

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 23 février 2018

AVIS

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

relatif à l'évaluation de certaines données complémentaires concernant la demande de renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003, de la betterave génétiquement modifiée H7-1 (dossier n° EFSA-GMO-RX-006)

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 3 novembre 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 l'évaluation de certaines données complémentaires concernant la demande de renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003, de la betterave génétiquement modifiée H7-1 (dossier n° EFSA-GMO-RX-006).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La demande de renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003, de la betterave génétiquement modifiée H7-1 développée pour être tolérante au glyphosate (dossier n° EFSA-GMO-RX-006) a été évaluée par l'Anses pendant la phase de consultation des Etats membres (saisine 2017-SA-0090). Dans son avis du 13 juillet 2017 (Anses, 2017), l'Agence concluait : « *L'ensemble des données présentées dans le dossier ne sont pas évocatrices de risques liés à l'utilisation de produits dérivés de la betterave H7-1 en alimentation humaine et animale. Toutefois, afin que les résultats des 3 nouvelles études soient pleinement exploitables, le pétitionnaire devra compléter son dossier en fournissant le plan de production REG 08-079 et en analysant les résultats de la nouvelle analyse de composition conformément aux recommandations du Panel GMO de l'EFSA (2010 et 2011).* »

Depuis cette date, des données complémentaires ont été fournies par le pétitionnaire à la demande de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA). Dans la perspective du vote par les Etats membres sur ce dossier au Comité permanent des végétaux, des animaux, des denrées alimentaires et des aliments pour animaux (CPVADAAA), section OGM, la DGCCRF a

saisi l'Anses afin qu'elle procède à l'évaluation de ces données complémentaires et qu'elle détermine si elles sont de nature à lever les réserves précédemment exprimées.

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 le 18 janvier 2018, sur la base de rapports initiaux rédigés par trois rapporteurs. Elle a été conduite en se fondant sur les lignes directrices du Panel GMO de l'EFSA (2010, 2011, 2015) 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

3.1. Rappels sur l'évaluation de la sécurité sanitaire de la betterave H7-1

La betterave H7-1 a fait l'objet de deux demandes initiales d'autorisation de mise sur le marché au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003 (dossiers n° EFSA-GMO-UK-2004-08 et EFSA-GMO-DE-2008-63), déposées respectivement en 2004 et en 2008. Concernant le dossier n° EFSA-GMO-UK-2004-08, l'avis du Panel GMO de l'EFSA était favorable (EFSA GMO Panel, 2006) et la Commission européenne a autorisé en octobre 2007 la mise sur le marché des denrées alimentaires et des aliments pour animaux produits à partir de la betterave H7-1 (décision de la Commission du 24 octobre 2007, 2007/692/CE, JO L 283 du 27.10.2007, pp. 69-71). Le dossier n° EFSA-GMO-DE-2008-63 était une demande d'extension de l'autorisation à la culture, ainsi qu'à la betterave H7-1 en tant que telle pour l'importation et la transformation en Europe. Ce dossier a été retiré par le pétitionnaire en 2013. La présente demande de renouvellement (dossier n° EFSA-GMO-RX-006) correspond donc à la décision d'autorisation de la Commission du 24 octobre 2007 (2007/692/CE). Elle a fait l'objet d'un avis favorable du Panel GMO de l'EFSA (EFSA GMO Panel, 2017).

Les conclusions des évaluations de l'Afssa¹ concernant les deux demandes initiales d'autorisation de mise sur le marché de la betterave H7-1 (dossiers n° EFSA-GMO-UK-2004-08 et EFSA-GMO-DE-2008-63) sont présentées dans l'avis de l'Anses du 13 juillet 2017 (Anses, 2017). L'une des réserves exprimées dans l'avis de l'Afssa du 25 janvier 2010 (Afssa, 2010) relatif au dossier n° EFSA-GMO-DE-2008-63 portait sur l'absence d'analyse complète et réactualisée du site d'insertion et des régions bordant l'insertion dans le génome de la betterave H7-1. Cette réserve n'ayant pas été levée en ce qui concerne l'analyse du site d'insertion de l'ADN-T, l'Anses a transmis le commentaire suivant à l'EFSA pendant la phase de consultation des Etats membres sur la présente demande de renouvellement (dossier n° EFSA-GMO-RX-006) : « *Le Panel GMO de l'EFSA² recommande d'effectuer des analyses bioinformatiques vis-à-vis de bases de données de séquences génomiques annotées lorsque de telles bases sont publiquement disponibles pour*

¹ 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 (Afssset) ont fusionné pour devenir l'Agence nationale chargée de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses).

² EFSA GMO Panel. 2015. "Guidance for renewal applications of genetically modified food and feed authorised under Regulation (EC) No 1829/2003." *EFSA Journal* 13(6): 4129, 8 pp.

l'espèce considérée. Le génome de la betterave ayant été séquencé en 2014³, le pétitionnaire devrait mener cette analyse. ». Cette demande n'a pas été relayée auprès du pétitionnaire par l'EFSA.

Par ailleurs, dans son avis du 13 juillet 2017 relatif à la présente demande de renouvellement, l'Anses concluait : « *L'ensemble des données présentées dans le dossier ne sont pas évocatrices de risques liés à l'utilisation de produits dérivés de la betterave H7-1 en alimentation humaine et animale. Toutefois, afin que les résultats des 3 nouvelles études soient pleinement exploitables, le pétitionnaire devra compléter son dossier en fournissant le plan de production REG 08-079 et en analysant les résultats de la nouvelle analyse de composition conformément aux recommandations du Panel GMO de l'EFSA (2010 et 2011).* » (Anses, 2017). Or, les données complémentaires fournies par le pétitionnaire à la demande de l'EFSA ne contiennent pas d'élément nouveau concernant l'évaluation comparative de la betterave H7-1.

Dans ces conditions, le GT « Biotechnologie » a finalisé l'analyse du site d'insertion de l'ADN-T dans le génome de la betterave H7-1 et réévalué les nouvelles études fournies par le pétitionnaire (analyse de composition des feuilles et de la pulpe, caractérisation agronomique et phénotypique et analyse de la teneur en protéine CP4 EPSPS des feuilles, de la pulpe et du pollen de la betterave H7-1), afin de déterminer si les réserves exprimées dans l'avis du 13 juillet 2017 (Anses, 2017) peuvent être levées.

3.2. Analyses réalisées par le GT « Biotechnologie »

L'étude du site d'insertion de l'ADN-T dans le génome de la betterave H7-1 a été réalisée par comparaison (BLASTN) des séquences flanquantes en 5' et en 3' de l'insert (789 et 806 pb, respectivement) avec la séquence génomique de référence de la betterave sur le site du NCBI. L'analyse a été menée avec chacune des 2 séquences flanquantes, puis en raboutant ces 2 séquences, qui devraient être contiguës dans le génome de la betterave si l'insertion de l'ADN-T dans le génome de la betterave H7-1 n'a pas entraîné de délétion. La séquence flanquante en 5' de l'insert ne s'aligne qu'une seule fois, sur le chromosome 4 de la betterave. La séquence flanquante en 3' de l'insert s'aligne sur plusieurs chromosomes (dont le chromosome 4), ce qui indique que cette séquence est redondante. Le meilleur résultat obtenu avec les 2 séquences flanquantes raboutées (1 595 pb au total) correspond à l'accession NC_025815.2 (« *Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* chromosome 4, RefBeet-1.2.2, whole genome shotgun sequence »). Les séquences flanquantes en 5' et en 3' de l'insert se trouvent respectivement aux positions 1694251 - 1695028 et 12611675 - 12612393 sur la séquence de cette accession. Ces résultats suggèrent que l'insertion de l'ADN-T dans le génome de la betterave H7-1 a eu lieu au niveau du chromosome 4. Ils montrent également une délétion d'environ 10,9 Mb au site d'insertion par rapport au génome de référence de la betterave. En l'absence d'information sur le parent, il n'est pas possible de déterminer l'origine de cette délétion.

Concernant les nouvelles études fournies par le pétitionnaire, le GT « Biotechnologie » constate que :

- Les éléments présentés dans l'étude consacrée à l'analyse de composition des feuilles et de la pulpe permettent de connaître le dispositif expérimental et les modalités de prélèvement des échantillons correspondant au plan de production REG 08-079. Le plan d'expérience utilisé dans cette étude respecte les recommandations du Panel GMO de l'EFSA (2011), à l'exception du nombre de répétitions, qui n'est que de 3 au lieu de 4. Ce nombre de répétitions n'empêche pas de réaliser des tests d'équivalence si on le souhaite.

Le pétitionnaire a pour sa part réalisé des tests de différence entre l'OGM (traité ou non avec du glyphosate) et le témoin non génétiquement modifié à l'aide d'un modèle mixte, site par site

³ Dohm J.C. *et al.* 2014. The genome of the recently domesticated crop plant sugar beet (*Beta vulgaris*). *Nature* 505: 546-549.

ou de manière combinée. Lorsque des différences significatives sont observées, il compare les valeurs obtenues pour l'OGM à des intervalles de tolérance à 99 % calculés à l'aide des 21 variétés commerciales incluses dans l'étude. Dans la mesure où, dans quasiment tous les cas, les valeurs mesurées sur l'OGM se trouvent dans ces intervalles de tolérance et où les différences statistiquement significatives ne sont pas observées sur tous les sites, il conclut que la composition de la betterave H7-1 est équivalente à celle d'une betterave conventionnelle.

Le GT « Biotechnologie » s'interroge sur le choix d'utiliser 21 variétés pour calculer les intervalles de tolérance et sur l'étendue des plages de valeurs ainsi obtenues. Il estime qu'il aurait été plus pertinent de réaliser des tests d'équivalence, puisque le plan d'expérience le permet ;

- Les informations relatives au témoin non génétiquement modifié utilisé comme comparateur dans les différentes études ne sont pas cohérentes. En effet, dans les études consacrées à l'analyse de composition des feuilles et de la pulpe et à l'analyse de la teneur en protéine CP4 EPSPS des feuilles, de la pulpe et du pollen, le pétitionnaire indique avoir utilisé un témoin de fonds génétique similaire à celui de la betterave H7-1. En revanche, dans l'étude relative à l'analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques, le pétitionnaire précise qu'il n'existe pas de témoin isogénique strict chez la betterave, du fait que chez cette espèce les lignées ne sont pas à 100 % homozygotes, tout en indiquant par la suite avoir utilisé la betterave parentale comme témoin. Dans ces conditions et en l'absence d'informations détaillées sur le fonds génétique des témoins utilisés, le GT « Biotechnologie » ne peut pas vérifier que ces témoins ont été correctement choisis ;

- Concernant l'analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques, le rapport d'étude (9 pages) ne précise pas le nombre et la nature des comparateurs utilisés ni la manière dont la randomisation a été réalisée. Les résultats n'ont pas fait l'objet d'analyses statistiques. Lorsque des différences sont observées, le pétitionnaire considère qu'elles résultent de la distance génétique entre la betterave H7-1 et le témoin non génétiquement modifié utilisé comme comparateur (Cf. supra). Le GT « Biotechnologie » estime que cet argumentaire n'est pas convaincant et que cette étude n'est pas interprétable en l'état ;

- Aucun détail n'est fourni concernant le plan d'expérience utilisé dans l'étude relative à l'analyse de la teneur en protéine CP4 EPSPS du pollen de la betterave H7-1.

Conclusions du Groupe de travail « Biotechnologie »

Le GT « Biotechnologie » regrette que le pétitionnaire n'ait pas réalisé l'analyse du site d'insertion de l'ADN-T dans le génome de la betterave H7-1. En effet, le GT « Biotechnologie » a mis en évidence une délétion d'environ 10,9 Mb au site d'insertion par rapport au génome de référence de la betterave. Il estime que la caractérisation moléculaire de la betterave H7-1 aurait dû être complétée à l'occasion de la présente demande de renouvellement, en tenant compte de l'évolution des connaissances et des techniques dans le domaine de la génomique.

Concernant les nouvelles études fournies par le pétitionnaire, une partie des réserves précédemment exprimées au sujet du plan de production REG 08-079 a pu être levée. En revanche, le GT « Biotechnologie » maintient que ces études ne sont pas complètement exploitables, du fait que certaines informations sont manquantes ou incohérentes et que les résultats de la nouvelle analyse de composition n'ont pas été analysés conformément aux recommandations du Panel GMO de l'EFSA (2010 et 2011), alors que le plan d'expérience le permet.

Les réserves exprimées dans cet avis ne sont pas de nature à modifier les conclusions de l'avis de l'Afssa du 8 septembre 2005 (Afssa, 2005) relatif à la demande initiale d'autorisation de mise sur le marché de la betterave H7-1 (dossier n° EFSA-GMO-UK-2004-08). Toutefois, le GT souhaite que ses remarques concernant les études fournies dans le dossier soient prises en compte pour une prochaine demande de renouvellement.

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 ». Elle estime qu'il conviendrait de déterminer si la délétion d'environ 10,9 Mb mise en évidence par l'analyse du GT « Biotechnologie » par rapport au génome de référence de la betterave résulte ou non de la transformation génétique.

Par ailleurs, de manière générale, elle recommande que les remarques formulées dans le présent avis soient prises en compte pour tous les dossiers de demande de renouvellement, notamment celles qui concernent la mise à disposition de toutes les études disponibles et l'actualisation de la caractérisation moléculaire, qui doit être réalisée à l'aide d'analyses bioinformatiques vis-à-vis de bases de données de séquences génomiques annotées lorsque de telles bases sont publiquement disponibles pour l'espèce considérée.

Dr Roger GENET

MOTS-CLES

OGM, betterave H7-1, tolérance au glyphosate, CP4 EPSPS

GMO, H7-1 sugar beet, glyphosate tolerance, CP4 EPSPS

BIBLIOGRAPHIE

- Afssa. 2005. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments du 8 septembre 2005 relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché de betteraves à sucre Roundup Ready H7-1, pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003.
- Afssa. 2010. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments du 25 janvier 2010 relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché de la betterave génétiquement modifiée H7-1, tolérante au glyphosate, pour la culture, l'importation et la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003.
- Anses. 2017. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail du 13 juillet 2017 relatif à une demande de renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003, de la betterave génétiquement modifiée H7-1 développée pour être tolérante au glyphosate, pour l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-RX-006).
- EFSA GMO Panel. 2006. "Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (reference EFSA-GMO-UK-2004-08) for the placing on the market of products produced from glyphosate-tolerant genetically modified sugar beet H7-1, for food and feed

uses, under Regulation (EC) No1829/2003 from KWS SAAT and Monsanto." *The EFSA Journal* 431: 1-18.

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 GMO Panel. 2015. "Guidance for renewal applications of genetically modified food and feed authorised under Regulation (EC) No 1829/2003." *EFSA Journal* 13(6): 4129, 8 pp.

EFSA GMO Panel. 2017. "Assessment of genetically modified sugar beet H7-1 for renewal of authorisation under Regulation (EC) No 1829/2003 (application EFSA-GMO-RX-006)." *EFSA Journal* 15(11): 5065, 9 pp.

NF X50-110:2003 Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

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.