

Maisons-Alfort, le 2 mai 2013

## **AVIS**

### **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail**

**relatif à une demande de mise sur le marché au titre du règlement (CE) n° 1829/2003  
du colza génétiquement modifié MS8XRF3XGT73 développé afin d'être tolérant à  
certains herbicides, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en  
alimentation humaine et animale de cet OGM  
(dossier n°EFSA-BK-2009-75)**

---

*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'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a été saisie le 14 février 2013 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 de mise sur le marché au titre du règlement (CE) n° 1829/2003 du colza génétiquement modifié MS8XRF3XGT73 développé afin d'être tolérant à certains herbicides, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n°EFSA-BK-2009-75).

#### **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 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'Anses.

#### **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 avril 2013. L'évaluation du dossier se base sur les lignes directrices de l'EFSA<sup>1</sup> et sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts du GT Biotechnologie.

### 3. ANALYSE DU GT

#### Information générale

Le colza portant les événements de transformation MS8xRF3xGT73 est issu du croisement conventionnel de trois lignées de colza génétiquement modifiées. Aucune modification supplémentaire du génome n'a été réalisée. La présente demande est une première demande pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale. Elle concerne aussi les colzas et les produits dérivés issus de toutes les sous-combinaisons de ces trois événements.

Il convient de rappeler que si ces colzas venaient à être importés, ils devraient satisfaire à la réglementation relative à l'utilisation des herbicides.

En préambule, le GT constate que le dossier a été déposé en 2009 et soumis à l'évaluation en 2013. Dans l'intervalle, les exigences ont été modifiées. Le GT a évalué ce dossier sur la base des LD actuelles.

#### Rappel sur les événements parentaux

##### **GT73**

La modification génétique introduite dans les colzas GT73 est constituée de deux gènes en tandem permettant l'expression de deux enzymes CP4EPSPS et GOXv247. L'expression de ces deux gènes confère à la plante la tolérance au glyphosate par des mécanismes moléculaires différents. La première est l'enzyme cible du glyphosate sous une forme insensible par manque d'affinité et la seconde détoxifie le glyphosate en le catabolisant.

##### **MS8xRF3**

Le colza hybride MS8xRF3 associe un parent mâle stérile (MS8) porteur du gène *barnase* codant une ribonucléase, à une autre lignée RF3 qui restaure la fertilité grâce au gène *barstar* codant un inhibiteur de la ribonucléase. Les deux événements portent le gène marqueur *bar* codant la protéine PAT qui confère la tolérance au glufosinate ammonium.

L'objectif des événements de transformation est de créer un système de stérilité mâle nucléaire et le système correspondant de restauration de la fertilité, de façon à faciliter l'obtention d'hybrides chez le colza et à rendre ces hybrides tolérants à un herbicide (glufosinate ammonium). Le système consiste en :

- une stérilité mâle (MS) assurée par l'expression spécifique dans les cellules du tapis des anthères d'une ribonucléase dont l'effet est de dégrader les ARN cellulaires, bloquant ainsi le fonctionnement des cellules normalement à l'origine des grains de pollen.
- une restauration de la fertilité (RF) par expression dans les mêmes cellules d'une protéine inhibitrice de cette ribonucléase permettant aux cellules portant les deux transgènes de rester en vie et de poursuivre leur différenciation jusqu'à permettre la production normale de gamètes mâles.

Les plantes hybrides 100% fertiles et résistantes au glufosinate ammonium seront issues de graines récoltées sur les plantes mâle-stériles après pollinisation par les plantes restauratrices, une moitié portant à la fois les événements MS8 et RF3, l'autre moitié portant seulement RF3.

<sup>1</sup>Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants, The EFSA Journal 2011; 9(5): 2150.

Guidance document of the scientific panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plant, The EFSA Journal 2006; 99, 1-100.

Les colzas portant les événements MS8 ou RF3 ou MS8XRF3 d'une part, ainsi que GT73 d'autre part, ont fait l'objet de nombreuses demandes de mise sur le marché dans l'Union européenne depuis plus de 10 ans, certaines selon la réglementation CE N°1829/2003 et d'autres selon des réglementations antérieures.

La synthèse de l'état des autorisations et des évaluations des colzas MS8, RF3 et MS8XRF3 d'une part et GT73 d'autre part est présentée dans les tableaux 1 et 2.

**Tableau 1** : autorisations et évaluations du colza portant l'événement de transformation MS8, RF3 et MS8XRF3.

Produits	Destination	Evaluation française et EFSA	Autorisation CE
Colza et produits dérivés	Alimentation animale	Avis CSHPF (défavorable, 1996) puis avis Afssa 2004-SA-0152 et 2004-SA-0374 (défavorables, 2004) EFSA opinion (favorable 2005)	<b>Décision d'autorisation</b> depuis le 26/03/2007 pour importation et l'utilisation en alimentation animale selon Directive 90/220/EEC Puis 2001/18/EEC
Huile raffinée	Alimentation humaine		<b>Décision d'autorisation</b> depuis le 21 /11 /1999 selon Règlement CE N°258/97
Renouvellement des produits déjà autorisés	Alimentation humaine et animale	Avis Afssa 2008-SA-0112 (favorable, 2008) EFSA opinion (favorable, 2009)	<b>En cours</b>
Denrées alimentaires (autres que l'huile raffinée)	Alimentation humaine	Avis Anses 2011-SA-0286 (favorable, 2012) EFSA opinion (favorable, 2012)	<b>En cours</b> <b>Selon règlement CE N°1829/2003</b>

**Tableau 2** : autorisations et évaluations du colza portant l'événement de transformation GT73.

Produits	Destination	Evaluation française et EFSA	Autorisation
Huile raffinée Additifs	Alimentation humaine	Avis CSHPF (octobre 1996) EFSA opinion (fin 2009)	<b>Décision d'autorisation</b> depuis le 21/11/1997 Selon le règlement "novel food" N°258/97. <b>Renouvellement en cours</b>
Colza et produits dérivés	Alimentation animale	Avis Afssa 2003-SA-0046 (défavorable, 2003) Avis Afssa 2003-SA-0300 (favorable, 2004) EFSA opinion (2004)	<b>Décision d'autorisation</b> depuis le 31 aout 2005 selon la directive 2001/18EC partC
Produits dérivés (feed material and feed additives)	Alimentation animale	Pas de nouvel avis Afssa (renvoi avis 2004) EFSA opinion (fin2009)	Existant sur le marché Notification selon l'article 20 (1) (b) du règlement (CE) 1829/2003 <b>Renouvellement en cours</b>
Denrées alimentaires (autre que l'huile raffinée et additifs)	Alimentation humaine	Avis Anses 2011-SA-0322 (favorable, 2012) EFSA opinion (2013)	<b>En cours</b>

Les sections, telles que définies dans le formulaire de commentaires de l'EFSA, sont reprises ci-dessous.

**A. Identification et caractérisation du danger**

**A.1 Information relative à la plante parentale.**

**A.2 Caractérisation moléculaire**

A.2.1 Information relative à la modification génétique.

A.2.1.1 Description des méthodes utilisées pour créer la modification génétique

Ces informations sont indiquées dans les avis de l'Agence relatifs à l'évaluation des dossiers des colzas portant les événements parentaux.

En résumé, les trois transgènes ont été introduits dans le génome de colza par transformation à l'aide d'une souche d'*Agrobacterium tumefaciens* contenant un vecteur binaire qui possède le ou les ADN-T à introduire dans le génome.

A.2.1.2 Source et caractérisation des acides nucléiques utilisés pour la transformation.

Cf. avis antérieurs (2004-SA-0152 ; 2004-SA-0374 ; 2008-SA-0112 et 2003-SA-0046 ; 2003-SA-0300 ; 2011-SA-0322)

A.2.1.3 Nature et source du vecteur utilisé incluant les séquences nucléiques destinées à être insérées.

Cf. avis antérieurs (2004-SA-0152 ; 2004-SA-0374 ; 2008-SA-0112 ; 2011-SA-0286 et 2003-SA-0046 ; 2003-SA-0300 ; 2011-SA-0322)

A.2.2 Information relative à la plante GM

A.2.2.1 Description générale du ou des caractère(s) et des caractéristiques introduits ou modifiés

Les colzas MS8xRF3xGT73 possèdent les caractères phénotypiques apportés par les trois événements de transformation, à savoir :

- un système de stérilité mâle nucléaire (expression dans les cellules du tapis des anthères d'une ribonucléase)
- un système de restauration de la fertilité (expression dans les mêmes cellules d'une protéine inhibitrice de la ribonucléase),

Les deux systèmes associés permettent de faciliter l'obtention d'hybrides chez le colza

- une tolérance au glufosinate ammonium (deux copies du gène *bar* codant une phosphinothricine acétyl transférase (PAT), l'enzyme PAT confère la tolérance au glufosinate ammonium en inactivant le glufosinate ammonium par acétylation)
- une tolérance au glyphosate par des mécanismes moléculaires différents (expression du gène codant la CP4EPSPS moins sensible au glyphosate que l'enzyme endogène permettant le maintien d'une activité enzymatique essentielle à la vie de la plante ; expression du gène codant la GOXv247, une glyphosate oxydo-réductase qui métabolise le glyphosate, le rendant ainsi inactif).

A.2.2.2 Information sur les séquences effectivement insérées/supprimées ou altérées.

Des hybridations de type Southern ont été réalisées sur 2 profils de restrictions avec 2 sondes, l'une couvrant un élément des transgènes des événements MS8 et RF3 ; l'autre couvrant un élément du transgène de l'événement GT73.

Ces hybridations ont porté sur l'ADN génomique extrait de feuilles provenant de 18 échantillons MS8xRF3xGT73 du parent MS8, du parent RF3, du parent GT73, de plantes non transgéniques comme contrôle négatif, des séquences correspondantes aux sondes comme contrôle positif.

L'analyse des profils d'hybridation montre que les insertions de MS8, RF3 et GT73 sont bien présentes dans le croisement MS8xRF3xGT73.

La description pour chacun des événements de transformation est présentée dans les dossiers initiaux et de renouvellement.

Des analyses bioinformatiques avaient été actualisées pour le dossier de demande de renouvellement des produits issus des colzas portant les événements MS8, RF3 et MS8xRF3 (saisines 2008-SA-0112 et 2011-SA-0286); ainsi que pour la demande d'autorisation de mise sur le marché des denrées alimentaires issues des colzas portant l'événement GT73 (autre que l'huile raffinée et additifs) (saisine 2011-SA-0322). Les éléments apportés dans cette analyse bioinformatique à partir des bases de données (toxines/allergènes et séquence du génome de colza) actualisées, ne faisaient pas apparaître de risques nouveaux pour les événements de transformation MS8, RF3 ni pour l'hybride MS8/RF3, ainsi que pour GT73.

#### A.2.2.3 Information sur l'expression des séquences modifiées ou insérées

Les niveaux d'expression des protéines PAT, CP4 EPSPS, GOX ont été mesurés dans les feuilles de colza MS8xRF3xGT73, MS8, RF3 et GT73 par des tests ELISA à partir de plantes cultivées en serre en 2008. Les colzas portant l'événement MS8 et RF3 ont été traités avec du glufosinate ammonium. Ceux portant GT73 ont été traités avec du glyphosate. Enfin ceux portant les 3 événements MS8xRF3xGT73 ont été traités avec les deux herbicides.

Les niveaux d'expression des protéines PAT, CP4 EPSPS, GOX ont aussi été mesurés dans les graines de colza MS8xRF3xGT73, MS8, RF3 et GT73 à partir de plantes cultivées en champs en Australie sur 2 ou 3 sites en 2005/2006 et 2007/2008. Les plantes MS8 ont été cultivées aux champs en 2005/2006 et traitées avec du glufosinate ammonium. Les plantes RF3 et MS8xRF3xGT73 ont été cultivées aux champs en 2007/2008 et traitées avec du glufosinate ammonium. Les plantes GT73 n'ont pas subi de traitements herbicides.

Les résultats des tests ELISA pour les graines sont reportés dans le tableau 3 ci-dessous.

		PAT Moyenne [étendue]	CP4 EPSPS Moyenne [étendue]	GOX Moyenne [étendue]
Feuilles	MS8	58,8 [42,9-71,2]	NA	NA
	RF3	132,9 [91,8-187,1]	NA	NA
	GT73	NA	423,5 [294,1-547,1]	80,6 [59,4-120]
	MS8xRF3xGT73	120 [86,5-172,9]	304,1 [248,8-382,9]	18,9 [11,5-30,8]
Graines	MS8	2,89 [2,53-3,22]	NA	NA
	RF3	5,59 [4,85-6,44]	NA	NA
	GT73	NA	123 [95,6-154,9]	14,0 [11,0-18,8]
	MS8xRF3xGT73	5,58 [5,15-6,23]	69 [54,5-83,0]	11,5 [9,0-15,5]

**Tableau 3** : Concentrations moyennes en µg/g de poids sec des protéines PAT, CP4-EPSPS et GOX dans les colzas MS8, RF3, GT73 et MS8xRF3xGT73 dans les feuilles (plantes cultivées en serre) et dans les graines (plantes cultivées en champ). NA = non applicable. NA non applicable.

Quelques différences d'expression sont observées entre les colzas portant les 3 événements et les colzas ne portant qu'un seul événement. Ainsi, dans les feuilles, la protéine GOX est 4 fois plus exprimée dans l'événement simple GT73 que dans le colza empilé MS8xRF3xGT73. De même, dans les graines, la concentration de protéine CP4 EPSPS est deux fois plus importante dans l'événement simple GT73. Le pétitionnaire explique cette différence par le niveau d'hétérozygotie entre GT73 (homozygote, 2 copies de chaque gène) et MS8xRF3xGT73 (hétérozygote pour les caractères GT73, 1 copie de chaque gène). Il conclut que ces résultats démontrent qu'il n'y a pas d'interaction entre les 3 événements de transformation lorsqu'ils sont combinés par croisement conventionnel dans la même variété de colza.

Cependant, aucune information n'est apportée sur le niveau d'expression des transgènes dans les tissus de plantes non-traitées par les herbicides. Ainsi, l'impact du traitement sur le niveau d'expression ne peut être évalué. Les fonds génétiques sont différents entre les colzas portant les événements MS8 et RF3 et celui portant l'événement GT73. De plus, les plantes cultivées en champs en Australie n'ont pas été cultivées pendant les mêmes saisons. Le plan d'expérience ne suit pas les recommandations de l'EFSA. L'hétérogénéité de ces plans d'expérience ne permet pas de comparer rigoureusement les niveaux d'expression des transgènes dans les différents colzas.

#### A.2.2.4 Stabilité génétique de la séquence insérée ou modifiée et stabilité phénotypique de la plante GM.

La stabilité des insertions portant les gènes d'intérêt a été vérifiée sur plusieurs générations et croisements chez les colzas parentaux portant les événements MS8, RF3, MS8xRF3 et GT73. Les caractères de résistance aux herbicides se comportent comme des caractères uniques et dominants qui s'héritent de façon mendélienne.

Au regard de l'analyse des résultats de profils obtenus par *Southern blot*, la structure moléculaire des inserts est conservée dans les colzas MS8xRF3xGT73 portant les trois événements.

#### A.2.3 Conclusion

Les informations moléculaires présentées par le pétitionnaire pour caractériser les colzas portant les événements empilés MS8xRF3xGT73 ne montrent pas de différences avec les caractéristiques moléculaires des événements des colzas portant les événements parentaux.

Cependant, les données présentées pour étudier le niveau de l'expression des transgènes dans les différents tissus des colzas MS8xRF3xGT73 proviennent de plans expérimentaux inappropriés.

### A.3 Evaluation comparative

#### A.3.1 Critères de sélection des comparateurs

Les échantillons de l'analyse de composition chimique proviennent de trois études indépendantes. Pour deux études, le colza testé MS8xRF3xGT73 est le résultat du croisement de deux lignées A et B comportant respectivement MS8xRF3 et GT73 ; le témoin correspondant est le ségrégant négatif du croisement des lignées non transgéniques A et B. A la demande de l'EFSA et pour avoir un témoin plus proche génétiquement, une troisième étude a été conduite où le colza testé est une lignée A portant les 3 événements de transformation ; le témoin comparateur est alors la même lignée A non transgénique.

Des variétés commerciales transgéniques et non transgéniques ainsi que trois variétés commerciales portant GT73 et une portant MS8XRF3 sont incluses dans les essais.

#### A.3.2 Expérimentation en champs : dispositif expérimental et analyse statistique

##### A.3.2.1 Dispositif expérimental

Les analyses de comparaison des compositions chimiques ont été réalisées sur les graines obtenues dans trois expérimentations menées au Canada sur 3 saisons.

L'étude présentée comme principale a été **menée en 2010**, sur 4 sites expérimentaux (3 répétitions sur chaque site selon un plan d'expérience en blocs randomisés) ; les graines de colza utilisées sont issues des colzas MS8xRF3xGT73 (fonds génétique A), non traités ou traités successivement avec le glyphosate et le glufosinate ammonium.

Les données sont comparées à 3 variétés commerciales GM (résistantes au glyphosate ou au glufosinate ammonium) et aux données historiques sur la composition des graines des différentes variétés connues.

Deux études additionnelles sont également fournies correspondant à :

- **un essai de 2009**, sur 3 sites expérimentaux ; les graines de colza utilisées pour les analyses de composition sont issues des colzas MS8xRF3xGT73 (croisement hybrides A et B), non traités ou traités.
- **un essai de 2008**, sur 5 sites expérimentaux ; les graines de colza utilisées sont issues des colzas MS8xRF3xGT73 (croisement hybrides A et B), non traités ou traités. Les données sont comparées à 4 variétés commerciales portant des événements MS8, RF3 et GT73.

Seuls les résultats de l'essai de 2010 ont été évalués. L'expérimentation de 2010 a été réalisée suite à une demande de l'EFSA qui critiquait le type de témoin comparateur choisi dans les expérimentations antérieures.

#### A.3.2.2 Analyse statistique

##### **Plan d'expérience**

Ne considérant que l'étude 2010, le plan d'expérience ne respecte pas les recommandations de l'EFSA sur le nombre de sites (4 au lieu de 8) et de variétés commerciales (3 au lieu de 6). De plus, les variétés commerciales utilisées comme références sont transgéniques.

##### **Analyse statistique**

Le colza génétiquement modifié **MS8xRF3xGT73 (traité ou non traité)** est comparé au témoin comparateur par des tests de différence. Le modèle statistique utilisé pour conduire les tests est une ANOVA globale réalisée avec un modèle linéaire mixte incluant : un effet fixe « génotype », un effet fixe « site », un effet fixe « génotype\*site ». L'erreur de type 1 retenue par le pétitionnaire pour les tests de différence est de 5%.

Les tests d'équivalence ne sont pas mis en œuvre. Des gammes de valeur (min-max) des variétés commerciales sont fournies de façon à comparer avec ces gammes les valeurs moyennes des colzas MS8xRF3xGT73 (traités ou non traités) et des colzas témoin.

Le modèle statistique utilisé inclut un effet fixe « génotype », mais n'inclut pas d'effet aléatoire « variété commerciale », il ne correspond donc pas à celui proposé par l'EFSA.

#### A.3.3 Analyse de composition

L'analyse de composition chimique a porté sur la graine. Les composés mesurés sont 7 paramètres proximaux (humidité, protéines, lipides totales, cendres, hydrates de carbones, fibres ADF, fibres NDF) ; 14 acides gras, 18 acides aminés, 9 minéraux, 4 isoformes de la vitamine E et la vitamine E totale, 5 métabolites secondaires et facteurs antinutritionnels (acide phytique, 4 glucosinolates).

La liste des composés analysés est incomplète par rapport au document OCDE (Revised consensus document on compositional considerations for new varieties of low erucic acid rapeseed (Canola): Key food and feed nutrients, anti-nutrients and toxicants, ENV/JM/MONO(2011)55 - december 2011).

##### **Résultats**

Les résultats sont les suivants :

- les teneurs en **macroéléments** ne montrent aucune différence pour les protéines, les lipides, les cendres, les hydrates de carbone et les fibres. La teneur en eau est significativement plus élevée chez les colza empilés traités. Toutefois, la différence est faible et comprise dans la gamme de variation des variétés commerciales et historiques. Il n'y a aucune différence de teneur en eau entre le témoin et les colzas empilés non traité.
- Les teneurs en **acides aminés** sont similaires; aucune différence significative n'est observée entre les colzas empilés traités ou non et les colzas témoin.
- certaines teneurs en **minéraux** et en **vitamines E** présentent des différences statistiquement significatives entre les colzas témoin et les colzas empilés traités ou non. Notamment, sont observées une augmentation de la teneur en calcium de 14% et une diminution de la teneur en manganèse de 9% et en

alpha-tocopherol de 18%. Ces différences, bien que significatives, sont comprises dans la gamme de variation des variétés commerciales et historiques pour le calcium et l'alpha-tocopherol.

- les teneurs en **métabolites secondaires et facteurs antinutritionnels** ne présentent pas de différences sauf pour l'alkenyl glucosinolate dont la teneur est significativement plus faible dans les colzas empilés traités et non traités. Cette diminution de 11% par rapport au témoin est comprise dans la gamme de variation des variétés commerciales et historiques.
- les teneurs en **acide gras** ne présentent pas de différences sauf pour l'acide béhénique et linoléique dont les teneurs sont inférieures dans la graine des colzas empilés traités ou non. Bien que significative, ces diminutions (autour de 5%) sont faibles et sont comprises dans la gamme de variation des variétés commerciales et historiques.

De même, les teneurs en acides lignocérique, névonique et linoléique sont augmentées dans la graine des colzas empilés traités ou non par le glyphosate et le glufosinate ammonium, par rapport aux colzas témoin. Bien que significatives, ces augmentations (autour de 10%) sont faibles et sont comprises dans la gamme de variation des variétés commerciales et historiques.

#### A.3.5 Effets de la transformation de la plante en sous-produits

Aucune analyse de composition n'a été réalisée sur les produits dérivés de la graine des colzas empilés MS8xRF3xGT73 (tourteau et huile).

#### A.3.6 Conclusion

L'analyse des résultats de l'expérimentation nouvellement présentée de 2010 ne fait pas apparaître, pour les paramètres mesurés, de différences entre les graines issues des colzas empilés MS8xRF3xGT73 et celles issues du comparateur utilisé. Cependant, plusieurs composés chimiques n'ont pas été mesurés et l'analyse statistique est insuffisante. Il est donc difficile de conclure sur l'analyse comparée de composition chimique des graines des colzas empilés MS8xRF3xGT73.

### A.4 Evaluation toxicologique

Aucun nouvel essai toxicologique n'a été réalisé pour ce dossier. Le pétitionnaire rappelle les données toxicologiques présentées dans les deux dossiers de demande d'autorisation des colzas parentaux portant les événements MS8xRF3 et GT73 et a actualisé les recherches d'homologies avec les bases de données de séquences.

#### A.4.1 Lignes directrices normalisées des tests de toxicité

#### A.4.2 Evaluation des protéines nouvellement produites

Les colzas empilés MS8xRF3xGT73 contiennent les gènes *bar*, *barnase*, *barstar*, *goxv247* et *cp4 epsps* codant respectivement la PAT (phosphinothricine acétyl transférase), la ribonucléase Barnase, l'inhibiteur spécifique de la ribonucléase Barstar, la Glyphosate Oxido-réductase, la CP4EPSPS)

Les protéines exprimées ont fait l'objet d'études visant à évaluer leur toxicité potentielle lors de l'examen des dossiers des événements parentaux. Bien que les gènes *barnase* et *barstar* ne soient pas exprimés et que les protéines correspondantes n'aient pas été détectées dans les graines de colza MS8xRF3xGT73, une analyse bioinformatique réalisée en 2009 a montré l'absence d'homologie de séquence avec les protéines toxiques ou allergéniques.

Les analyses bioinformatiques de même type relatives aux protéines PAT, GOX et CP4EPSPS ont été actualisées lors des précédentes demandes de mise sur le marché des produits issus des événements parentaux.

A.4.3 Evaluation des nouveaux constituants autres que les protéines  
Sans objet.

A.4.4 Evaluation des constituants des denrées alimentaires et aliment pour animaux dont les niveaux sont altérés  
Le pétitionnaire indique que les constituants des colzas empilés MS8xRF3xGT73 sont inchangés.

A.4.5 Evaluation de l'aliment dérivé de plantes GM (denrées alimentaires et/ou aliments pour animaux)

A.4.5.1 Schéma expérimental et réalisation d'une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours chez les rongeurs.

Aucune étude toxicologique n'a été réalisée avec les colzas empilés MS8xRF3xGT73.

A.4.6 Conclusions

Les événements parentaux MS8, RF3 et MS8xRF3 d'une part, et GT73 d'autre part, ont été évalués à plusieurs reprises par le CES Biotechnologie. Il avait alors conclu qu'au regard des données présentées, aucun élément évocateur d'un potentiel toxique n'était mis en évidence pour ces colzas. Certaines de ces données ont été réactualisées et leur analyse conduit à la même conclusion.

Concernant les plantes génétiquement modifiées comportant plusieurs modifications génétiques empilées, le risque potentiel d'interactions entre les protéines exprimées, les métabolites éventuels et les constituants naturels de la plante devra être étudié.

Le dossier ne comporte pas d'analyse ou d'étude documentant ce point.

**A.5 Evaluation de l'allergénicité**

A.5.1 Evaluation de l'allergénicité des protéines nouvellement produites

Les protéines nouvellement produites (CP4EPSPS, PAT et GOX) ont fait l'objet d'études visant à évaluer leur allergénicité potentielle lors de l'examen des dossiers des événements parentaux. Les recherches d'homologies ont été actualisées en 2008 et 2009 pour compléter ces dossiers. En utilisant les algorithmes et les bases de données recommandées, aucune homologie entre la séquence des protéines CP4EPSPS et PAT et GOX avec les séquences des allergènes connues n'est mise en évidence.

Au regard des résultats présentés, aucun élément ne permet de mettre en évidence un potentiel allergénique des trois protéines CP4 EPSPS, PAT et GOX nouvellement exprimées dans les graines des colzas empilés MS8xRF3xGT73.

A.5.2 Evaluation de l'allergénicité de la plante GM dans sa globalité

Considérant les résultats des analyses moléculaires et de composition chimique, il n'existe aucun élément permettant de soupçonner l'existence d'un potentiel allergénique des colzas empilés MS8xRF3xGT73 supérieur ou différent de celui des colzas portant les événements parentaux ou des colzas non transgéniques.

A.5.4 Conclusion

Ces résultats suggèrent l'absence de potentiel allergénique des protéines nouvellement produites dans les graines des colzas empilés MS8xRF3xGT73. Il convient de noter que ces données ne suffisent pas, pour autant, à 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.

Par ailleurs, aucun élément ne suggère que les modifications génétiques introduites et présentes simultanément dans les colzas empilés MS8xRF3xGT73 modifie le potentiel allergique de ces colzas.

En revanche, l'analyse du potentiel adjuvant des protéines nouvellement produites n'est pas documentée dans le dossier.

#### **A.6 Evaluation nutritionnelle**

##### **A.6.1 Evaluation nutritionnelle des denrées alimentaires dérivées des PGM**

Le pétitionnaire rappelle que le produit dérivé des graines de colza MS8xRF3xGT73 est l'huile raffinée. Les résultats de l'analyse comparée de composition chimique de la graine ne mettent pas en évidence de différence avec les témoins, en particulier sur la composition en acides gras.

Ainsi, aucun effet des modifications génétiques sur la valeur nutritionnelle de l'huile n'est attendu.

##### **A.6.2 Evaluation nutritionnelle des aliments pour animaux dérivés des PGM**

Le pétitionnaire ne présente pas d'étude d'alimentarité chez le poulet pour évaluer les propriétés nutritionnelles des colzas empilés MS8xRF3xGT73.

##### **A.6.3 Conclusions**

Bien que des essais pour étudier l'alimentarité des colzas parentaux MS8xRF3 et GT73 aient été menés et qu'ils ne montrent pas de différence de valeur nutritionnelle entre les tourteaux ou les graines de colza transgéniques par rapport aux colzas contrôles, l'absence de test d'alimentarité avec le colza portant les trois événements MS8, RF3 et GT73 empilés ne permet pas de conclure de façon certaine sur sa qualité nutritionnelle par rapport à un colza non GM.

## **4. CONCLUSION DU GT**

Les colzas empilés MS8xRF3xGT73 ont été obtenus par croisement conventionnel des colzas parentaux contenant les événements de transformation MS8xRF3 et GT73. Les événements parentaux ont déjà été évalués à plusieurs reprises et sont autorisés sur le marché européen pour certains produits en alimentation humaine et/ou animale.

D'un point de vue moléculaire, l'analyse des éléments présentés dans ce dossier ne met pas en évidence de différence entre la structure moléculaire des événements parentaux et celles des événements présents dans les colzas MS8xRF3xGT73.

Les données de l'analyse comparée de composition ne mettent pas en évidence de différences importantes dans les teneurs des composés mesurés entre les colzas MS8xRF3xGT73 et les colzas témoins.

L'analyse des données visant à étudier le potentiel toxique et allergénique des protéines nouvellement produites dans les graines de colza MS8xRF3xGT73 ne met pas en évidence de telle propriété.

Toutefois, le GT Biotechnologie estime que certains éléments du dossier doivent être complétés pour lui permettre de conclure sur la sécurité sanitaire des colzas empilés MS8xRF3xGT73 et de leurs produits dérivés.

A savoir :

- Une analyse de l'expression des transgènes à partir d'échantillons de colzas MS8xRF3xGT73 et parentaux cultivés aux champs simultanément avec et sans traitement par les herbicides (glyphosate, glufosinate), sur 3 sites ou 3 saisons.
- Une analyse comparée de composition, en complétant la liste des composés selon le document OCDE, à partir d'échantillons de colza cultivés aux champs selon un

schéma expérimental et une analyse statistique conforme aux recommandations actuelles de l'EFSA.

- A défaut d'étude de toxicité 90 jours, un argumentaire visant à écarter le risque potentiel d'interaction entre les protéines exprimées.
- Une étude d'alimentarité sur un produit dérivé des colzas empilés MS8xRF3xGT73 afin de compléter les données d'analyse comparative de composition.

## **5. CONCLUSION DE L'AGENCE**

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail adopte les conclusions du Groupe de travail « Biotechnologie ». Sur la base du dossier initial disponible dans les délais prévus, l'Agence émet un avis défavorable à la demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du règlement (CE) n°1829/2003, des colzas génétiquement modifiés MS8xRF3xGT73, développé afin de présenter une tolérance à plusieurs herbicides.

**Le directeur général**

Marc Mortureux

## **MOTS-CLES**

OGM empilé, colza MS8, RF3, MS8xRF3, colza GT73, CP4EPSPS, PAT, GOX, tolérance au glufosinate ammonium, tolérance au glyphosate.