

Maisons-Alfort, le 9 avril 2013

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

**Relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du règlement CE n° 1829/2003 du cotonnier génétiquement modifié GHB614, développé afin de présenter une tolérance au glyphosate, pour la culture.**

---

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

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

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

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

*Ses avis sont rendus publics.*

---

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a été saisie le 18 janvier 2013 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF), d'une demande d'avis concernant l'autorisation de mise sur le marché, au titre du règlement CE n° 1829/2003 du cotonnier génétiquement modifié GHB614, développé afin de présenter une tolérance au glyphosate, pour la culture (dossier n°EFSA-ES-2012-104).

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

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

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

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

L'expertise collective a été effectuée par le Groupe de Travail (GT) "Biotechnologie", réuni le 21 mars 2013. L'évaluation du dossier se base sur les lignes directrices de l'EFSA<sup>1</sup> et sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts du GT Biotechnologie.

### 3. ANALYSE DU GT

#### Information générale

Les cotonniers GHB614 ont été génétiquement modifiés afin d'introduire dans leur génome une cassette d'expression du gène muté codant la protéine mEPSPS (5-énol pyruvyl-3-phosphoshikimique acide synthétase) de maïs insensible au glyphosate. La présence d'une EPSPS tolérante au glyphosate s'exprimant dans les chloroplastes permet le maintien de la synthèse de certains acides aminés essentiels et donc la survie de la plante lorsqu'elle est soumise à un traitement par le glyphosate.

Ce cotonnier a fait l'objet d'un examen par l'Afssa en 2008 (saisine 2008-SA-0095) lors de la demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du règlement CE n°1829/2003, pour l'importation et la transformation de graines de cotonniers GHB614 ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale.

Dans la conclusion de son avis, l'Agence indiquait :

« L'Agence française de sécurité des aliments ne peut se prononcer sur la sécurité sanitaire des cotonniers portant l'événement de transformation GHB614 en l'absence d'une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours réalisée chez le rat par administration via son alimentation des graines de cotonnier génétiquement modifié.

Il aurait, par ailleurs, été souhaitable de disposer de plus d'informations sur les séquences génomiques bordant cette insertion. »

Depuis 2008, l'Efsa a rendu un avis favorable<sup>2</sup> sur ce dossier et l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale des produits consistant, contenant et dérivés du cotonnier GHB614 ont été autorisés dans l'Union européenne<sup>3</sup>.

Le présent dossier (n°EFSA-ES-2012-104) vise à étendre le champ d'autorisation initiale à la culture, qui n'entre pas dans le champ de compétence de l'Agence. Cependant, le pétitionnaire indique que les informations relatives à la sécurité sanitaire de cet OGM ont été réactualisées et complétées, en particulier, par une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours réalisée en 2010.

L'évaluation de ce dossier consiste en l'examen de ces données nouvelles et réactualisées afin de déterminer si elles sont de nature à lever les réserves formulées dans l'avis de 2008.

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

<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.

<sup>2</sup> Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2008-51) for the placing on the market of glyphosate tolerant genetically modified cotton GHB614, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience. *The EFSA Journal* (2009) 985, 1-24. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/985.pdf>

<sup>3</sup> COMMISSION DECISION of 17 June 2011 (2011/354/EU) authorising the placing on the market of products containing, consisting of, or produced from genetically modified cotton GHB614 (BCS-GHØØ2-5) pursuant to Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council, JOCE L160/90 du 18/06/2011.

**A. Identification et caractérisation du danger**  
**A.2 Caractérisation moléculaire**

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

Les séquences des régions 5' et 3' bordant l'insert ont été déterminées et étendues par rapport au précédent dossier. Ainsi, la région 5' séquencée comprend 1139 pb et la région 3' comprend 1327 pb au lieu des 738 et 214 pb initialement séquencées, respectivement. Ces séquences sont entièrement identiques à celles présentées dans le dossier initial du cotonnier GHB614 et correspondent bien à de l'ADN génomique de cotonnier. Le séquençage au niveau du site d'insertion et la comparaison avec la séquence de la plante non transformée met en évidence une délétion de 17 pb..

L'analyse bioinformatique réactualisée de cette région permet d'identifier un gène putatif dans la partie 5' dont le site d'initiation à la transcription se situe dans l'insert et se prolonge au delà de la jonction 5'. Ce gène code pour une protéine qui présente des homologies (55% identité) avec une protéine hypothétique de peuplier. Aucune transcription de cette ORF n'a été détectée. Aucun gène putatif n'a été identifié en 3'.

La recherche de cadres ouverts de lecture (ORF) entre deux codons stop au niveau des jonctions 5' et 3' de l'insert et au niveau de la totalité de l'insert a été réalisée. Ainsi 219 ORF avec une taille supérieure à 8 acides aminés ont été identifiées. Ces séquences peptidiques ont été comparées en juillet 2011 aux séquences répertoriées dans les bases de données d'allergènes (AllergenOnline ; [www.allergenonline.org](http://www.allergenonline.org)) et de toxines (Bayer toxin Database<sup>4</sup>). Les résultats montrent qu'aucune de ces séquences ne présente d'homologie significative avec des toxines ou des allergènes connus.

**A.2.3 Conclusion**

Lors de l'examen du dossier initial de demande d'autorisation, le CES avait jugé insuffisante la longueur des séquences 5' et 3' bordant l'insert. Dans ce dossier, les séquences ont été étendues de plusieurs centaines de paires de bases de chaque côté de l'insertion.

L'analyse de ces séquences (analyse du site d'insertion, recherche des ORF aux jonctions, comparaison avec les séquences répertoriées dans les bases de données d'allergènes et de toxines) a été réactualisée et ne met pas en évidence d'élément évocateur d'un risque pour le consommateur des produits issus des cotonniers GHB614.

**A.4 Evaluation toxicologique**

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

Les études ont été menées sur la base de protocoles de l'OCDE et conformément aux BPL.

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

La recherche d'homologie de séquence entre la protéine mEPSPS et les toxines et allergènes a été réactualisée. Aucune homologie avec des toxines ou allergènes connus n'a été retrouvée.

La stabilité de la protéine dans différentes conditions *in vitro* (fluide gastrique simulé SGF et fluide intestinal simulé SGF) a fait l'objet de nouvelles études. Les résultats de ces études montrent une dégradation de la protéine en moins de 30 secondes.

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

<sup>4</sup> 93 167 séquences protéiques de Uniprot\_SwissProt et GenPept avec les mots clés suivants: calcin, channel block, harmful, noxious, poison, venin, porin, lectin, toxic, knottin, toxin, venom, channel inhibitor ; complété par les séquences de la base Animal Toxin Database (ATDB; <http://protchem.hunnu.edu.cn/toxin>).

#### A.4.5.1 Protocole expérimental de l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours chez les rongeurs.

Quatre groupes de 10 rats Wistar de chaque sexe ont été nourris avec des régimes alimentaires contenant des tourteaux toastés déhuilés d'origines différentes soit :

- 10% de tourteau toasté issu de graines de cotonnier modifié GHB614,
- 5% de tourteau toasté issu de graines de cotonnier modifié GHB614 et 5% de tourteau toasté issu de graines de cotonnier contrôle,
- 10% de tourteau toasté issu de graines de cotonnier contrôle,
- 10% de tourteau toasté issu de graines d'une variété commerciale de cotonnier (non GM).

L'étude a été conduite en 2010 selon les lignes directrices de l'EFSA (Guidance document of the scientific panel on Genetically Modified Organisms (GMO) for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed, EFSA, 2006) et selon les recommandations issues de la publication du GMO panel de l'EFSA (Safety and nutritional assessment of GM plants and derived food and feed: the role of animal feeding trials Food Chem Toxicol., 2008, 46, Suppl 1:S2-70).

La composition chimique des tourteaux et des régimes a été vérifiée. Les analyses ont porté sur les principaux nutriments, fibres, minéraux, vitamines, apport énergétique, ainsi que les antinutriments (gossypol, acides gras cyclopropénoïdes, acide phytique), les contaminants (aflatoxines B1, B2, G1, G2, déoxynivalénol, fumonisines B1 et B2, ochratoxine A), métaux lourds (plomb, mercure, arsenic, cadmium, sélénium), dérivés nitrés (9), pesticides (organochlorés 17, organophosphorés 52, pyréthronoïdes 9). Aucune différence entre les régimes n'est observée.

Les animaux sont observés quotidiennement pour les signes cliniques, de façon hebdomadaire a minima pour le poids corporel, la consommation alimentaire et un examen physique détaillé. Un test visant à rechercher des effets neurotoxiques est pratiqué à la 6<sup>ème</sup> semaine chez tous les animaux, ainsi qu'un examen ophtalmologique avant et en fin de traitement. Les examens hématologiques (15), de biochimie sanguine (18) et urinaire (14) sont pratiqués en fin d'étude, avant examen macroscopique et microscopique (40) des organes, certains étant pesés (14).

Les méthodes statistiques employées sont des tests d'égalité des moyennes entre groupes avec des ANOVA et des tests non paramétriques (Kruskal-Wallis). Les tests ont été réalisés avec deux seuils de probabilité d'erreur de 1<sup>ère</sup> espèce (1 et 5%). Les données ont été transformées si nécessaire. Toutes les analyses ont été réalisées séparément pour les mâles et les femelles.

Les données atypiques n'ont pas fait l'objet d'analyse spécifique et des modèles mixtes pour prendre en compte les corrélations entre mesures répétées dans le temps sur un même animal (poids et consommation) n'ont pas été utilisés. Les données brutes sous format électronique et les programmes statistiques ne sont pas fournies.

#### A.4.5.2 Interprétation des études sur animaux

Un animal du groupe témoin a été sacrifié quelques jours avant la date prévue (J92), lequel avait montré antérieurement des signes d'altération de son état général.

Au plan biochimique, une augmentation significative de l'activité des phosphatases alcalines est notée chez les femelles du groupe 10% GHB614/ témoin, alors qu'une baisse est notée dans le groupe régime standard/témoin cotonnier chez les mâles, associé à une augmentation de rapport albumine/globuline.

Dans le rapport initial, la notion d'intervalle des valeurs des « contrôles » n'étant pas documentée, l'EFSA a demandé au pétitionnaire de réaliser une analyse statistique

complémentaire. Le complément d'information permet de comparer les valeurs, avec des données historiques de rats ayant reçu un régime standard et un régime à base de tourteau de coton. L'analyse de ces données montre que les valeurs du groupe GHB614 10% femelles s'inscrivent dans l'intervalle des données historiques.

De plus, en l'absence de variations significatives de la bilirubine totale ou des gamma-glutamyl-transférases, du poids absolu ou relatif du foie ou de signes lésionnels macro- ou microscopiques, il n'est pas possible d'évoquer une altération de la fonction hépato-biliaire en relation avec cette augmentation.

Par ailleurs, le phosphore inorganique est plus élevé dans le groupe des femelles ayant reçu le tourteau GHB614 10%. La différence résulte de deux valeurs qui sortent de l'intervalle des contrôles. Les deux animaux concernés n'ont pas d'autres modifications des paramètres sanguins, urinaires ou tissulaires qui pourraient évoquer une toxicité. Le poids absolu ou relatif des reins ne diffère pas de celui du groupe témoin.

#### A.4.6 Conclusion

L'étude réalisée chez le rat, par administration via l'alimentation de tourteaux toastés de cotonnier GHB614 ne met en évidence aucun effet ayant une signification toxicologique.

Cette étude, mise en œuvre avant les recommandations de l'Anses et de l'EFSA publiés en 2011<sup>5</sup> ne prend pas en compte l'évaluation de la puissance statistique du test. Le rapport ANSES (2011) indique que la puissance des tests de différence de ces études peut, dans certains cas, être insuffisante avec 10 rats par groupe.

Il n'est pas précisé si le tourteau est issu de cotonniers GM traités par le glyphosate, ni la nature des traitements reçus par le cotonnier conventionnel.

Dans la mesure où le produit dérivé consommé par l'Homme est l'huile raffinée, l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours à partir des tourteaux toastés documente essentiellement le risque pour l'alimentation animale.

## 4. CONCLUSION DU GT

Lors de l'examen du dossier initial de demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du règlement CE n°1829/2003, pour l'importation et la transformation de graines de cotonniers GHB614 ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale, l'Agence avait indiqué qu'elle ne pouvait se prononcer sur la sécurité sanitaire des cotonniers portant l'événement de transformation GHB614 en l'absence :

- de plus d'informations sur les séquences génomiques bordant l'insertion,
- d'une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours réalisée chez le rat par administration *via* son alimentation des graines de cotonnier génétiquement modifié.

<sup>5</sup> Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail : Recommandations pour la mise en œuvre de l'analyse statistique des données issues des études de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché d'OGM du 27 janvier. <http://www.afssa.fr/sites/default/files/documents/BIOT2009sa0285.pdf>

EFSA Scientific Committee; 2011. EFSA guidance on conducting repeated-dose 90-day oral toxicity study in rodents on whole food/feed. EFSA Journal 2011;9(12):2438 [21 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2011.2438. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2438.pdf>

Dans ce dossier, les séquences ont été étendues de plusieurs centaines de paires de bases de chaque côté de l'insert. L'analyse de ces séquences ne met en évidence aucun élément évocateur d'un risque pour le consommateur des produits issus des cotonniers GHB614.

Une étude de toxicité sub-chronique, par administration via l'alimentation de tourteaux toastés issus de cotonniers GHB614 a été réalisée chez le rat. Cette étude ne met en évidence aucun signe de toxicité lié à cette alimentation

Par conséquent, il n'existe aucun élément permettant d'établir que la sécurité sanitaire pour l'alimentation animale liée à la consommation des tourteaux de cotonniers portant l'événement de transformation GHB614 est moindre que celle des mêmes produits dérivés des cotonniers contrôlés.

Cependant, l'absence d'huile ou de graines de cotonniers dans le régime des rats ne permet pas de conclure sur la sécurité alimentaire pour l'Homme.

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

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

Considérant les conclusions de l'avis du 8 juillet 2008 (2008-SA-0095) relatif à l'évaluation du dossier initial de demande d'autorisation de mise sur le marché des cotonniers GHB914 et après examen des compléments d'informations apportés dans ce dossier, l'Agence considère que l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours, dont les régimes ne contiennent pas d'huile ou de graines de cotonniers, ne permet pas de conclure sur la sécurité alimentaire pour l'Homme.

**Le directeur général**

Marc Mortureux

## **MOTS-CLES**

OGM, cotonnier GHB614, tolérance au glyphosate, mEPSPS.