

Maisons-Alfort, le 7 mars 2003

## AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments  
relatif à un dossier d'autorisation de la mise sur le marché d'un colza  
génétiquement modifié tolérant au Roundup Ready® lignée GT73  
en vue de son importation, de sa transformation et de son utilisation  
en tant qu'aliment pour le bétail, au titre de la directive 2001/18/CE**

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 31 janvier 2003 par la Direction générale de l'alimentation d'une demande d'avis relatif à un dossier d'autorisation de la mise sur le marché d'un colza génétiquement modifié tolérant au Roundup Ready® lignée GT73 en vue de son importation, de sa transformation et de son utilisation en tant qu'aliment pour le bétail, au titre de la directive 2001/18/CE relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement - partie C-article 15. Le dossier a été déposé pour l'évaluation initiale auprès des Autorités compétentes néerlandaises sous la référence [C/NL/98/11].

La demande porte exclusivement sur l'utilisation des tourteaux de la variété de colza GT73 pour l'alimentation animale. Elle exclut l'utilisation de l'huile et des différents dérivés pour l'alimentation humaine. La démarche concerne par ailleurs l'importation des tourteaux déjà préparés et en aucune manière la culture de la variété GT73. La lignée de colza génétiquement modifiée GT73 est dérivée de la variété non transformée Westar.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé "Biotechnologie", réuni le 6 mars 2003, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments émet l'avis suivant.

Il est souligné que, sur le plan de la présentation, le dossier transmis par le pétitionnaire correspond à une présentation chronologique des différents compléments qui ont été demandés depuis 1995, ce qui conduit à une accumulation répétitive d'informations. Un rapport de synthèse aurait, sans aucun doute, rendu sa lecture plus facile.

### **Informations relatives à la modification génétique et à la plante génétiquement modifiée**

Considérant que la construction introduite est constituée de deux gènes en tandem permettant l'expression de deux protéines CP4 EPSPS et GOXv247, la première conférant la tolérance au glyphosate et la deuxième étant impliquée dans la métabolisation du glyphosate, que les deux gènes sont contrôlés par le promoteur 35S du virus CMoVb, et que dans le génome du colza, il y a une seule insertion et cette insertion contient une seule construction ;

Considérant que l'intégrité de la construction introduite, évaluée par cartographie de restriction, a été vérifiée ainsi que la stabilité de la construction dans la plante au cours de 6 générations ;

Considérant qu'on ne retrouve pas de séquence correspondant au plasmide dans le génome du colza GT73 ni celle correspondant au gène de résistance à la streptomycine/spectinomycine ;

Considérant que le transgène a été caractérisé par Southern avec plusieurs sondes indépendantes correspondant à différentes régions du transgène et PCR avec plusieurs couples d'amorces mais qu'il n'est pas fait mention du séquençage du transgène inséré, ni des éléments bordures qui auraient permis de s'assurer d'une part de l'absence de modification génomique au cours de la transgénèse et d'autre part que l'insertion ne s'est pas faite dans une séquence codante ou régulatrice ;

#### **Information relative à la présence des protéines CP4 EPSPS et GOXv247 dans la plante**

Considérant que la protéine GOXv247 (glyphosate oxydoréductase variant 247) diffère de la protéine GOX de 3 acides aminés sur 432, lui conférant une meilleure capacité pour dégrader le glyphosate, qu'elle présente une homologie avec des protéines homologues d'autres organismes vivants dont certains sont utilisés en alimentation humaine ;

Considérant que des analyses ont été réalisées pour identifier les substrats potentiels de la protéine enzymatique GOXv247 et qu'en raison de l'étroite spécificité de substrats de cette protéine, le métabolisme de la plante ne devrait pas être modifié ;

Considérant que, selon les sites et les années, la concentration de la protéine GOXv247 se situe entre 0,071 et 0,161 µg/mg de poids frais dans les feuilles et 0,109 et 0,232 µg/mg de poids frais dans les grains, représentant moins de 0,07 % des protéines totales, que celle de la protéine CP4 EPSPS est de 0,022 et 0,037 µg/mg de poids frais dans les feuilles et 0,012 et 0,051 µg/mg de poids frais dans les grains, représentant moins de 0,02 % des protéines totales ;

#### **Informations relatives à la composition chimique et à la qualité nutritionnelle du grain**

Considérant qu'à partir de plus de 1800 analyses conduites sur des échantillons de graines, d'huile et de tourteaux de colza GT73 produit dans diverses conditions, à différentes périodes et traité ou non par le glyphosate, la composition en protéine, acides aminés, huile totale, acides gras, acide érucique, eau résidu et cendre sont les mêmes pour la lignée colza GT73 et la variété de référence Westar ;

Considérant que la lignée GT73 contient légèrement plus de glucosinolates que la variété de référence Westar, que cette valeur reste cependant à l'intérieur des concentrations observées dans la variété Westar et que la concentration de glucosinolates de la lignée GT73 est inférieure aux limites légalement admises ;

#### **Informations relatives à la dégradation *in vitro* et au potentiel allergénique des protéines CP4 EPSPS et GOXv247**

Considérant que les informations relatives à la dégradation et au potentiel allergénique des protéines CP4 EPSPS et GOXv247 ont été obtenues à partir de protéines synthétisées par *E. coli* ;

Considérant que la protéine CP4 EPSPS est instable à la chaleur (perte d'activité enzymatique après 15 mn à 65 °C) et qu'aucune activité enzymatique n'est détectable à un

pH inférieur à 5 ; que, soumise à des tests de digestion protéolytique *in vitro*, elle est dégradée en moins de 15 secondes (modèle fluide gastrique simulé) et en moins de 10 minutes (modèle fluide intestinal simulé) ;

Considérant que la protéine GOXv247 est instable à la chaleur (perte de 83 % d'activité enzymatique après 15 mn à 60 °C) et que, soumise à des tests de digestion protéolytique *in vitro*, elle perd 96 % de son activité après 1mn dans un modèle fluide gastrique simulé et 90 % après 0,5 mn dans un modèle fluide intestinal simulé ;

Considérant que les deux protéines étant dirigées vers les chloroplastes, elles ne passent donc pas par l'appareil de Golgi et ne sont pas, de ce fait, glycosylées, ce qui diminue la probabilité qu'elles présentent un pouvoir allergène ;

Considérant qu'il convient de noter que ces données (résultats de dégradation *in vitro* des protéines et comparaison de séquences) ne suffisent pas, pour autant, pour conclure de façon certaine à l'absence d'un potentiel toxique et allergénique mais, qu'en l'état actuel des connaissances, une telle certitude ne pourrait être obtenue pour aucune protéine ;

#### **Etude de toxicité et de tolérance alimentaire**

Considérant que les protéines CP4 EPSPS et GOXv247, synthétisées par *E. coli*, ont fait l'objet d'une étude de toxicologie aiguë chez la souris et qu'aucun effet toxique aigu n'a été observé ;

Considérant que deux études de toxicité et tolérance alimentaire de 28 jours chez le rat, nourri avec des graines ou du tourteau de colza génétiquement modifié à raison de 0, 5, 10 et 15 % ajoutés au régime alimentaire des animaux, ont été réalisées, et que la deuxième étude a mis en évidence une hypertrophie hépatique et rénale aux rations de 10 et 15 % du régime ;

Considérant que deux études de 10 semaines chez la truite et une étude de 5 jours chez la caille ont été réalisées avec des graines de colza GT73, soit brutes, soit transformées (tourteaux) et n'ont pas mis en évidence de différences significatives entre les animaux traités et les témoins ;

Considérant qu'une troisième étude de toxicité et tolérance alimentaire de 28 jours a été réalisée chez le rat avec des variétés hybrides susceptibles d'être commercialisées, visant à vérifier si l'hypertrophie hépatique observée dans l'étude précédente était due à la teneur légèrement plus élevée en glucosinolates de la lignée GT73 par rapport aux autres variétés commercialisées ; dans cette étude, les animaux (420 rats) ont été nourris avec des tourteaux de colza issus d'une lignée RU3 obtenue par rétro-croisement de la lignée GT73 avec la variété Alliance, 5 variétés commerciales canadiennes, 3 variétés européennes et la variété de référence Alliance ;

Considérant que les paramètres mesurés : poids corporel, gain de poids cumulé et consommation alimentaire, ne sont pas significativement différents entre les rats nourris avec la variété RU3 et les variétés commerciales et entre les rats nourris avec la variété RU3 et la variété de référence Alliance ;

Considérant que l'analyse statistique ne fait pas apparaître de différences significatives dans les poids absolus et relatifs du foie et des reins des animaux nourris avec les variétés testées : RU3, Alliance et les 8 variétés commerciales,

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estimant que :

- la construction génétique insérée est clairement décrite tout en notant que les transgènes n'ont été caractérisés que par Southern et PCR ;
- les compositions chimique et nutritionnelle des graines et des tourteaux de colza de la lignée GT73 sont dans la fourchette des valeurs enregistrées pour les variétés commerciales tout en notant une concentration un peu plus élevée en glucosinolates que dans la variété de référence Westar ;
- les études de toxicité et de tolérance alimentaire n'ont pas mis en évidence d'effets néfastes liés à la consommation de colza GT73 chez les espèces examinées ;
- les protéines codées par les transgènes ne présentent pas *a priori* de caractère allergénique ;

il n'y a donc, à ce jour, au regard des données disponibles, aucun élément évocateur d'un risque pour la santé lié à l'utilisation de la lignée GT73 en alimentation animale sous réserve de disposer des compléments d'informations concernant la séquence de l'insert réellement intégré dans le colza et l'analyse des séquences génomiques 5' en amont et 3' en aval de l'insert de manière à évaluer si l'insertion ne s'est pas faite dans une séquence codante ou régulatrice.

**Martin HIRSCH**