

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 20 décembre 2019

## **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 maïs génétiquement modifié DP202216  
développé pour avoir un meilleur rendement en grains et être tolérant au glufosinate-  
ammonium pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation  
humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-NL-2019-159)**

---

*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 7 octobre 2019 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 une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003, du maïs génétiquement modifié DP202216 développé pour avoir un meilleur rendement en grains et être tolérant au glufosinate-ammonium pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-NL-2019-159).

#### **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. C'est dans ce cadre que la DGCCRF a sollicité l'avis de l'Anses.

Le Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013 s'applique pour ce dossier

## 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 les 24 octobre et 3 décembre 2019 sur la base de rapports initiaux rédigés par six rapporteurs. Elle a été conduite en se basant sur les documents guides 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 de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

## 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT

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

### PARTIE I - INFORMATIONS GÉNÉRALES

Le maïs est une culture des zones tempérées à tropicales. En 2017 (FAOStat<sup>1</sup>), les dix premiers pays producteurs étaient les USA, la Chine, le Brésil, l'Argentine, l'Inde, l'Indonésie, le Mexique, l'Ukraine, l'Afrique du Sud et la Roumanie, qui représentaient environ 81 % de la production mondiale. Cette production était de 1 134 746 667 tonnes pour une surface cultivée de 197 185 936 hectares (dont 64 706 588 tonnes pour une surface cultivée de 8 439 542 hectares dans l'Union européenne, FAOStat<sup>1</sup>) et en 2016, 32 % du maïs cultivé était génétiquement modifié (ISAAA<sup>2</sup>, 2017).

Les plantes sont récoltées entières avant la maturité complète des grains pour produire du fourrage ou de l'ensilage destiné à l'alimentation animale, ou bien sous forme de grains mûrs utilisés en alimentation animale ou humaine. Le maïs est également utilisé pour la production de biocarburants, de biogaz ou de bioplastique. Il est pauvre en protéines et la teneur des grains est faible en deux acides aminés essentiels, la lysine et le tryptophane. Le grain de maïs contient des substances antinutritionnelles (acide phytique, DIMBOA<sup>3</sup>, inhibiteurs de trypsine et de chymotrypsine, raffinose).

Le maïs DP202216 a été génétiquement modifié afin d'introduire dans son génome les cassettes d'expression portant les gènes *mo-pat* et *zmm28* codant respectivement une phosphotransférase acétyl (protéine PAT) et un facteur de transcription de la famille des MADS<sup>4</sup>-box protéin de type II (protéine ZMM28). La protéine PAT confère à la plante la tolérance au glufosinate-ammonium *via* sa métabolisation en N-acétyl-glufosinate (NAG), qui n'est pas phytotoxique. La protéine ZMM28 est endogène dans certains tissus chez le maïs et son expression rendue

<sup>1</sup> <http://www.fao.org/faostat/en/#home>

<sup>2</sup> International service for the acquisition of agri-biotech applications

<sup>3</sup> 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one

<sup>4</sup> L'acronyme MADS fait référence aux 4 protéines des 4 différents organismes ayant permis de définir la séquence consensus de ces facteurs de transcription : M pour MCM1 protéine de *Saccharomyces cerevisiae*, A pour AGAMOUS protéine d'*Arabidopsis thaliana*, D pour DEFICIENS protéine d'*Antirrhinum majus* (gueule de loup) et S pour SRF protéine de l'Homme.

constitutive par la transformation conduirait à un meilleur rendement en grains pour le maïs DP202216 selon le pétitionnaire.

Ce dossier correspond à une première demande d'autorisation de mise sur le marché pour l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale du maïs DP202216. Il ne concerne pas sa mise en culture. Si ce maïs venait à être importé, il devrait satisfaire à la réglementation européenne relative aux limites maximales de résidus de produits phytopharmaceutiques.

## **PARTIE II - INFORMATIONS SCIENTIFIQUES**

### **II.1. Identification et caractérisation des dangers**

#### **II.1.1. Informations concernant les plantes réceptrices ou (le cas échéant) parentales**

La transformation génétique a été réalisée sur la variété de *Zea mays* L. non transgénique PH17AW.

#### **II.1.2. Caractérisation moléculaire**

##### **II.1.2.1. Informations concernant la modification génétique**

La transformation génétique a été effectuée à l'aide d'*Agrobacterium tumefaciens* sur des embryons de maïs.

Des embryons immatures de maïs ont été récoltés après pollinisation et co-cultivés avec la souche LBA4404 d'*Agrobacterium tumefaciens*, souche désarmée de son pouvoir pathogène, portant le vecteur PHP40099 qui contient l'ADN-T et à l'extérieur de ce dernier, les gènes de virulence d'*A. tumefaciens* nécessaires au transfert de l'ADN-T dans les cellules végétales. Aucun plasmide assistant (helper) ni ADN entraîneur (carrier) n'a été utilisé pour la transformation.

Après cette co-culture, les embryons ont été transférés sur milieu sélectif contenant de la carbénicilline (élimination des *A. tumefaciens* résiduelles) et du glufosinate-ammonium (sélection des cellules végétales transformées). Les cals transformés ont ensuite été transférés sur milieu germinatif puis dans un milieu permettant l'initiation des racines et des pousses afin d'aboutir à la différenciation de plantules (plantes T0). Enfin, la présence de l'ADN-T dans ces plantules a été recherchée par PCR pour confirmation de la transformation.

Le plasmide PHP40099 utilisé pour la transformation porte les deux cassettes d'expression des gènes *mo-pat* et *zmm28* entre les bordures gauche et droite d'un même ADN-T.

La cassette d'expression du gène *mo-pat* contient une séquence codante d'une phosphinothricine acétyltransférase de *Streptomyces viridochromogenes*. La protéine PAT exprimée confère une tolérance au glufosinate-ammonium. Le gène *mo-pat* dont la séquence codante a été optimisée pour l'expression chez le maïs, est placé sous le contrôle de séquences promotrices du gène de l'ubiquitine 1 de maïs *ubiZM1* et de la région terminatrice de l'inhibiteur de protéinase II de pomme de terre *pinII* (*Solanum tuberosum*).

La cassette d'expression du gène *zmm28* contient :

- une région promotrice issue du gène *gos2* codant un facteur d'initiation de la traduction de maïs permettant une expression constitutive dans le maïs DP202216,
- une région intronique du gène de l'ubiquitine 1 de maïs *ubiZM1*,
- la séquence du gène *zmm28* de maïs codant la protéine ZMM28, facteur de transcription de la famille des MADS-box protéin de type II, y compris les régions non traduites en 5' et en 3',
- et la région terminatrice de l'inhibiteur de protéinase II de pomme de terre *pinII* (*Solanum tuberosum*).

#### II.1.2.2. Informations concernant la plante génétiquement modifiée

Le locus d'insertion et les séquences insérées présentes dans le génome du maïs DP202216 (génération T1) ont été caractérisés par la méthode SBS (Southern by Sequencing), méthode de séquençage de nouvelle génération suivie d'une analyse des séquences de jonction (JSA). L'analyse des résultats obtenus montre une insertion unique de l'ADN-T dans le génome du maïs, sans séquence hors ADN-T.

Les amplifications par PCR suivies du séquençage des régions flanquantes en 5' et en 3' de l'insert (environ 1300 pb de chaque côté) pour le maïs DP202216 et son témoin négatif PH17AW, lignée parentale non transgénique, mettent en évidence une identité de séquence de l'ADN-T en dehors des délétions de 22 pb de la bordure droite et de 12 pb de la bordure gauche au niveau du site d'insertion de l'ADN-T ainsi qu'une délétion de 6 pb du génome de maïs. L'absence de séquences issues du vecteur plasmidique est confirmée.

Les analyses bioinformatiques des cadres ouverts de lecture (ORF) potentiels au niveau des jonctions et de l'ADN-T ne mettent en évidence aucune identité totale, globale ou locale avec des protéines toxiques ou allergéniques connues (2019). Ces analyses bioinformatiques localisent l'insertion de l'ADN-T sur le chromosome 1, sans interruption de gène identifiée.

La teneur en protéine ZMM28 a été quantifiée par western blot et celle en protéine mo-PAT par ELISA dans divers tissus (feuilles, racines, pollen, fourrage, grains et plantes entières) prélevés à différents stades de développement de la plante sur la génération F1 (PH17AW x PHR1J). Les plantes de maïs DP202216 ont été cultivées sur 6 sites aux USA en 2017 avec ou sans traitement avec le glufosinate-ammonium. La protéine ZMM28 est exprimée de façon endogène dans divers tissus chez le maïs non transgénique (feuilles, racines, fourrage). Que la plante soit traitée ou non avec le glufosinate-ammonium, une expression de la protéine ZMM28 est mesurée dans tous les tissus du maïs DP202216 avec une légère surexpression dans les tissus où la protéine est exprimée aussi de façon endogène. La protéine PAT est absente des plantes non transformées et est détectable dans tous les tissus du maïs DP202216 traité ou non avec le glufosinate-ammonium.

Les concentrations moyennes les plus élevées pour la protéine ZMM28 sont mesurées dans des feuilles de plantes au stade d'apparition des soies (0,22 ng de ZMM28/g de matière sèche pour le maïs isogénique, 0,32 ng de ZMM28/g de matière sèche pour le maïs DP202216 non traité au glufosinate-ammonium et 0,38 ng de ZMM28/g de matière sèche pour le maïs DP202216 traité au glufosinate-ammonium). Les concentrations moyennes les plus élevées pour la protéine PAT sont mesurées dans des feuilles de maïs DP202216 au stade pâteux, plante traitée ou non au glufosinate-ammonium. Elles sont respectivement de 87 ng PAT/g de matière sèche et de 88 ng PAT/g de matière sèche.

Les teneurs en protéines ZMM28 et PAT ont été mesurées dans les grains et le fourrage à l'origine des produits consommés en alimentation animale et humaine.

Pour le témoin isogénique, la concentration est de 0,029 ng de ZMM28/g de matière sèche dans le fourrage au stade pâteux et inférieure à la limite basse de quantification (LLOQ) dans les grains au stade mature.

Dans les grains au stade mature du maïs DP202216, non traité avec le glufosinate-ammonium, la concentration moyenne de protéine ZMM28 est de 0,012 ( $\pm$  0,0070) ng/g de matière sèche et la concentration moyenne de protéine PAT est de 15 ( $\pm$  3,2) ng/g de matière sèche. Dans les grains au stade mature du maïs DP202216, traité avec le glufosinate-ammonium, la concentration moyenne de protéine ZMM28 est de 0,012 ( $\pm$  0,0064) ng/g de matière sèche et la concentration moyenne de protéine PAT est de 15 ( $\pm$  2,8) ng/g de matière sèche. Dans le fourrage au stade pâteux du maïs DP202216, non traité avec le glufosinate-ammonium, la concentration moyenne de protéine ZMM28 est de 0,049 ( $\pm$  0,020) ng/g de matière sèche et la concentration moyenne de

protéine PAT est de 32 ( $\pm$  8,1) ng/g de matière sèche. Dans le fourrage au stade pâteux du maïs DP202216, traité avec le glufosinate-ammonium, la concentration moyenne de protéine ZMM28 est de 0,056 ( $\pm$  0,020) ng/g de matière sèche et la concentration moyenne de protéine PAT est de 30 ( $\pm$  5) ng/g de matière sèche. Ces résultats ne mettent pas en évidence un effet du traitement herbicide sur le niveau d'expression des protéines d'intérêt.

L'analyse de ségrégation de l'insert réalisée par PCR sur 5 générations (T2, F1, BC1F1 et BC3F3 et BC3F6) permet de conclure que l'insertion est unique et à hérédité mendélienne. La stabilité génétique du locus GM du maïs DP202216 a été confirmée au sein des générations T1, T2, BC1F1 et BC3F3 et BC3F6, respectivement, par Southern blot.

#### II.1.2.4. Conclusions de la caractérisation moléculaire

Les éléments présentés dans le dossier concernant la caractérisation moléculaire du maïs DP202216 ne soulèvent pas de question particulière liée à l'utilisation de ce maïs en alimentation animale ou humaine.

### II.1.3. Evaluation comparative

#### II.1.3.1. Choix de l'équivalent non transgénique et des comparateurs supplémentaires

Le maïs DP202216 est comparé à un témoin isogénique, l'hybride F1 PO751 (fonds génétique PH17AW x PHR1J). Au total, seize variétés commerciales conventionnelles non transgéniques ont été utilisées comme témoins dans les différents essais réalisés en 2017.

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

Le maïs DP202216, la variété témoin isogénique et les variétés commerciales (4 variétés par site) ont été cultivés en 2017 sur 1 site au Canada et 7 sites aux USA pour l'analyse de composition, et sur 1 site au Canada et 11 sites aux USA pour les caractéristiques phénotypiques et agronomiques. Ces sites sont indiqués comme représentatifs de la production de maïs. Chaque modalité (variété isogénique, variétés commerciales et variété génétiquement modifiée) a été répétée quatre fois sur chaque site selon un plan d'expérience en blocs randomisés. Pour la variété génétiquement modifiée, deux modalités sont réalisées : soit les plantes subissent les mêmes traitements que les variétés témoins, soit elles reçoivent en plus un traitement avec du glufosinate-ammonium. Les caractéristiques de ce plan d'expérience respectent les recommandations du Panel GMO de l'EFSA (2011).

Des échantillons ont été récoltés pour les 12 sites d'essais. Les analyses phénotypiques et agronomiques ont été réalisées sur tous les sites mais les analyses de composition uniquement sur les échantillons de 8 sites. Le pétitionnaire justifie l'exclusion des 4 autres sites par une sélection *a priori*.

Les caractéristiques agronomiques, phénotypiques et de composition sont comparées à l'aide d'analyses de variance (ANOVA) réalisées avec un modèle linéaire à effets mixtes incluant :

- un effet fixe "génotype" (indiquant s'il s'agit du maïs DP202216 traité ou non avec l'herbicide d'intérêt, de la variété témoin 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 maïs DP202216 est comparé à la variété témoin isogénique par des tests de différence et aux variétés commerciales de référence par des tests d'équivalence. L'erreur de type 1 retenue par le pétitionnaire est de 10 % pour les tests de différence et de 5 % pour 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.

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

L'analyse de composition a été réalisée sur les grains et le fourrage. Les composés analysés correspondent à ceux du document consensus de l'OCDE (2002), avec un composé supplémentaire : le tocophérol total. Le GT « Biotechnologie » estime que cette analyse est complète.

#### II.1.3.4. Analyse comparative de la composition

Les mesures de 68 composés sur les 80 analysés sur les grains et le fourrage sont utilisables pour les analyses statistiques. Sur la base de ces résultats, l'analyse combinée de l'ensemble des 8 sites d'expérimentation montre que le maïs DP202216 (grains et fourrage) est équivalent aux variétés commerciales de référence.

#### II.1.3.5. Analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques

Les caractéristiques agronomiques et phénotypiques ont été évaluées sur 13 paramètres dont 11 sont utilisables pour les analyses statistiques.

A l'exception de la tolérance au glufosinate-ammonium, le maïs DP202216 apparaît équivalent aux variétés commerciales sur le plan agronomique et phénotypique, y compris pour le rendement.

#### II.1.3.6. Effets de la transformation

Le pétitionnaire affirme que les produits issus du maïs DP202216 ne devraient pas être différents de ceux issus de maïs conventionnels et il ne présente aucune analyse des produits transformés.

#### II.1.3.7. Conclusions de l'évaluation comparative

Sur la base des éléments présentés dans le dossier, le maïs DP202216 apparaît équivalent aux variétés commerciales de référence pour la composition des grains et du fourrage, ainsi que sur le plan agronomique et phénotypique, y compris pour le rendement. La démonstration du caractère revendiqué par le pétitionnaire d'amélioration du rendement grâce à l'expression constitutive de la protéine ZMM28 n'est donc pas apportée.

### II.1.4. Toxicologie

#### II.1.4.1. Analyse des protéines nouvellement exprimées

La protéine PAT produite dans le maïs DP202216 est identique à celle présente dans les maïs TC1507 et 59122, maïs ayant fait l'objet d'autorisations de mise sur le marché. Le pétitionnaire renvoie aux évaluations réalisées par l'EFSA sur ces maïs et cite la référence Hérouet *et al.* (2005) pour documenter la sécurité de la protéine PAT. La présentation d'un résumé des principaux résultats toxicologiques dans le dossier aurait été souhaitable.

La protéine ZMM28 est une protéine endogène du maïs *Zea mays* ainsi que du maïs doux (*Zea rugosa*). La teneur en protéine ZMM28 dans certaines variétés de maïs doux est similaire à celle présente dans le maïs DP202216 ce qui apporte un historique d'utilisation sûre à cette protéine.

Les protéines ZMM28 et PAT ne présentent pas d'identité de séquences globale ou locale avec des protéines toxiques ou allergiques avérées et répertoriées dans des bases de données actualisées (2019). Elles sont présentes en faible quantité dans les grains du maïs DP202216 qu'il soit traité ou non avec du glufosinate-ammonium. Elles montrent une faible résistance à la protéolyse digestive en conditions simulées *in vitro*.

La protéine PAT est inactivée à partir de 55 °C.

#### II.1.4.2. Analyse des nouveaux constituants autres que les protéines

Le pétitionnaire ne fournit pas d'information sur la présence éventuelle de nouveaux constituants. Le pétitionnaire estime avoir démontré que la composition du maïs DP202216 est équivalente à celle de variétés de maïs conventionnelles et qu'il n'y a donc pas lieu d'analyser d'autres constituants.

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

Aucune analyse n'a été réalisée sur des denrées alimentaires ou des aliments pour animaux dérivés du maïs DP202216.

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

Une étude de toxicité sub-chronique pendant 90 jours chez le rat a été menée en 2018-2019 selon un protocole s'appuyant sur la ligne directrice OCDE 408 (1998) et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL). Les données brutes sous format électronique et le programme de calcul sont fournis.

Six groupes de 16 rats mâles et 16 rats femelles, lignée Sprague-Dawley (CrI :CD) ont été nourris avec des régimes alimentaires contenant :

- 50 % (p/p) de grains moulus de maïs de la variété génétiquement modifiée DP202216,
- 33 % (p/p) de grains moulus de maïs de la variété génétiquement modifiée DP202216 auquel s'ajoute 17 % de maïs de référence 091,
- 50 % (p/p) de grains moulus de maïs de la variété de référence non génétiquement modifiée, variété 091,
- 50 % (p/p) de grains moulus de maïs pour les 3 variétés commerciales non génétiquement modifiées P0760, P0589, and XL5840.

Le maïs DP202216 utilisé dans cette étude a été traité avec l'herbicide d'intérêt, le glufosinate-ammonium. Les analyses réalisées sur les aliments distribués aux différents groupes d'animaux montrent qu'ils sont équivalents sur le plan nutritionnel et en termes de teneurs en contaminants. Les données individuelles de l'étude et les données historiques du centre investigateur sont présentées.

L'étude de toxicité subchronique conduite avec l'aliment complet chez le rat n'a pas permis de mettre en évidence d'effets toxiques imputables au traitement, dans les conditions de l'étude, ni de modifications macroscopiques ou histologiques imputables au traitement. Toutes les données brutes sont fournies mais il serait utile de joindre le rapport initial de l'anatomo-pathologiste.

Le pétitionnaire s'appuie sur l'article de Hong *et al.* (2017) pour justifier le nombre d'animaux par groupe. Le GT « Biotechnologie » considère que cet article n'est pas adapté puisque présentant des tailles d'effets cible qui ne sont pas considérées comme appropriées (par exemple 200 % pour le cholestérol, 100 % pour la phosphatase alcaline ou 50 % pour la créatinine). Pour information, l'US EPA (2002) indique que de manière générale, les tailles d'effets doivent être comprises entre 10 et 25 %.

#### II.1.4.5. Conclusions de l'évaluation toxicologique

Les données de sécurité relatives aux protéines ZMM28 et PAT et les résultats de l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat ne mettent pas en évidence de risque sanitaire lié à la consommation du maïs DP202216.

Une justification biologique des tailles d'effet choisies par le pétitionnaire pour les différents paramètres est nécessaire afin de pouvoir valider le calcul de puissance.

### II.1.5. Allergénicité

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

Le potentiel allergénique des protéines ZMM28 et PAT exprimées dans le maïs transgénique DP202216 a été évalué selon les critères d'évaluation de l'allergénicité recommandés par l'EFSA (2017a), à savoir :

- l'innocuité de la source des protéines exprimées dans la plante génétiquement modifiée (maïs pour ZMM28 et *Streptomyces viridochromogenes* pour PAT),
- l'absence d'homologies de séquences entre les protéines ZMM28 et PAT et des allergènes connus lorsque la recherche est effectuée avec l'algorithme FASTA et des fenêtres glissantes de 80 et 8 résidus,
- la dégradation des protéines exprimées par la pepsine et la trypsine dans des tests de digestions gastrique et intestinale simulées,
- la thermosensibilité des protéines exprimées,
- la faible teneur en protéines ZMM28 et PAT exprimées dans le maïs DP202216.

Les analyses bioinformatiques ne mettent pas en évidence d'identité de séquence entre les protéines ZMM28 et PAT et des toxines ou des protéines adjuvantes confirmées. Par ailleurs, les faibles teneurs de ces protéines dans le maïs DP202216 et leur sensibilité aux protéases digestives sont *a priori* incompatibles avec un éventuel effet adjuvant significatif dans le cadre d'un apport alimentaire modéré en maïs génétiquement modifié.

La recherche de peptides immunotoxiques potentiels (non IgE-mediated adverse immune reactions to foods) ne met pas en évidence d'identité de séquence avec les 31 peptides identifiés expérimentalement comme épitopes restreints capables de s'ancrer dans la corbeille du CMH-II des groupes HLA-DQ2 et HLA-DQ8 et de déclencher une réponse immunotoxique. Toutefois, en introduisant des mis-appariements dans la recherche bioinformatique, deux peptides de la protéine PAT possédant la séquence ELPA homologue de la séquence ELPY de certains peptides DQ2-spécifiques sont identifiés. L'analyse du docking moléculaire de ces deux peptides dans la corbeille des groupes HLA-DQ2 (code PDB 1S9V) et HLA-DQ8 (code PDB 4GG6) effectuée par le GT « Biotechnologie » montre que l'ancrage de ces peptides n'est que partiel et n'est pas susceptible de déclencher une réponse immunotoxique.

Les deux protéines ZMM28 et PAT exprimées dans le maïs DP202216 satisfont globalement aux différents critères d'évaluation de l'allergénicité proposés par l'EFSA et peuvent donc être considérées comme étant peu allergéniques.

#### II.1.5.2. Évaluation de l'allergénicité de la plante génétiquement modifiée entière

Le pétitionnaire rappelle, à juste titre, que le maïs n'est pas considéré comme un aliment allergénique majeur. Il ne figure pas dans la liste des allergènes dont l'étiquetage est obligatoire. Par ailleurs, aucune des informations disponibles au sujet du maïs DP202216 ne laisse supposer que ce maïs puisse développer une allergénicité différente de celle des variétés de maïs conventionnelles.

#### II.1.5.3. Conclusions de l'évaluation de l'allergénicité

Sur la base des données et des commentaires fournis par le pétitionnaire, le potentiel allergénique des protéines ZMM28 et PAT exprimées dans le maïs DP202216 peut être considéré comme très faible. Par ailleurs, ces protéines n'ont apparemment pas de propriétés adjuvantes. Enfin, l'allergénicité du maïs DP202216 reste vraisemblablement identique à celle d'un maïs conventionnel.

### **II.1.6. Evaluation nutritionnelle**

Le pétitionnaire a réalisé une évaluation nutritionnelle des grains du maïs DP202216 traité au glufosinate-ammonium, de son témoin isogénique et de 3 variétés commerciales dans l'alimentation de poulets à croissance rapide.

Le maïs était incorporé à des taux de 62 % dans les aliments de démarrage (0-21 jours) et de 65 % dans les aliments de croissance et de finition (22-42 jours). Des poulets Ross 708 ont été élevés pendant 42 jours en parquet de 10 animaux. Il y avait 6 parquets par sexe et par groupe. L'analyse de composition des différents régimes n'a pas mis en évidence de différence entre les lots. Le niveau des tests statistiques est de 5 % et une procédure de test multiple est utilisée pour contrôler le FDR. Une étude de puissance statistique est fournie et est jugée acceptable. Aucune différence significative n'est relevée entre les groupes DP202216 et de contrôle. L'étude ne met pas en évidence d'effet du traitement alimentaire sur les performances de croissance et la mortalité en élevage des poulets, ni sur leur rendement en carcasse ou en viande après abattage.

Les grains issus des maïs DP202216, isogénique et des variétés commerciales non génétiquement modifiées possèdent des valeurs nutritionnelles équivalentes.

### **II.2 Évaluation de l'exposition - Prédiction de la quantité consommée ou de l'étendue de l'utilisation**

Le pétitionnaire présente des évaluations des expositions alimentaires au maïs DP202216 pour l'animal et l'Homme.

L'estimation de la consommation journalière des protéines PAT et ZMM28 chez l'animal est fondée sur les données de l'OCDE (2013) relatives à la consommation de maïs par les animaux d'élevage, les teneurs moyennes et maximales en protéines de ces aliments et un scénario du pire cas. Dans ces conditions, les apports journaliers les plus élevés sont obtenus chez les poulets de chair pour la consommation de grains et pour les vaches laitières pour la consommation de fourrage. Ces scénarios correspondraient à une ingestion de 0,66 µg/kg p.c./jour de protéine ZMM28 et de 830 µg/kg p.c./jour de protéine PAT pour les poulets de chair et à une ingestion de 1,04 µg/kg p.c./jour de protéine ZMM28 et de 560 µg/kg p.c./jour de protéine PAT pour les vaches laitières.

L'estimation de la consommation maximale des protéines ZMM28 et PAT par l'Homme est fondée sur l'utilisation de l'EFSA European Comprehensive Food Consumption Database<sup>5</sup>. Dans un scénario du pire cas, les moyennes des expositions chroniques alimentaires les plus élevées pour les protéines ZMM28 et PAT seraient respectivement de 55 ng/kg p.c./j et 69 µg/kg p.c./j pour la catégorie « nourrissons » lorsque le calcul est réalisé avec les données de consommation finlandaises pour le maïs DP202216. Pour la consommation de maïs doux et de denrées alimentaires issues de maïs doux non génétiquement modifié, la moyenne de l'exposition chronique alimentaire la plus élevée pour la protéine ZMM28 est entre 9 et 106 ng/kg p.c./j pour la catégorie « nourrissons » toujours avec les données de consommation finlandaises.

### **II.3 Caractérisation des risques**

L'exposition en protéines ZMM28 et PAT des poulets impliqués dans l'étude nutritionnelle (paragraphe II.1.6) pourrait être calculée et comparée aux estimations de la consommation journalière de ces protéines chez les poulets de chair (paragraphe II.2).

Pour l'Homme, le pétitionnaire présente pour la protéine PAT, des calculs de marge de sécurité en se basant sur les données des études de toxicité aiguë chez la souris par administration orale unique et d'une étude de toxicité répétée de 14 jours chez la souris. Le GT « Biotechnologie »

<sup>5</sup> <http://www.efsa.europa.eu/en/datexfoodcdb/datexfooddb.htm>

considère que cette démarche n'est pas adaptée, car elle ne permet pas d'estimer le risque associé à une exposition chronique aux produits issus du maïs DP202216. Il aurait été plus pertinent de calculer une marge de sécurité à partir de la dose sans effet néfaste observé (NOAEL<sup>6</sup>) pouvant être déduite de l'étude de toxicité orale subchronique chez le rat par administration répétée pendant 90 jours.

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

Le pétitionnaire n'a pas proposé de 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 a procédé à une analyse de la littérature sur la période 2016-2019, dont il détaille les modalités et les résultats dans un rapport. Il indique avoir suivi les recommandations de l'EFSA (2017b, 2019) pour procéder à cette revue systématique de la littérature.

La question formulée pour la recherche des articles (« *Does either DP202216 maize and derived food/feed products, or the intended traits (the newly expressed proteins), have adverse effects on human and animal health and the environment in the scope of this application ?* ») a permis de définir des mots-clés et des programmes de recherche pertinents, qui ont été utilisés pour interroger 4 bases de données bibliographiques. Ces bases sont pertinentes et couvrent les domaines scientifiques nécessaires à cette revue systématique. La recherche a également porté sur des avis scientifiques provenant notamment de 4 agences sanitaires<sup>7</sup>. La recherche a été réalisée sur le titre, le résumé et la publication complète.

La recherche d'articles a permis d'identifier 255 publications. Des critères d'éligibilité sont définis. Le pétitionnaire a fait appel à 2 « reviewers » pour conduire cette analyse de façon indépendante. Un test de cohérence d'analyse entre les 2 « reviewers » est présenté. De plus, l'analyse a inclus une étape de vérification avec 2 articles déjà connus traitant du sujet. Le GT « Biotechnologie » regrette toutefois 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. Parmi les 6 publications retenues, 3 sont signées par des auteurs ayant des liens d'intérêt avec le pétitionnaire. Le pétitionnaire conclut que le faible nombre de publications obtenues après l'étape de « scoping review » ne lui permet pas de réaliser une revue systématique.

Cette « scoping review » sur le maïs DP202216 et les protéines ZMM28 et PAT sur la période 2016-2019 n'a pas mis en évidence de risque particulier pour l'utilisation en alimentation humaine et animale du maïs DP202216.

#### **Conclusions du Groupe de travail « Biotechnologie »**

Les éléments présentés dans le dossier relatifs à la caractérisation moléculaire du maïs génétiquement modifié DP202216 ne soulèvent pas de question particulière liée à l'utilisation de ce maïs en alimentation animale ou humaine. Sur la base des éléments fournis par le pétitionnaire, le potentiel allergénique des produits dérivés de ce maïs paraît équivalent à un maïs conventionnel. L'évaluation nutritionnelle des grains de maïs DP202216 révèle une équivalence à celle de grains de maïs non génétiquement modifiés. Les données de sécurité relatives aux protéines ZMM28 et PAT et les résultats de l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat ne mettent pas en évidence de risque sanitaire lié à la consommation de ce maïs. Le

<sup>6</sup> No Observed Adverse Effect Level

<sup>7</sup> FSANZ (Food Standards Australia New Zealand), USDA (United States Department of Agriculture), CFIA (Canadian Food Inspection Agency), MAFF (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan).

GT « Biotechnologie » ne juge pas satisfaisant le calcul de puissance statistique. Il ne peut donc pas se prononcer sur la sécurité sanitaire du maïs DP202216.

Sur la base des éléments présentés dans le dossier, le maïs DP202216 apparaît équivalent aux variétés commerciales de référence pour la composition des grains et du fourrage, ainsi que sur le plan agronomique et phénotypique, y compris pour le rendement. La présence effective dans ce maïs du caractère revendiqué par le pétitionnaire, d'amélioration du rendement grâce à l'expression constitutive de la protéine ZMM28, n'est pas démontrée. Le GT « Biotechnologie » relève cette contradiction entre la revendication et les résultats expérimentaux présents dans le dossier.

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

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) endosse les conclusions du GT « Biotechnologie » et émet un avis réservé sur la demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs DP202216 au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003. Cette réserve est fondée sur l'absence de calcul de puissance adapté pour l'étude de toxicité orale subchronique pendant 90 jours chez le rat.

Sachant que des études ou données complémentaires pourraient être versées au dossier à la demande de l'EFSA, le contenu du présent avis ne préjuge pas des conclusions qui pourraient être rendues ultérieurement par l'Anses au vu d'un dossier complété pour répondre pleinement aux exigences du Règlement européen.

Dr Roger Genet

## MOTS-CLES

OGM, maïs DP202216, tolérance au glufosinate-ammonium, rendement, PAT, ZMM28

GMO, maïs DP202216, tolerance to glufosinate-ammonium, yield potential, PAT, ZMM28

## BIBLIOGRAPHIE

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. 2017a. "Guidance on allergenicity assessment of genetically modified plants". EFSA Journal 15: 1–49.

EFSA, Devos Y, Guajardo IM, Glanville J and Waigmann E. 2017b. "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, Devos Y, Guajardo IM, Álvarez F and Glanville J, 2019. "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 2019:EN-1614. 62 pp.

Hérouet C, Esdaile DJ, Mallyon BA, Debruyne E, Schultz A, Currier T, Hendrickx K, Van der Klis R-J, Rouan D. 2005. "Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the *pat* and *bar* sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. Regulatory toxicology and pharmacology 41, 134-149.

Hong B, Du Y, Mukerji P, Roper JM, Appenzeller LM. 2017. « Safety Assessment of Food and Feed from GM Crops in Europe: Evaluating EFSA's Alternative Framework for the Rat 90-day Feeding Study ». Journal of agricultural and food chemistry 65, 5545-5560.

ISAAA. 2017. "Global status of commercialized biotech/GM crops in 2017 : Biotech crop adoption surges as economic benefits accumulate in 22 years." ISAAA brief N° 53. ISAAA:Ithaca, NY.

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

OCDE. 1998. « Essai n° 408: Toxicité orale à doses répétées - rongeurs: 90 jours », Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE, Paris.

OCDE. 2002. "Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Maize (*Zea Mays*): Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Secondary Plant Metabolites." Series on the Safety of Novel Foods and Feeds No. 6. 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.

US EPA 2002 - Guidelines for Ensuring and Maximizing the Quality, Objectivity, Utility, and Integrity of Information Disseminated by the Environmental Protection Agency