

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 17 novembre 2021

AVIS

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

**relatif à l'évaluation de données complémentaires concernant le colza
génétiquement modifié 73496 (dossier n° EFSA-GMO-NL-2012-109)**

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 2 juillet 2021 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 l'évaluation de données complémentaires concernant le colza génétiquement modifié 73496 (dossier n° EFSA-GMO-NL-2012-109).

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/European Food Safety Authority (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.

Dans ce cadre, le dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003, du colza génétiquement modifié 73496 développé afin d'être tolérant au glyphosate, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-NL-2012-109) a été évalué par l'Anses à la demande de la DGCCRF en 2012-2013 (saisine 2012-SA-0265). Dans son avis du 27 février 2013 (Anses, 2013), l'Anses adoptait les conclusions du

GT « Biotechnologie » qui étaient : « *La caractérisation moléculaire de l'événement 73496 ne met en évidence aucun élément évocateur d'un risque pour le consommateur de colza 73496. Cependant, une analyse plus précise du site d'insertion avec une comparaison des séquences génomiques de colza avant et après l'insertion est nécessaire pour une caractérisation complète.*

La composition chimique de la graine et du tourteau issu du colza 73496 traité ou non avec le glyphosate est différente de celles des graines et du tourteau issu du colza comparateur et des variétés commerciales, en raison d'une augmentation significative de la teneur en acides aminés acétylés (en particulier NAA et NAG) dans les colzas 73496 par rapport aux colzas comparateurs et de variétés commerciales. Cette observation est en lien avec la fonction d'acétylation de la protéine GAT4621, exprimée par le transgène.

Les teneurs en glyphosate, N-acétyl glyphosate et en leurs métabolites (AMPA et N-acétyl AMPA) auraient dû être mesurées. Par ailleurs, le GT rappelle que l'utilisation du glyphosate sur ces colzas devra être évaluée par les instances européennes compétentes avant l'autorisation de mise sur le marché des colzas 73946.

De nombreuses études toxicologiques visant à évaluer la sécurité de ce colza sont présentées : sur la protéine GAT4621 ; sur les composés dont la concentration a été modifiée et sur l'aliment entier (étude de toxicité sub-chronique de 90 jours).

Concernant l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours par incorporation dans l'alimentation de tourteau et d'huile de colza 73496 traité par le glyphosate ou par un autre herbicide, les résultats de cette étude n'ont pas mis en évidence d'effet néfaste ou toxique pour les animaux.

Aucun élément ne suggère une allergénicité du colza transgénique et de l'huile qui en est extraite, supérieure à celle du colza non transgénique. De même, les données suggèrent qu'il n'existe pas de différences de valeur nutritionnelle entre les tourteaux de colza issus de graines transgéniques traitées ou non au glyphosate et les colzas témoins.

Le produit dérivé du colza consommé par l'Homme étant essentiellement l'huile, le risque d'exposition aux composés dont la concentration a été modifiée lié à la consommation de cette huile est négligeable.

Le produit dérivé du colza utilisé en alimentation animale est le tourteau. La marge d'exposition déterminée par le GT varie de 5 à 15 selon l'espèce cible considérée. Compte tenu de ces faibles marges, le GT recommande qu'un suivi post commercialisation soit envisagé sur une ou plusieurs espèces cibles.

Le GT considère que ce dossier est bien documenté et suit une démarche tout à fait pertinente en ce qui concerne l'évaluation de la sécurité du produit. Toutefois, il ne peut se prononcer sur la sécurité du colza 73496 en l'absence :

- des éléments complémentaires nécessaires à la caractérisation moléculaire complète du site d'insertion,*
- des teneurs en glyphosate N-acétyl glyphosate et ses métabolites. »*

Des données complémentaires au dossier initial évalué en 2013 ont été apportées à la demande de l'EFSA et à l'initiative du pétitionnaire. 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 de nouveau l'Anses afin qu'elle procède à l'évaluation des données complémentaires pour disposer d'un avis actualisé.

Le Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013 n'est pas opposable pour ce dossier, déposé avant la mise en application de ce Règlement. Néanmoins, il convient de noter que tant le pétitionnaire que les experts ont mis en œuvre des éléments des documents guides de l'EFSA respectivement pour compléter le dossier ou l'analyser. Aussi, certaines attentes formulées par les experts, au vu de l'avancée des connaissances et des exigences, peuvent apparaître en décalage par rapport à ce référentiel opposable.

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 réalisée par le Groupe de Travail (GT) « Biotechnologie », réuni les 26 août 2021, 16 et 30 septembre 2021 sur la base de rapports initiaux rédigés par sept rapporteurs. Elle a été conduite en se basant sur les documents guides de l'EFSA (2010) et du Panel GMO de l'EFSA (2006 et 2011) ainsi que 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 : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT

Le colza 73496 est issu d'une variété de l'espèce *Brassica napus* qui a été génétiquement modifiée afin d'introduire dans son génome la cassette d'expression portant le gène *gat4621* codant la glyphosate N-acétyl-transférase 4621 (protéine GAT4621). La protéine GAT4621 confère à la plante la tolérance au glyphosate par acétylation de celui-ci.

Si ce colza venait à être importé, il devrait satisfaire à la réglementation européenne relative aux limites maximales de résidus de produits phytopharmaceutiques sur ce type de plantes.

Les sections, telles que définies dans le formulaire de commentaires de l'EFSA, sont utilisées ci-dessous. Seuls sont renseignés les paragraphes faisant l'objet d'un commentaire ou d'une actualisation vis-à-vis de l'avis de l'Anses du 27 février 2013. Les données complémentaires apportées au dossier initial ne sont pas toutes présentées ci-dessous.

PARTIE II - INFORMATIONS SCIENTIFIQUES

II.1. Identification et caractérisation des dangers

II.1.2. Caractérisation moléculaire

II.1.2.2. Informations concernant la plante génétiquement modifiée

La séquence codante *gat4621* présente dans la cassette d'expression a été définie à partir des séquences de gènes *gat* de 3 souches différentes de *Bacillus licheniformis*. L'enzyme GAT4621 exprimée dans le colza 73496 métabolise le glyphosate en N-acétyl glyphosate, un dérivé N-acétylé non phytotoxique. Cette molécule est ensuite dégradée en acide amino

méthylphosphonique (AMPA) et N-acétyl AMPA. La protéine mutée GAT4621 possède une activité sur le glyphosate 7000 fois supérieure aux protéines GAT natives de *Bacillus licheniformis*. En plus du glyphosate, des amines primaires et des groupements hydroxyls de petites molécules peuvent aussi être acétylés par la protéine GAT4621. Comme pour le maïs 98140 (Afssa, 2009), des teneurs élevées en N-acétyl-aspartate (NAA), N-acétyl-glutamate (NAG) et N-acétyl-thréonine (NAT) ont été mesurées dans le colza 73496 (Anses, 2013). La présence de ces composés et leur sécurité sont discutées dans l'avis de l'Anses du 27 février 2013 et dans les chapitres suivants.

L'expertise des données initiales (Anses, 2013) conduisait à conclure qu'une seule copie de la cassette d'expression du gène *gat4621* était insérée dans un site unique du génome du colza 73496. Des données complémentaires permettent de confirmer l'absence d'insertion de séquences plasmidiques en dehors de la cassette d'expression dans le génome du colza. Le pétitionnaire présente des données de cartographie par marqueurs d'ADN SNP (*single nucleotide polymorphism*) des régions flanquant le site d'insertion de la cassette d'expression de *gat4621* dans le colza 73496 en comparaison avec le génome public du colza DH12075 et le génome de la variété parentale 1822B. Ces données permettent de localiser l'insertion de la cassette d'expression sur le chromosome 12 du colza et de mettre en évidence une inversion chromosomique d'un fragment d'ADN de 9,2 millions de paires de bases suivie d'une réparation. Cette inversion n'est pas présente dans la variété parentale 1822B. Une des extrémités du fragment d'ADN inversé se trouve en 3' du site d'insertion de la cassette d'expression du gène *gat4621*. Le séquençage et l'analyse bioinformatique de cette séquence flanquante ont été réalisés et apportent les informations attendues par le GT « Biotechnologie ». La deuxième extrémité du fragment d'ADN inversé se trouve dans le chromosome 12 du colza ; elle est caractérisée seulement par le positionnement de marqueurs SNP. Le GT « Biotechnologie » considère que cela est insuffisant pour mettre en évidence des délétions ou des remaniements potentiels de séquences et pour identifier une potentielle interruption d'un gène. La caractérisation de cette région permettrait de compléter l'évaluation moléculaire.

Les conclusions de l'avis de l'Anses du 27 février 2013 soulignaient l'interruption d'une séquence codante du colza ayant une homologie avec celles des gènes de la famille des *tpt* (triose phosphate/*phosphate translocator*, *chloroplast precursor*). Les protéines de translocation TPT sont des protéines intramembranaires des chloroplastes ; dans les tissus photosynthétiques, elles exportent les trioses phosphates des chloroplastes vers le cytosol où ils sont utilisés comme précurseurs de la biosynthèse du saccharose. Les analyses d'expression de ce gène endogène par northern blot et RT-PCR quantitative mettaient en évidence une expression très faible dans les graines de colza 1822B et colza 73496 et une diminution d'expression dans les feuilles de colza 73496 par rapport au colza 1822B.

Des analyses par Southern blot montraient la présence de 3 à 4 copies du gène *tpt* dans le génome de la variété de colza parentale 1822B. De nouvelles analyses par PCR sur la variété de colza parentale 1822B permettent d'affirmer l'existence de 4 copies du gène *tpt* comportant chacune 12 exons et d'identifier la copie du gène dans laquelle est insérée la cassette d'expression au niveau du 4^{ème} intron dans le colza 73496.

La faible teneur en ARNm de *tpt* dans les graines de colza témoin parental 1822 B et de colza 73496 mise en évidence par les northern blot et les RT-PCR quantitatives conduit le pétitionnaire à supposer que l'interruption d'un des 4 gènes dans le colza 73496 n'aurait pas d'effet sur la sécurité alimentaire pour l'Homme ou l'animal. Le GT « Biotechnologie » accepte cette hypothèse.

Des mutants du gène *tpt*, gène unique chez *Arabidopsis thaliana* ne présentent ni un retard de croissance, ni une activité photosynthétique diminuée. De plus, le pétitionnaire indique que les lignées commercialisées de colza 73496 seront des hybrides. Il en conclut que la différence d'expression potentielle de la protéine TPT dans un fonds génétique unique pour

l'événement 73496 n'aura pas d'impact sur le phénotype dans une variété hybride. D'ailleurs, les essais au champ (cf chapitre II.1.3.5.) ne mettent pas en évidence un caractère phénotypique particulier chez le colza hybride 73496.

Les analyses bioinformatiques des cadres ouverts de lecture (ORF) potentiels au niveau des jonctions et de l'insertion de la cassette d'expression du gène *gat4621*, effectuées plusieurs fois successivement et le plus récemment en 2020, ne mettent en évidence aucune identité totale ou locale avec des protéines toxiques ou des allergènes connus. Elles confirment les conclusions de l'avis de l'Anses (2013).

II.1.2.4. Conclusions de la caractérisation moléculaire

Les éléments complémentaires présentés dans le dossier répondent aux interrogations du GT « Biotechnologie » relatives à la caractérisation du site d'insertion de la cassette d'expression du gène *gat4621* (Anses, 2013). Suite à la mise en évidence d'une inversion chromosomique d'un fragment d'ADN de 9,2 millions de paires de bases suivie d'une réparation, le GT « Biotechnologie » considère que ce remaniement chromosomique, non identifié dans le dossier initial, est insuffisamment caractérisé au niveau de l'extrémité du fragment d'ADN inversé présent dans le chromosome 12 du colza pour identifier une possible interruption ou délétion d'un gène ou une création d'un ORF.

II.1.3. Evaluation comparative

II.1.3.2. Dispositif expérimental et analyse statistique des données issues des essais au champ pour l'analyse comparative

Le colza hybride 73496, la variété hybride témoin (témoin comparateur) et les 6 variétés commerciales de référence (3 variétés par site)¹ ont été cultivés en 2010 sur 9 sites : 5 au Canada et 4 aux USA. Dans l'avis de l'Anses du 27 février 2013, le GT « Biotechnologie » considérait que les caractéristiques de ce plan d'expérience respectaient les recommandations du Panel GMO de l'EFSA. Les nouvelles informations apportées sur le dispositif expérimental n'appellent pas de remarque du GT « Biotechnologie ».

Les analyses de composition et les analyses phénotypiques et agronomiques ont été réalisées avec les données issues des 9 sites d'essai.

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

L'analyse de composition a été réalisée sur la graine entière. Les composés analysés correspondent à ceux du document consensus de l'OCDE (2011) auxquels ont été ajoutés en raison de l'activité enzymatique de la protéine GAT4621 synthétisée par le colza 73496, 5 acides aminés acétylés [N-acétyl aspartate (NAA), N-acétyl glutamate (NAG), N-acétyl thréonine (NAT), N-acétyl glycine (NAGly) et N-acétyl sérine (NAS)] et les 26 acides aminés libres. Le GT « Biotechnologie » estimait que cette analyse était complète dans l'avis de l'Anses du 27 février 2013.

¹ « Pour des raisons techniques, la lignée réceptrice de la modification génétique est une lignée élite mâle stérile. Cette lignée a été croisée avec une lignée de même fonds génétique (1822), restaurant la fertilité. Le colza génétiquement modifié utilisé dans cette étude est un colza hybride, résultat du croisement de deux lignées élite dont la 1822GM. Le colza témoin choisi comme comparateur est aussi un hybride, résultat du croisement de deux lignées élite de fonds génétiques proches des deux précédentes mais non génétiquement modifiées. Dans cette analyse de composition, le colza 73496 a été comparé au comparateur et à 6 variétés commerciales de référence » (Anses, 2013).

II.1.3.4. Analyse comparative de la composition

Les analyses statistiques des données issues des 9 sites d'essai avaient été effectuées dans le dossier initial. Elles l'ont été à nouveau avec des paramètres et des modèles différents pour l'ensemble des données de composition utilisables. Le pétitionnaire ajoute aussi une évaluation de la pertinence biologique des résultats de la composition des graines.

Les mesures de 103 composés sur les 131 analysés à partir des graines sont utilisables pour les analyses statistiques. Les 28 autres composés sont exclus de l'analyse statistique car 50 % ou plus des mesures d'échantillons sont en-dessous de la LLOQ² pour le colza 73496 traité ou non au glyphosate ou pour la variété témoin comparateur. Ces 28 composés sont soumis à un test de Fisher pour comparer la proportion d'échantillons en-dessous de la LLOQ entre le colza 73496 traité ou non au glyphosate et le témoin comparateur. Si une différence significative est identifiée, la gamme de valeurs pour le colza 73496 est confrontée à l'intervalle de tolérance des variétés de référence.

Les caractéristiques de composition sont comparées à l'aide d'analyses de variance (ANOVA) réalisées avec un modèle linéaire mixte incluant :

- un effet fixe "génotype" (indiquant s'il s'agit du colza 73496 traité ou non avec l'herbicide d'intérêt, du comparateur ou des variétés commerciales de référence),
- des effets aléatoires : "site", "bloc dans le site" et "variété commerciale".

Le modèle statistique utilisé, qui inclut un effet fixe "génotype" et un effet aléatoire "variété commerciale" correspond à celui proposé par le Panel GMO de l'EFSA (2010).

Les interactions génotype/site sont également analysées.

Le colza 73496 traité ou non traité avec du glyphosate est comparé à la variété témoin par des tests de différence et aux variétés commerciales de référence incluses dans ces essais au champ par des tests d'équivalence. Lorsque les variances estimées pour les variétés commerciales sont proches de 0, il n'est pas possible de conclure au test d'équivalence. Le pétitionnaire fait alors des comparaisons avec des intervalles de tolérance calculés à partir des données qu'il a obtenues pour les graines de colza de variétés commerciales non génétiquement modifiées, cultivées pour d'autres essais (multi-sites et multi-années).

L'erreur de type 1 retenue par le pétitionnaire est de 10 % pour les tests de différence et les tests d'équivalence. Les résultats des tests statistiques sont interprétés selon l'approche décrite par le Panel GMO de l'EFSA (2010), en classant les variables en 4 catégories selon les résultats des tests d'équivalence et 7 types après combinaison avec les résultats des tests de différence.

L'ensemble des modèles et méthodes est décrit dans les annexes. Les données brutes sous format électronique et les programmes de calcul sont fournis.

La graine de colza 73496 non traité au glyphosate présente une « non-équivalence probable » (catégorie III) avec les variétés commerciales de référence de type 5³ pour sa teneur en brassicastérol et une non-équivalence avec les variétés de référence (type 7⁴) pour sa teneur en vitamine B6 (pyridoxine). Une partie des teneurs en brassicastérol et en vitamine B6 de ces graines est légèrement inférieure à celle des graines du colza témoin comparateur, tout en restant dans la gamme des mesures de ce témoin pour la vitamine B6.

La graine de colza 73496 traité au glyphosate présente cinq « non-équivalences probables »

² limite basse de quantification (lower limit of quantification)

³ Type 5 : non équivalence probable avec les variétés de référence et non différence avec le colza témoin comparateur

⁴ Type 7 : non équivalence avec les variétés de référence et différence avec le colza témoin comparateur

(catégorie III) avec les variétés commerciales de référence de type 5 pour sa teneur en brassicastérol et en vitamine B6 (pyridoxine) et de type 6⁵ pour sa teneur en lipides brutes, en NDF⁶ et en vitamine B5 (acide pantothénique) et une non-équivalence avec les variétés de référence (type 7) pour sa teneur en ADF⁷. Un ou plusieurs dosages de ces analytes (lipides brutes, ADF, NDF, brassicastérol, vitamine B5 et vitamine B6) des graines de colza 73496 sont en dehors de la gamme de ces analytes dosés dans les graines du colza témoin comparateur.

Pour six composés (fibres brutes, glycine, sérine, sodium, magnésium et 4-hydroxyglucobrassicine) de la graine de colza 73496 traité ou non au glyphosate, il n'est pas possible de conclure au test d'équivalence. Les teneurs en glycine, sérine et sodium des graines de colza 73496 traité ou non au glyphosate ne présentent pas de différence significative avec celles des graines du colza témoin comparateur. Pour les teneurs en fibres brutes, magnésium et 4-hydroxyglucobrassicine, une différence significative est observée entre les graines de colza 73496 traité ou non au glyphosate et celles du témoin comparateur. Cependant, ces différences sont faibles pour les fibres brutes et le magnésium. Les teneurs en 4-hydroxyglucobrassicine sont beaucoup plus élevées dans les graines de colza 73496 par rapport à celles des graines du colza témoin comparateur (+ 135 % pour le colza non traité au glyphosate et + 207 % pour le colza traité au glyphosate). Toutefois, il existe une grande variabilité des teneurs en ce composé dans les graines de colza. L'ensemble des teneurs mesurées dans les graines de colza 73496 traité ou non au glyphosate reste dans la gamme des valeurs mesurées dans les graines de variétés de référence.

Les teneurs en glycine des graines de colza 73496 traité ou non au glyphosate, en sérine (colza 73496 traité au glyphosate) et sodium (colza 73496 non traité au glyphosate) se trouvent dans la gamme des valeurs mesurées dans les graines des variétés de référence. Pour les fibres brutes et le magnésium (colza 73496 traité ou non au glyphosate), la sérine (colza 73496 non traité au glyphosate) et le sodium (colza 73496 traité au glyphosate), une ou plusieurs teneurs mesurées dans les graines sortent de la gamme des valeurs pour les graines de variétés de référence.

Le test de Fisher sur les 28 analytes exclus de l'analyse statistique identifie une différence significative entre le colza 73496 traité ou non au glyphosate et le colza témoin comparateur pour quatre composés : diminution des teneurs pour un acide gras [acide hénécosanoinique (C21 :0)] et trois glucosinolates (glucoraphanine, glucoalyssine et gluconasturtiine). Une diminution significative supplémentaire pour la teneur d'un 4^{ème} glucosinolate, le 4-méthoxyglucobrassicine, existe aussi pour le colza traité au glyphosate.

Cependant, les teneurs en fibres brutes, glycine, sérine, sodium, magnésium, 4-hydroxyglucobrassicine, vitamine B6 et brassicastérol mesurées dans les graines de colza 73496 traité ou non au glyphosate se trouvent toutes dans les intervalles de tolérance calculées par le pétitionnaire. Il en est de même pour les 5 analytes exclus de l'analyse statistique [acide hénécosanoinique (C21 :0) et 4 glucosinolates (glucoraphanine, glucoalyssine, gluconasturtiine et 4-méthoxyglucobrassicine)].

Concernant les composés du document consensus de l'OCDE (2011) et les acides aminés libres, le GT « Biotechnologie » conclut de l'ensemble des données et analyses disponibles que les non-équivalences de composition des graines de colza 73496 traité ou non au glyphosate avec les graines de variétés de référence de l'étude n'ont pas de signification biologique et les différences de composition avec les graines de colza témoin comparateur, non plus.

⁵ Type 6 : non équivalence probable avec les variétés de référence et différence avec le colza témoin comparateur

⁶ *Neutral detergent fiber*

⁷ *Acid detergent fiber*

En raison de l'activité d'acétylation de la protéine GAT4621, le dosage de 5 acides aminés N-acétylés, NAA, NAG, NAT, NAGly et NAS avait été ajouté à l'analyse de composition des graines de colza pour cette étude (chapitre II.1.3.3).

Les teneurs en ces 5 acides aminés N-acétylés étaient déjà présentées dans l'avis de l'Anses du 27 février 2013. Depuis, les données ont été corrigées pour les graines de colza 73496 traité au glyphosate après la suppression d'un bloc sur un site d'essai en raison d'une erreur de traitement avec un herbicide (tableau 1). Comme pour les autres analytes, les analyses statistiques ont été effectuées à nouveau.

Tableau 1 : Teneurs en acides aminés N-acétylés dans les graines issues de colza 73496 traité ou non au glyphosate, de colza témoin comparateur et de variétés de référence. Elles sont exprimées en µg/g de matière sèche.

	Variétés de référence	Témoin comparateur	Colza 73496	
			Non traité au glyphosate	Traité au glyphosate
Acides aminés N-acétylés				
NAA	0,207 - 34,4	3,42	1860*	1670*
NAG	0,351 – 2,46	0,833	27,3*	28,9*
NAT	0,0554 – 1,80	0,251	0,971*	0,838*
NAS	0,296 – 10,2	1,80	1,82	1,68
NAGly	0,0383 – 0,665	0,158	0,143	0,128

* différence significative à 0,01 %

La graine de colza 73496 non traité au glyphosate présente une non-équivalence avec les variétés de référence (type 7) pour sa teneur en NAG.

La graine de colza 73496 traité au glyphosate présente une « non-équivalence probable » (catégorie III) avec les variétés de référence de type 5 pour sa teneur en NAGly et une non-équivalence avec les variétés de référence (type 7) pour sa teneur en NAG.

Il n'est pas possible de conclure au test d'équivalence pour les teneurs des 3 autres acides aminés acétylés (NAA, NAT, NAS) dans la graine de colza 73496 traité ou non au glyphosate.

Les teneurs en acides aminés acétylés NAA, NAG, NAT dans les graines de colza 73496 traité ou non au glyphosate sont statistiquement plus élevées que celles du colza témoin comparateur (tableau 1) en raison de l'activité enzymatique de la protéine GAT4621. Leurs teneurs en NAGly et NAS ne sont pas différentes de celles du colza témoin comparateur.

Comme indiqué plus haut dans ce chapitre, les nouvelles analyses statistiques présentées confirment que les niveaux élevés de NAA, NAG et NAT n'affectent pas les concentrations en acides aminés libres dans les graines de colza 73496 traité ou non au glyphosate.

Sur la base du dossier initial et des nouvelles données et analyses présentées, l'analyse combinée de l'ensemble des 9 sites d'expérimentation montre que la composition des graines de colza 73496 traité ou non avec du glyphosate est différente de celle des graines de colza témoin comparateur et non-équivalente de celle des graines des variétés de référence mises en œuvre dans l'étude en ce qui concerne les teneurs en 3 acides aminés N-acétylés, NAA,

NAG et NAT. Le GT « Biotechnologie » considère que les graines de colza 73496 traité au glyphosate présentent une composition similaire à celle des graines de colza 73496 non traité avec cet herbicide d'intérêt.

II.1.3.5. Analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques

Les caractéristiques agronomiques et phénotypiques ont été évaluées sur 12 paramètres pour les 9 sites d'essais. Le GT « Biotechnologie » concluait en 2013 que le colza 73496 traité ou non au glyphosate était équivalent au colza témoin comparateur et aux variétés commerciales pour ses caractéristiques agronomiques et phénotypiques, à l'exception de la tolérance au glyphosate (Anses, 2013). Les nouvelles analyses réalisées sur ces données expérimentales conduisent le GT « Biotechnologie » à confirmé cette conclusion.

II.1.3.6. Effets de la transformation

En raison de la non-équivalence de composition des graines de colza 73496 avec celles des variétés de référence, la composition des produits alimentaires issus de la transformation des graines de colza a été analysée, en particulier pour la teneur en acides aminés N-acétylés.

Dans le dossier initial, de l'huile RBD⁸ et des tourteaux déshuilés et toastés avaient été fabriqués à partir de graines (dépelliculées et non dépelliculées) de colza 73496 traité et non traité au glyphosate et de colza témoin comparateur.

Ces graines de colza provenaient des essais au champ mis en œuvre pour mener l'évaluation comparative (chapitre II.1.3).

Dans le dossier initial, les composés analysés de ces différents tourteaux déshuilés et toastés et de ces huiles RBD correspondent à ceux du document consensus de l'OCDE (2011) auxquels ont été ajoutés les 5 acides aminés N-acétylés. Les analyses réalisées ont été comparées selon l'origine des graines utilisées pour les fabrications.

La composition des huiles RBD issues de graines de colza 73496 et de colza témoin comparateur était similaire sauf pour leurs teneurs en gamma-tocophérol et en tocophérols totaux (tableau 2). Les teneurs en tocophérols dans les huiles RBD issues de graines de colza 73496 restent très inférieures à la gamme standard définie par l'OCDE pour des huiles de variétés de colza considérées comme « faible en acide érucique » (Anses, 2013). Les dosages des acides aminés N-acétylés (NAA, NAG, NAT, NAS, NAGly) sont en-dessous des limites de quantification dans les huiles RBD.

Tableau 2 : Teneurs en gamma-tocophérol et en tocophérols totaux des huiles RBD extraites de graines dépelliculées ou non, de colza 73496 traité au glyphosate ou non, et de colza témoin comparateur. Elles sont exprimées en µg/g de matière fraîche.

	Huile RBD issue de graines non dépelliculées			Huile RBD issue de graines dépelliculées		
	colza 73496 traité au glyphosate	Colza 73496 non traité au glyphosate	Colza témoin comparateur	colza 73496 traité au glyphosate	Colza 73496 non traité au glyphosate	Colza témoin comparateur
Gamma-tocophérol	355	325	272	339	314	290
Tocophérols totaux	563	518	441	555	523	494

La composition des tourteaux déshuilés et toastés issus de graines de colza 73496 était similaire à ceux issus de graines de colza témoin comparateur sauf pour leurs teneurs en

⁸ *Refined, Bleached and Deodorized Oil = RBD Oil* (huile raffinée, blanchie et désodorisée)

acides aminés N-acétylés (tableau 3). Les teneurs en NAA, NAG, NAT des tourteaux issus de graines de colza 73496 traité ou non au glyphosate étaient plus élevées que les teneurs dans les tourteaux issus de graines de colza témoin comparateur. Les concentrations en NAA, NAG, NAT et NAGly étaient 2 à 3 fois plus élevées dans les tourteaux que dans les graines entières de colza. Cette concentration était similaire pour les tourteaux fabriqués à partir de graines de colza 73496 et de colza témoin, que les graines soient dépelliculées ou non.

Tableau 3 : Teneurs en acides aminés N-acétylés des graines entières (teneurs corrigées dans les données complémentaires) et des tourteaux déshuilés et toastés fabriqués à partir de graines dépelliculées ou non, de colza 73496 traité au glyphosate ou non, et de colza témoin comparateur. Elles sont exprimées en µg/g de matière fraîche.

	Graines entières			Tourteaux issus de graines non dépelliculées			Tourteaux issus de graines dépelliculées		
	colza 73496 traité au glyphosate	Colza 73496 non traité au glyphosate	Colza témoin comparateur	colza 73496 traité au glyphosate	Colza 73496 non traité au glyphosate	Colza témoin comparateur	colza 73496 traité au glyphosate	Colza 73496 non traité au glyphosate	Colza témoin comparateur
Acides aminés N-acétylés									
NAA	1670	1860	3,42	3070	3190	14,5	3480	3690	16,8
NAG	28,9	27,3	0,833	53,7	50,8	2,37	56,8	61,9	2,57
NAGly	0,128	0,143	0,158	0,413	0,362	0,267	0,395	0,348	0,298
NAS	1,68	1,82	1,80	2,56	2,19	1,97	2,68	2,22	2,54
NAT	0,838	0,971	0,251	2,90	3,23	0,759	1,41	1,25	0,571

De nouvelles données sont fournies sur l'apport potentiel en acides aminés N-acétylés par la consommation d'un autre produit : les isolats de protéines pressés à froid, fabriqués à partir de graines de colza 73496. Le jus d'extraction est un co-produit de la fabrication de ces isolats de protéines.

Les 5 acides aminés N-acétylés ont été quantifiés dans les isolats de protéines et dans les jus d'extraction préparés à partir de graines de colza 73496 non traité au glyphosate et de colza témoin comparateur. Trois jus d'extractions sont élaborés par lavages successifs. Seules les données concernant le jus d'extraction le plus concentré sont reprises dans le tableau 4.

Tableau 4 : Teneurs en acides aminés N-acétylés des graines entières, des isolats de protéines et des « jus d'extractions » fabriqués à partir de graines de colza 73496 non traité au glyphosate et de colza témoin comparateur. Elles sont exprimées en µg/g de matière fraîche pour les isolats de protéines et les graines et en µg/ml de matière fraîche pour le jus d'extraction.

Acide aminé N-acétylé	Colza 73496 non traité au glyphosate			Colza témoin		
	Graine	Jus d'extraction	Isolats de protéines	Graine	Jus d'extraction	Isolats de protéines
NAA	1323	140,8	13,01	0,1949	0,01199	<0,0125
NAG	49,57	5,492	0,4329	0,2573	0,02434	<0,0125
NAGly	0,1533	0,01407	<0,0125	0,05922	0,005686	<0,0125
NAS	1,961	0,1984	0,007375	0,4039	0,04381	<0,0125
NAT	1,436	0,1301	0,006753	0,08507	0,008846	<0,0125

Les teneurs pour les 5 acides aminés N-acétylés sont plus élevées dans les isolats de protéines et les jus d'extraction fabriqués à partir de graines de colza 73496 que ceux fabriqués à partir de graines de colza témoin. Pour chaque acide aminé N-acétylé mesuré, le jus d'extraction contient environ 10 % de sa teneur dans la graine entière et l'isolat de

protéines, 1 %. Le GT « Biotechnologie » regrette que la composition chimique des isolats de protéines et des jus d'extractions ne soit pas documentée au-delà des 5 acides aminés N-acétylés.

La protéine GAT4621 a été recherchée par ELISA dans les tourteaux déshuilés et toastés fabriqués à partir de graines, dépelliculées ou non, de colza 73496 traité et non traité au glyphosate et de colza témoin comparateur. Sa teneur était en-dessous de la limite de quantification dans tous les échantillons. La protéine GAT4621 aurait dû aussi être recherchée dans les huiles RBD et surtout dans les isolats de protéines et les jus d'extractions afin de calculer l'exposition alimentaire à la protéine exogène.

II.1.3.7. Conclusions de l'évaluation comparative

L'ensemble des données obtenues sur les colzas mis en œuvre dans les essais au champ ont été de nouveau analysées statistiquement pour évaluer la composition des graines et les caractéristiques agronomiques et phénotypiques du colza 73496. Les nouveaux résultats ne modifient pas les conclusions initiales du GT « Biotechnologie » (Anses, 2013). A l'exception de sa tolérance au glyphosate, le colza 73496 apparaît équivalent aux variétés commerciales de référence sur le plan agronomique et phénotypique. La composition des graines de colza 73496 est différente de celle du colza témoin comparateur et non-équivalente à celles des variétés de référence en raison de concentrations élevées en NAA, NAG et NAT. Cette particularité est due à l'activité d'acétylation de la protéine GAT4621, exprimée dans le colza 73496 grâce au transgène. L'évaluation nutritionnelle chez le poulet présente dans le dossier est donc un élément nécessaire pour renseigner la sécurité du colza 73496.

Aucune information nouvelle n'a été apportée sur le glyphosate, le N-acétyl glyphosate, l'acide amino méthyl phosphonique (AMPA) et le N-acétyl AMPA. Le GT « Biotechnologie » rappelle que si le colza 73496 venait à être importé, il devrait satisfaire à la réglementation européenne relative aux limites maximales de résidus de produits phytopharmaceutiques sur ce type de plantes.

Les huiles RBD issues de graines de colza 73496 présentent une composition semblable aux huiles RBD issues de graines de variétés de colza considérées comme « faible en acide érucique » (Anses, 2013). Les teneurs en acides aminés N-acétylés, principalement le NAA et le NAG, sont beaucoup plus élevées dans les tourteaux, jus d'extraction et isolats de protéines fabriqués à partir des graines de colza 73496 que dans ces mêmes produits fabriqués à partir de graines de colza témoin. La protéine GAT4621 aurait dû être recherchée par le pétitionnaire dans les isolats de protéines et les jus d'extraction.

Les graines de colza 73496 traité au glyphosate présentent une composition similaire à celle des graines de colza 73496 non traité ainsi que les produits alimentaires dérivés de ces graines.

Les différences de composition en NAA, NAG et NAT des graines de colza 73496 et des denrées et aliments pour animaux fabriqués à partir de ces graines ont conduit le pétitionnaire à réaliser une évaluation de la sécurité toxicologique et alimentaire de ces acides aminés N-acétylés en plus de l'évaluation toxicologique de la protéine GAT4621 et du colza 73496 (cf chapitre II.1.4).

II.1.4. Toxicologie

II.1.4.1. Analyse des protéines nouvellement exprimées

La protéine nouvellement produite dans le colza 73496 est la protéine GAT4621. La cassette d'expression du gène *gat4621* a été introduite dans *E. coli* pour y produire la protéine et l'utiliser pour sa caractérisation et pour les tests de toxicité. Cette protéine est équivalente à celle provenant du colza 73496 sur la base de résultats d'électrophorèse, de western blot, d'analyse de glycosylation, de séquence N-terminale et de spectroscopie de masse. Les données complémentaires apportées permettent de vérifier l'équivalence de la protéine produite dans *E. coli* à celle synthétisée par le colza 73496.

Deux études de toxicité chez la souris conduites sur la protéine GAT4621 avaient été soumises dans le dossier initial : une étude de toxicité aiguë et une étude de toxicité pendant 28 jours (Anses, 2013).

Les résultats de deux nouvelles études de toxicité pendant 28 jours selon la ligne directrice OCDE 407 (2008) ont été fournis : une chez le rat Sprague-Dawley (10 rats/sexe) aux doses de 0, 0,6, 6 et 60 mg de protéine GAT4621/kg p.c./jour puis une chez la souris CD-1 (10 souris/sexe) aux doses de 100, 300 et 1000 mg/kg p.c./jour. Les données de ces 2 études ne mettent pas en évidence d'effets toxiques imputables à la protéine GAT4621. La NOAEL⁹ pour la protéine GAT4621 déduite de la dernière étude est de 595,5 mg/kg p.c./jour pour les mâles et 740,1 mg/kg p.c./jour les femelles.

II.1.4.3. Informations sur les constituants naturels de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux

La composition des graines de colza 73496 est différente de celle du colza témoin comparateur et non-équivalente de celles des variétés de référence en raison de concentrations élevées en NAA, NAG et NAT. De nombreuses données bibliographiques avaient été fournies dans le dossier initial et ont été complétées. La sécurité toxicologique de ces 3 acides aminés N-acétylés avait été documentée par plusieurs études de toxicité (toxicité aiguë, toxicité pendant 28 jours, test d'Ames et test du micronoyau sur érythrocytes de souris *in vivo*). L'expertise de ces éléments figurent dans l'avis de l'Anses du 27 février 2013. Les NOAEL déduites des études de toxicité pendant 28 jours correspondent aux doses les plus fortes testées qui sont pour les mâles et les femelles respectivement de 953,0 et 1046,7 mg/kg p.c./jour pour le NAG et de 848,5 et 913,6 mg/kg p.c./jour pour le NAT.

Considérant la concentration très élevée en NAA dans les graines de colza 73496, des tests de toxicité supplémentaires avaient été réalisés sur cet acide aminé N-acétylé : une étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat (doses de NAA testées : 0, 100, 250, 500 mg/kg p.c./jour) et une étude de reproduction sur 2 générations de rats (doses de NAA testées : 0, 100, 250, 500 mg/kg p.c./jour) (Anses, 2013).

L'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat avec le NAA a mis en œuvre 10 rats par sexe ce qui correspond aux recommandations de la ligne directrice OCDE 408 pour un produit chimique mais l'analyse statistique des données de cette étude évoque la mise en œuvre de sous-groupes de 5 rats ainsi que l'application de plusieurs types de tests statistiques consécutifs. Cette méthodologie statistique complexe est insuffisamment explicitée par le pétitionnaire pour permettre au GT « Biotechnologie » de conclure statistiquement sur les résultats de cette étude.

Dans l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat, une augmentation de l'incidence et du degré d'hypertrophie des cellules acineuses des glandes salivaires submandibulaires, parotides et sublinguales a été mise en évidence chez les animaux des

⁹ NOAEL : *No Observed Adverse Effect Level*, dose sans effet néfaste observé

deux sexes à la dose la plus forte testée de 500 mg/kg p.c./jour. Les observations des lames d'histologie réalisées montraient une hypertrophie des cellules acineuses :

- des glandes salivaires submandibulaires : 7 rats mâles sur 10 observés,
7 rats femelles sur 10 observées,
- des glandes salivaires parotides : 4 rats mâles sur 6 observés,
3 rats femelles sur 6 observées,
- des glandes salivaires sublinguales : 4 rats mâles sur 10 observés,
1 rat femelle sur 10 observées.

Pour comparaison, chez les animaux témoins [rats ne consommant pas de NAA (témoin 0) et rats consommant 500 mg/kg p.c./jour d'aspartate], on constate au maximum une hypertrophie des glandes salivaires submandibulaires sur 10 lames observées/sexe.

Une hypertrophie des cellules acineuses des glandes salivaires chez les mâles et les femelles de la génération F1 et les mâles de la génération F2 du groupe recevant 500 mg/kg p.c./jour de NAA est aussi retrouvée dans l'étude de reproduction sur 2 générations de rats.

Le pétitionnaire argumente que l'hypertrophie des cellules sécrétrices des glandes salivaires lors de la consommation de NAA est plus susceptible de correspondre à des effets locaux et adaptatifs dus aux propriétés physiques et chimiques des régimes alimentaires contenant de fortes concentrations en NAA, plutôt qu'à un effet toxique systémique direct. Sur la base de l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat, le GT « Biotechnologie » considère que la NOAEL devrait être fixée à la dose intermédiaire de NAA testée qui correspond à 229,5 mg/kg p.c./jour pour les mâles et 253,2 mg/kg p.c./jour pour les femelles.

Des études complémentaires ont été conduites afin de documenter la métabolisation du NAA. Le pétitionnaire a fourni une étude sur la stabilité *in vitro* du NAA en présence de fractions intestinales S9 du rat, du porc et de la vache afin de caractériser les différences potentielles dans la désacétylation présystémique de cet acide aminé N-acétylé. La trop grande variabilité des résultats n'a pas permis au pétitionnaire d'exploiter cette étude ce qui l'a conduit à la réalisation de tests de pharmacocinétique pour le NAA chez 3 espèces : le rat, le porc et la chèvre.

Les doses testées de NAA pour le rat étaient de 10, 25, 75, 250 et 500 mg/kg p.c./j pendant 14 jours. La dose unique de 25 mg/kg p.c./j de NAA choisie par le pétitionnaire sur la base de calculs d'exposition a été testée chez le porc et la chèvre pendant 14 jours. Les données sur l'évolution de la concentration plasmatique en NAA ont montré son absorption et son élimination rapide chez les trois espèces étudiées. La comparaison inter-espèces permet de montrer que cette métabolisation du NAA jusqu'à sa disparition est plus rapide chez le porc que chez le rat.

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

Une étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat a été réalisée en 2011 selon un protocole s'appuyant sur la ligne directrice OCDE 408 (1998).

Sept groupes de 12 rats mâles et 12 rats femelles, souche Sprague-Dawley (CrI :CD) ont été nourris avec des régimes alimentaires contenant environ 20 % de tourteaux déshuilés et toastés provenant de graines de colza dépelliculées et 2 % d'huile RBD extraite de graines de colza :

- colza 73496 traité au glyphosate,
- colza 73496 non traité au glyphosate,
- colza témoin comparateur,

- 4 variétés de colza de référence.

La mise en œuvre d'une seule dose, le faible nombre de rats par groupe et l'absence de calcul de puissance ne répondent pas aux exigences du Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013 mais elles n'étaient pas en application au moment de la réalisation de cette étude.

II.1.4.5. Conclusions de l'évaluation toxicologique

Les nouvelles études de toxicité pendant 28 jours permettent d'établir une NOAEL de 595,5 mg/kg p.c./jour pour la protéine GAT4621.

Les nouvelles données ne modifient pas les conclusions de l'avis de l'Anses du 27 février 2013 pour le choix des NOAEL des acides aminés N-acétylés NAG et NAT. Elles sont déduites des études de toxicité pendant 28 jours et correspondent aux doses les plus fortes testées qui sont de 953,0 mg/kg p.c./jour pour le NAG et 848,5 mg/kg p.c./jour pour le NAT.

Sur la base de l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat, le GT « Biotechnologie » considère qu'en raison de l'hypertrophie des cellules acineuses des glandes salivaires à la plus forte dose testée, la NOAEL du NAA devrait être établie à la dose intermédiaire qui correspond à 229,5 mg/kg p.c./jour.

L'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours avec le colza 73496 chez le rat met en œuvre une seule dose et un nombre faible d'animaux par groupe ce qui augmente le risque d'avoir une puissance insuffisante des tests statistiques.

Sur la base de l'ensemble du dossier initial et des informations complémentaires, le GT « Biotechnologie » ne peut pas se prononcer sur la sécurité du colza 73496.

II.1.5. Allergénicité

II.1.5.1. Évaluation de l'allergénicité de la (des) protéine(s) nouvellement exprimée(s)

Les analyses bioinformatiques actualisées en 2020 par le pétitionnaire ne révèlent pas d'identités globales ou locales de la protéine GAT4621 exprimée dans le colza 73496, avec des allergènes connus, ni avec des toxines avérées ou avec des peptides immunotoxiques de la maladie cœliaque. Les éléments complémentaires ne soulèvent pas de problème particulier concernant l'allergénicité.

Aucune des informations disponibles au sujet du colza 73496 ne laisse supposer que ce colza puisse développer une allergénicité différente de celle des variétés de colza conventionnelles.

II.1.6. Evaluation nutritionnelle

II.1.6.1. Évaluation nutritionnelle des denrées alimentaires génétiquement modifiées

L'huile RBD extraite des graines de colza est le principal produit destiné à l'Homme. Toutefois, les informations complémentaires sur la composition des isolats de protéines (cf chapitre II.1.3.6) montrent une concentration plus élevée de NAA et de NAG et conduirait donc à une exposition alimentaire de l'Homme via leur consommation.

II.1.6.2. Évaluation nutritionnelle des aliments pour animaux génétiquement modifiés

En 2011, une étude nutritionnelle a été réalisée chez des poulets afin de comparer les caractéristiques nutritionnelles des tourteaux de graines non dépelliculées de colza 73496, traité ou non au glyphosate, de colza témoin ou de 4 variétés de colza de référence. L'analyse de cette étude figure dans l'avis de l'Anses du 27 février 2013. Des informations

complémentaires ont été apportées sur les formulations utilisées ainsi qu'un calcul de puissance réalisé *a posteriori* sur l'indice de consommation.

Le pétitionnaire a aussi mesuré les concentrations en NAA et en acide aspartique dans les échantillons conservés (filets et foie) des poulets du groupe témoin et du groupe « colza 73496 traité au glyphosate ». Les concentrations en NAA et acide aspartique dans les deux matrices alimentaires sont très variables mais semblent indépendantes de l'aliment consommé.

En 2015, le pétitionnaire a réalisé un essai de tolérance chez le poulet mâle Ross 708 à la demande de l'EFSA afin de pouvoir tester les effets potentiels de concentrations élevées en NAA simulant une alimentation riche en colza 73496. Aux paramètres zootechniques mesurés dans une étude nutritionnelle s'ajoutent des paramètres toxicologiques (analyses sanguines, poids des organes) et des coupes histologiques des glandes salivaires en raison des effets observés chez le rat dans les études de toxicité. Des analyses de composition en NAA et en acide aspartique dans les tissus de poulets (filets et foie) ont aussi été réalisées afin de documenter la distribution de ces acides aminés en raison de l'exposition alimentaire des consommateurs de ces futures denrées. Cinq régimes ont été testés en utilisant un aliment sans colza, à base de maïs et de soja, additionné de 25, 50 et 100 mg/kg p.c./jour de NAA ou de 100 mg/kg p.c./jour d'acide aspartique et un régime témoin, aliment sans ajout. Ces taux d'incorporation correspondent à la concentration en NAA qui serait présente dans une ration contenant 10, 20 et 40 % de tourteaux de colza 73496. Le régime alimentaire des poulets était le même pendant toute l'étude. Les poulets ont été élevés pendant 42 jours en parquet de 12 animaux, avec 4 parquets par groupe expérimental. Les comparaisons ont été faites entre chaque régime supplémenté avec un acide aminé et le régime témoin sans ajout. Après calcul de l'ingéré, les doses moyennes consommées de NAA sur les 42 jours étaient de 23,8, 58,8 ou 119 mg/kg p.c./jour équivalentes à 8,1, 20,6 et 42,4 % de tourteaux de colza 73496 dans l'alimentation. La dose moyenne consommée d'acide aspartique sur les 42 jours était de 160,8 mg/kg p.c./jour (teneur d'acide aspartique présente dans l'aliment à laquelle s'ajoutent les 100 mg/kg p.c./jour).

Le modèle statistique utilisé est un modèle linéaire mixte avec une analyse de variance. Le niveau des tests statistiques est de 5 % et une procédure de test multiple est utilisée pour contrôler le FDR (*false discovery rate*). L'étude de puissance statistique fournie est jugée acceptable. Un test de Fisher est appliqué sur les données de mortalité.

Les paramètres de performance de croissance, de mortalité et de rendement en carcasse mesurés ainsi que les paramètres sanguins et le poids des organes des poulets consommant du NAA ou de l'acide aspartique ne sont pas différents significativement de ceux qui sont mesurés chez les poulets consommant le régime témoin. Les concentrations en NAA et en acide aspartique dosées dans les filets et le foie des poulets des différents groupes ne montrent pas de différence significative avec ceux des poulets ayant consommé le régime témoin.

Le GT « Biotechnologie » considère que la NOAEL à retenir pour le poulet est la dose forte de 119 mg/kg p.c./jour qui correspond à un régime contenant 42,4 % de tourteaux de colza 73496.

II.1.6.3. Conclusions de l'évaluation nutritionnelle

L'étude nutritionnelle des tourteaux de colza 73496 dans l'alimentation du poulet présente dans le dossier initial a été complétée par le dosage du NAA et de l'acide aspartique dans les denrées alimentaires (filets et foie). Les concentrations mesurées sont faibles et semblent indépendantes de l'alimentation des poulets.

La nouvelle étude de tolérance chez le poulet mâle réalisée avec une alimentation complétée par du NAA permet d'établir la NOAEL chez le poulet à la dose forte de 119 mg/kg p.c./jour qui correspond à un régime contenant 42,4 % de tourteaux de colza 73496.

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

Le pétitionnaire présente des éléments complémentaires sur l'évaluation des expositions alimentaires au colza 73496 pour l'animal et l'Homme. Il présente des calculs d'exposition pour la protéine GAT4621 et pour les acides aminés N-acétylés, NAA, NAG et NAT.

La concentration moyenne en protéine GAT4621 nouvellement exprimée dans les graines de colza 73496 provient des données de l'étude au champ pour caractériser le colza 73496 (cf chapitre A.2.2.3 de l'avis de l'Anses du 27 février 2013). Dans les graines de colza 73496 traité au glyphosate, elle est de 5,6 µg/g de matière sèche. La teneur en protéine GAT4621 était inférieure à la limite de quantification (< 0,22 µg/g) dans les tourteaux de colza de l'étude de composition présentée dans le dossier initial.

Dans les isolats de protéines, la teneur en protéine GAT4621 n'a pas été mesurée. Le pétitionnaire a estimé sa concentration à partir de sa teneur dans la graine et du pourcentage de protéines présent dans la graine de colza (25 %). La concentration de la protéine GAT4621 dans les jus d'extraction a aussi été calculée.

Les concentrations en acides aminés N-acétylés ont été mesurées dans les graines de colza 73496 (cf chapitre II.1.3.4.) ainsi que dans les produits alimentaires qui en proviennent (cf chapitre II.1.3.6.) : l'huile RBD, les tourteaux, les isolats de protéines et les jus d'extraction (tableau 5). Les moyennes des concentrations sont utilisées pour les calculs d'exposition.

Tableau 5 : Teneurs moyennes en acides aminés N-acétylés dans les graines et dans les différentes matrices alimentaires issues de graines de colza 73496 traité ou non au glyphosate.

	Colza 73496 traité au glyphosate		Colza 73496 non traité au glyphosate	
	Graines (µg/g de matière sèche)	Tourteaux issus de graines non dépelliculées (µg/g de matière fraîche)	Isolats de protéines (µg/g de matière sèche)	Jus d'extraction (µg/ml de matière fraîche)
Acides aminés N-acétylés				
NAA	1670	3070	18	140,8
NAG	28,9	53,7	0,611	5,492
NAT	0,838	2,90	0,00799	0,1301

Le GT « Biotechnologie » regrette que le pétitionnaire n'ait pas mesuré la protéine GAT 4621 dans les isolats de protéines et dans les jus d'extraction.

Exposition alimentaire à la protéine GAT 4621 via la consommation de colza 73496

Exposition alimentaire des animaux

La protéine GAT4621 n'étant pas quantifiable dans le tourteau, l'estimation de sa consommation n'a pas été considérée.

Le pétitionnaire a formulé l'hypothèse de la consommation d'isolats de protéines en tant que lactoremplacement pour les veaux. Pour évaluer le pire cas, des hypothèses conservatives ont été formulées par le pétitionnaire :

- l'isolat de protéines serait utilisé dès le 5^{ème} jour de vie des veaux,
- l'intégralité de la ration protéique proviendrait du colza 73496,

- le procédé de transformation des aliments ne conduirait à aucune perte de protéine exogène GAT4621 présente dans les graines de colza 73496.

Sur la base du pire cas, l'estimation de la consommation journalière de la protéine GAT4621 par les veaux est de 0,09 mg/kg p.c.

Exposition alimentaire humaine

La consommation d'huile a été exclue de cette estimation en raison de la teneur en protéines négligeable dans l'huile, considérant qu'elle ne constitue pas une source d'apport en protéine GAT4621.

Le pétitionnaire a considéré la consommation potentielle d'isolats de protéines en se basant sur l'avis relatif à la sécurité d'un isolat de protéines de colza comme nouvel aliment (EFSA NDA panel, 2013). En Europe, l'Homme consomme presque uniquement le colza sous forme d'huile. Cependant, le GT « Biotechnologie » considère qu'il serait nécessaire de documenter l'allergénicité et de surveiller la consommation de colza sous forme d'isolats de protéines et de poudres, si elle devait se développer pour ces produits de consommation. Ces denrées représenteraient alors des voies d'exposition nouvelles pouvant potentiellement conduire à une sensibilisation aux protéines de colza. L'avis du panel NDA de l'EFSA (2013) mentionne également cette préoccupation.

En utilisant les données présentes dans l'avis du panel NDA de l'EFSA (2012) concernant les valeurs alimentaires de référence pour les protéines et en considérant que l'isolat de protéines de colza représente l'ensemble des protéines consommées, le pétitionnaire calcule que la consommation de 2,2 g de protéines/kg p.c./jour pour un homme adulte correspond à l'ingestion de 0,049 mg/kg p.c./jour de protéine GAT4621 et la consommation de 4,73 g de protéines/kg p.c./jour pour un enfant fort consommateur correspond à l'ingestion de 0,11 mg/kg p.c./jour de protéine GAT4621.

Le GT « Biotechnologie » a recherché la consommation de « Protein and protein components for sports people » dans la base de données du fichier Excel sur le colza mis à disposition sur le site de l'EFSA¹⁰ (septembre 2021). En prenant en compte la teneur en protéine GAT4621 dans la graine de colza 73496 ainsi que la teneur en protéines de la graine de 25 %, le GT « Biotechnologie » a estimé les expositions alimentaires aiguë et chronique pour l'Homme à la protéine GAT4621 via la consommation de cette denrée issue de graines de colza 73496. Cette estimation considère que seul le colza 73496 est consommé. Les expositions alimentaires les plus élevées dans le fichier Excel sont celles rencontrées en Autriche. Elles ont été utilisées par le GT « Biotechnologie » pour les calculs d'exposition à la protéine GAT4621 (tableau 6).

Tableau 6 : Pour l'Autriche, expositions alimentaires aiguë et chronique de l'Homme à la protéine GAT4621 via la consommation de la catégorie de denrée « Protein and protein components for sports people » fabriquée à partir de graines de colza 73496. Les valeurs sont exprimées en mg/kg de poids corporel/jour.

		Catégorie de population	GAT4621 (mg/kg de poids corporel/jour)
Exposition aiguë	Moyenne	Adolescents	0,0015
	Forts consommateurs	Adultes	0,141
Exposition chronique	Moyenne	Adolescents	0,0015
	Forts consommateurs	Adultes	0,092

¹⁰ <https://www.efsa.europa.eu/en/applications/gmo/tools>

Exposition alimentaire aux acides aminés acétylés via la consommation de colza 73496

Exposition alimentaire des animaux

L'estimation de la consommation journalière des acides aminés N-acétylés NAA, NAG et NAT par les animaux est fondée sur les données de l'OCDE (2013), les teneurs moyennes en NAA, NAG et NAT mesurées dans les tourteaux et les teneurs calculées dans les jus d'extraction fabriqués à partir de graines de colza 73496 et un scénario du pire cas (tout le colza consommé est considéré comme étant du colza 73496). Les hypothèses d'exposition alimentaire des différentes classes de bovins figurent dans le tableau 7.

Les apports journaliers les plus élevés en NAA, NAG et NAT pour l'Europe présentés par le pétitionnaire sont obtenus chez les vaches laitières consommant des tourteaux additionnés de jus d'extraction.

Tableau 7 : Exposition alimentaire chronique des différentes classes de bovins aux trois acides aminés N-acétylés (NAA, NAG et NAT) via la consommation de 3 régimes différents à base de tourteaux et jus d'extraction fabriqués à partir de graines de colza 73496. Les valeurs d'exposition alimentaire sont exprimées en mg/kg de poids corporel/jour.

Animal	Ingéré quotidien (g matière sèche/kg p.c./jour)	aliment	Taux d'inclusion	Exposition alimentaire à l'acide aminé N-acétylé (mg/kg p.c./jour)		
				NAA	NAG	NAT
Bovins à l'engraissement	20	Tourteau	20	14,0	0,244	0,0132
		Jus d'extraction	10	9,71	0,379	0,00897
		Tourteau + jus d'extraction	20/10	23,7	0,623	0,0222
Vaches laitières	31	Tourteau	10	10,7	0,188	0,0101
		Jus d'extraction	10	14,9	0,583	0,0138
		Tourteau + jus d'extraction	10/10	25,7	0,770	0,0239
Mouton/ Chèvre	20	Tourteau	15	10,5	0,183	0,00989
		Jus d'extraction	10	9,71	0,379	0,00897
		Tourteau + jus d'extraction	15/10	20,2	0,562	0,0189

Une autre source d'apport en NAA et NAG a aussi été estimée par le pétitionnaire selon l'hypothèse de consommation d'isolats de protéines en tant que lactoreplaceur pour les veaux. Sur la base du pire cas, son estimation de la consommation journalière des acides aminés N-acétylés par les veaux est de 0,072 mg/kg p.c. pour le NAA et de 0,0024 mg/kg p.c. pour le NAG.

Exposition alimentaire humaine

La consommation d'huile a été exclue de cette estimation en raison de l'absence des acides aminés N-acétylés dans cette denrée.

Pour estimer l'apport en NAA et NAG par le colza 73496, le pétitionnaire se base sur l'avis du panel NDA de l'EFSA (2012) concernant les valeurs alimentaires de référence pour les protéines et en considérant que l'isolat de protéines de colza représente l'ensemble des protéines consommées. Le pétitionnaire calcule que la consommation de 2,2 g de protéines/kg p.c./jour par un homme adulte correspond à l'ingestion de 0,040 mg/kg p.c./jour de NAA et de

0,0013 mg/kg p.c./jour de NAG. De la même manière, la consommation de 4,73 g de protéines/kg p.c./jour par un enfant fort consommateur correspond à l'ingestion de 0,085 mg/kg p.c./jour de NAA et de 0,0029 mg/kg p.c./jour de NAG.

En utilisant les concentrations de NAA et de NAG dans les isolats de protéines, le GT « Biotechnologie » a appliqué la même démarche que pour la protéine GAT4621. Les expositions alimentaires calculées figurent dans le tableau 8.

Tableau 8 : Pour l'Autriche, expositions alimentaires aiguë et chronique de l'Homme aux NAA et NAG via la consommation de la catégorie de denrée « Protein and protein components for sports people » issue de graines de colza 73496. Les valeurs sont exprimées en mg/kg de poids corporel/jour.

		Catégorie de population	NAA (mg/kg de poids corporel/jour)	NAG (mg/kg de poids corporel/jour)
Exposition aiguë	Moyenne	Adolescents	0,0012	0,00004
	Forts consommateurs	Adultes	0,1137	0,00386
Exposition chronique	Moyenne	Adolescents	0,0012	0,00004
	Forts consommateurs	Adultes	0,0739	0,00251

II.3 Caractérisation des risques

Les marges d'exposition ont été calculées par le pétitionnaire en fonction des NOAEL établies à partir des études de toxicité pendant 28 jours pour la protéine GAT4621 ainsi que pour les acides aminés NAG et NAT, et pour le NAA, des NOAEL établies à partir de l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat et de l'étude de tolérance pendant 42 jours chez le poulet.

L'exposition des poulets à la protéine GAT4621 dans l'étude nutritionnelle (paragraphe II.1.6) pourrait être calculée et comparée aux estimations de la consommation journalière de cette protéine chez les poulets (paragraphe II.2), ce que n'a pas fait le pétitionnaire dans son dossier. En l'absence d'études d'alimentarité spécifiques pour les autres animaux de rente, le GT « Biotechnologie » considère que le risque ne peut pas être caractérisé vis-à-vis de la protéine GAT4621, du NAA et du NAG.

De même, la caractérisation des risques pour l'Homme pourrait être réalisée à partir de l'estimation d'exposition à la protéine GAT4621 issue de l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat mettant en œuvre le colza 73496 traité au glyphosate.

Le rapport de la NOAEL pour le NAA établie à partir de l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat (229,5 mg/kg p.c./jour) et de la consommation de NAA via les denrées alimentaires (cf chapitre II.2) permet au pétitionnaire de calculer une marge d'exposition de 5738 pour l'homme adulte et de 2700 pour l'enfant fort consommateur.

Les marges de sécurité pour le NAG sont calculées par le pétitionnaire en utilisant la NOAEL établie à partir de l'étude de toxicité pendant 28 jours. Le GT « Biotechnologie » estime qu'un facteur de sécurité devrait être utilisé afin d'extrapoler une toxicité pendant 28 jours à une toxicité chronique. Des valeurs par défaut sont proposées par d'autres agences européennes d'évaluation (ECHA, EMA).

Le GT « Biotechnologie » ne peut pas caractériser le risque :

- pour l'ensemble des animaux de rente en l'absence des calculs de marges d'exposition appropriés pour la protéine GAT4621, le NAA et le NAG ;
- pour l'Homme en l'absence des calculs de marges d'exposition appropriés pour la protéine GAT4621 et le NAG.

II.4 Surveillance de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifié(e) consécutive à sa mise sur le marché

Dans le cas où ce colza viendrait à être commercialisé en Europe, le GT « Biotechnologie » recommande au pétitionnaire d'organiser un plan de surveillance de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifié consécutive à sa mise sur le marché.

II.7 Informations complémentaires sur la sécurité des denrées et des aliments pour animaux génétiquement modifiés

Le pétitionnaire fournit plusieurs analyses consécutives de la littérature suivant les recommandations de l'EFSA (2010, 2017) dont il détaille les modalités et les résultats dans des rapports. Ils couvrent la période 2012-2020 avec les rapports 2012-2017, 2017-2018 et 2018-2020.

La formulation de la question, la recherche par mots clés, les combinaisons des termes et les opérateurs booléens sont appropriés.

Les 6 bases de données utilisées par le pétitionnaire sont pertinentes et couvrent les domaines scientifiques nécessaires à la revue systématique du colza 73496. Les critères d'inclusion pour la sélection des articles sont appropriés.

Le pétitionnaire a fait appel à 2 « reviewers » pour conduire cette analyse de façon indépendante. Le GT « Biotechnologie » regrette que l'organisme d'appartenance de ces « reviewers » ne soit pas renseigné, ce qui ne permet pas de juger de leur niveau d'indépendance par rapport au pétitionnaire. Il n'est pas fait mention d'un test de cohérence d'analyse entre les 2 « reviewers ».

Sur la période 2012-2020, trois articles ont été soumis à relecture. Ils sont fournis dans le dossier. Les auteurs des 3 publications sont affiliés au pétitionnaire.

Le pétitionnaire conclut que ces « scoping reviews » couvrant la période 2012-2020 ne mettent pas en évidence de risque sanitaire pour la consommation humaine ou animale du colza 73496.

Le GT « Biotechnologie » considère que la limitation de la recherche au seul colza 73496 est trop restrictive. La recherche initiale aurait dû aussi prendre en compte la protéine GAT4621 exprimée dans d'autres plantes que le colza ainsi que la sécurité des acides aminés N-acétylés NAA et NAG.

Conclusions du Groupe de travail « Biotechnologie »

Les éléments complémentaires présentés dans le dossier répondent aux interrogations du GT « Biotechnologie » relatives à la caractérisation du site d'insertion de la cassette d'expression du gène *gat4621* (Anses, 2013). Suite à la mise en évidence d'une inversion chromosomique d'un fragment d'ADN, le GT « Biotechnologie » considère que le remaniement chromosomique, non identifié dans le dossier initial, est insuffisamment caractérisé.

Les données obtenues sur les colzas mis en œuvre dans les essais au champ ont été de nouveau analysées statistiquement pour évaluer la composition des graines et les

caractéristiques agronomiques et phénotypiques du colza 73496. Les nouveaux résultats ne modifient pas les conclusions initiales du GT « Biotechnologie » (Anses, 2013).

Aucune information nouvelle n'a été apportée sur le glyphosate, le N-acétyl glyphosate, l'acide amino méthyl phosphonique (AMPA) et le N-acétyl AMPA. Le GT « Biotechnologie » rappelle que si le colza 73496 venait à être importé, il devrait satisfaire à la réglementation européenne relative aux limites maximales de résidus de produits phytopharmaceutiques sur ce type de plantes.

Les huiles RBD issues de graines de colza 73496 présentent une composition semblable aux huiles RBD issues de graines de variétés de colza considérées comme « faible en acide érucique » (Anses, 2013). Les teneurs en acides aminés N-acétylés, principalement le NAA et le NAG, sont plus élevées dans les tourteaux, jus d'extraction et isolats de protéines fabriqués à partir des graines de colza 73496 que dans ces mêmes produits fabriqués à partir de graines de colza témoin. La teneur en protéine GAT4621 aurait dû être mesurée par le pétitionnaire dans les isolats de protéines et les jus d'extraction.

Les nouvelles études de toxicité pendant 28 jours chez la souris permettent d'établir la NOAEL de la protéine GAT4621 à la dose de 595,5 mg/kg p.c./jour.

Les nouvelles données ne modifient pas les conclusions de l'avis de l'Anses du 27 février 2013 pour le choix des NOAEL des acides aminés N-acétylés NAG et NAT.

Sur la base de l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat, le GT « Biotechnologie » considère qu'en raison de l'hypertrophie des cellules acineuses des glandes salivaires à la plus forte dose testée, la NOAEL du NAA devrait être établie à la dose intermédiaire qui correspond à 229,5 mg/kg p.c./jour.

L'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours avec le colza 73496 chez le rat met en œuvre une seule dose et un nombre faible d'animaux par groupe ce qui augmente le risque d'avoir une puissance insuffisante des tests statistiques.

La nouvelle étude de tolérance chez le poulet mâle réalisée avec une alimentation complétée par du NAA permet d'établir la NOAEL chez le poulet à la dose forte de 119 mg/kg p.c./jour qui correspond à un régime contenant 42,4 % de tourteaux de colza 73496.

Sur la base de l'ensemble du dossier initial et des informations complémentaires, le GT « Biotechnologie » ne peut pas se prononcer sur la sécurité du colza 73496.

Dans le cas où ce colza viendrait à être commercialisé en Europe, le GT « Biotechnologie » recommande au pétitionnaire d'organiser un plan de surveillance de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifié consécutive à sa mise sur le marché.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a été saisie par la DGCCRF pour évaluer la sécurité du colza 73496 au vu des compléments apportés à ce dossier engagé de longue date par le pétitionnaire. Le délai long entre la première soumission du dossier et l'examen actuel a connu un changement de la réglementation en vigueur, laquelle n'est cependant pas opposable au dossier examiné. L'évolution des pratiques d'évaluation et des attentes scientifiques contribuent également à l'évolution des conclusions par rapport à celles émises par l'Agence en 2013 sur le dossier initial.

Dans ce contexte, l'Agence endosse les conclusions du GT « Biotechnologie » qui constate, à nouveau, ne pas pouvoir se prononcer sur la sécurité du colza 73496 compte tenu de l'absence dans le dossier des données nécessaires. Parmi les éléments considérés comme manquants figure en particulier l'établissement des limites toxicologiques prises en compte dans différents calculs de marges d'exposition pour caractériser les risques par voie alimentaire, du fait du recours presque systématique par le pétitionnaire à des essais subaigus.

Dr Roger Genet

MOTS-CLÉS

OGM, colza 73496, tolérance au glyphosate, GAT4621, NAA, NAG, NAT

GMO, rapeseed 73496, tolerance to glyphosate, GAT4621, NAA, NAG, NAT

BIBLIOGRAPHIE

Afssa. 2009. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments du 5 février 2009 relatif à un dossier de mise en marché de maïs génétiquement modifiés 98140 tolérant au glyphosate et aux herbicides inhibant l'acétolactate synthétase pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de graines et de produits dérivés, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003. Saisine 2008-SA-0357.

Anses. 2013. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail du 27 février 2013 relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du règlement CE n° 1829/2003 du colza génétiquement modifié 73496 développé afin d'être tolérant au glyphosate, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-NL-2012-109). Saisine 2012-SA-0265.

EFSA. 2010. "Application of systematic review methodology to food and feed safety assessments to support decision making". EFSA Journal 8(6):1637. 90 pp.

EFSA. 2017. "Explanatory note on literature searching conducted in the context of GMO applications for (renewed) market authorisation and annual post-market environmental monitoring reports on GMOs authorised in the EU market". EFSA supporting publications 14(4), EN-1207, 1–48.

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

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

EFSA GMO Panel. 2011. "Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants". EFSA Journal 9(5): 2150, 37 pp.

EFSA NDA. 2012. "Scientific Opinion on Dietary Reference Values for protein". EFSA Journal 10(2):2557, 66 pp

EFSA NDA Panel. 2013. "Scientific Opinion on the safety of "rapeseed protein isolate" as a Novel Food ingredient". EFSA Journal 11(10):3420, 23 pp.

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

OCDE. 1998. "OECD Guideline for the testing of chemicals N°408. Repeated dose 90-day oral toxicity study in rodents." Organization of Economic Cooperation and Development (OECD), Paris (France).

OCDE. 2008. "OECD Guideline for the testing of chemicals N°407. Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents". Organization of Economic Cooperation and Development (OECD), Paris (France).

OCDE. 2011. "Revised consensus document on compositional considerations for new varieties of low erucic acid rapessed (Canola): key food and feed nutrients, anti-nutrients and toxicants." Series on the Safety of Novel Foods and Feeds n° 24. Organization of Economic Cooperation and Development (OECD), Paris (France).

OCDE. 2013. "Guidance Document on Residues in Livestock." Series on Pesticides, No. 73. Organization of Economic Cooperation and Development (OECD), Paris (France).

Règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement Européen et du Conseil du 22 septembre 2003 concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux génétiquement modifiés. JO L 268 du 18.10.2003, pp. 1-23.

Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013 de la Commission du 3 avril 2013 relatif aux demandes d'autorisation de denrées alimentaires et d'aliments pour animaux génétiquement modifiés introduites en application du règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement européen et du Conseil et modifiant les règlements de la Commission (CE) n° 641/2004 et (CE) n° 1981/2006. JO L 157 du 8.6.2013, pp. 1-48.

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2021). Avis relatif à l'évaluation de données complémentaires concernant le colza génétiquement modifié 73496 (dossier n° EFSA-GMO-NL-2012-109). Maisons-Alfort : Anses, 23 p.