant à certains insectes et tolérant au glufosinate-ammonium, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-NL-2014-123).

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° 503/2013¹ s'applique pour ce dossier.

¹ 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)

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été effectuée par le Groupe de Travail (GT) « Biotechnologie », réuni le 18 juin et le 16 juillet 2015. L'évaluation du dossier se base sur les lignes directrices de l'EFSA² et³ 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 rendues publiques *via* 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. La France est le second producteur européen après l'Ukraine. Au niveau mondial, le maïs est la céréale la plus importante pour l'alimentation humaine et animale en production, la seconde après le blé en surface cultivée (FAOSTAT, 2013⁴) et 32 % du maïs cultivé était génétiquement modifié en 2013⁵.

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 indispensables, la lysine et le tryptophane, est faible.

Les maïs 4114 ont été génétiquement modifiés afin d'introduire dans leur génome les gènes *cry1F*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1* et *pat*, qui leur confèrent la résistance à certains lépidoptères et aux chrysomèles, ainsi que la tolérance au glufosinate-ammonium. Il convient de rappeler que si ces maïs venaient à être importés, ils devraient satisfaire à la réglementation relative à l'utilisation des produits phytosanitaires sur ce type de plantes.

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 ces maïs. Il ne concerne pas leur mise en culture.

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 conventionnelle PHWWE (qualifiée de "lignée élite hautement transformable" et brevetée par Pioneer (US 20080072344 A1)).

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.

² EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO), 2011. Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants, The EFSA Journal 2011; 9(5): 2150, 37 pp.

³ Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed, The EFSA Journal 2006; 99: 1-100.

⁴ <http://faostat.fao.org/>

⁵ James C (2013). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2013. ISAAA Brief No. 46. ISAAA: Ithaca, NY.

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 vecteur binaire PHP27118 utilisé pour la transformation porte les gènes de virulence nécessaires au transfert de l'ADN-T dans le génome de la plante, ainsi que les cassettes d'expression des quatre gènes d'intérêt (*cry1F*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1* et *pat*) entre les bordures droite et gauche de l'ADN-T.

Les gènes *cry1F*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1* et *pat* sont identiques à ceux utilisés pour produire les maïs génétiquement modifiés TC1507 (*cry1F* et *pat*) et 59122 (*cry34Ab1*, *cry35Ab1* et *pat*), au sujet desquels l'Afssa a rendu des avis favorables en 2004⁶ et 7 et 2005⁸, respectivement. Ces gènes, dont les codons ont été optimisés pour l'expression chez les plantes, sont placés sous le contrôle :

- du promoteur, de la région 5' non traduite et d'un intron du gène *ubiZM1* codant une polyubiquitine de maïs pour les gènes *cry1F* et *cry34Ab1*,
- du promoteur et d'une séquence leader du gène λ POX1 codant une peroxidase de blé pour le gène *cry35Ab1*,
- du promoteur de l'ARN 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV) pour le gène *pat*,
- du terminateur du cadre ouvert de lecture 25 du plasmide Ti d'*A. tumefaciens* pour le gène *cry1F*,
- du terminateur du gène *pinII* codant l'inhibiteur de protéase II chez la pomme de terre pour les gènes *cry34Ab1* et *cry35Ab1*,
- du terminateur de l'ARN 35S du CaMV pour le gène *pat*.

Les plantes initiales transformées ont été sélectionnées sur la tolérance au glufosinate-ammonium (T0) et autofécondées. Les plantes de la génération T1 ont été utilisées pour produire deux générations d'autofécondation (T2 et T3) et des générations F1^{*1}, F1^{*5}, F1^{*9}, F1^{*13}, BC2F1^{*1}, BC3F1^{*1}, BC2F1^{*2} et BC3F1^{*2} obtenues par différents croisements avec les lignées de maïs conventionnel PH1B5, PH581, PHW2Z, PHR03, PHTFE, PHNAR, PH705 et PH12SG.

II.1.2.2. Informations concernant la plante génétiquement modifiée

L'analyse moléculaire du maïs 4114 a été réalisée par Southern blot et séquençage des fragments de jonction, en 5' et 3' de l'insert, entre l'ADN-T et l'ADN génomique de la plante. Ces analyses ont été réalisées sur les générations F1^{*1} (croisement des plantes de la génération T1 avec la lignée PH1B5) et T3, respectivement. Les comparateurs utilisés étaient, à juste titre, les lignées conventionnelles PHWWE et PH1B5 pour les Southern blots et PHWWE pour les analyses de séquences.

⁶ Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif au rapport d'évaluation initiale des Pays-Bas sur un dossier d'autorisation de mise sur le marché de produits alimentaires issus d'un maïs génétiquement modifié B.t. CRY1F lignée 1507 au titre du règlement (CE) n°258/97 (alimentation humaine).
<https://www.anses.fr/fr/system/files/BIOT2004sa0001.pdf>

⁷ Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à des compléments d'information concernant le dossier d'autorisation de mise sur le marché d'un maïs contenant l'évènement TC 1507, résistant à certains lépidoptères et tolérant au glufosinate en vue de la mise en culture de semences et son utilisation à des fins d'alimentation animale au titre de la directive 2001/18/CE.
<https://www.anses.fr/fr/system/files/BIOT2004sa0153.pdf>

⁸ 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 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.
<https://www.anses.fr/fr/system/files/BIOT2005sa0303.pdf>

Les résultats montrent :

- une insertion unique de l'ADN-T, située sur le chromosome 1⁹ du maïs et contenant une copie intacte de chacune des quatre cassettes,
- la délétion de 29 bases et de 24 bases au niveau de la bordure droite et de la bordure gauche de l'ADN-T, respectivement,
- la présence, en 5' de l'insert, de 15 bases de l'ADN-T et 9 bases du gène *cry1F*,
- l'absence de séquences issues du vecteur plasmidique.

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 quantités de protéines Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT produites dans les grains et le fourrage du maïs 4114 ont été mesurées par des tests ELISA réalisés sur des tissus de plantes :

- cultivées avec ou sans traitement herbicide avec du glufosinate-ammonium (respectivement T et NT),
- de la génération F1⁹ et F1¹³ issues respectivement de 6 essais au champ réalisés en 2011 aux USA et de 4 essais au champ réalisés en 2012 aux USA et au Canada.

Les concentrations moyennes de protéine Cry1F sont comprises entre 1,8 et 3,1 µg/g de matière sèche dans les grains et entre 7,3 et 11 µg/g de matière sèche dans le fourrage. Pour la protéine Cry34Ab1, ces valeurs sont comprises entre 35 et 51 µg/g de matière sèche dans les grains et entre 78 et 110 µg/g de matière sèche dans le fourrage. Elles sont comprises entre 0,52 et 1 µg/g de matière sèche dans les grains et entre 15 et 20 µg/g de matière sèche dans le fourrage pour la protéine Cry35Ab1. Enfin, la protéine PAT est présente à des concentrations comprises entre 1,9 et 2,1 µg/g de matière sèche dans le fourrage et à des niveaux inférieurs à la limite de quantification de la méthode d'analyse dans les grains.

L'analyse de ségrégation réalisée sur 5 générations (F1¹, BC2F1¹, BC3F1¹, BC2F1² et BC3F1²) 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 relatifs à la caractérisation moléculaire du maïs génétiquement modifié 4114 ne soulèvent pas de questions particulières liées à la consommation de ce maïs.

II.1.3. Evaluation comparative

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

Deux essais ont été réalisés, l'un en 2011 et le second en 2012. Dans chaque essai, le maïs 4114 est comparé avec une variété témoin et 12 variétés commerciales conventionnelles. Dans l'essai de 2011, l'évaluation porte sur la génération F1⁹ du maïs 4114 et la variété témoin est l'hybride PH705 x PHW2Z. Dans l'essai de 2012, l'évaluation porte sur la génération F1¹³ du maïs 4114 et la variété témoin est l'hybride PH12SG x PHW2Z. Les variétés témoins partagent plus de 97 % d'identité génétique avec les générations F1⁹ et F1¹³ du maïs 4114. Par ailleurs, les maïs commerciaux utilisés en 2012 sont différents de ceux utilisés en 2011 pour tenir compte de l'arrivée de nouvelles variétés sur le marché et de leur adaptation aux sites expérimentaux (synchronisation des maturités).

⁹ La localisation sur le chromosome 1 a été déterminée en réalisant une analyse bioinformatique sur le génome du maïs B73, dont la séquence est publiée (Maize (B73) Public Genome Assembly, version 3 (AGP_v3.21)).

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 4114, les variétés témoins (PH705 x PHW2Z en 2011 et PH12SG x PHW2Z en 2012) et les 12 variétés commerciales (3 variétés par site) ont été cultivés sur 6 sites aux USA en 2011 et sur 4 sites (3 aux USA et 1 au Canada) en 2012. Ces sites, localisés dans des zones de culture du maïs, présentent un large panel de conditions pédoclimatiques et de pratiques agronomiques. Le maïs 4114 a été cultivé avec ou sans traitement herbicide avec 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 de l'EFSA (2011).

Les caractéristiques agronomiques, phénotypiques et de composition sont comparées à l'aide d'analyses de variance en regroupant les résultats de tous les sites expérimentaux. Une ANOVA est réalisée avec un modèle linéaire mixte incluant :

- un effet fixe "génotype" (indiquant s'il s'agit du maïs 4114 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 l'EFSA (2011).

Le maïs 4114 est comparé aux variétés témoins 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. Pour certains paramètres, il n'est pas possible de conclure en raison du manque de variabilité entre les variétés commerciales.

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

L'analyse de composition porte sur le grain cru et le fourrage (analyse réalisée aux stades R6 (maturité) et R4 (stade pâteux), respectivement). Le pétitionnaire ne fait pas référence au document consensus de l'OCDE (2002)¹⁰ pour le choix des composés analysés, mais les analyses réalisées sont recevables. Par ailleurs, aucune donnée n'est fournie sur les produits dérivés du maïs 4114.

Tous les résultats sont exprimés par rapport au produit sec. Le maïs 4114 NT et T est comparé avec les variétés témoins et les 12 variétés commerciales, pour lesquelles il aurait été souhaitable d'avoir des informations sur leur représentativité de l'ensemble des variétés cultivées.

II.1.3.4. Analyse comparative de la composition

Les mesures de 71 composés (62 pour les grains et 9 pour le fourrage) parmi les 84 analysés sont utilisables pour les analyses statistiques. Les résultats des tests statistiques ont été interprétés selon l'approche décrite par l'EFSA (2010)¹¹, en classant les variables en 7 types (1 à 7) selon les résultats des tests de différence et 4 catégories (I à IV) après combinaison avec les résultats des tests d'équivalence. Il n'est pas possible de conclure pour les teneurs de trois composés dans les grains : sodium, vitamine B5 et inhibiteur de la trypsine. Sur la base des résultats obtenus pour les autres composés, l'analyse combinée de l'ensemble des sites d'expérimentation de 2011 et 2012 montre que le maïs 4114 (grains et fourrage) est équivalent aux variétés commerciales.

¹⁰ OECD. 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), 2002.

¹¹ Statistical considerations for the safety evaluation of GMOs, The EFSA Journal 2010; 8(1):1250.

II.1.3.5. Analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques

Les caractéristiques agronomiques et phénotypiques ont été évaluées sur 20 paramètres. De même que pour l'analyse de composition, les résultats des tests statistiques ont été interprétés selon l'approche décrite par l'EFSA (2010), en classant les variables en 7 types (1 à 7) selon les résultats des tests de différence et 4 catégories (I à IV) après combinaison avec les résultats des tests d'équivalence. Il n'a pas été possible de conclure pour le paramètre "vigueur des plantules". Les résultats obtenus sur les autres paramètres montrent que le maïs 4114 est équivalent aux variétés commerciales.

II.1.3.6. Effets de la transformation

Le pétitionnaire affirme que les produits issus du maïs 4114 ne devraient pas être différents de ceux issus de maïs conventionnels mais ne présente aucune analyse des produits transformés.

II.1.3.7. Conclusions de l'évaluation comparative

La caractérisation phénotypique et agronomique et l'analyse de composition du maïs 4114 montrent que ce maïs est équivalent aux variétés conventionnelles pour les grains et le fourrage. Aucune analyse n'a été réalisée sur les produits issus du maïs 4114.

II.1.4. Toxicologie

II.1.4.1. Analyse des protéines nouvellement exprimées

Les protéines Cry sont des delta-endotoxines qui ne sont activées que dans l'environnement alcalin de l'intestin des insectes, où elles se lient à des récepteurs spécifiques de l'épithélium intestinal, conduisant à la formation de pores et à la lyse cellulaire. L'absence de toxicité pour les mammifères s'explique par leur dégradation dans le milieu acide stomacal et l'absence de récepteurs.

Le pétitionnaire indique que les protéines Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT exprimées dans le maïs 4114 sont identiques à celles des maïs génétiquement modifiés TC1507 (Cry1F et PAT) et 59122 (Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT). Il renvoie aux évaluations de ces protéines en Europe depuis une dizaine d'années et à leurs conclusions favorables. De même, en ce qui concerne les interactions potentielles entre ces quatre protéines, le pétitionnaire renvoie à l'évaluation des maïs TC1507 x 59122¹², 59122 x TC1507 x NK603¹³ et TC1507 x 59122 x MON810 x NK603¹⁴, dont les conclusions sont favorables.

Il fournit également deux résumés de rapports relatifs à la toxicité par administration unique des protéines Cry1F et PAT, ainsi qu'une publication scientifique¹⁵ relative à une étude de toxicité par administration unique et sur une durée de 28 jours pour les protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1. Ces études ont été réalisées chez la souris. Aucun effet toxique n'a été observé aux doses étudiées :

- 5050, 2700, 1850 et 5000 mg/kg de poids corporel pour les protéines Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT respectivement, par administration unique de chaque protéine seule,
- 482 mg/kg de poids corporel pour la protéine Cry34Ab1 par administration unique de cette protéine en mélange équimolaire avec la protéine Cry35Ab1,
- 1520 mg/kg de poids corporel pour la protéine Cry35Ab1 par administration unique de cette protéine en mélange équimolaire avec la protéine Cry34Ab1,

¹² Dossier n° EFSA-GMO-NL-2005-15

¹³ Dossier n° EFSA-GMO-UK-2005-21

¹⁴ Dossier n° EFSA-GMO-NL-2011-92

¹⁵ Juberg D.R., Herman R.A., Thomas J., Brooks K.J. et Delaney B. (2009). Acute and repeated dose (28 day) mouse oral toxicology studies with Cry34Ab1 and Cry35Ab1 Bt proteins used in coleopteran resistant DAS-59122-7 corn. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **54**: 154-63.

- 195 mg/kg de poids corporel/jour de la protéine Cry34Ab1 en mélange avec 7,7 mg/kg de poids corporel/jour de la protéine Cry35Ab1 par administration répétée pendant 28 j chez les souris mâles,
- 202 mg/kg de poids corporel/jour de la protéine Cry34Ab1 en mélange avec 8,0 mg/kg de poids corporel/jour de la protéine Cry35Ab1 par administration répétée pendant 28 j chez les souris femelles.

Les analyses bioinformatiques ne montrent aucune homologie entre ces protéines et des toxines connues.

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

Les gènes introduits dans le génome du maïs 4114 n'ont pas pour objectif de modifier sa composition. Par ailleurs, la composition de ce maïs est équivalente à celle de variétés de maïs conventionnelles. Dans ces conditions, le pétitionnaire estime à juste titre qu'il n'y a pas lieu d'analyser d'autres 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 aliments pour animaux dérivés du maïs 4114.

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

Le pétitionnaire fournit deux études :

- une étude initiale de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat, réalisée en 2011 selon un protocole s'appuyant sur la ligne directrice OCDE 408¹⁶ et celle du Bureau de la prévention, des pesticides et des substances toxiques (OPPTS),
- une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat focalisée sur la fonction rénale, réalisée en 2013.

Dans les deux études, les farines de grains de maïs ont été incorporées dans les régimes alimentaires à la dose de 32 % uniquement. Les analyses réalisées sur les lots de grains utilisés ont porté sur leur composition, ce qui a permis de préparer des régimes équilibrés sur le plan nutritionnel, ainsi que sur les mycotoxines, les composés anti-nutritionnels et les résidus de pesticides.

L'étude initiale de 2011 a été réalisée avec six groupes de 12 rats mâles et 12 rats femelles, lignée Sprague Dawley, nourris avec des régimes alimentaires contenant une variété témoin, la variété génétiquement modifiée 4114, NT et T, et 3 variétés commerciales de référence. Le pétitionnaire précise que la variété témoin partage plus de 97 % d'identité génétique avec le maïs 4114 utilisé dans l'étude, mais il ne donne pas son identité exacte.

Cette étude, mise en œuvre avant les recommandations de l'EFSA (2011)¹⁷, ne comporte pas d'évaluation de la puissance des tests statistiques. Les animaux ont été observés conformément à la ligne directrice OCDE 408. Le pétitionnaire a réalisé des tests d'égalité des moyennes entre groupes avec des tests de Dunnett. L'erreur de type 1 a été fixée à 5 %. Les analyses ont été réalisées séparément pour les mâles et les femelles. Le pétitionnaire n'a pas utilisé de modèles mixtes prenant en compte les corrélations entre mesures répétées dans le temps sur un même

¹⁶ OCDE (1998). Guideline for testing of chemicals N°408. Repeated dose 90-day oral toxicity study in rodents. Paris, France.

¹⁷ EFSA guidance on conducting repeated-dose 90-day oral toxicity study in rodents on whole food/feed. The EFSA Journal 2011; 9(12):2438.

animal pour les variables poids et consommation. Par ailleurs, les données brutes sous format électronique et les programmes de calcul ne sont pas fournis.

Aucune différence significative n'a été relevée entre les 6 lots pour ce qui concerne la croissance, la consommation alimentaire et les examens cliniques. Quelques différences significatives sont relevées dans les résultats des analyses hématologiques ou biochimiques :

- l'hématocrite et la teneur en hémoglobine sont plus élevés chez les mâles du groupe 4114 NT,
- l'activité des phosphatases alcalines est plus élevée dans le groupe 4114 T,
- la créatininémie est plus élevée chez les mâles du groupe 4114 T (résultat lié à des valeurs élevées chez 2 rats parmi les 12),
- la kaliémie est plus basse chez les femelles des groupes 4114 T et 4114 NT.

Ces différences sont minimales et ne sont observées que dans un seul sexe. Par ailleurs, les valeurs restent dans les plages de valeurs mesurées sur les témoins de l'étude ou des données historiques du même centre investigateur.

Enfin, 2 rats mâles du groupe 4114 NT présentent des tumeurs rénales. Leurs caractéristiques (tumeurs tubulaires, avec hyperplasie et cellules vacuolaires amphophiles), leur survenue précoce et leur absence dans le groupe 4114 T suggèrent une origine spontanée, sans lien avec l'aliment. Ceci a été confirmé par un groupe de travail rassemblant six experts pathologistes¹⁸. Cette conclusion a été confortée par une revue de la littérature.

La seconde étude, réalisée en 2013 et focalisée sur la fonction rénale, a porté sur deux groupes de 20 rats mâles et 20 rats femelles : un groupe témoin et un groupe recevant du maïs 4114 non traité avec du glufosinate-ammonium. Aucune anomalie, macro- ou microscopique, n'a été relevée sur les reins, quel que soit le groupe considéré.

II.1.4.5. Conclusions de l'évaluation toxicologique

L'évaluation de la sécurité des protéines Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT exprimées dans le maïs 4114 ne met pas en évidence d'éléments permettant de conclure que ces protéines ont un effet toxique sur la santé humaine et animale. Les études de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat, réalisées avec des farines de grains de maïs 4114 traité ou non avec du glufosinate-ammonium, ne mettent pas en évidence d'effets ayant une signification biologique.

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 de la Commission du Codex Alimentarius (2003)¹⁹, qui sont proches de celle du guide EFSA (2011), et fonde l'évaluation de l'allergénicité des 4 protéines (Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT) exprimées dans le maïs 4114 sur quatre critères :

- 1) absence d'allergénicité connue des organismes dont les protéines proviennent (*Bacillus thuringiensis* pour Cry1F, Cry34Ab1 et Cry35Ab1 et *Streptomyces viridochromogenes* pour PAT).
- 2) absence d'homologies de séquence entre les protéines Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT et des allergènes connus lorsque la recherche est effectuée avec l'algorithme FASTA et des fenêtres glissantes de 80 résidus.
- 3) dégradation rapide des quatre protéines en milieu digestif simulé (tests de résistance à la pepsine).
- 4) faible teneur en protéines Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT des grains du maïs 4114.

¹⁸ Hardisty J.F., Banas D.A., Gopinath C., Hall W.C., Hard G.C. et Takahashi M. (2013). Spontaneous renal tumors in two rats from a thirteen week rodent feeding study with grain from molecular stacked trait lepidopteran and coleopteran resistant (DP-ØØ4114-3) maize. *Food and Chemical Toxicology*, **53**: 428-431.

¹⁹ Codex Alimentarius Commission (2003) Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant-DNA plants, *Codex*, CAC/GL 45-2003, 1-13.

Les analyses bioinformatiques ne montrent aucune homologie de séquence entre les quatre protéines, Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT, et les adjuvants classiques comme les toxines ou les lectines. Les faibles teneurs de ces protéines dans le maïs 4114 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. Plusieurs publications récentes ayant mentionné le caractère adjuvant des protéines Cry, le pétitionnaire analyse de façon convaincante les résultats de ces publications qui montrent que le caractère adjuvant :

- n'est observé chez l'animal qu'à une dose élevée,
- ne fonctionne pas avec tous les antigènes,
- n'est observé qu'après administration des protéines Cry par voie intra-gastrique,
- est observé lorsqu'un anti-acide qui bloque la protéolyse pepsique est administré en même temps que les protéines Cry.

Le pétitionnaire estime, à juste titre, qu'il s'agit là de conditions d'utilisation des protéines Cry non comparables à celles liées à la consommation du maïs 4114 et que le caractère adjuvant des protéines Cry associées à des PGM n'a jamais été démontré.

L'ensemble de ces résultats suggère que le potentiel allergénique des protéines Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT exprimées dans le maïs 4114 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. 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).

Par ailleurs, aucune des informations disponibles au sujet du maïs 4114 ne laisse supposer que ce maïs puisse développer une allergénicité différente de celle des variétés de maïs conventionnelles. Le risque allergénique du maïs 4114 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 Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT exprimées dans le maïs 4114 peut être considéré comme négligeable. Par ailleurs, ces protéines n'ont apparemment pas de propriétés adjuvantes. Enfin, l'allergénicité du maïs 4114 reste identique à celle du maïs conventionnel.

II.1.6. Evaluation nutritionnelle

Une étude d'alimentarité a été réalisée sur 720 poulets Ross 708 (360 mâles et 360 femelles) nourris pendant 42 jours avec trois régimes successifs (démarrage, croissance et finition) contenant 61,3 %, 66,3 % et 72,8 % de maïs, respectivement. Le maïs 4114 de la génération F1^{*5} (fonds génétique PHNAR/PHTFE), NT et T, a été comparé avec une variété témoin et 3 variétés commerciales. La variété témoin est la même que celle utilisée dans l'étude initiale (2011) de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat, mais le pétitionnaire ne donne pas son identité exacte.

Aucun effet significatif n'est observé. Par conséquent, pour le poulet de type standard en croissance, le maïs 4114 a les mêmes qualités nutritionnelles que le maïs témoin et les variétés de maïs conventionnelles testées dans cette étude.

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

Le pétitionnaire présente une estimation de la consommation maximale de maïs 4114 par l'Homme en se basant sur l'EFSA Comprehensive European Food Consumption Database²⁰, en considérant que cette variété est la seule représentée et en utilisant les teneurs en protéines Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT mesurées dans les grains et aliments dérivés du maïs 4114.

II.3 Caractérisation des risques

En se basant sur les consommations aiguës les plus élevées, la marge d'exposition (MOE) la plus faible est de 9643 pour la protéine Cry34Ab1 pour la classe d'âge « autres enfants » en Suède. En se basant sur les consommations chroniques les plus élevées, les marges d'exposition, calculées sur la base de l'étude de toxicité orale de 28 j (protéines Cry34Ab1 et Cry35Ab1), sont supérieures à 10000. Cette approche ne prend pas en compte les résultats des études de toxicité par administration répétée des farines de grains de maïs 4114 pendant 90 jours chez le rat.

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 relatifs à la caractérisation moléculaire du maïs génétiquement modifié 4114 ne soulèvent pas de questions particulières liées à la consommation de ce maïs.

La caractérisation phénotypique et agronomique et l'analyse de composition de ce maïs montrent qu'il est équivalent aux variétés conventionnelles pour les grains et le fourrage.

L'évaluation de la sécurité des protéines Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1 et PAT exprimées dans le maïs 4114 ne met pas en évidence d'éléments permettant de conclure que ces protéines ont un effet toxique sur la santé humaine et animale. Les deux études de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat ne mettent pas en évidence d'effets ayant une signification biologique.

Enfin, sur la base des éléments fournis dans le dossier, le potentiel allergénique des produits dérivés de ce maïs paraît extrêmement faible.

L'ensemble de ces éléments ne permet pas d'identifier un risque sanitaire lié à la consommation de grains et de produits dérivés du maïs 4114.

²⁰ <http://www.efsa.europa.eu/en/datexfoodcdb/datexfooddb.htm>

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 Groupe de travail « Biotechnologie ».

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

OGM, maïs 4114, résistance aux lépidoptères, résistance aux chrysomèles, Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1, tolérance au glufosinate-ammonium, PAT