

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

**relatif à un dossier de demande de mise sur le marché, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003, du cotonnier génétiquement modifié GHB119, développé pour être tolérant au glufosinate ammonium et résistant à certains lépidoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM.**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont rendus publics.*

---

L'Anses a été saisie le 25 novembre 2011 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes pour la réalisation de l'expertise suivante : évaluation d'une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du règlement (CE) n°1829/2003, du cotonnier génétiquement modifié GHB119, développé pour être tolérant au glufosinate ammonium et résistant à certains lépidoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier EFSA-NL-2011-97).

## **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

Conformément au Règlement (CE) N°1829/2003, notamment aux articles 6 et 18, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) est chargée de procéder à l'évaluation des dossiers concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, issus de plantes génétiquement modifiées et de rendre un avis à la Commission Européenne. L'EFSA a cependant offert la possibilité aux Etats-membres de faire connaître leurs observations sur le dossier initial. C'est dans ce cadre que la DGCCRF a sollicité l'avis de l'Anses.

## **2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE**

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

L'expertise collective a été effectuée par le Comité d'experts spécialisé "Biotechnologie", réuni le 19 janvier 2012. L'évaluation du dossier se base sur les lignes directrices de l'EFSA<sup>1</sup> et sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts du CES Biotechnologie. L'analyse du CES suit les sections, telles que définies dans le formulaire de commentaires de l'EFSA.

### 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

#### (A) Information générale

Le cotonnier est une plante du genre *Gossypium* appartenant à la famille des Malvacées. Les cotonniers sont des plantes des régions sub-tropicales à tropicales dont les fruits sont des capsules contenant des graines velues. En Europe, la culture des cotonniers se concentre en Espagne et en Grèce. Les produits d'importation sont dérivés de la graine, principalement l'huile destinée à l'alimentation humaine et le tourteau destiné à l'alimentation animale.

Ce dossier est une première demande d'autorisation de mise sur le marché pour l'alimentation humaine et animale du cotonnier génétiquement modifié portant l'événement GHB119 et de ses produits dérivés; elle ne concerne pas sa mise en culture.

Les cotonniers GHB119 ont été génétiquement modifiés afin d'introduire dans leur génome :

- le gène *cry2Ae* qui confère la résistance aux larves de lépidoptères type *Helicoverpa zea*, *Heliiothis virescens* et *Spodoptora frugiperda* des ravageurs communs du cotonnier
- le gène *bar* codant la phosphinothricine acétyl transférase qui confère la tolérance au glufosinate ammonium.

#### (C) Informations relatives à la modification génétique

(1) Le cotonnier GHB119 résulte de la transformation de cals embryogénèse de la variété Coker 312 à l'aide d'*Agrobacterium tumefaciens* contenant un plasmide portant lui même l'ADN-T à transférer.

(2) L'ADN-T contient les cassettes d'expression des gènes *cry2Ae* et *bar*.

##### Cassette d'expression du gène *cry2Ae* :

- le promoteur 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur (CMV) ;
- la séquence « leader » du gène de la *chlorophyl a/b binding protein* de *Petunia hybrida* ;
- le peptide signal de la petite sous-unité de la ribulose-1,5-biphosphate carboxylase d'*Arabidopsis thaliana* pour une expression dans les chloroplastes ;
- la séquence codante de la protéine Cry2A issue de la souche *Bt dakota 1715* ; cette séquence est optimisée pour une expression dans les plantes ;
- la région 3' non-traduite du gène 35S du CMV.

##### Cassette du gène *bar* :

- le promoteur du virus de la mosaïque du manioc (CVMV) ;
- la séquence codante du gène *bar* provenant de *Streptomyces hygroscopicus* souche ATCC21705 : un site NcoI a été créé au site d'initiation et modifiant le 2<sup>ème</sup> codon en acide aspartique ;
- le terminateur du gène *nos (nopaline synthase)*.

#### (D) Informations relatives à la plante génétiquement modifiée

(1) Les cotonniers portant l'événement de transformation GHB119 produisent une protéine Cry2Ae (de 631 AA ou 686 AA avec le peptide signal fusionné). Cette protéine confère aux

<sup>1</sup> Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants, The EFSA Journal 2011; 9(5): 2150. Guidance document of the scientific panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plant, The EFSA Journal, 2006; 99, 1-100.

cotonniers la résistance aux larves de certains lépidoptères tels que *Helicoverpa zea*, *Heliothis virescens* et *Spodoptera frugiperda*.

Ils produisent aussi la protéine PAT ou phosphinothricine-acétyl-transférase qui par acétylation inactive le glufosinate ammonium rendant la plante tolérante à cet herbicide.

- (2) Des hybridations de type Southern ont été réalisées avec différentes sondes spécifiques de l'ADN-T issues du plasmide de transformation, sur de l'ADN du cotonnier GHB119 et du cotonnier témoin (variété Coker 312, utilisée pour la transformation). L'analyse des résultats montre que l'insertion est unique et correspond à l'intégration d'une copie unique et complète de l'ADN-T.

Ces résultats sont confirmés par la détermination de la séquence de l'insert (4302 pb) et du site d'intégration. La séquence de l'insert GHB119 est identique à celle de l'ADN-T présent dans le plasmide d'origine.

Des hybridations avec cinq sondes choisies en dehors de l'ADN-T, couvrant l'ensemble des régions du plasmide ont permis de montrer qu'aucune séquence située en dehors de l'ADN-T n'est insérée dans le génome du cotonnier GHB119.

Les séquences des régions 5' (1019pb) et 3' (1026 pb) bordant l'insert ont été déterminées et correspondent à des séquences du génome de cotonnier. Une délétion de 8 pb a été observée. L'analyse des séquences du site d'intégration avant agrotransformation à l'aide d'outil de prédiction bioinformatique ne révèle pas la présence de gène.

La recherche d'ORF créées ou modifiées par l'évènement d'intégration a été réalisée. Les ORF ont été recherchés entre 2 codons STOP d'une taille soit > 3 AA au niveau des jonctions générées, soit > 8 AA au niveau de l'ADN intégré. Onze ORF ont été ainsi définis au niveau des jonctions et 192 au niveau de la séquence intégrée.

La comparaison de la séquence de ces ORF ne révèle pas de similitude avec des toxines (Bayer Toxin database<sup>2</sup>) ou des allergènes (AllergenOnline database<sup>3</sup>) connus.

L'analyse par Northern blot ne révèle aucune transcription cryptique à partir de l'évènement GHB119.

### (3) Informations relatives aux produits d'expression du transgène

L'expression des protéines Cry2Ae et PAT a été analysée au niveau transcriptionnel par Northern Blot et au niveau protéique par ELISA, en utilisant des anticorps polyclonaux, au cours du développement du cotonnier et dans différents tissus provenant de cotonniers GHB119 cultivés en serre et dans les graines de cotonnier cultivés en champ aux Etats-Unis et en Europe (cf. 7.1-3).

L'expression constitutive du gène *bar* est vérifiée dans tous les tissus de la plante testés à l'exception du pollen. Un transcrit plus long de *bar* (1300 nt vs 900 nt) est détecté du fait d'un « read-through » au-delà du terminateur *nos*. La transcription du gène *Cry1Ab* a été mise en évidence dans tous les tissus de plante testés.

Les teneurs en protéine PAT sont maximales dans les tissus en croissance, comme les racines jeunes (100 µg/g de poids sec) et les apex (89 µg/g de poids sec). Les teneurs en protéine Cry1Ab sont maximales dans les feuilles jeunes (37,5 µg/g de poids sec) et la plante entière (30,4 µg/g de poids sec).

Dans les graines sur les échantillons cultivés en champs, les valeurs mesurées sont équivalentes dans les échantillons européens et américains avec une valeur moyenne à environ 3 µg/g de poids sec pour Cry2Ae et 130 µg/g de poids sec pour PAT.

Le traitement au glufosinate ammonium n'a pas d'influence sur le niveau des protéines.

<sup>2</sup> The Bayer toxin database est une compilation de toutes les séquences de Uniprot\_SwissProt et GenPept référencées comme toxines (liste de mots clés), elle contient aussi les séquences Animal Toxin Database (ATDB; <http://protchem.hunnu.edu.cn/toxin>).

<sup>3</sup> [www.allergenonline.org](http://www.allergenonline.org)

(5) **Informations relatives à la stabilité génétique de l'insert et à la stabilité phénotypique de la plante**

L'analyse du profil de restriction de l'ADN génomique des cotonniers GHB119 par Southern blot en utilisant une sonde spécifique de l'ADN-T permet de démontrer la stabilité de l'ADN intégré au cours de différentes générations. L'impact du fonds génétique et de l'environnement géographique ont été étudiés.

L'analyse des résultats de ségrégation du caractère de tolérance à l'herbicide indique que l'événement GHB119 se comporte comme un allèle présent en un seul locus dans le génome nucléaire.

(7) **Informations relatives aux effets toxiques, allergiques, et autres effets délétères pour la santé humaine et animale**

(7.1-3) **Analyse comparative de la composition chimique**

Les analyses de composition chimique ont été réalisées à partir d'échantillons de graines de cotonniers GHB119, cultivés sur 6 sites aux Etats-Unis au cours des saisons 2006 (3 répétitions par site), et sur 16 sites en Espagne au cours des saisons 2007 (8 sites avec 3 répétitions par site) et 2008 (8 sites avec 5 ou 3 répétitions par site) et comparées à celle d'échantillons provenant d'un cotonnier témoin (Coker 312, variété ayant été utilisée pour la transformation) et de 5 cotonniers commerciaux (seulement pour les essais espagnols) ainsi qu'aux données publiées dans la littérature.

Deux types de traitement ont été appliqués aux cultures :

- ✓ un herbicide conventionnel pour le cotonnier GHB119, Coker 312 et les variétés commerciales
- ✓ le glufosinate ammonium pour le cotonnier GHB119.

Les composés des graines entières de cotonniers suivants ont été mesurés et analysés :

- les paramètres proximaux (protéines et lipides totales, cendres, hydrates de carbones, fibres solubles dans des détergents acides et neutres)
- 6 minéraux et la vitamine E,
- 5 facteurs anti-nutritionnels (gossypol, acide phytique, acide malvalique, acide sterculique et acide dihydrosterculique),
- 18 acides aminés,
- 10 acides gras (saturés, mono-insaturés, poly-insaturés C14-C24).

La liste des composés est conforme à la recommandation OCDE 2004.

L'approche statistique permet d'étudier les différences entre le cotonnier génétiquement modifié selon deux modalités de traitement et le contrôle sur l'ensemble des sites (ANOVA globale) et site par site. Cette approche permet de détecter l'existence d'une éventuelle interaction entre l'effet OGM et l'effet site.

Des intervalles définis à partir des mesures réalisées sur les variétés commerciales cultivées dans le même essai et de valeurs reportées dans la littérature ont été utilisés pour vérifier que les teneurs moyennes mesurées dans le cotonnier transgénique ne sortent pas des gammes de variation naturelle. Les tests d'équivalence tels que le recommande l'EFSA (EFSA, 2010<sup>4</sup>) ne sont pas réalisés.

De nombreuses différences statistiquement significatives sont observées. En particulier, on observe une diminution de la concentration de tous les acides aminés dans les graines de cotonniers génétiquement modifiés qu'ils proviennent des essais américains ou européens. Les teneurs en facteurs antinutritionnels sont diminuées pour le gossypol dans les échantillons de cotonniers cultivés aux USA. Les teneurs en acide malvalique et sterculique sont augmentées uniquement dans le cotonnier cultivé en Espagne. Par contre, les teneurs en acide dihydrosterculique sont augmentées dans les cotons cultivés en Espagne et aux USA.

L'analyse site par site indique que les différences significatives relevées sont souvent observées sur un faible nombre de site excepté pour les teneurs en acide linoléique (diminuée) et acide dihydrosterculique (augmentée) sur tous les sites de culture en

<sup>4</sup> Statistical considerations for GMOs safety EFSA Journal 2010; 8(1):1250  
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1250.pdf>

Espagne et aux USA. Cependant, dans tous les cas, les différences observées entre les moyennes sont de faibles amplitudes et les moyennes sont situées dans la gamme des valeurs des données publiques des principales variétés de cotonniers. Le traitement glufosinate ammonium n'a pas d'effet significatif sur la composition du coton.

Une analyse de la composition chimique (mêmes composés), a été réalisée sur les produits issus de la graine : la graine sans fibre, la fibre, les coques, les tourteaux (chauffés et non chauffés). Cette analyse a été réalisée sur des échantillons de cotonniers traités par le glufosinate ammonium, produits sur un site en Argentine en 2008. Les données issues du cotonnier GHB119 sont comparées à celles issues du témoin coker 315 qui n'est pas le témoin isogénique. L'analyse de la composition des graines sans fibres issues du cotonnier GHB119 montre aussi une diminution des teneurs en protéines, en acides aminés, en acide linoléique et une augmentation de la teneur en acide dihydrosterculique. Cependant l'ensemble de ces différences sont faibles et restent situées dans la gamme des valeurs des données publiques des principales variétés de cotonniers.

L'analyse de la composition des tourteaux (chauffés ou non), montre des différences importantes. Les teneurs en acide gras et en vitamine E sont fortement augmentées (plus de 50%). Les teneurs en protéines, en acides aminés, en fer, en zinc et calcium sont diminuées. Les moyennes mesurées pour GHB119 sont supérieures aux bornes des valeurs des données publiques des principales variétés de cotonniers pour les acides gras et la vitamine E. Selon le pétitionnaire, ces différences seraient liées à un déshuilage insuffisant des tourteaux. Dans ces conditions et pour cette analyse, le CES considère que cette étude ne permet pas de conclure sur l'analyse comparée de composition des tourteaux issus du cotonnier GHB119 et de ceux issus du témoin.

Enfin, l'analyse comparée de la composition en acides gras de l'huile (brute et raffinée désodorisée) ne montre pas de différence exceptée pour le niveau d'acide sterculique qui est inférieur à la plus faible des valeurs des données publiques pour les deux types de cotonniers.

En conclusion, les résultats de cette étude permettent de considérer que les différences de composition entre les graines de cotonnier GHB119 et des graines de témoins sont mineures. Il en est de même pour les principaux produits dérivés de la graine mais la comparaison a été réalisée avec un autre témoin que l'isogénique. Enfin le CES considère que l'étude sur la composition des tourteaux telle que réalisée ne permet pas de conclure à une absence de différence de composition entre les tourteaux GHB119 et les tourteaux témoin.

**(7.5) Spécification des produits issus de la graine**

Quatre types de produits sont extraits des graines de cotonniers dont les trois premiers sont utilisés pour l'alimentation humaine et/ou animale 1) l'huile utilisée directement ou après transformation, 2) les tourteaux qui correspondent à la partie solide résultant de l'extraction de l'huile 3) les coques 4) la fibre qui contient essentiellement de la cellulose et utilisée pour les usages non alimentaires.

L'huile de cotonnier (principal produit destiné à l'alimentation humaine) est peu sensible à l'oxydation en raison de la nature de ses acides gras qui ont en majorité, pas plus de deux doubles liaisons. Les tourteaux sont riches en protéines et sont utilisés comme aliment pour les ruminants. Les différentes toxines présentes dans les tourteaux, les rendent impropres à la consommation pour des animaux monogastriques si aucun procédé de préparation approprié n'est mis en œuvre.

**(7.6) Effet du procédé de traitement**

Les traitements que subissent les graines de cotonnier conventionnel pour obtenir les différents produits alimentaires sont un chauffage et des étapes d'extraction par des solvants et par des solutions alcalines.

**(7.7) Utilisation et consommation prévue**

Les cotonniers GHB119 ont pour vocation à être utilisés comme les cotonniers conventionnels sous tous les modes de consommation chez l'homme et l'animal.

Les protéines Cry2Ae et PAT ne sont pas détectées dans les huiles alimentaires fabriquées à partir des cotonniers GHB119. L'exposition aux deux protéines *via* l'huile de coton est selon le pétitionnaire, négligeable. Un autre calcul basé sur les denrées brutes, à partir des données de l'OMS pour la consommation de noix et de produits oléagineux (GEMS/Food regional diets, FAO/WHO, 2003) est proposé. Ce calcul conduit à une exposition moyenne estimée par le pétitionnaire pour la population européenne de 56,2 µg de Cry2Ae et de 1,82 mg de PAT par jour et par personne.

Considérant les concentrations mesurées en protéines PAT et Cry2Ae dans les produits dérivés, la quantité de protéines PAT et Cry2Ae a été estimée dans les régimes pour animaux en fonction du taux d'incorporation de chaque produit. Ainsi, elle est de 23,9 µg/g pour PAT et de 1,7 µg/g pour Cr2Ae dans les régimes destinés aux bovins.

**(7.8) Toxicologie**

**L'évaluation de la sécurité des protéines PAT est basée sur les données suivantes :**

- ✓ Le gène *bar* qui code pour la protéine PAT provient de *Streptomyces hygroscopicus*, une bactérie ubiquitaire saprophyte du sol qui n'est pas connu pour être pathogène pour l'homme ou l'animal.
- ✓ Des analyses *in silico* récentes (2010 et 2011) indiquent que la protéine PAT présente des homologies de séquences uniquement avec des séquences de gènes codant des acétyltransférases, mais aucune homologie de séquence avec des protéines toxiques ou des allergènes connus pour l'homme ou l'animal.
- ✓ La protéine PAT n'est pas glycosylée.
- ✓ La protéine PAT est rapidement inactivée par la chaleur (10 minutes à 55°C) bien qu'elle ne soit pas dégradée.
- ✓ La protéine est rapidement dégradée en milieu simulant le fluide gastrique et en milieu simulant le fluide intestinal.
- ✓ La protéine PAT est une enzyme très spécifique qui acétyle le glufosinate ammonium, mais pas le glutamate ou d'autres L-acides aminés.
- ✓ La protéine<sup>5</sup> n'induit pas de toxicité aigüe ni de mortalité chez la souris après une administration unique de 1 et 10 mg/kg par voie intra-veineuse (groupes de 5 souris femelles).
- ✓ Le pétitionnaire mentionne une étude de toxicité répétée par voie orale avec une protéine PAT codée par le gène *pat* mais l'étude n'est pas fournie dans le dossier.

**L'évaluation de la sécurité de la protéine Cry2Ae est basée sur les données suivantes :**

- ✓ Des analyses *in silico* récentes (2010) indiquent que la protéine Cry2Ae ne présente aucune homologie de séquence avec des protéines toxiques ou des allergènes connus pour l'homme ou l'animal.
- ✓ La protéine Cry2Ae est totalement dégradée après 60 minutes à 90°C.
- ✓ La protéine n'est pas stable en milieux digestifs.
- ✓ Etude de toxicité aigue après 14 jours : La protéine<sup>6</sup> n'induit pas de mortalité, ni de signes cliniques sur le poids des animaux et des organes chez la souris OF1 après une administration unique de 2000 mg/kg par voie orale (gavage). L'étude a été réalisée sur 5 souris femelles traitées et 5 non traitées.
- ✓ Etude de toxicité réitérée 28 jours chez la souris C57BL/6J à la dose de 75 mg/kg/j choisie car elle couvre largement l'exposition prévue à la protéine. La protéine n'induit pas de mortalité, ni de signes cliniques sur le poids des animaux et des organes, ni de modification des paramètres sanguins, ni de modifications microscopiques chez la souris après une administration réitérée de 75 mg/kg/jour par

<sup>5</sup> Les essais de toxicité expérimentaux ont été réalisés avec une protéine PAT produite par *E. Coli*. L'équivalence entre la protéine produite par le cotonnier et celle produite par *E coli* a été vérifiée (SDS/PAGE, western blot, glycostaining, séquence de peptides internes, séquence N-terminale et activité enzymatique).

<sup>6</sup> Les essais de toxicité expérimentaux ont été réalisés avec une protéine Cry2Ae produite par *B thuringiensis*. L'équivalence entre la protéine produite par le cotonnier et celle produite par *B thuringiensis* a été vérifiée (SDS/PAGE, western blot, glycostaining, séquence de peptides internes, séquence N-terminale et activité enzymatique).

voie orale (gavage). L'étude a été réalisée sur 10 souris (5 mâles et 5 femelles) traitées et 10 non traitées (5 mâles et 5 femelles).

Le pétitionnaire n'a calculé de marge de sécurité pour aucune des deux protéines. La protéine PAT, est présente dans d'autres plantes transgéniques et a déjà été évaluée favorablement pour de tel niveau d'expression. Pour la protéine Cry2Ae, en prenant une NOAEL de 75 mg/kg/jour (étude 28 jours) et l'exposition estimée par le pétitionnaire pour la population européenne (56,2 µg Cry2Ae/personne/jour soit 0,0018 mg/kg/jour pour une personne de 60 kg), la marge de sécurité calculée par le CES est élevée (>80 000).

**(7.8.4) Etude de la toxicité sub-chronique**

Une étude pour évaluer la toxicité potentielle des tourteaux de cotonniers a été réalisée sur des groupes de 10 rats Wistar par type de traitement et par sexe.

Toutefois, l'identité du cotonnier testé appelé « Cry2Ae event » devra être précisé afin de confirmer qu'il s'agit bien de l'événement GHB119.

Le protocole comprend 4 groupes recevant chacun pendant 90 jours une alimentation contenant des tourteaux de cotonniers incorporés à raison de 5 ou 10%. Les différents taux et types de tourteaux incorporés dans les régimes sont 10% de cotonnier contrôle coker 312, 5% ou 10% de cotonnier GHB119 ; 10% de cotonnier provenant d'une variété commerciale.

L'analyse statistique consiste à réaliser des tests d'égalité des moyennes entre les groupes (contrôle versus transgénique 5 et 10%) par ANOVA ou tests non paramétriques. Deux seuils (1 et 5%) de probabilité d'erreur de 1<sup>ère</sup> espèce sont appliqués. Les données atypiques et les mesures répétées dans le temps ne sont pas traitées spécifiquement. En particulier les modèles mixtes auraient dû être appliqués pour tenir compte de corrélations entre les mesures. De plus, le matériel testé doit être aussi proche que possible du produit final tel que consommé, ainsi le matériel végétal testé aurait dû être traité par le glufosinate ammonium. Enfin, la mise en œuvre d'un faible nombre d'animaux (10 rats de chaque sexe par groupe), augmente le risque d'avoir une puissance insuffisante pour les tests statistiques.

Les paramètres biologiques observés sont le suivi des signes cliniques, le poids des animaux, la consommation de nourriture, l'examen ophtalmologique, la neurotoxicité, l'hématologie, la biochimie sanguine, les analyses urinaires, le poids des organes, et les observations macro et microscopique des organes.

L'analyse statistique révèle quelques différences significatives toutefois ces variations sont considérées comme ponctuelles car les valeurs individuelles restent dans la limite des valeurs normales ou ne sont pas reproduite à la forte dose (10%).

En conclusion, les résultats de cette étude ne révèlent pas d'effet toxique lié à la consommation de tourteaux de cotonniers testés.

**(7.9) Allergénicité**

L'évaluation de l'allergénicité des cotonniers portants l'événement GHB119 repose sur les éléments suivants :

- Absence d'homologie de séquence de la protéine PAT et Cry2Ae avec des allergènes connus, soutenue par des études réalisées en 2011 avec plusieurs bases de données ;
- Dégradation rapide en milieux simulant le fluide gastrique et intestinal ;
- Absence de glycosylation pour PAT et Cry2Ae.

Il convient de noter que ces données ne suffisent pas, pour autant, à conclure de façon certaine à l'absence d'un potentiel toxique et allergénique mais, qu'en l'état actuel des connaissances, une telle certitude ne pourrait être obtenue pour aucune protéine.

Le cotonnier n'est pas considéré comme allergénique. La littérature ne rapporte pas de fait indiquant des réactions allergiques après la consommation d'huile de coton.

(7.10) **Evaluation nutritionnelle**

Une étude d'alimentarité a été réalisée chez le poulet des deux sexes (420 poulets, 140 par traitement, 3 traitements). Les poulets sont nourris pendant 42 jours avec trois régimes successifs (démarrage, croissance et finition) contenant environ 5% de tourteaux de cotonnier. Le choix de ce faible taux d'incorporation aurait dû être justifié. Les poulets ayant reçu les tourteaux de cotonnier GHB119 sont comparés à ceux ayant reçu les tourteaux de cotonnier de la variété témoin isogénique (coker 312) et à ceux ayant reçu des tourteaux d'une variété commerciale de cotonnier.

L'analyse de la composition chimique des tourteaux et des rations a été effectuée pour les paramètres suivants : protéines, lipides, fibres, cendres, matière sèche, calories, amidon, acides-aminés, minéraux, anti-nutriments (gossypol, acide cyclopropénoïde, acide phytique). Une analyse bactériologique a été réalisée. Les traces de métaux lourds, d'aflatoxines et de glufosinate ammonium ont été recherchées dans les tourteaux. Leurs niveaux sont très faibles (à la limite de leurs détections). Le glufosinate n'est pas détecté dans les rations alimentaires produites. L'analyse des résultats démontre qu'il n'existe pas de différences majeures de composition entre les tourteaux et les rations quelle que soit la variété de cotonnier. La présence du transgène dans les tourteaux et dans les régimes contenant le cotonnier GM a été vérifiée. Les niveaux des protéines Cry2Ae et PAT n'ont pas été mesurés dans les rations alimentaires.

Les observations de l'expérience ont portées sur la santé globale des animaux, le taux de mortalité, la croissance, la quantité de nourriture absorbée et l'efficacité alimentaire. En fin de traitement, 126 animaux choisis au hasard dans les 3 groupes ont été analysés pour le rendement et le poids de morceaux de découpe (carcasse, 4 muscles, tissu adipeux abdominal).

Le taux de mortalité est élevé, proche de 10% sans différence significative entre les groupes et en relation avec des inflammations des reins, de la vessie et du foie mais aussi d'hypertrophie cardiaque et de la rate, associés à des ascites. Compte tenu de cette mortalité élevée et du faible taux d'incorporation non justifié, le CES juge l'étude non recevable.

**Conclusion du CES BIOTECHNOLOGIE**

L'information apportée dans le dossier permet de caractériser l'insertion présente dans les cotonniers GHB119, d'un point de vue moléculaire.

L'analyse de composition des graines entières ne fait pas apparaître de différence entre la composition des graines de cotonniers GHB119 et des graines de cotonniers témoin. Il en est de même pour les principaux produits dérivés de la graine mais la comparaison a été réalisée avec un autre témoin que l'isogénique. Enfin, l'étude sur la composition des tourteaux telle que réalisée ne permet pas de conclure à une absence de différence de composition entre les tourteaux GHB119 et les tourteaux témoin.

Concernant l'évaluation du potentiel toxique, les données fournies permettent d'évaluer la sécurité des protéines nouvellement présentes dans les cotonniers génétiquement modifiés GHB119. Par ailleurs, sous réserve de son identité avec l'événement GHB119, une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours ne met pas en évidence de toxicité liée à la consommation de tourteaux de cotonniers testés. L'information selon laquelle le matériel végétal testé provient de cotonniers traités ou non par le glufosinate ammonium n'est pas fournie.

Concernant l'évaluation nutritionnelle, compte tenu de l'absence de justification du faible taux d'incorporation de tourteaux dans la ration et de la mortalité élevée observée dans tous les groupes, sans différence significative entre les animaux nourris avec les plantes GM et ceux nourris avec les plantes témoin, le CES juge l'étude non recevable.

En conclusion et en l'absence, notamment, d'une étude nutritionnelle jugée recevable, le CES ne peut conclure quant à la sécurité sanitaire liée à la consommation des cotonniers portant l'événement GHB119 et de leurs produits dérivés.



#### **4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE**

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail adopte les conclusions du Comité d'Experts spécialisé « Biotechnologie ».

**Le directeur général**

Marc Mortureux

#### **MOTS-CLES**

OGM, Cotonnier GHB119, résistance aux lépidoptères, tolérance au glufosinate ammonium, Cry1Ab, PAT