

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 13 septembre 2012

Cet avis a été annulé et remplacé par l'avis du 5 octobre 2016 relatif à la saisine 2016-SA-0149

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

**relatif à une demande de mise sur le marché au titre du règlement (CE) n° 1829/2003 du maïs génétiquement modifié Bt11 X 59122 X MIR604 X 1507 X GA21, développé pour être tolérant à certains herbicides et résistant à certains insectes, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n°EFSA-NL-2011-99)**

---

*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 mardi 19 juin 2012 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes d'une demande d'avis relatif à un dossier de mise sur le marché au titre du règlement (CE) n°1829/2003 du maïs génétiquement modifié Bt11x59122xMIR604x1507xGA21, développé pour être tolérant à certains herbicides et résistant à certains insectes, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n°EFSA-NL-2010-99).

## **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 12 juillet et le 21 août 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.

## 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

### (A) Information générale

Le dossier correspondant est une première demande d'autorisation de mise sur le marché pour l'importation et la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale des maïs génétiquement modifiés comportant les événements de transformation **Bt11**, **59122**, **MIR604**, **1507**, **GA21** empilés ainsi que des maïs comportant une sous-combinaison de ces cinq événements. La demande ne concerne pas la mise en culture. Ces maïs ont été obtenus par croisement conventionnel des lignées de maïs génétiquement modifiées suivantes :

- **Bt11** porte le gène codant la protéine **CRY1Ab**, toxique pour la pyrale (*Ostrinia nubilalis* ou European corn borer) et la sésamie (*Sesamia non agrioides* ou Mediterranean Corn Borer) et le gène codant la protéine **PAT** (phosphinothricine acétyl transférase) qui confère la tolérance à l'herbicide glufosinate ammonium.
- **59122** porte deux gènes codant les protéines **CRY34Ab1** et **CRY35Ab1**, toxiques pour les larves de coléoptères tels que les chrysomèles ou *Diabrotica spp.* et le gène codant la protéine **PAT** conférant la tolérance au glufosinate ammonium.
- **MIR604** porte le gène codant une protéine **CRY3A**, toxique pour les chrysomèles des racines (coléoptères *Diabrotica*) et le gène marqueur codant une phosphomannose isomérase **PMI** conférant aux cellules de la plante génétiquement modifiée, l'aptitude à cataboliser le mannose-6-phosphate en fructose-6-phosphate.
- **1507** porte un gène codant la protéine **Cry1F**, toxique pour les larves de lépidoptères telles que *Ostrinia nubilalis* et *Sesamia spp* ainsi qu'un gène **PAT** (tolérance au glufosinate ammonium).
- **GA21** porte le gène codant la protéine **mEPSPS** (5-énol pyruvyl-3-phosphoshikimique acide synthétase) mutée exprimée chez le maïs, conférant la tolérance au glyphosate.

### Évaluation des maïs comportant les événements parentaux (simples et multiples).

Les cinq maïs parentaux à l'origine du maïs empilés ont déjà été évalués dans le cadre d'une demande de mise sur le marché européen au titre du règlement CE N°1829/2003. Les cinq événements ainsi que l'empilement de deux ou trois des cinq événements sont autorisés sur le marché de l' Union Européenne pour l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale

Le tableau 1 résume les informations relatives à l'évaluation de l'Agence Française (Afssa/Anses) et de l'Autorité Européenne (EFSA) et aux décisions d'autorisation de mise sur le marché pour une utilisation en alimentation humaine et animale des événements simples et empilés Bt11, 59122, MIR604, 1507, GA21.

<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.

**Tableau 1** : évaluations françaises et européennes et autorisations communautaires des événements de transformation parentaux sous forme simple ou empilée.

<b>Mais</b>	<b>AFSSA/ANSES</b>	<b>EFSA</b>	<b>Commission européenne</b>
<b>Bt11</b>	Avis favorable alimentation animale en 1998 (SCP) Avis favorable pour son renouvellement le 3/06/08. 2008-SA-0092	Avis favorable le 28/01/09 Renouvellement Dossier EFSA-GMO-RX-Bt11 <i>The EFSA Journal (2009) 977, 1-13</i>	-Autorisé le 22/04/98 Selon directive 90/220/EEC. -Autorisé (maïs doux) le 19/05/04 selon règlement (CE) 258/97.
<b>59122</b>	Avis favorable 2005-SA-0303 du 02/12/05	Avis favorable le 23/03/07 Dossier EFSA-GMO-NL-2005-12 <i>The EFSA Journal (2007) 470, 1-25.</i>	-Autorisé le 24/10/07 selon le règlement (CE) n°1829/2003.
<b>MIR604</b>	Avis favorable 2005-SA-0307 du 02/12/05	Avis favorable le 2/07/09 Dossier EFSA-GMO-UK-2005-11 <i>EFSA Journal (2009) 1193, 1-26</i>	-Autorisé le 30/11/09 selon règlement (CE) n°1829/2003.
<b>1507</b>	Avis favorable 2004-SA-0030 du 19/02/04 (alimentation humaine selon règlement (CE) n°258/97)	Avis favorable le 19/01/05 Dossier EFSA-GMO-NL-2004-02 <i>The EFSA Journal (2005) 182, 1-22</i>  Avis favorable le 28/05/09 Renouvellement Dossier EFSA-GMO-RX-1507 <i>The EFSA Journal (2009) 1138, 1-11</i>	-Autorisé le 3/11/05 selon la directive 2001/18/CE -Autorisé le 3/03/07 selon le règlement (CE) n°1829/2003 -Autorisé le 16/06/11 (renouvellement) selon le règlement (CE) n° 1829/2003
<b>GA21</b>	Avis favorable le 15/06/06 2006-SA-0131	Avis favorable le 13/09/07 Dossier EFSA-GMO-UK-2005-19 et EFSA-GMO-RX-GA21 <i>The EFSA Journal (2007) 641, 1-25</i>	-Autorisé le 28/03/08 selon le règlement (CE) n°1829/2003 -Autorisé le 28/07/10 (renouvellement) selon le règlement (CE) n° 1829/2003
<b>Bt11xGA21</b>	Avis favorable le 15/05/08 2008-SA-0041	Avis favorable le 15/09/09 Dossier EFSA-GMO-UK-2007-49 <i>The EFSA Journal (2009) 7, 1319</i>	-Autorisé le 28/07/10 selon le règlement (CE) n°1829/2003
<b>MIR604XGA21</b>	Avis favorable le 08/07/08 2008-SA-0093	Avis favorable le 29/04/10 Dossier EFSA-GMO-UK-2007-48 <i>The EFSA Journal (2010) 8, 1616.</i>	-Autorisé le 22/12/11 selon le règlement (CE) n°1829/2003
<b>Bt11XMIR604</b>	Avis favorable le 10/06/08 2008-SA-0094	Avis favorable le 29/04/10 Dossier EFSA-GMO-UK-2007-50 <i>The EFSA Journal (2010) 8, 1614.</i>	-Autorisé le 22/12/11 selon le règlement (CE) n°1829/2003
<b>BT11XMIR604X GA21</b>	Avis favorable le 14/11/08 2008-SA-0285	Avis favorable le 29/04/10 Dossier EFSA-GMO-UK-2007-56 <i>The EFSA Journal (2010) 8, 1616.</i>	-Autorisé le 22/12/11 selon le règlement (CE) n°1829/2003
<b>1507X59122</b>	Avis favorable le 17/09/07 2007-SA-0240	Avis favorable le 21/04/09 Dossier EFSA-GMO-NL-2005-15 <i>The EFSA Journal (2009) 1174, 1-28.</i>	-Autorisé le 28/07/10 selon le règlement (CE) n°1829/2003
<b>Bt11X GA21 xMIR162XMIR604</b>	Avis favorable le 22/10/09 2009-SA-0200	en cours	
<b>1507 X 59122 X MON810 X NK603</b>	Avis favorable le 19/04/12 2012-SA-0024	en cours	

Le présent avis s'appuie sur les évaluations déjà réalisées pour chacune de ces lignées et présentées dans les avis de l'Afssa et de l'EFSA, cités dans le tableau ci-dessus. Les conclusions sont basées sur l'examen particulier de points importants pour l'évaluation des plantes génétiquement modifiées comportant des transgènes empilés<sup>1</sup>. L'avis concerne les maïs comportant les cinq événements empilés, ainsi que ceux qui contiennent une sous combinaisons de ses cinq événements.

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

Le maïs Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 a été obtenu par croisement conventionnel de lignées de maïs génétiquement modifiées comportant un ou plusieurs des cinq événements Bt11, 59122, MIR604, 1507, GA21. Plus précisément, les événements 1507 et 59122 ont été introduits dans une même lignée « A » et Bt11, MIR604, et GA21 dans une lignée « B », le croisement de A et B génère l'hybride qui comporte les 5 événements de transformation.

Les méthodes et les ADN utilisés pour la transformation génétique des maïs portant les événements Bt11, 59122, MIR604, 1507 ou GA21 sont décrits dans les avis relatifs à ces lignées.

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

**(2)** Afin de vérifier la présence et l'intégrité des séquences exogènes apportées par chacun des événements simples, des analyses de type Southern ont été réalisées sur de l'ADN génomique de maïs provenant des maïs hybrides Bt11x59122xMIR604x1507xGA21. Les résultats d'hybridation du maïs Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 obtenus avec neuf sondes correspondant aux séquences codant pour les huit caractères apportés par les modifications génétiques ont été comparés aux maïs parentaux Bt11, 59122, MIR604, 1507, GA21. Ils montrent que la structure moléculaire des inserts telle que décrite chez les parents est préservée chez les hybrides et que les inserts sont présents en un seul locus dans le génome nucléaire de l'hybride.

**(3) Informations relatives à l'expression des transgènes**

La teneur en protéines CRY1Ab, CRY34Ab1, CRY35Ab1, CRY3A, PMI, CRY1F, mEPSPS et PAT a été mesurée par la méthode ELISA dans différents tissus (feuilles, racines, pollen, plante entière et grain) prélevés à différents stades de maturité des plantes. Les échantillons proviennent d'un seul essai où les hybrides Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 et les lignées parentales contenant un seul événement de transformation ont été cultivées conjointement en 2009 aux Etats-Unis (un site). Aucun traitement herbicide spécifique des modifications génétiques n'a été appliqué.

Concernant la protéine PAT, on constate une concentration supérieure de 10 à 30%, quel que soit le tissu ou le stade de développement, chez l'hybride Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 par rapport aux lignées parentales Bt11, 59122 et 1507. Cela peut s'expliquer par le fait qu'il existe trois copies du gène PAT dans l'hybride, le niveau reste toutefois très faible.

On observe également une concentration 2 fois supérieure de la protéine CRY1Ab dans l'hybride par rapport à l'événement simple pour l'analyse plante entière. Toutefois, ce fait ne se confirme pas dans les feuilles à différents stades de développement.

Dans les grains et les autres tissus, les concentrations en protéines mesurées sont comparables dans l'hybride Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 et dans les lignées parentales (cf. tableau 2).

**Tableau 2** : Teneurs moyennes en protéines CRY1Ab, CRY34Ab1, CRY35Ab1, CRY3A, PMI, CRY1F, mEPSPS et PAT dans les grains en µg/g de matière sèche chez l'hybride et les lignées parentales.

	<b>Bt11x59122xMIR604x1507x GA21 [min-max]</b>	<b>Evénement parent [min-max]</b>
<b>CRY1Ab</b>	2,08 [1,64-2,64]	2,17 [1,58-2,86]
<b>CRY34Ab1</b>	80,83 [56,23-133,41]	92,25 [59,56-158,16]
<b>CRY35Ab1</b>	1,82 [1,55-2,06]	2,02 [1,80-2,57]
<b>CRY3A</b>	0,42 [0,34-0,50]	0,42 [0,35-0,57]
<b>PMI</b>	2,57 [2,11-2,93]	2,8 [2,46-3,48]
<b>CRY1F</b>	2,63 [1,99-3,34]	2,74 [2,23-3,75]
<b>mEPSPS</b>	11,88 [8,97-13,28]	10,89 [9,15-13,27]
<b>PAT</b>	0,12 [0,06-0,17]	<LOQ

LOQ= limite de quantification

Il est rappelé que les teneurs de ces mêmes protéines ont été mesurées et présentées à plusieurs reprises lors de l'évaluation des lignées parentales et des hybrides contenant des sous-combinaisons. Aucune différence de niveau d'expression entre les hybrides et les lignées parentales n'a été observée.

**Analyse des régions génomiques au niveau des sites d'insertion des transgènes.**

Les analyses de séquence des inserts et des régions flanquant les inserts ont été réalisées et présentées dans les dossiers de demande de mise sur le marché des lignées parentales. Elles n'ont pas mis en évidence de protéines de fusion ayant des homologies avec les protéines toxiques ou allergènes contenus dans les banques de données.

Ces analyses ont été actualisées en 2011 dans les lignées parentales, prenant en compte la recherche de phases ouvertes de lectures (ORF) à chacune des bordures 3' et 5' des inserts. Les ORF ont été définies entre deux codons stop. L'ensemble de ces séquences a été comparé en 2011 aux séquences contenues dans les bases de données répertoriant les toxines et d'allergènes connus sans mettre en évidence d'homologie.

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

Les inserts présents dans le génome de Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 ont été analysés et comparés par *Southern* aux inserts présents dans les lignées parentales. Les résultats montrent que les inserts n'ont pas subi de réarrangement et sont stables.

La stabilité phénotypique de chacun des événements a déjà été évaluée dans les lignées parentales et elle a été vérifiée dans l'hybride qui conserve les caractères apportés par les transgènes.

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

**(7.1-3)** Une analyse visant à comparer la composition chimique des maïs hybrides portant les 5 événements de transformation à celle des maïs témoins quasi isogéniques a été réalisée. L'hybride transgénique est le résultat du croisement de deux lignées chacune apportant 2 et 3 événements de transformation. Le témoin isogénique est aussi un hybride, résultat du croisement de deux lignées non transgéniques ayant le même fonds génétique que les lignées transgéniques précédentes. Les maïs ont été cultivés conjointement avec 8 variétés commerciales sur 8 sites aux Etats-Unis en 2009. Tous les maïs ont reçu un traitement classique contenant des pesticides, une partie des hybrides Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 ont reçu un traitement supplémentaire contenant les herbicides correspondant aux modifications génétiques soit le glyphosate et le glufosinate ammonium.

L'analyse porte sur le fourrage et le grain, les paramètres qui ont été mesurés sont ceux classiquement évalués chez le maïs (OCDE, 2002). Pour le fourrage, il s'agit des paramètres proximaux (protéines, lipides, hydrates de carbone, cendre, humidité) ainsi que les fibres et les minéraux (calcium et phosphore).

Pour le grain, les composés analysés sont : les paramètres proximaux précédents, 18 acides aminés, 5 acides gras, 10 minéraux (Mg, Mn, Cu, Fe, K, Na, Zn, Ca, P, Se), 6 vitamines (vitamine A, B1, B2, B3, B6, B9, E) et 7 facteurs antinutritionnels et métabolites secondaires (inositol, furfural, acide *p*-coumarique, acide férulique, raffinose, acide phytique, inhibiteurs de trypsine).

La méthode statistique appliquée aux données permet d'identifier les différences entre le maïs génétiquement modifié (GM) traité ou non<sup>2</sup> et le contrôle sur l'ensemble des sites mais aussi site par site. Cette approche permet de tenir compte d'une éventuelle interaction entre l'effet OGM et l'effet site.

Pour chaque composé, la valeur mesurée dans le maïs GM est comparée aux « gammes de variation » calculées à partir des variétés commerciales cultivées sur les mêmes sites expérimentaux et aux gammes de valeurs reportées dans la base de données ILSI<sup>3</sup>.

Le modèle statistique utilisé ne correspond pas à celui proposé par l'EFSA (2010) et ne permet pas de réaliser de test d'équivalence tel que le recommande l'EFSA (EFSA, 2010<sup>4</sup>).

Pour la grande majorité des composants mesurés dans le fourrage et dans le grain du maïs génétiquement modifié (GM), les concentrations ne sont pas différentes de celles du fourrage et des grains de maïs témoin. Seize nutriments du grain présentent des teneurs différentes entre le témoin et le maïs GM traité ou non par les herbicides (le glyphosate et le glufosinate ammonium). Ces différences sont faibles et restent dans la fourchette de variation observée dans les grains de maïs des variétés commerciales cultivées en 2009 ou des données de la base ILSI.

En conclusion, les résultats de cette étude de composition permet de considérer que les différences observées entre le maïs GM et son témoin sont mineures et de conclure que la composition du fourrage et des grains de maïs Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 n'est pas différente de celle du maïs témoin.

<sup>2</sup> On appelle « traité » le maïs ayant reçu un traitement glyphosate et glufosinate ammonium et « non traité » le maïs ayant reçu un traitement conventionnel.

<sup>3</sup> ILSI International Life Sciences Institutes Crop Composition Database, v.3.0.

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

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

Les modifications génétiques introduites dans le maïs Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 ne sont pas destinées à améliorer les performances du maïs ou de ses produits de transformation. Le maïs Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 est destiné à la même utilisation que le maïs non GM.

Aucune donnée n'est fournie sur la quantification des protéines exprimées par les transgènes dans les produits dérivés.

**(7.7) Utilisation et consommation prévue**

Les maïs Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 ont pour vocation à être utilisés comme les maïs conventionnels sous tous les modes de consommation chez l'Homme et l'animal. L'évaluation de l'exposition alimentaire pour le maïs Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 a été effectuée en utilisant les données d'expression des protéines CRY1Ab, CRY34Ab1, CRY35Ab1, CRY3A, CRY1F, PAT, PMI et mEPSPS obtenues dans l'étude menée aux États-Unis en 2009 (cf. (3) Informations relatives à l'expression des transgènes).

L'exposition aux protéines CRY1Ab, CRY34Ab1, CRY35Ab1, CRY3A, CRY1F, PAT, PMI et mEPSPS, via la consommation de maïs contenant les transgènes empilés a été calculée à partir de données de consommation de l'EFSA (EFSA PRIMO modèle, 2007) et de l'OMS pour l'Europe (GEMS/Food, avril 2008), dans une approche maximalisée considérant que la totalité du maïs consommé était ce maïs transgénique et considérant le niveau de consommation le plus important et la teneur maximale mesurée en µg de protéine /g de matière fraîche dans les grains, les estimations conduisent à une exposition chez l'adulte variant de 0,0004 à 0,35 mg/kg p.c./ jour. Pour un adulte de 60 kg, l'exposition aigüe maximale est obtenue pour la protéine CRY34Ab1 (20,7 mg/jour).

Pour l'enfant, elle varie de 0,001 à 0,89 mg/kg p.c./ jour. L'exposition maximale est obtenue pour la protéine CRY34Ab1. Les marges d'exposition sont toutes très élevées (de 2886 à 6344828). Cependant, ces marges sont basées sur des NOEL<sup>5</sup> calculée à partir des études de toxicité par administration unique.

**(7.8) Toxicologie**

**(7.8.1) Evaluation du potentiel toxique des protéines**

Les données toxicologiques des maïs portant l'événement de transformation simple ont été analysées lors de l'examen des dossiers de demande de mise sur le marché de chacune des lignées de maïs parentales, et parfois des maïs contenant d'autres combinaisons de ces événements.

Ces analyses ont permis de s'assurer de :

- la sécurité des organismes donneurs des gènes, à savoir *Bacillus thuringiensis*, *Streptomyces viridochromogenes* et *Agrobacterium tumefaciens*
- la sécurité des protéines exprimées par les transgènes.

**Evaluation des interactions potentielles des transgènes et des produits d'expression.**

La stabilité des transgènes et du niveau d'expression des transgènes a été vérifiée (partie moléculaire). La présence simultanée de plusieurs transgènes ne semble donc pas avoir de conséquence sur la stabilité du génome et sur l'expression des transgènes.

<sup>5</sup> NOEL Non observed effect level

Sur la base des résultats précédemment décrits (analyse comparée du niveau d'expression et analyse comparée de la composition chimique), il ne semble pas exister d'interaction entre les protéines, produits des transgènes, pouvant avoir un effet sur ces paramètres.

Des recherches d'homologie de séquences avec des protéines connues pour leurs propriétés toxiques répertoriées dans les bases de données ont été actualisées et ont toutes conduit à des résultats négatifs.

La présence simultanée de plusieurs protéines CRY, de la protéine PAT et CP4EPSPS a déjà été évaluée lors des demandes d'autorisation de mise sur le marché des différentes sous-combinaisons, en particulier la sous-combinaison BT11xMIR604xGA21. Par rapport à ces derniers maïs, les maïs Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 comportent en plus les événements 1507 et 59122 qui ont été évalués combinés ou avec d'autres protéines CRY comme dans les maïs 1507x59122xMON810xNK603.

Il est rappelé qu'à l'état naturel, *Bacillus thuringiensis* exprime une grande variété de gènes *cry* avec des multiples combinaisons (Martinez *et al.*, 2005<sup>6</sup>) et que l'usage de biopesticides repose sur des formulations faisant appel à ces mélanges de protéines CRY. Aucun effet néfaste sur la santé en rapport avec l'utilisation de ces produits n'a été rapporté.

Concernant les protéines PAT et CP4EPSPS, leurs mécanismes d'action conférant la tolérance au glufosinate ammonium et au glyphosate sont bien documentés et sont très différents. Ces deux protéines sont présentes simultanément dans de nombreux maïs transgéniques évalués et autorisés en Europe.

#### **(7.8.4) Etude de toxicité subchronique**

Aucune étude de toxicité sub-chronique n'a été réalisée chez le rat avec le maïs contenant les transgènes Bt11, 59122, MIR604, 1507, GA21 empilés.

Toutefois, compte tenu :

- des résultats des évaluations de la toxicité potentielle
- des maïs parentaux Bt11, 59122, MIR604, 1507, GA21 et de maïs comportant certains de ces événements empilés ;
- des résultats des niveaux d'expression dans les grains des protéines d'intérêt qui ne sont pas modifiés chez l'hybride comparés aux niveaux mesurés chez les parents ;
- des résultats d'une étude d'alimentarité réalisée chez le poulet qui permet de conclure à l'absence de différence nutritionnelle entre le maïs hybride et son témoin (voir 7.10) ;

le CES estime qu'il n'est pas nécessaire de disposer d'une telle étude pour l'hybride.

Le CES considère que les résultats des études sur animaux sont suffisants pour évaluer la toxicité potentielle des maïs hybrides Bt11x59122xMIR604x1507xGA21.

#### **(7.9) Allergénicité**

L'allergénicité potentielle des protéines CRY1Ab, CRY34Ab1, CRY35Ab1, CRY3A, CRY1F, PAT, PMI et mEPSPS a déjà été évaluée dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché des événements simples Bt11, 59122, MIR604, 1507 et GA21 ainsi que les événements empilés Bt11xGA21, Bt11xMIR604, MIR604xGA21 et Bt11xMIR604xGA21.

<sup>6</sup> Martínez C, Ibarra JE, Caballero P. (2005) Association analysis between serotype, cry gene content, and toxicity to *Helicoverpa armigera* larvae among *Bacillus thuringiensis* isolates native to Spain J Invertebr Pathol. 90:91-97.

Par ailleurs, les études relatives au risque allergique initialement fournies ont été actualisées, notamment la recherche d'homologie de séquence des protéines d'intérêt avec les protéines répertoriées comme toxines ou allergènes des bases de données actualisées. Les résultats montrent que les protéines CRY1Ab, CRY34Ab1, CRY35Ab1, mCRY3A, CRY1F, PAT et mEPSPS ne présentent aucune similitude avec les protéines allergéniques connues. Une seule identité de séquence de huit acides aminés contigus entre la protéine PMI et un allergène connu a été identifiée. Le risque d'allergie après une exposition à PMI chez les personnes déjà sensibilisées a été évalué sur des sérums. Les résultats n'ont montré aucune réactivité croisée entre l'allergène connu et PMI démontrant que cette homologie de séquence n'est pas biologiquement significative.

En conclusion, les études réalisées n'ont pas mis en évidence de potentiel allergénique pour chacune des protéines nouvellement exprimées.

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

#### **(7.10) *Evaluation nutritionnelle***

Une étude d'alimentarité a été réalisée chez le poulet nourri pendant 50 jours avec trois régimes successifs contenant respectivement 53,8 %, 58,5 % et 63,6 % de maïs à tester. Les maïs testés et incorporés dans les régimes sont les maïs Bt11x59122xMIR604x1507xGA21, les maïs témoins (même hybride non transgénique) et une variété commerciale. L'essai comprenait 540 poulets à raison de 6 cages de 15 oiseaux mâles et 15 oiseaux femelles par traitement.

Les analyses chimiques et la composition des grains de maïs et des rations ont été réalisées. L'analyse des résultats ne montre pas de différence significative entre les différents grains et rations alimentaires. Les mycotoxines (aflatoxine, T2 toxine, zéaralénone, la déoxynivalenol et fumonisines) ont été mesurées et sont inférieures à la limite de détection dans les régimes alimentaires utilisés.

Il n'est pas précisé si le maïs Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 utilisé pour cette étude a été traité avec les herbicides glyphosate et glufosinate ammonium. La concentration des protéines d'intérêt a été mesurée dans les trois régimes.

Les résultats du groupe nourri à base de maïs Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 sont comparés (ANOVA) aux résultats du groupe nourri avec le témoin quasi isogénique et le groupe nourri avec la variété commerciale.

Les paramètres de croissance sont mesurés tout au long de l'expérience, les paramètres de rendements de carcasses sont mesurés à 50 jours pour 12 poulets mâles et 12 poulets femelles par traitement (2 poulets par cage). La mortalité des poulets est faible et conforme à la norme acceptable pour ce type d'essai et non dépendante du type de traitement.

Les résultats montrent quelques différences significatives avec un écart faible entre les groupes.

Sur la base des résultats de cette étude, il peut être conclu qu'il n'existe pas de différence de croissance entre les animaux nourris avec les maïs Bt11x59122xMIR604x1507x GA21 et ceux nourris avec le témoin ou la variété commerciale. Cette conclusion est en accord avec celles obtenues antérieurement à partir des maïs comportant chacun un ou plusieurs des cinq événements génétiques.

Toutefois, il n'est pas indiqué si les maïs utilisés ont été traités par les herbicides d'intérêt (glyphosate et glufosinate ammonium).

## **CONCLUSION DU CES**

Les maïs hybrides Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 contenant les transgènes empilés sont obtenus par croisements conventionnels des lignées de maïs génétiquement modifiées portant les événements Bt11, 59122, MIR604, 1507 et GA21. Par conséquent, ils expriment simultanément huit protéines codées par les 5 inserts correspondant. L'analyse moléculaire a été réalisée et son évaluation permet de conclure sur la stabilité génomique et sur la stabilité d'expression des transgènes.

Les résultats de l'analyse comparée de composition chimique permettent de conclure que les grains et le fourrage n'ont pas une composition différente du témoin et des variétés commerciales présentes dans l'essai.

Une étude d'alimentarité réalisée chez le poulet permet de comparer la valeur nutritionnelle des maïs Bt11x59122 xMIR604x1507xGA21 avec celle de leurs témoins et de conclure qu'elle ne paraît pas différente.

L'évaluation toxicologique a déjà été conduite à partir des maïs comportant chaque événement de transformation simple et certaines sous-combinaisons doubles et triples. Les données ont été complétées et réactualisées. Les interactions entre les différentes protéines d'intérêt au sein du maïs Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 sur la base des éléments apportés semblent peu probables.

Sur la base de l'ensemble des données disponibles, le CES n'a mis en évidence aucun éléments permettant d'établir que la sécurité sanitaire liée à la consommation des maïs Bt11x59122xMIR604x1507xGA21 est moindre que celle de leur témoin. Cette conclusion est transposable à toutes les sous-combinaisons d'événements de ces maïs.

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

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie » et souligne néanmoins que cet avis a été rendu sur la base du dossier initial disponible dans les délais prévus. Sachant qu'à la demande de l'EFSA d'éventuelles études ou données complémentaires pourraient être versées au dossier, cet avis ne préjuge pas des conclusions qui pourraient être rendues ultérieurement sur l'ensemble des éléments du dossier.

**Le directeur général**

Marc Mortureux

#### **MOTS-CLES**

OGM empilé, maïs Bt11, maïs GA21, maïs MIR604, maïs 1507, maïs 59122, résistance aux lépidoptères, résistance aux chrysomèles, tolérance au glufosinate ammonium, tolérance au glyphosate.