

Le directeur général

## **Extrait de l'AVIS du 7 novembre 2023 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 DAS1131  
développé pour être tolérant au glyphosate et pour être résistant à certains  
lépidoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en  
alimentation humaine et animale de cet OGM  
(dossier n° GMFF-2021-1530)**

---

*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.*

---

Le présent document est un extrait de l'avis du 7 novembre 2023 après suppression des parties confidentielles relevant du secret des affaires.

L'Anses a été saisie le 4 février 2023 par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) 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 DAS1131 développé pour être tolérant au glyphosate et pour être résistant à certains lépidoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° GMFF-2021-1530) ».

## 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 génétiquement modifiés et de rendre un avis à la Commission Européenne. L'EFSA permet cependant aux États membres de faire connaître leurs observations sur les dossiers initiaux. Dans ce cadre, la DGAI a sollicité l'Anses pour participer à cette consultation par l'EFSA dans un délai de 90 jours et pour émettre un avis sur ce dossier initial, vis-à-vis des exigences de la réglementation applicable sur ce dossier.

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 réalisée par le Groupe de Travail (GT) « Biotechnologie », réuni les 15 février, 15 mars et 12 juillet 2023 sur la base de rapports initiaux rédigés par huit rapporteurs et un rapporteur externe. Elle a été conduite en se basant sur les documents guide de l'EFSA et du panel GMO de l'EFSA ainsi que sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts du GT « Biotechnologie ». Les commentaires du GT sur le dossier initial ont été validés en séance du 15 mars 2023 et transmis à la DGAI le 6 avril 2023 (annexe 1) afin de permettre aux autorités françaises de participer à la consultation des États-membres organisée par l'EFSA.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

## 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT

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

### A. Informations générales

Le maïs est une culture des zones tempérées à tropicales. En 2021, les dix premiers pays producteurs étaient les États-Unis, la Chine, le Brésil, l'Argentine, l'Ukraine, l'Inde, le Mexique, l'Indonésie, l'Afrique du Sud et la France, qui représentaient environ 80 % de la production

mondiale (FAOStat<sup>1</sup>). Cette production était de 1 210 235 135 tonnes pour une surface cultivée de 205 870 016 hectares (dont 72 987 920 tonnes pour une surface cultivée de 9 247 050 hectares dans l'Union européenne). En 2019, 31 % du maïs cultivé était génétiquement modifié (ISAAA<sup>2</sup>, 2019).

Les plantes de maïs sont récoltées entières avant la maturité complète des grains pour produire du fourrage ou de l'ensilage destiné à l'alimentation animale, ou bien à maturité pour une utilisation des grains mûrs 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 en deux acides aminés essentiels, la lysine et le tryptophane, est faible. Le grain contient également des substances anti-nutritionnelles (acide phytique, DIMBOA<sup>3</sup>, inhibiteurs de trypsine et de chymotrypsine, raffinose).

Le maïs DAS1131 a été génétiquement modifié afin d'introduire dans son génome les cassettes d'expression portant les gènes *cry1Da2* et *dgt-28 epsps*, codant respectivement :

- une protéine insecticide (protéine Cry1Da2), qui endommage suite à son ingestion l'épithélium intestinal des larves de certains insectes et conduit ainsi à leur mort ;
- une 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate (EPSP) synthase (protéine DGT-28 EPSPS), qui confère à la plante la tolérance au glyphosate, la DGT-28 EPSPS n'étant pas sensible à l'inhibition par le glyphosate, la plante pouvant ainsi continuer à produire des acides aminés aromatiques.

Ce dossier correspond à une première demande d'autorisation de mise sur le marché au titre du règlement (CE) n° 1829/2003, pour l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale du maïs DAS1131. Il ne concerne pas sa mise en culture.

Si le maïs DAS1131 venait à être importé, comme toutes les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine et les aliments destinés à l'alimentation animale dans l'Union européenne (UE), ce maïs et ses produits dérivés seraient, entre autres, soumis à une limite maximale pour les résidus (LMR) de produits phytopharmaceutiques afin de protéger la santé animale et humaine (Règlement (CE) n° 396/2005).

## B. Informations scientifiques

### B.1. Identification et caractérisation des dangers

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

La transformation génétique a été réalisée sur la variété de maïs (*Zea mays*) non transgénique B104.

Concernant les caractéristiques générales de la plante réceptrice, le pétitionnaire indique que des études rapportent que le pollen de maïs se dépose principalement à faibles distances, avec de très faibles taux de dispersion au-delà de 30 à 50 mètres. Le pétitionnaire indique également l'absence d'espèces végétales sauvages endogènes ou indigènes sexuellement compatibles avec le maïs dans l'Union européenne.

<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

Le GT « Biotechnologie » note néanmoins que certaines études ont montré la possibilité de flux de gènes par le pollen à longue distance, en particulier selon la direction des vents dominants et lorsque la surface du champ de maïs d'origine est importante (Lu, 2019). La distance maximale rapportée dans la littérature pour le flux de gènes entre parcelles de maïs est de 4,45 km (Hofmann, 2014). Par ailleurs, le GT rappelle que la téosinte (*Zea mays* ssp *mexicana*) est une espèce végétale adventice, sexuellement compatible avec le maïs, présente en Europe (Espagne, France).

**Le GT « Biotechnologie » considère que le pétitionnaire doit prendre en compte la littérature scientifique disponible concernant les conditions d'occurrence de flux de gènes à longue distance du maïs, ainsi que l'existence de populations de téosintes dans l'Union européenne afin d'analyser la possibilité d'introggression de gènes de maïs dans la téosinte.**

### **B.1.2. Caractérisation moléculaire**

#### B.1.2.1. Informations concernant la modification génétique

La transformation génétique a été effectuée à l'aide d'une méthode médiée par *Agrobacterium tumefaciens*, dans le but d'introduire le plasmide d'intérêt. Des embryons immatures de maïs de la variété B104 ont été co-cultivés avec la souche d'*Agrobacterium tumefaciens*, puis cultivés sur milieu de sélection contenant du glyphosate jusqu'à la production de cals, avant transfert sur milieu de germination.

Le pétitionnaire fournit le nombre d'acides aminés de la protéine insecticide Cry1Da2 exprimée dans le maïs génétiquement modifié DAS1131 et indique que la protéine est chimérique. Le pétitionnaire n'explique pas l'intérêt de développer une protéine chimérique, et ne précise pas le rôle fonctionnel des acides aminés ne dérivant pas de Cry1Da2. Le pétitionnaire nomme cette protéine Cry1Da2, de façon identique à la protéine de laquelle est issue la majorité de la séquence protéique de la protéine chimérique. Le GT « Biotechnologie » constate de plus, grâce à la taille de la protéine Cry1Da2 et à la comparaison de séquences entre cette protéine et la protéine Cry la plus proche, Cry1D, que la protéine Cry1Da2 synthétisée par le maïs DAS1131 correspond uniquement à une protéine Cry1Da2 partielle.

Le GT « Biotechnologie » considère que l'appellation Cry1Da2 utilisée pour la protéine partielle et chimérique présente dans le maïs DAS1131 porte à confusion, et constate par ailleurs que les acides aminés issus de la seconde protéine ne correspondent pas à la séquence protéique de référence indiquée par le pétitionnaire.

**Le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire justifie l'intérêt de la séquence chimérique de la protéine Cry1Da2, et le choix de la synthèse d'une protéine Cry partielle dans le maïs DAS1131. Le GT demande également que le pétitionnaire identifie spécifiquement (nouveau référencement) la protéine insecticide nouvellement exprimée dans le maïs DAS1131, en la distinguant de la protéine Cry1Da2 répertoriée dans les bases de données bioinformatiques. En complément, le GT demande au pétitionnaire de confirmer l'origine des acides aminés ne dérivant pas de Cry1Da2.**

Concernant le gène *dgt-28 epsps* et la protéine codée par ce gène, le pétitionnaire indique que la protéine DGT-28 EPSPS nouvellement exprimée par le maïs DAS1131 est une EPSPS de classe IV et considère que l'historique d'utilisation sûre des autres EPSPS synthétisées par

des plantes génétiquement modifiées peut être pris en compte. Le GT « Biotechnologie » rappelle que la protéine CP4 EPSPS, exprimée par la majorité des plantes transgéniques exprimant une EPSPS, est une EPSPS de classe II, et que la protéine DGT-28 EPSPS n'est exprimée par aucune plante transgénique dont la commercialisation est autorisée en Union européenne.

**À partir de ces éléments, le GT « Biotechnologie » considère que le pétitionnaire ne peut pas utiliser comme argument l'historique d'utilisation sûre des protéines EPSPS d'autres classes pour l'évaluation des risques associés à la protéine DGT-28 EPSPS. Le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire réalise une évaluation spécifique de la sécurité sanitaire de la protéine DGT-28 EPSPS.**

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

Le locus d'insertion et les séquences insérées présentes dans le génome du maïs DAS1131 (génération T1) ont été caractérisés par NGS (Next Generation Sequencing) selon la technologie SbS (Southern-by-sequencing) en utilisant pour témoins le maïs isogénique B104 et le plasmide utilisé pour la transformation génétique. Le pétitionnaire détermine une insertion unique des séquences génétiques attendues et n'identifie pas de séquence en dehors de celles souhaitées.

Le séquençage ciblé des régions flanquantes en 5' et en 3' de l'insert ainsi que de l'insert complet présent dans le maïs DAS1131 et de la région génomique correspondante pour le témoin B104 a été réalisé par la méthode Sanger. Le pétitionnaire indique une identité de séquences avec les séquences attendues provenant du plasmide au niveau des sites d'insertion (à l'exception d'une mutation « A-to-G » en position 1954, au niveau d'un promoteur de l'ubiquitine 1 du maïs), une délétion de 27 paires de bases au niveau de la bordure droite et une délétion de 390 paires de bases au niveau de la bordure gauche. Le pétitionnaire indique également l'absence de séquences en dehors de celles attendues suite aux deux transformations. Les analyses bioinformatiques des cadres ouverts de lecture (ORF) potentiels au niveau des jonctions et de l'insert ne mettent en évidence aucune identité totale, globale ou locale avec des protéines toxiques connues.

Le maïs DAS1131 a été cultivé sur 6 sites (5 aux États-Unis et 1 au Canada) en 2019, avec ou sans traitement au glyphosate. Les teneurs en protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS ont été quantifiées par des tests ELISA dans différentes parties de la plante (racines, tige, feuilles, pollen, fourrage et grains) et à différents stades de développement de l'hybride F1 (fond génétique B104/PH4257). Après ajustement avec les pourcentages d'efficacité d'extraction pour chaque protéine, les teneurs moyennes les plus élevées dans le maïs DAS1131, respectivement non traité ou traité au glyphosate, sont retrouvées dans les feuilles pour les deux protéines nouvellement exprimées : 53 et 52 ng/mg de matière sèche pour la protéine Cry1Da2, 79 et 73 ng/mg de matière sèche pour la protéine DGT-28 EPSPS.

Le tableau 1 présente les teneurs en protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS mesurées dans les grains et le fourrage, les deux produits à l'origine des produits consommés en alimentation humaine et animale.

**Tableau 1** : Teneurs en protéines exogènes ajustées avec les pourcentages d'efficacité d'extraction pour chaque protéine, dans le fourrage et les grains de maïs DAS1131 traité ou non avec du glyphosate (exprimées en ng/mg de matière sèche).

		Protéine exogène	Cry1Da2	DGT-28 EPSPS
Grains	<i>Maïs non traité</i>	Moyenne (gamme)	10 (5,2-14)	26 (15-41)
	<i>Maïs traité</i>	Moyenne (gamme)	12 (5,6-17)	29 (17-50)
Fourrage	<i>Maïs non traité</i>	Moyenne (gamme)	29 (13-37)	35 (19-59)
	<i>Maïs traité</i>	Moyenne (gamme)	27 (16-34)	42 (18-81)

Les niveaux d'expression des protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS dans les grains et dans le fourrage ne sont pas modifiés par le traitement avec du glyphosate.

La stabilité génétique du locus GM du maïs DAS1131 a été confirmée par Southern blot sur cinq générations (T1, T2, T3, T4 et T6). Le pétitionnaire indique que l'insertion est stable. L'analyse de ségrégation de l'insert réalisée par PCR quantitative sur 5 générations (B104/PH1V5T BC1F1, B104/PH184C BC1F1, T2, T4 et T6) permet de conclure que l'insertion est unique et à hérédité mendélienne. La co-ségrégation du génotype avec le phénotype (tolérance au glyphosate) est également vérifiée.

### B.1.2.3. Conclusions de la caractérisation moléculaire

**Le GT « Biotechnologie », de par l'incertitude subsistant sur l'origine des neuf derniers acides aminés de la protéine insecticide nouvellement exprimée et de par l'absence de justification de l'intérêt fonctionnel de la protéine partielle et chimérique Cry1Da2, n'est pas en mesure de se prononcer sur les aspects de sécurité sanitaire liés à la caractérisation moléculaire du maïs DAS1131. Le GT « Biotechnologie » demande par ailleurs qu'une étude spécifique de la protéine DGT-28 EPSPS soit réalisée par le pétitionnaire.**

### B.1.3. Évaluation comparative

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

Le maïs DAS1131 est comparé à l'hybride F1 témoin isogénique. Ces deux maïs ont pour fond génétique B104/PH4257. Leurs semences ont été produites en conditions similaires en 2019 à Porto-Rico. Le pétitionnaire utilise, en plus, seize variétés hybrides commerciales non génétiquement modifiées comme variétés de référence dans les essais.

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

Le maïs DAS1131, l'hybride témoin isogénique et les variétés de référence (quatre variétés par site) ont été cultivés en 2020 sur 12 sites (10 aux États-Unis et 2 au Canada). Ces sites expérimentaux sont indiqués par le pétitionnaire comme représentatifs de la production de maïs aux États-Unis et au Canada. 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 sont traitées avec du glyphosate. Les caractéristiques de ce plan d'expérience respectent les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2011a ; EFSA, 2015).

Des échantillons de grains et de fourrage ont été récoltés sur les 12 sites d'essais. Les analyses phénotypiques et agronomiques ont été réalisées sur tous les sites et les analyses de composition sur les échantillons de 8 sites parmi ces 12 (7 sites aux États-Unis et 1 site au Canada). Le pétitionnaire indique que le choix de ces 8 sites est basé sur une distribution géographique permettant de représenter la diversité des conditions pédoclimatiques et qu'il a eu lieu avant la réalisation des analyses.

Le modèle statistique utilisé, qui inclut un effet fixe "génotype" et un effet aléatoire "variété commerciale" correspond à celui proposé par l'EFSA (EFSA, 2010a). Les interactions génotype/site sont également analysées.

L'ensemble des modèles et méthodes est décrit dans les annexes. Les données brutes sous format électronique et les programmes de calcul sont fournis. Les résultats des tests statistiques sont interprétés selon l'approche décrite par l'EFSA (EFSA, 2010a), 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.

Néanmoins, si le pétitionnaire indique avoir réalisé les analyses statistiques selon les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2010a), les niveaux d'erreur des tests de différence et d'équivalence retenus ne sont pas indiqués explicitement.

**Le GT « Biotechnologie » demande que les niveaux d'erreur des tests de différence et d'équivalence retenus pour l'analyse comparative du maïs DAS1131 soient précisés.**

#### B.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 (OCDE, 2002a).

**Le GT « Biotechnologie » estime que le matériel végétal utilisé (grains et fourrage) et les composés analysés sont conformes au document consensus de l'OCDE (OCDE, 2002a).**

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

Les résultats obtenus pour 71 composés sur les 80 analysés à partir des grains et du 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 les fourrages de maïs DAS1131 traité ou non avec du glyphosate sont équivalents aux fourrages des variétés commerciales de référence. Les grains de maïs DAS1131 traité au glyphosate présentent une observation de catégorie III / type 6<sup>4</sup>, pour la teneur brute en matières grasses.

Le pétitionnaire indique, de plus, avoir analysé la signification biologique des différences ou non-équivalences des différents composés vis-à-vis d'intervalles de tolérance qu'il a établi avec une base de données de composition interne à l'entreprise. Ces données ont été obtenues avec les compositions de maïs de référence non génétiquement modifiés présents dans les différents essais réalisés (essais multi-années et multi-sites). Le pétitionnaire indique que l'établissement de ces intervalles de tolérance est décrit dans le rapport nommé « PHI-R015-Y21 ». Cependant, ce rapport est absent dans le dossier. Le pétitionnaire indique que les teneurs pour lesquelles des « non-équivalences » ou « non-équivalences probables » avec les variétés commerciales de référence sont toutes comprises dans la gamme des mesures réalisées pour les variétés de référence de l'étude et dans les intervalles de tolérance construits à partir de la base de données interne du pétitionnaire. Le GT « Biotechnologie » rappelle par ailleurs qu'une simple inclusion des valeurs observées pour le maïs génétiquement modifié dans la gamme des valeurs des variétés commerciales ne suffit toutefois pas à démontrer une équivalence biologique.

**Le GT « Biotechnologie » demande la fourniture du rapport PHI-R015-Y21 cité dans le cadre de l'analyse comparative de composition.**

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

Pour les 12 sites d'expérimentation, les caractéristiques agronomiques et phénotypiques ont été évaluées sur 11 paramètres dont 8 sont utilisables pour les analyses statistiques.

---

<sup>4</sup> Non équivalence probable avec les variétés de référence et différence avec la variété isogénique.



Le maïs DAS1131 traité ou non traité avec du glyphosate est équivalent aux variétés commerciales de référence pour l'ensemble des paramètres analysés.

#### B.1.3.6. Effets de la transformation

Le pétitionnaire affirme que les produits issus du maïs DAS1131 ne devraient pas être différents de ceux issus de maïs conventionnels et ne présente aucune analyse des produits transformés.

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

**Sur la base des éléments présentés dans le dossier initial, le GT « Biotechnologie » conclut que le maïs DAS1131 apparaît équivalent aux variétés commerciales de référence sur le plan agronomique et phénotypique. Concernant la composition des grains et du fourrage, le GT considère que le rapport « PHI-R015-Y21 » précisant l'établissement des intervalles de tolérance utilisés pour l'analyse de la signification biologique des différences doit être fourni afin de pouvoir conclure.**

### B.1.4. Toxicologie

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

Pour la protéine Cry1Da2, le pétitionnaire présente une étude de toxicité aiguë chez la souris CD1 (6 souris par sexe) par gavage à la dose limite de 5000 mg/kg de poids corporel (p.c.) réalisée en 2020, selon la ligne directrice OCDE 423 (OCDE, 2002b), ainsi qu'une étude de toxicité par gavage pendant 28 jours chez la souris CD1 (10 souris par sexe) menée avec deux doses de 300 et 1000 mg/kg p.c./jour, selon la ligne directrice OCDE 407 (OCDE, 2008) et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).

Les données de l'étude de toxicité par gavage de souris avec la protéine Cry1Da2 pendant 28 jours montrent que les poids moyens de leurs épидидymes et de leurs testicules (poids absolu, poids relatifs par rapport au poids corporel en fin d'étude et poids relatifs par rapport au poids du cerveau) sont statistiquement plus élevés chez les souris ayant reçu la protéine Cry1Da2 à faible dose, et que les poids moyens de leurs épидидymes (poids absolu et poids relatif par rapport au poids total corporel de l'animal en fin d'étude) sont également statistiquement plus élevés chez les souris ayant reçu la protéine Cry1Da2 à forte dose. Le pétitionnaire considère qu'en l'absence d'effet constaté en histologie, en l'absence de relation dose-effet, et du fait que les valeurs observées sont incluses dans les données historiques du centre investigateur, ces observations sont dues à des variations biologiques et non liées à l'ingestion de la protéine Cry1Da2.

**Considérant que l'effet observé sur une glande endocrine peut être dépendant du sexe et intervenir à partir de faibles doses, le GT « Biotechnologie » estime que ces effets peuvent aussi être révélateurs d'un dysfonctionnement hormonal et suivre une courbe non-monotone. Ainsi, le GT demande que ces résultats soient complétés par des dosages hormonaux (hormones thyroïdiennes, testostérone, progestérone) des souris afin d'évaluer une éventuelle atteinte du système endocrinien. Dans ce contexte, le GT recommande que des doses inférieures à 300 mg/kg p.c./jour de la protéine Cry1Da2**

**soient testées dans une nouvelle étude de toxicité par gavage pendant 28 jours chez le rongeur, réalisée selon la ligne directrice OCDE 407.**

Pour la protéine DGT-28 EPSPS, le pétitionnaire présente une étude de toxicité aiguë chez la souris CD1 (5 souris par sexe et par groupe) par gavage à la dose limite de 2000 mg/kg de poids corporel (p.c.) réalisée en 2021, selon la ligne directrice OCDE 423 (OCDE, 2002b). Il considère comme indiqué à la section B.1.2.1, que l'historique d'utilisation de toute protéine EPSPS peut être pris en compte pour documenter la sécurité sanitaire de la protéine DGT-28 EPSPS, et ne fournit donc pas d'étude de toxicité par gavage pendant 28 jours chez le rongeur avec cette protéine.

**Le GT « Biotechnologie » considère que le pétitionnaire ne peut pas utiliser comme argument l'historique d'utilisation sûre des protéines EPSPS d'autres classes dans l'évaluation des risques associés à la protéine DGT-28 EPSPS, et demande que le pétitionnaire réalise et fournisse une étude de toxicité par gavage pendant 28 jours chez le rongeur avec la protéine DGT-28 EPSPS, réalisée selon la ligne directrice OCDE 407.**

Les données de sécurité sur les organismes sources, les recherches bioinformatiques d'homologies de séquences entre les protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS et des séquences d'allergènes et de toxines connus, la dégradabilité de ces protéines par les enzymes digestives, la thermosensibilité de ces protéines et la teneur de ces protéines nouvellement exprimées dans les grains et dans le fourrage ainsi que l'analyse faite par le GT « Biotechnologie » de ces données sont détaillées dans les sections sur l'allergénicité (section 1.5) et sur la caractérisation moléculaire de la plante génétiquement modifiée (section 1.2).

Enfin, le pétitionnaire ne documente pas les interactions potentielles entre les protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS.

**Le GT « Biotechnologie » considère que l'analyse de la sécurité sanitaire liée à la consommation alimentaire des protéines nouvellement exprimées Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS doit être complétée par une analyse de leurs interactions potentielles.**

#### B.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, en dehors des protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS.

#### B.1.4.3. Informations sur les constituants modifiés des denrées alimentaires et des aliments pour animaux

Aucune analyse n'a été réalisée sur des denrées alimentaires ou des aliments pour animaux dérivés du maïs DAS1131.

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

Une étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours chez le rat a été menée en 2021 selon un protocole s'appuyant sur la ligne directrice OCDE 408 (OCDE, 2018) et en conformité

avec les BPL. Les données brutes sous format électronique et le programme de calcul sont fournis.

Six groupes de 16 rats mâles et 16 rats femelles, souche Sprague-Dawley ont été nourris avec des régimes alimentaires contenant :

- 50 % (p/p) de grains moulus de maïs de la variété génétiquement modifiée DAS1131,
- 33 % (p/p) de grains moulus de maïs de la variété génétiquement modifiée DAS1131 auxquels s'ajoutent 17 % de maïs isogénique non génétiquement modifié,
- 50 % (p/p) de grains moulus de maïs isogénique non génétiquement modifié,
- 50 % (p/p) de grains moulus de 3 variétés commerciales non génétiquement modifiées, BK5833, P0843 et P0993.

Le maïs DAS1131 utilisé dans cette étude a été traité avec du glyphosate. 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 sont présentées.

L'étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours conduite avec l'aliment complet chez le rat n'a pas mis en évidence d'effets toxiques ni de modifications macroscopiques ou histologiques imputables au traitement, dans les conditions de l'étude. Néanmoins, pour les tumeurs des glandes mammaires chez les jeunes rats femelles, les données de l'étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours sont comparées à des données historiques issues des études réalisées entre 2008 et 2021 dans le centre investigateur ainsi que dans d'autres centres prestataires du pétitionnaire.

**Le GT « Biotechnologie » considère que les études sources des données historiques pour les tumeurs des glandes mammaires chez le rat doivent être limitées à celles issues du même centre investigateur, au cours des cinq dernières années, conformément à la ligne directrice OCDE 408.**

De plus, le pétitionnaire s'appuie sur l'article de Hong *et al.* (Hong, 2017) pour justifier le nombre d'animaux par groupe, mais applique dans son analyse des données, une correction pour tests multiples (*false discovery rate*, FDR), non prise en compte dans le calcul de puissance.

**Le GT « Biotechnologie » estime que ce type de calcul surestime la puissance de l'étude (van der Voet, 2018) et le considère donc comme non recevable. Le GT considère qu'une analyse des résultats avec et sans correction FDR doit être fournie, ainsi qu'un nouveau calcul de puissance de l'étude de toxicité à dose répétée pendant 90 jours chez le rat, prenant en compte la correction pour tests multiples.**

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

**Le GT « Biotechnologie » considère que l'étude de toxicité de la protéine Cry1Da2 par gavage réitéré pendant 28 jours chez la souris doit être complétée par des dosages hormonaux (hormones thyroïdiennes, testostérone, progestérone) des souris afin d'évaluer l'éventuelle atteinte du système endocrinien, et qu'une analyse des interactions potentielles entre les protéines nouvellement exprimées Cry1Da2 et DGT-**

**28 EPSPS doit être conduite par le pétitionnaire. Le GT « Biotechnologie » considère de plus qu'une étude de toxicité par gavage pendant 28 jours chez le rongeur avec la protéine DGT-28 EPSPS doit être fournie par le pétitionnaire.**

**Le GT « Biotechnologie » n'est par ailleurs pas en mesure de se prononcer sur la sécurité sanitaire liée à la consommation alimentaire du maïs DAS1131 sur la base de l'étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours présentée dans le dossier, en raison du calcul de puissance considéré comme non valide et de la comparaison des données pour les tumeurs des glandes mammaires chez les rats femelles à des données historiques provenant de plusieurs centres investigateurs et sur une période supérieure à cinq ans.**

### **B.1.5. Évaluation de l'allergénicité**

#### B.1.5.1. Évaluation de l'allergénicité des protéines nouvellement exprimées

Le potentiel allergénique des deux protéines nouvellement exprimées dans le maïs DAS1131 a été évalué selon les critères d'évaluation de l'allergénicité recommandés par l'EFSA (EFSA, 2017), à savoir :

- l'innocuité des sources de protéines exprimées dans la plante génétiquement modifiée ;
- l'absence d'homologies de séquences entre ces protéines et des allergènes ou toxines 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 pancréatine dans des tests de digestions gastrique et intestinale simulées ;
- la thermorésistance des protéines exprimées ;
- la faible teneur en protéines nouvellement exprimées dans les grains de la plante génétiquement modifiée.

Les sources des protéines exprimées dans la plante génétiquement modifiée sont *Bacillus thuringiensis* pour Cry1Da2 et *Streptomyces sviveus* pour DGT-28 EPSPS. La bibliographie présentée n'évoque pas de risque particulier pour ces sources.

Les deux protéines nouvellement exprimées Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS ont fait l'objet d'une étude complète spécifique.

La protéine Cry1Da2 utilisée pour les différentes études a été produite dans une souche génétiquement modifiée de *Pseudomonas fluorescens*. La protéine Cry1Da2 est rapidement dégradée en conditions de protéolyse digestive simulée *in vitro*. La stabilité thermique de la protéine Cry1Da2 a été déterminée en recherchant son activité biologique contre des larves de *Spodoptera frugiperda* lorsqu'elle est ajoutée à leur alimentation. Pour cela, la protéine a été soumise à différents traitements thermiques avant incorporation dans l'aliment. L'inactivation de la protéine Cry1Da2 est montrée suite à un chauffage supérieur à 75 °C pendant 30 min.

La protéine DGT-28 EPSPS utilisée pour les différentes études a été produite dans une souche génétiquement modifiée d'*Escherichia coli*. La protéine DGT-28 EPSPS est également

rapidement dégradée en conditions de protéolyse digestive simulée *in vitro*. La stabilité thermique de la protéine DGT-28 EPSPS a été déterminée en examinant son activité enzymatique après chauffage. L'inactivation de la protéine DGT-28 EPSPS est montrée suite à un chauffage supérieur à 50 °C pendant 30 min.

Étant donné les quantités importantes de protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS synthétisées dans les feuilles du maïs génétiquement modifié DAS1131 et les faibles quantités nécessaires pour la réalisation des tests de dégradation *in vitro* et de résistance à la chaleur, **le GT « Biotechnologie » demande que les protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS extraites de la plante génétiquement modifiée soient utilisées pour la réalisation de ces tests, conformément aux recommandations de l'EFSA (EFSA, 2017).**

L'analyse bioinformatique des ORF potentiels au niveau des jonctions et de l'insert dans le maïs DAS1131 permet au pétitionnaire d'identifier 6 ORFs dont les protéines putatives correspondantes présentent un pourcentage d'identités de séquences globales > 35 % avec des allergènes de la base COMPARE (version 2021). Ces identités ont des E-scores souvent très élevés, sont régulièrement dispersées le long des séquences et n'intéressent qu'un nombre très limité d'acides aminés successifs. Le GT « Biotechnologie » estime que ces identités de séquences paraissent fortuites et dépourvues de signification biologique.

La recherche d'identités de séquences entre les protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS et des protéines allergéniques avérées effectuée avec l'algorithme FASTA et une fenêtre glissante de 80 résidus ne conduit pas le pétitionnaire à identifier des identités préoccupantes.

La recherche d'identités de séquences globales effectuée par le GT « Biotechnologie » sur les protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS exprimées dans le maïs génétiquement modifié DAS1131 ne présentent pas d'identités globales avec les allergènes de la banque AllergenOnline (version 2021).

Les analyses bioinformatiques ne mettent pas en évidence d'identité de séquence entre les protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS et des toxines avérées ou des protéines adjuvantes confirmées.

La recherche de peptides immunotoxiques potentiels (« non IgE-mediated adverse immune reactions to foods », maladie cœliaque) ne met pas en évidence d'identité de séquence avec les 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, y compris en tolérant jusqu'à 3 mésappariements.

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

Aucune information disponible ne laisse supposer que le maïs transgénique DAS1131 puisse développer une allergénicité différente de celle des variétés de maïs non génétiquement modifiées.

#### B.1.5.3. Propriété d'adjuvant

Aucune information disponible ne laisse supposer que les deux protéines nouvellement exprimées dans le maïs DAS1131 puissent développer des propriétés adjuvantes.

#### B.1.5.4. Conclusions de l'évaluation de l'allergénicité

**Sur la base des données et argumentaires fournis par le pétitionnaire, le GT « Biotechnologie » conclut que le potentiel allergénique des protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS, nouvellement exprimées dans le maïs DAS1131, peut être considéré comme très faible.**

Les protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS n'ont apparemment ni de propriétés adjuvantes, ni de propriétés immunotoxiques vis-à-vis de malades souffrant de maladie cœliaque. Néanmoins, le GT estime que les protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS extraites du maïs DAS1131 doivent être utilisées pour les tests de digestibilité et de résistance à la chaleur, conformément aux recommandations de l'EFSA (EFSA, 2017), et non celles produites respectivement par une *P. fluorescens* et une *E. coli* recombinantes.

Enfin, d'après les données disponibles, l'allergénicité du maïs DAS1131 est probablement similaire à celle des variétés de maïs non génétiquement modifié.

#### B.1.6. Évaluation nutritionnelle

En 2021, le pétitionnaire a réalisé une évaluation nutritionnelle des grains de maïs DAS1131, de la variété témoin isogénique et de trois variétés de référence non génétiquement modifiées dans l'alimentation de poulets de souche Ross 708. Le maïs DAS1131 utilisé dans cette étude a été traité avec du glyphosate. Les trois variétés de référence sont les mêmes que celles mises en œuvre dans l'étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours chez le rat.

Le maïs a été incorporé à des taux de 55 % dans les aliments de démarrage (0-21 jours), de 60 % dans les aliments de croissance (22-35 jours) et de 65 % dans les aliments de finition (36-42 jours). Les poulets ont été élevés pendant 42 jours en parquet de 10 animaux, avec 6 parquets par sexe et par groupe expérimental.

Le pétitionnaire indique que l'analyse de composition des différents régimes n'a pas mis en évidence de différence entre les lots. Les paramètres de performance de croissance, de mortalité et de rendement en carcasse mesurés sur les poulets nourris avec les grains de maïs DAS1131 ne sont pas différents significativement de ceux qui sont mesurés sur les poulets nourris avec les grains de la variété témoin isogénique ou des variétés de référence.

**Tout comme pour l'étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours chez le rat, le pétitionnaire applique dans son analyse des données une correction pour tests multiples (FDR), sans la prendre en compte dans son calcul de puissance. Le GT « Biotechnologie » estime que ce type de calcul surestime la puissance de l'étude (van der Voet, 2018) et considère donc ce calcul comme non recevable. Le GT considère qu'une analyse des résultats avec et sans correction FDR, ainsi qu'un nouveau calcul de puissance de l'étude nutritionnelle réalisée chez le poulet prenant en compte la correction pour tests multiples, devraient être réalisés.**

## **B.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 DAS1131 pour l'humain et l'animal.

Les concentrations moyennes en protéines nouvellement exprimées dans les grains et dans le fourrage proviennent des données de l'étude au champ conduite en 2020 pour caractériser le maïs DAS1131, après ajustement avec les pourcentages d'efficacité d'extraction pour chaque protéine (cf. B.1.2.2.). Pour les grains, le pétitionnaire indique également avoir calculé des teneurs par masse de matière fraîche, et indique des teneurs respectives en Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS de 10 et 24 µg/g de matière fraîche.

L'estimation de la consommation journalière des protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS par l'animal est fondée sur les données de l'OCDE (OCDE, 2013) relatives à la consommation de maïs par les animaux d'élevage, les teneurs moyennes en protéines du fourrage et des grains de maïs DAS1131 et un scénario du pire cas (tout le maïs consommé est considéré comme étant du maïs DAS1131).

En utilisant les données de l'OCDE (OCDE, 2013) et ce scénario du pire cas, les apports journaliers les plus élevés sont obtenus :

- pour la consommation de grains, chez les poulets de chair pour Cry1Da2 (ingestion de 0,59 mg/kg p.c./jour) et chez les poulets de chair comme chez les poules pondeuses pour DGT-28 EPSPS (ingestion de 1,4 mg/kg p.c./jour) ;
- chez les vaches laitières pour la consommation de fourrage (ingestion de 0,62 mg/kg p.c./jour pour Cry1Da2 et de 0,97 mg/kg p.c./jour pour DGT-28 EPSPS) ;
- pour la consommation de fourrage et de grains, chez les vaches laitières comme chez les poules pondeuses pour Cry1Da2 (ingestion de 0,76 mg/kg p.c./jour) et chez les poules pondeuses pour DGT-28 EPSPS (ingestion de 1,7 mg/kg p.c./jour).

Le pétitionnaire a réalisé en 2022, une étude sur les expositions alimentaires aiguë et chronique de l'humain aux protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS selon les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2019a) et en utilisant les données du fichier Excel pour le maïs mis à disposition sur le site de l'EFSA<sup>5</sup> (accès le 1<sup>er</sup> mars 2022). Le pétitionnaire a exclu la consommation d'huile, d'amidon de maïs et de sirop de maïs de cette estimation en raison de la teneur en protéines négligeable de ces denrées. Des hypothèses conservatrices sont formulées par le pétitionnaire :

- tout le maïs consommé est du maïs DAS1131 ;
- les procédés de transformation des aliments n'impactent pas les concentrations en protéines exogènes Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS qui restent identiques à celles présentes dans les grains ou le pollen de maïs DAS1131.

Le pétitionnaire indique que :

- pour les forts consommateurs, l'exposition alimentaire aiguë estimée la plus élevée aux protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS résulte de la consommation du maïs DAS1131

<sup>5</sup> <https://www.efsa.europa.eu/en/applications/gmo/tools>

en Roumanie pour la classe d'âge « Autres enfants » (3 à 9 ans) avec respectivement, des estimations de consommation de 151,966 et 364,718 µg/kg p.c./jour ;

- pour les moyennes de consommation, l'exposition alimentaire aiguë estimée aux protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS la plus élevée est observée au Danemark pour la classe d'âge « Enfants en bas âge » (12 à 35 mois), avec respectivement des estimations de consommation de 12,303 et 29,526 µg/kg p.c./jour ;
- pour les forts consommateurs, l'exposition alimentaire chronique estimée aux protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS la plus élevée est observée à Chypre pour la classe d'âge « Nourrissons » (0 à 11 mois) avec des estimations de consommation respectivement de 81,656 et 195,974 µg/kg p.c./jour ;
- pour les moyennes de consommation, l'exposition alimentaire chronique estimée aux protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS la plus élevée est observée au Danemark pour la classe d'âge « Enfants en bas âge » (12 à 35 mois), avec des estimations de consommation respectivement de 12,296 et 29,510 µg/kg p.c./jour.

Concernant les compléments à base de pollen, les expositions aiguës les plus élevées aux protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS sont observées en France pour la classe d'âge des « Personnes âgées » (65 ans à 74 ans), avec des estimations respectivement de 33,449 et 18,815 µg/kg p.c./jour. Les expositions chroniques estimées les plus élevées aux protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS ont été enregistrées en France pour la classe d'âge « Personnes âgées » (65 à 74 ans), avec des estimations respectivement de 22,229 et 12,543 µg/kg p.c./jour. Toutes les enquêtes rapportant une consommation chronique de compléments à base de pollen comptaient moins de cinq consommateurs.

**Le GT « Biotechnologie » conclut que l'évaluation relative à l'exposition alimentaire au maïs DAS1131 ne soulève pas de préoccupation particulière quant à son utilisation dans l'alimentation animale ou humaine.**

### **B.3. Caractérisation des risques**

Le pétitionnaire indique qu'il n'identifie pas de risque pour la santé animale ou pour la santé humaine.

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

Le pétitionnaire ne propose pas de plan de surveillance de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifié consécutive à sa mise sur le marché.

### **B.5. Évaluation des risques pour l'environnement (ERA)**

#### **B.5.1. Introduction**

Le pétitionnaire rappelle que la présente demande concerne l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale du maïs DAS1131. La culture de ce maïs en Union Européenne est exclue de cette demande.



### B.5.2. Approche globale de l'ERA

Les résultats de l'évaluation moléculaire, de l'évaluation comparative de la composition et des caractères agronomiques et phénotypiques et l'étude de la germination n'ont pas montré de différence biologique autre que les traits recherchés de résistance aux insectes liés à l'expression de la protéine Cry1Da2 et de tolérance à la substance herbicide glyphosate liés à l'expression de la protéine DGT-28 EPSPS. Les seuls dangers à considérer sont donc ceux liés à l'expression de ces deux protéines.

S'agissant d'un dossier de demande d'importation, l'exposition de l'environnement de l'Union européenne ne peut résulter selon le guide de l'EFSA que d'une dispersion accidentelle des grains importés, d'une exposition aux fèces d'animaux ayant consommé le maïs DAS1131, ou aux produits issus de l'utilisation ou de la transformation de ce maïs.

### B.5.3. Domaines spécifiques de risque

#### B.5.3.1. Persistance et caractère envahissant y compris le « flux de gènes » de plante à plante

Le pétitionnaire indique qu'il n'existe pas d'espèces sauvages indigènes sexuellement compatibles avec le maïs dans l'Union européenne, et qu'aucune hybridation croisée ou introgression n'est donc attendue.

Le GT « Biotechnologie » considère, en accord avec les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2010b), que l'évaluation du risque de flux de gènes vers les seules espèces sauvages indigènes n'est pas suffisante et que les possibilités d'hybridation avec toute espèce apparentée sexuellement compatible doivent également être prises en compte.

**Le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire prenne en compte l'existence de populations de téosintes dans l'Union européenne et la dispersion involontaire des transgènes par croisement avec les téosintes, *Zea mays ssp. mexicana* (EFSA, 2016 ; EFSA, 2022).**

Le glyphosate est une substance herbicide autorisée en agriculture dans l'Union européenne ; elle est fréquemment utilisée en interculture. L'expression du gène DGT-28 EPSPS est donc susceptible de conférer un avantage sélectif à une plante. Le pétitionnaire cite les insectes *Spodoptera frugiperda* et *Diatraea grandiosella* comme espèces cibles de la protéine Cry1Da2. Le potentiel avantage sélectif, en termes de résistance à des insectes cibles et de tolérance au glyphosate, qui pourrait être conféré à des plantes de maïs férales ou à des téosintes adventices suite à un flux de gènes du maïs DAS1131 n'est cependant pas abordé par le pétitionnaire.

**Le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire prenne en compte dans son analyse le risque lié à un potentiel avantage sélectif conféré à des plantes de maïs férales ou à des téosintes adventices suite à un flux de gènes du maïs DAS1131. Cette analyse devra prendre en compte les données de la littérature sur le statut et la distribution géographique des populations d'insectes cibles et les données d'usage des préparations herbicides à base de glyphosate dans l'Union européenne.**

#### B.5.3.2. Transfert de gènes de la plante à des micro-organismes

Concernant le risque de transfert de gènes à des micro-organismes, le pétitionnaire fournit des études bio-informatiques démontrant l'absence d'ADN inséré chez le maïs et homologue à celui de bactéries capable de permettre une recombinaison homologue.

**Le GT « Biotechnologie » estime que le risque de transfert de gènes de la plante vers les micro-organismes est négligeable et non préoccupant.**

#### B.5.3.3. Interactions de la plante génétiquement modifiée avec les organismes cibles

Puisque la culture du maïs DAS1131 est exclue de la demande d'autorisation de mise sur le marché, le pétitionnaire indique qu'une évaluation du développement potentiel de la résistance des organismes cibles à la protéine Cry1Da2 n'est pas nécessaire en raison d'une exposition négligeable escomptée dans l'Union européenne dans le seul cadre d'importation. De plus, le pétitionnaire indique deux espèces de lépidoptères comme organismes cibles mais présente un bioessai sur *Spodoptera frugiperda* seulement, test destiné à identifier la température d'inactivation de la protéine Cry1Da2.

Le GT « Biotechnologie » considère cependant, en accord avec les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2010b), que l'étape de caractérisation des dangers est indépendante de l'étape de caractérisation de l'exposition à ce danger.

**Le GT « Biotechnologie » demande que le mode et le spectre d'action de la protéine insecticide Cry1Da2 partielle exprimée dans le maïs DAS1131 soient analysés afin d'identifier expérimentalement les organismes cibles pour lesquels le maïs DAS1131 pourrait présenter une résistance. En complément, le GT estime que l'intérêt du développement d'une protéine chimérique doit être justifié.**

Le pétitionnaire ne se réfère qu'à une importation dans les régions de l'Union européenne de climat tempéré. Le GT « Biotechnologie » rappelle cependant que l'organisme cible de la protéine insecticide Cry1Da2, *Spodoptera frugiperda* est présent à Mayotte et à La Réunion. Le développement d'une résistance de ces lépidoptères à la protéine Cry1Da2 pourrait théoriquement avoir des conséquences sur les stratégies de lutte contre ces espèces à long terme en Union européenne et dans ses régions ultrapériphériques.

**Le GT « Biotechnologie » demande que le pétitionnaire prenne en compte dans son analyse les régions ultrapériphériques de l'Union européenne et qu'il évalue les conséquences potentielles du développement d'une résistance à la protéine insecticide Cry1Da2, en considérant toutes les espèces cibles et leurs aires de répartition.**

#### B. 5.3.4. Interactions de la plante génétiquement modifiée avec les organismes non-cibles

Le pétitionnaire prend en compte les trois scénarios d'exposition non intentionnelle recommandés par l'EFSA (EFSA, 2010b), à savoir :

- (i) un déversement accidentel de grains viables ;
- (ii) une exposition via les fèces d'animaux nourris avec le maïs DAS1131 ;

(iii) une exposition par le biais de matière organique végétale importée ou dérivée de l'utilisation du maïs DAS1131.

Comme indiqué plus haut, le pétitionnaire ne considère cependant pas la possibilité d'introgression de gènes du maïs DAS1131 dans la téosinte comme source potentielle d'exposition des organismes non-cibles. Enfin, le pétitionnaire indique que les protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS sont présentes en quantité faible dans le grain, mais ne prend pas en compte le fourrage.

**Concernant la caractérisation des dangers pour les organismes non-cibles vis-à-vis du maïs DAS1131, le GT « Biotechnologie » considère que le mode et le spectre d'action de la protéine insecticide Cry1Da2 partielle exprimée dans le maïs DAS1131 doivent être analysés, en prenant en compte le risque associé à un transfert de gènes vers les téosintes dans le cadre du scénario (i), et en prenant en compte le fourrage pour les scénarios (ii) et (iii).**

#### B.5.3.5 Conclusions de l'évaluation des risques pour l'environnement

**En raison notamment de l'absence de prise en compte des téosintes, et de l'absence d'analyse du mode et du spectre d'action de la protéine Cry1Da2 partielle exprimée dans le maïs DAS1131, le GT « Biotechnologie » estime ne pas pouvoir conclure quant aux risques pour l'environnement liés à l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale du maïs DAS1131.**

#### **B.6. Plan de surveillance des effets sur l'environnement consécutive à la mise sur le marché**

Les risques d'effets indésirables potentiels sur la santé humaine et animale ou l'environnement étant négligeables dans le contexte des utilisations prévues du maïs DAS1131, le pétitionnaire estime qu'il n'est pas nécessaire de procéder à une surveillance spécifique.

**Le GT « Biotechnologie » estime que le plan de surveillance générale exposé dans le dossier est conforme aux recommandations de l'EFSA (EFSA, 2011b).**

Le GT « Biotechnologie » rappelle que les procédures visant à limiter les pertes et déversement de grains mentionnés dans le plan de surveillance générale des effets sur l'environnement devront être respectées par l'ensemble des opérateurs manipulant la marchandise. Dans le cas d'évènements de dispersion accidentelle de grains de maïs DAS1131 importés, qui pourraient se produire suite à des pertes pendant le transport, le chargement ou le déchargement de la marchandise viable sur le territoire de l'Union européenne, le GT estime que des mesures de gestion doivent viser à limiter tout risque de formation de repousses de maïs GM dans l'environnement.

Le GT souhaite attirer l'attention sur le risque associé à l'importation de lots de grains et de graines de variétés GM tolérantes à certaines substances herbicides qui pourraient contenir des graines de plantes adventices ayant développé une tolérance à ces substances. En effet, le lien entre la culture de plantes tolérantes aux herbicides et la sélection de mutants spontanés de plantes adventices résistantes ou multi-résistantes à ces herbicides est établi (Beckie, 2014 ; Gage, 2018 ; Gressel, 2017). En Amérique du Nord, certaines espèces sont

multi-résistantes ; on peut citer chez *Amaranthus palmeri* une multi-résistance à cinq herbicides<sup>6</sup>. Dans le contexte agronomique européen actuel où le désherbage est principalement chimique, les tolérances aux herbicides rendent difficile la gestion des plantes adventices. Elles peuvent contribuer à leur caractère dominant ou envahissant et affecter négativement la diversité des flores des milieux agricoles (Storkey, 2018). En effet, si les procédures de gestion susmentionnées lors des importations ne sont pas correctement appliquées, les plantes adventices tolérantes aux herbicides pourraient être introduites accidentellement dans l'Union européenne par les importations de grains et graines (Ikeda, 2020 ; Manicardi, 2023). Au Japon, des populations d'*Amaranthus palmeri* résistantes au glyphosate ont été observées dans trois zones portuaires, en lien avec l'importation de soja transgénique (Shimono, 2020). Cependant, il convient de noter que la probabilité de dissémination accidentelle d'adventices est proportionnelle à leur taux de présence dans le lot des grains et graines de plantes importés.

**Dans ce contexte, le GT « Biotechnologie » considère que le strict respect des procédures visant à limiter les pertes et déversements de grains de maïs DAS1131 permettrait également de rendre le risque de dissémination de plantes adventices négligeable.**

#### **B.7. Informations complémentaires sur l'innocuité de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifiés**

Le pétitionnaire a procédé à une analyse de la littérature sur la période 2012-2022. Il indique avoir suivi les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2019b) pour procéder à cette revue systématique de la littérature. Les quatre bases de données utilisées par le pétitionnaire sont pertinentes et couvrent les domaines scientifiques nécessaires à la revue systématique du maïs DAS1131.

Néanmoins, le pétitionnaire, dans la requête effectuée pour la revue systématique de la littérature scientifique, considère pour la protéine insecticide, seulement la protéine Cry1Da2 et ne prend pas en compte l'autre protéine de laquelle est prétendument issue la protéine chimérique produite par le maïs DAS1131.

**Le GT « Biotechnologie » considère que la requête de la littérature scientifique devrait être complétée en ajoutant l'autre protéine de laquelle est prétendument issue la protéine chimérique, et que la sélection des articles devrait être étendue à toute plante génétiquement modifiée exprimant Cry1Da2 ou l'autre protéine de laquelle est prétendument issue la protéine chimérique.**

### **C. Conclusions du groupe de travail « Biotechnologie »**

**Considérant que :**

- **des informations sur l'origine et l'importance fonctionnelle des acides aminés d'origine chimérique de la protéine Cry1Da2 sont attendues ;**

---

<sup>6</sup> <https://weedscience.org>

- aucune analyse de la toxicité de la protéine DGT-28 EPSPS par gavage réitéré pendant 28 jours chez la souris n'est fournie par le pétitionnaire, alors que la protéine DGT-28 EPSPS n'est exprimée par aucune autre plante transgénique autorisée en Union européenne et n'appartient pas à la même classe que les protéines CP4 EPSPS exprimées dans les autres PGM autorisées en Europe ;
- l'analyse de l'étude de toxicité de la protéine Cry1Da2 par gavage réitéré pendant 28 jours chez la souris doit être complétée par des dosages hormonaux afin d'évaluer une éventuelle atteinte du système endocrinien ;
- l'analyse de l'étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours chez le rat avec un aliment contenant du maïs DAS1131 n'est pas jugée recevable ;
- une protéine Cry1Da2 produite par une *P. fluorescens* recombinante et une protéine DGT-28 EPSPS produite par une *E. coli* recombinante sont utilisées pour les tests de digestibilité et de résistance à la chaleur, alors que les quantités des protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS présentes dans le maïs DAS1131 sont suffisantes pour leurs purification et utilisation dans ces études ;
- l'évaluation des risques environnementaux ne prend pas en compte la téosinte, et n'analyse ni le spectre et le mode d'action de la protéine partielle Cry1Da2 synthétisée dans le maïs DAS1131, ni le potentiel avantage sélectif lié à un transfert du gène de tolérance au glyphosate,

le GT « Biotechnologie » estime ne pas pouvoir se prononcer sur la sécurité sanitaire et environnementale du maïs DAS1131.

Les commentaires émis par le GT « Biotechnologie » lors de la période de consultation des États membres par l'EFSA et relatifs à ces aspects sont disponibles en annexe de cet avis.

#### 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 », qui considère qu'en l'absence de certaines données déterminantes, il ne peut se prononcer sur les risques sanitaires et environnementaux relatifs à l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale du maïs DAS1131.

Dans la mesure où des études ou données complémentaires pourraient être versées au dossier par le pétitionnaire à la demande de l'EFSA, le présent avis ne préjuge pas de conclusions finales qui pourraient être rendues ultérieurement par l'Anses au vu de ces nouvelles données.

## MOTS-CLÉS

OGM, PGM, maïs, DAS1131, résistance, insectes, lépidoptères, tolérance, glyphosate, DGT-28 EPSPS, Cry1Da2

*GMO, GMP, DAS1131, maize, resistance, insects, lepidoptera, glyphosate, tolerance, DGT-28 EPSPS, Cry1Da2.*

## BIBLIOGRAPHIE

Beckie H, Hall LM. 2014. Genetically-modified herbicide-resistant (GMHR) crops a two-edged sword? An Americas perspective on development and effect on weed management. *Crop Protection*, 66, 40.

EFSA (European Food Safety Authority). 2010a. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Scientific opinion on Statistical considerations for the safety evaluation of GMOs. *EFSA Journal*, 8, 1250, 59 pp.

EFSA (European Food Safety Authority). 2010b. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 8, 1879, 111 pp.

EFSA (European Food Safety Authority). 2011a. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO); Guidance document on Selection of Comparators for the Risk Assessment of GM Plants. *EFSA Journal*, 9, 2149, 20pp.

EFSA (European Food Safety Authority). 2011b. EFSA Panel on GMO; Scientific Opinion on guidance on the Post-Market Environmental Monitoring (PMEM) of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 9, 2316, 40 pp.

EFSA (European Food Safety Authority). 2015. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Guidance on the agronomic and phenotypic characterisation of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 13, 4128, 44 pp.

EFSA (European Food Safety Authority). 2016. Relevance of new scientific evidence on the occurrence of teosinte in maize fields in Spain and France for previous environmental risk assessment conclusions and risk management recommendations on the cultivation of maize events MON810, Bt11, 1507 and GA21. *EFSA supporting publication*, 1094, 13pp.

EFSA (European Food Safety Authority). 2017. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) Guidance on allergenicity assessment of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 15, 4862, 49 pp.

EFSA (European Food Safety Authority), 2019a. Gomez Ruiz JA, Bresson J-L, Frenzel T, Paoletti C. Statement on the human dietary exposure assessment to newly expressed proteins in GM foods. *EFSA Journal*, 17, 5802, 18 pp.

EFSA (European Food Safety Authority). 2019b. Devos Y, Guajardo IM, Álvarez F, Glanville J. 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*, 1614, 62pp.

EFSA (European Food Safety Authority). 2022. Devos Y, Aiassa E, Muñoz-Guajardo I, Messéan A, Mullins E. Statement on the update of environmental risk assessment conclusions and risk management recommendations of EFSA (2016) on EU teosinte. *EFSA Journal*, 20, 7228, 40 pp.

Gage KL, Krausz RF, Walters SA. 2019. Emerging challenges for weed management in herbicide-resistant crops. *Agriculture*, 9, 180.

Gressel J, Gassman AJ, Owen DK. 2017. How well will stacked transgenic pest/herbicide resistances delay pests from evolving resistance? *Pest Management Science*, 73, 22.

- Hofmann F, Otto M, Wosniok W. 2014. Maize pollen deposition in relation to distance from the nearest pollen source under common cultivation-results of 10 years of monitoring (2001 to 2010). *Environmental Sciences Europe*, 26, 24.
- 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.
- Ikeda M, Nishi T, Asai M, Muranaka T, Konuma A, Tominaga T, Shimono Y. 2022. The role of weed seed contamination in grain commodities as propagule pressure. *Biological Invasions*, 24, 1707.
- Lu J, Lu J, He L. 2019. Modeling and estimation of pollen-mediated gene flow at the landscape scale. *Ecological Indicators*, 106.
- Manicardi A, Milani A, Scarabel L, Mora G, Recasens J, Llenes JM, Montull JM, Torra J. 2023. First report of glyphosate resistance in an *Amaranthus palmeri* population from Europe. *Weed Research*, 1.
- OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2002a. Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Maize (*Zea Mays*): Key Food and Feed Nutrients, Anti-Nutrients and Secondary Plant Metabolites.
- OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2002b. Essai n° 423: Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE.
- OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2008. Essai n° 407: Toxicité orale à doses répétées - pendant 28 jours sur les rongeurs, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE.
- OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2013. Guidance document on residues in livestock. Series on pesticides No. 73.
- OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2018), 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.
- Shimono A, Kanbe H, Nakamura S, Ueno S, Yamashita J, Asai M. 2020. Initial invasion of glyphosate-resistant *Amaranthus palmeri* around grain-import ports in Japan. *Plants People Planet*, 2, 640.
- Storkey J, Neve P. 2018. What good is weed diversity? *Weed Research*, 58, 239.
- van der Voet H, 2018. Safety assessments and multiplicity adjustment: Comments on a recent paper. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 2194.

## CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2023). Avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n°1829/2003, du maïs génétiquement modifié DAS1131 développé pour être tolérant au glyphosate et pour être résistant à certains lépidoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° GMFF-2021-1530). Maisons-Alfort : Anses, 31 p.



## Commentaires de l'Anses à destination de la DGAI pour transmission à l'EFSA

concernant la 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 DAS1131 développé pour être tolérant au glyphosate et pour être résistant à certains lépidoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM

Dossier n° GMFF-2021-1530

### 1. Identification et caractérisation des dangers

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

Le pétitionnaire mentionne des études qui rapportent que le pollen de maïs se dépose principalement à de faibles distances, et à de très faibles taux de dispersion au-delà de 30 à 50 mètres.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses note néanmoins que certaines études ont montré la possibilité de flux de gènes par pollen à longue distance, en particulier selon la direction des vents dominants et lorsque la surface du champ de maïs d'origine est importante (Lu, 2019). La distance maximale rapportée dans la littérature pour le flux de gènes par pollen entre parcelles de maïs est de 4,45 km (Hofmann, 2014).

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire prenne en compte la littérature scientifique disponible concernant les conditions d'occurrence de flux de gènes par pollen à longue distance du maïs.**

Le pétitionnaire mentionne l'absence d'espèces végétales sauvages endogènes ou indigènes sexuellement compatibles avec le maïs dans l'Union européenne.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses rappelle que la téosinte (*Zea mays* ssp *mexicana*) est une espèce végétale adventice, sexuellement compatible avec le maïs, présente en Europe.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire prenne en compte l'existence de populations de téosintes adventices dans l'Union européenne et analyse la possibilité d'introgression de gènes du maïs DAS1131 dans la téosinte, documentée dans la littérature scientifique.**

#### 1.2. Caractérisation moléculaire

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

Le pétitionnaire fournit le nombre d'acides aminés de la protéine insecticide exprimée dans le maïs génétiquement modifié DAS1131, dont quelques acides aminés sont codés par une séquence dérivée d'une autre protéine. Le pétitionnaire n'explique pas l'intérêt de développer une protéine chimérique, et ne précise pas le rôle fonctionnel des acides aminés dérivés de l'autre protéine. Il nomme cette protéine Cry1Da2.



**Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2021-1530**  
**Saisine n° 2023-SA-0026**

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses constate - grâce à la taille de la protéine Cry1Da2 et la comparaison de séquences entre cette protéine et la protéine Cry la plus proche, Cry1D - que la protéine Cry1Da2 synthétisée par le maïs DAS1131 correspond à une protéine Cry1Da2 partielle. Le GT « Biotechnologie » de l'Anses considère que l'appellation Cry1Da2 utilisée pour cette protéine partielle et chimérique porte à confusion, et constate par ailleurs que les acides aminés issus de la seconde protéine ne correspondent pas à la séquence protéique de référence indiquée par le pétitionnaire

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire justifie l'intérêt de la séquence chimérique de la protéine Cry1Da2, et le choix de la synthèse d'une protéine Cry partielle dans le maïs DAS1131. Le GT demande également que le pétitionnaire identifie spécifiquement (nouveau référencement) la protéine insecticide nouvellement exprimée dans le maïs DAS1131, en la distinguant de la protéine Cry1Da2. En complément, le GT demande au pétitionnaire de confirmer l'origine des acides aminés ne dérivant pas de Cry1Da2.**

Le pétitionnaire indique que la protéine DGT-28 EPSPS nouvellement exprimée par le maïs DAS1131 est une 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthétase (EPSPS) de classe IV, mais considère que l'historique d'utilisation sûre des autres EPSPS synthétisées par des plantes génétiquement modifiées peut être pris en compte.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses rappelle que la protéine CP4 EPSPS, exprimée par la majorité des plantes transgéniques exprimant une EPSPS, est une EPSPS de classe II, et que la protéine DGT-28 EPSPS n'est exprimée par aucune plante transgénique dont la commercialisation est autorisée en Union européenne. Le GT « Biotechnologie » de l'Anses considère de ces faits que le pétitionnaire ne peut pas utiliser comme argument la prise en compte de l'historique d'utilisation sûre des protéines EPSPS d'autres classes pour l'évaluation des risques associés à la protéine DGT-28 EPSPS.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire réalise une évaluation spécifique de la sécurité sanitaire de la protéine DGT-28 EPSPS.**

1.2.2. à 1.2.3.

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

1.2.4. Conclusion de la caractérisation moléculaire

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande de se référer aux sections précédentes concernant la caractérisation moléculaire.**

**1.3. Analyse comparative**

1.3.1. Choix et description des matériels testés y compris l'arbre de sélection de la lignée génétiquement modifiée, conditions de production des graines, tests de germination des graines, information sur les variétés de référence

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

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

Dans le cadre de l'analyse comparative, le pétitionnaire indique avoir réalisé les analyses statistiques selon les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2010). Néanmoins, les niveaux d'erreur des tests de différence et d'équivalence retenus ne sont pas indiqués explicitement.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire précise les niveaux d'erreur des tests de différence et d'équivalence retenus pour l'analyse comparative du maïs DAS1131.**

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2021-1530  
Saisine n° 2023-SA-0026

1.3.3. Sélection du matériel et des composés pour analyse

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

1.3.4. Analyse comparative de la composition

Dans l'analyse comparative de composition, le pétitionnaire indique avoir analysé la signification biologique des différences ou non-équivalences des différents composés vis-à-vis des intervalles de tolérance, établis avec une base de données de composition interne à l'entreprise. Ces données ont été obtenues avec les compositions de maïs de référence non génétiquement modifiés présents dans les différents essais réalisés (essais multi-années et multi-sites). Le pétitionnaire indique que l'établissement de ces intervalles de tolérance est décrit dans le rapport nommé « PHI-R015-Y21 », absent dans le dossier.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire fournisse le rapport PHI-R015-Y21 cité dans le cadre de l'analyse comparative de composition.**

1.3.5. à 1.3.6.

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

1.3.7. Conclusions de l'évaluation comparative

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande de se référer aux conclusions des sections précédentes concernant l'évaluation comparative.**

**1.4. Toxicologie**

1.4.1. Analyse des protéines nouvellement exprimées

Les données de l'étude de toxicité par gavage de souris avec la protéine Cry1Da2 pendant 28 jours montrent que les poids moyens de leurs épидидymes et de leurs testicules (poids absolu, poids relatifs par rapport au poids corporel en fin d'étude et poids relatifs par rapport au poids du cerveau) sont statistiquement plus élevés chez les souris ayant reçu la protéine Cry1Da2 à faible dose, et que les poids moyens de leurs épидидymes (poids absolu et poids relatif par rapport au poids total corporel de l'animal en fin d'étude) sont également statistiquement plus élevés chez les souris ayant reçu la protéine Cry1Da2 à forte dose. Le pétitionnaire considère qu'en l'absence d'effet constaté en histologie, en l'absence de relation dose-effet, et du fait que les valeurs observées sont incluses dans les données historiques du centre d'investigation, ces observations sont liées à des variations biologiques et non liées à l'ingestion de la protéine Cry1Da2.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses considère néanmoins que ces observations peuvent être révélatrices d'un dysfonctionnement hormonal.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire complète les données par des dosages hormonaux (hormones thyroïdiennes, testostérone, progestérone) des souris afin d'évaluer l'atteinte éventuelle du système endocrinien dans cette étude. Le GT « Biotechnologie » de l'Anses recommande que des doses inférieures à 300 mg/kg p.c./jour de la protéine Cry1Da2 soient également testées dans une nouvelle étude de toxicité pendant 28 jours chez le rongeur.**

Le pétitionnaire considère, comme indiqué à la section 1.2.1, que l'historique d'utilisation de toute protéine EPSPS peut être pris en compte pour documenter la sécurité sanitaire de la protéine DGT-28 EPSPS, et ne fournit donc pas d'étude de toxicité pendant 28 jours chez le rongeur avec cette protéine.

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2021-1530  
Saisine n° 2023-SA-0026

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses considère que le pétitionnaire ne peut pas utiliser comme argument l'historique d'utilisation sûre des protéines EPSPS d'autres classes dans l'évaluation des risques associés à la protéine DGT-28 EPSPS.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire réalise et fournisse une étude de toxicité par gavage pendant 28 jours chez le rongeur avec la protéine DGT-28 EPSPS.**

De plus, le pétitionnaire n'apporte aucune indication sur les interactions protéiques potentielles entre Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire complète son analyse de la sécurité des deux protéines nouvellement exprimées par une analyse de leurs interactions potentielles.**

1.4.2. à 1.4.3.

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

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

Pour l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le rat, le pétitionnaire s'appuie sur l'article de Hong *et al.* (Hong, 2017) pour le calcul de puissance réalisé. Cependant, le pétitionnaire applique dans son analyse des données une correction pour tests multiples (*false discovery rate*, FDR), sans la prendre en compte dans son calcul de puissance.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses estime que ce type de calcul conduit à une diminution de la puissance réelle de l'étude (van der Voet, 2018), et le considère donc comme non recevable.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire réalise une analyse des résultats avec et sans correction FDR, ainsi qu'un nouveau calcul de puissance de l'étude de toxicité subchronique chez le rat, prenant en compte la correction pour tests multiples.**

Les données de l'étude de toxicité subchronique, pour les tumeurs des glandes mammaires chez les jeunes rats femelles, sont comparées à des données historiques issues des études réalisées entre 2008 et 2021 dans le centre investigateur ainsi que dans d'autres centres prestataires du pétitionnaire.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire limite les études sources des données historiques pour les tumeurs des glandes mammaires chez le rat, à celles issues du même centre investigateur, au cours des cinq dernières années.**

1.4.5. Conclusion de l'évaluation toxicologique

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande de se référer aux conclusions des sections précédentes concernant l'évaluation toxicologique.**

**1.5. Évaluation de l'allergénicité**

1.5.1. Évaluation de l'allergénicité des protéines nouvellement exprimées

Pour la réalisation des essais de dégradation *in vitro* des protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS par la pepsine et la trypsine ainsi que pour les essais de résistance à la chaleur, le pétitionnaire indique utiliser une protéine Cry1Da2 produite dans une souche recombinante de *P. fluorescens* et une protéine DGT-28 EPSPS produite dans une souche recombinante d'*E. coli*.

**Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2021-1530**  
**Saisine n° 2023-SA-0026**

Etant donné les quantités des protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS synthétisées dans les feuilles de maïs génétiquement modifié DAS1131 et les faibles quantités nécessaires pour la réalisation des tests de dégradation *in vitro* et des tests de résistance à la chaleur, le GT « Biotechnologie » de l'Anses considère que les protéines extraites de la plante auraient pu être utilisées, conformément aux recommandations de l'EFSA (EFSA, 2017).

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire réalise des tests de dégradation *in vitro* des protéines Cry1Da2 et DGT-28 EPSPS extraites du maïs DAS1131 par la pepsine et la trypsine, ainsi que les tests de résistance à la chaleur de ces protéines.**

1.5.2. à 1.5.3.

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

1.5.4. Conclusion de l'évaluation de l'allergénicité

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande de se référer aux conclusions des sections précédentes concernant l'évaluation de l'allergénicité.**

**1.6. Évaluation nutritionnelle**

1.6.1. Évaluation nutritionnelle des denrées alimentaires génétiquement modifiées

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

1.6.2. Évaluation nutritionnelle des aliments pour animaux génétiquement modifiés

Pour l'étude nutritionnelle réalisée chez le poulet, le pétitionnaire applique dans son analyse des données une correction pour tests multiples (FDR), sans la prendre en compte dans son calcul de puissance.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses estime que ce type de calcul conduit à une diminution de la puissance réelle de l'étude (van der Voet, 2018), et le considère donc comme non recevable.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire réalise une analyse des résultats avec et sans correction FDR, ainsi qu'un nouveau calcul de puissance de l'étude nutritionnelle réalisée chez le poulet, prenant en compte la correction pour tests multiples.**

1.6.3. Conclusions de l'évaluation nutritionnelle

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande de se référer à la conclusion de la section précédente concernant l'évaluation nutritionnelle.**

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

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

**3. Caractérisation des risques**

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2021-1530  
Saisine n° 2023-SA-0026

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

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

#### 5. Évaluation des risques pour l'environnement (ERE)

##### 5.1. à 5.2.

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

##### 5.3. Domaines spécifiques de risque

###### 5.3.1. Persistance et caractère envahissant y compris le « flux de gènes » de plante à plante

Le pétitionnaire indique qu'il n'existe pas d'espèces sauvages indigènes sexuellement compatibles avec le maïs dans l'Union européenne, et qu'aucune hybridation croisée ou introgression n'est donc attendue.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses considère, en accord avec les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2010), que l'évaluation du risque de flux de gènes vers les seules espèces sauvages indigènes n'est pas suffisante, et que les possibilités d'hybridation avec toute espèce apparentée sexuellement compatible doivent également être prises en compte.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire prenne en compte l'existence de populations de téosintes adventices dans l'Union européenne et considère la dispersion involontaire des transgènes par croisement avec les téosintes, *Zea mays* ssp. *mexicana* (EFSA, 2016 ; EFSA, 2022).**

Le potentiel avantage sélectif, en termes de résistance à des insectes cibles et de tolérance au glyphosate, qui pourrait être conféré à des plantes de maïs férales ou à des téosintes adventices suite à un flux de gènes du maïs DAS1131 n'est pas abordé par le pétitionnaire.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire prenne en compte dans son analyse le risque lié à un potentiel avantage sélectif conféré à des plantes de maïs férales ou à des téosintes adventices suite à un flux de gènes du maïs DAS1131. Cette analyse devra prendre en compte les données de la littérature sur le statut et la distribution géographique des populations d'insectes cibles et les données d'usage des herbicides à base de glyphosate dans l'Union Européenne.**

###### 5.3.2. Transfert de gènes de plante à micro-organisme

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

###### 5.3.3. Interactions de la plante génétiquement modifiée avec les organismes cibles

Le pétitionnaire considère, puisque la culture du maïs DAS1131 est exclue de la demande d'autorisation de mise sur le marché, qu'une évaluation du développement potentiel de la résistance des organismes cibles à la protéine Cry1Da2 n'est pas nécessaire en raison d'une exposition négligeable escomptée dans l'Union européenne dans le cadre d'importation. De plus, le pétitionnaire indique deux espèces de lépidoptères comme organismes cibles maïs présente un bioessai sur *Spodoptera frugiperda* seulement, destiné à identifier la température d'inactivation de la protéine Cry1Da2.

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2021-1530  
Saisine n° 2023-SA-0026

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses considère néanmoins, en accord avec les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2010), que l'étape de caractérisation des dangers est indépendante de l'étape de caractérisation de l'exposition à ce danger.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le mode et le spectre d'action de la protéine insecticide Cry1Da2 soient analysés afin d'identifier expérimentalement les organismes cibles envers lesquels le maïs DAS1131 pourrait présenter une résistance. En complément, le GT estime que l'intérêt du développement d'une protéine chimérique doit être justifié.**

Le pétitionnaire ne se réfère qu'à une importation dans les régions de l'Union européenne de climat tempéré.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses note que *Spodoptera frugiperda* est un organisme cible présent à Mayotte et à La Réunion. Le développement d'une résistance à la protéine Cry1Da2 chez ce lépidoptère pourrait théoriquement avoir des conséquences sur les stratégies de lutte contre cette espèce à long terme dans les régions ultrapériphériques de l'Union européenne.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire prenne en compte dans son analyse les régions ultrapériphériques de l'Union européenne et qu'il évalue les conséquences potentielles du développement d'une résistance à la protéine insecticide Cry1Da2, en considérant toutes les espèces cibles et leurs aires de répartition.**

#### 5.3.4. Interactions de la plante génétiquement modifiée avec les organismes non-cibles

Le pétitionnaire prend en compte les trois scénarios d'exposition non intentionnelle recommandés par l'EFSA (EFSA, 2010), à savoir (i) un déversement accidentel de grains viables, (ii) une exposition via les fèces d'animaux nourris avec le maïs DAS1131, et (iii) une exposition par le biais de matière organique végétale importée ou dérivée de l'utilisation du maïs DAS1131. Le pétitionnaire ne considère cependant pas la possibilité d'introgression de gènes du maïs DAS1131 dans la téosinte comme source potentielle d'exposition des organismes non-cibles. Enfin, le pétitionnaire indique que la protéine Cry1Da2 est présente en quantité faible dans le grain, et ne prend pas en compte le fourrage.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses rappelle toutefois que les aliments pour animaux issus du maïs DAS1131 sont le grain et le fourrage.

**Concernant la caractérisation des dangers des organismes non-cibles vis-à-vis du maïs DAS1131, le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire décrive et analyse le mode et le spectre d'action de la protéine insecticide Cry1Da2, prenne en compte le risque associé à un transfert de gènes vers les téosintes dans le cadre du scénario (i), et prenne en compte le fourrage pour les scénarios (ii) et (iii).**

#### 5.3.5 à 5.3.8.

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

#### 5.3.8. Evaluation globale du risque et conclusions

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande de se référer aux conclusions des sections précédentes concernant l'évaluation du risque environnemental.**

### 6. Plan de surveillance des effets sur l'environnement

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2021-1530  
Saisine n° 2023-SA-0026

## 7. Informations complémentaires sur l'innocuité de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifiés

### 7.1. Études publiées dans la littérature scientifique

Le pétitionnaire, dans la requête effectuée pour la revue systématique de la littérature scientifique, considère la protéine Cry1Da2, mais ne prend pas en compte l'autre protéine de laquelle est prétendument issue la protéine chimérique produite par le maïs DAS1131.

**Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande que le pétitionnaire ajoute dans la requête de la littérature scientifique l'autre protéine de laquelle est prétendument issue la protéine chimérique produite par le maïs DAS1131, et qu'il ne limite pas la sélection des articles au seul maïs DAS1131.**

### 7.2. Autres informations complémentaires

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

## Références

EFSA (European Food Safety Authority). 2010a. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Scientific opinion on Statistical considerations for the safety evaluation of GMOs. *EFSA Journal*, 8, 1250, 59 pp.

EFSA (European Food Safety Authority). 2010b. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 8, 1879, 111 pp.

EFSA (European Food Safety Authority). 2016. Relevance of new scientific evidence on the occurrence of teosinte in maize fields in Spain and France for previous environmental risk assessment conclusions and risk management recommendations on the cultivation of maize events MON810, Bt11, 1507 and GA21. *EFSA supporting publication*, 1094, 13pp.

EFSA (European Food Safety Authority). 2017. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) Guidance on allergenicity assessment of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 15, 4862, 49 pp.

EFSA (European Food Safety Authority). 2022. Devos Y, Aiassa E, Muñoz-Guajardo I, Messéan A and Mullins E. Statement on the update of environmental risk assessment conclusions and risk management recommendations of EFSA (2016) on EU teosinte. *EFSA Journal*, 20, 7228, 40 pp.

Hofmann F, Otto M, Wosniok W. 2014. Maize pollen deposition in relation to distance from the nearest pollen source under common cultivation-results of 10 years of monitoring (2001 to 2010). *Environmental Sciences Europe*, 26, 24.

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.

Lu J, Lu J, He L. 2019. Modeling and estimation of pollen-mediated gene flow at the landscape scale. *Ecological Indicators*, 106.

van der Voet H. 2018. Safety assessments and multiplicity adjustment: Comments on a recent paper. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 2194.