



AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
DES ALIMENTS

Afssa – Saisine n° 2009-SA-0251

Saisine liée n° 2005-SA-0226

Maisons-Alfort, le 25 janvier 2010

## AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments  
relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché de la betterave  
génétiquement modifiée H7-1, tolérante au glyphosate, pour la culture,  
l'importation et la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation  
humaine et animale de cet OGM, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003.**

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le vendredi 11 septembre 2009 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché de la betterave génétiquement modifiée H7-1, tolérante au glyphosate, pour la culture, l'importation et la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003 (dossier n°EFSA-GMO-DE-2008-63).

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

Après consultation du comité d'experts spécialisé « Biotechnologie », réuni le 10 décembre 2009, l'Afssa émet l'avis suivant :

### (A) Information générale

La betterave à sucre, objet de la demande, porte l'événement de transformation H7-1. Elle est génétiquement modifiée par intégration dans son génome nucléaire d'un gène codant une EPSP synthétase tolérante au glyphosate, donc capable de survivre à des traitements à base de cet herbicide. L'objectif est de simplifier et d'améliorer l'efficacité du désherbage des cultures de betteraves sucrières.

La betterave H7-1 a déjà été évaluée sous le Règlement N°1829/2003 en 2005. La demande était limitée aux produits dérivés de la betterave destinés à l'alimentation humaine et animale. L'Afssa avait évalué le dossier et rendu un avis favorable (2005-SA-0226 ; avis du 5 septembre 2005). L'avis de l'EFSA sur ce même dossier date de décembre 2006 (EFSA Journal 2006, 431, 1-18) et la Commission Européenne a autorisé en octobre 2007 la mise sur le marché (décision de la Commission du 24 octobre 2007, 2007/692/CE) des denrées alimentaires et des ingrédients alimentaires et des aliments pour animaux produits à partir de la betterave sucrière H7-1. Les feuilles et les petits morceaux de racines résultant du traitement des racines, pouvant être mis à fermenter pour produire de l'ensilage destiné à l'alimentation animale ont été retirés de la demande et ne sont donc pas autorisés. Cette autorisation ne permet pas d'importer la betterave pour la transformer en Europe.

La présente demande est une extension de l'autorisation à la culture et à la betterave en tant qu'OGM. L'évaluation du dossier pour la demande d'autorisation de la culture n'est pas dans le champ de compétence de l'Afssa. L'Agence ne se prononce que sur la sécurité des aliments issus de l'OGM.

27-31, avenue  
du Général Leclerc  
94701

Maisons-Alfort cedex  
Tel 01 49 77 13 50  
Fax 01 49 77 26 13  
www.afssa.fr

REPUBLIQUE  
FRANÇAISE

Le présent avis ne concerne que les informations nouvelles par rapport au précédent dossier déposé à l'EFSA en 2003 et celles relatives à l'extension de l'application à la mise sur le marché de la betterave génétiquement modifiée en tant que telle.

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

La betterave H7-1 a été transformée par *Agrobacterium tumefaciens*. L'ADN-T transféré comprend le promoteur de l'ARN 35S d'un caulimovirus, une séquence codant le peptide *ctp2* d'adressage au chloroplaste de l'EPSPS d'*Arabidopsis*, un fragment synthétique codant une séquence identique à celle de l'EPSPS tolérante au glyphosate de la souche CP4 d'*Agrobacterium*, et le signal de terminaison de transcription du gène *rbcS E9* codant la petite sous-unité de la Rubisco de pois (Cf avis 2005-SA-0226).

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

La région transférée est unique dans le génome nucléaire et correspond à l'ADN-T du plasmide comportant la cassette intacte cp4-epsps à l'exception de 4 mutations ponctuelles qui ne modifient pas la séquence peptidique de la protéine CP4EPSPS dans l'évènement H7-1 et d'une délétion de 42 pb dans la région 5' de l'insert (entraînant la perte de la bordure droite) (Cf avis 2005-SA-0226).

L'analyse bio-informatique des séquences à la jonction entre l'insertion et le génome de la plante date de 2003. Cette analyse a pour objectif de vérifier si des ORF putatifs sont créés par l'insertion et si la traduction de ces ORF conduit à des peptides ayant une homologie de séquence avec les peptides et protéines connus pour présenter des effets toxiques, immunologiques ou allergéniques ou avoir une activité pharmacologique.

Dans le présent dossier, l'analyse des séquences au niveau du site d'insertion manque de clarté. L'analyse permettant de définir la séquence génomique au site d'insertion apparaît inexistante. Compte tenu de l'enrichissement des bases de données en séquences de génome complet de plantes au cours de ces dernières années, une nouvelle analyse bio-informatique doit être réalisée par le pétitionnaire.

A noter que les experts du CES ont mis en évidence des homologies avec des séquences connues.

**(3) Informations relatives à l'expression des produits de gène**

Le dosage quantitatif de la protéine CP4 EPSPS dans les feuilles et les parties souterraines a été réalisées sur deux études indépendantes soit des betteraves H7-1 cultivées en 1998 (10 sites) et 1999 (6 sites) en Europe. Les deux mesures dans les feuilles sont similaires dans les deux études (0,172 et 0.161 µg/g de poids frais). Toutefois, elles sont différentes (teneur 5 fois plus élevée en 1999 versus 1998) dans les racines (0.053 et 0.181 µg/g de poids frais). Selon le pétitionnaire, l'utilisation de méthodes de dosage différentes est à l'origine de cette variabilité des résultats.

Le niveau d'expression de la protéine CP4EPSPS dans les tissus de la betterave H7-1 devrait être mesuré sur d'autres échantillons produits dans les mêmes conditions en utilisant la même méthode de dosage.

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

L'insertion est stable après plusieurs générations et transmise intégralement dans les descendants (Cf. avis 2005-SA-0226).

Le phénotype de résistance au glyphosate est transmis à la descendance comme un caractère mendélien dominant (Cf. avis 2005-SA-0226).

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

(7.1-3) Plusieurs analyses de composition sont présentées dans le présent dossier :

- La composition de feuilles (y compris le collet) et de racines de betterave H7-1 a été comparée à celle de betterave quasi-isogénique non génétiquement modifiée, et à celle de 12 variétés commerciales. Dans cette étude les betteraves ont été cultivées sur 11 sites en 1998 et 5 sites en 1999 en Europe; 55 composants ont été analysés.

- Une comparaison de la teneur en 4 métabolites secondaires (acides férulique, p-coumarique, oxalique et malonique) a été réalisée à partir de betteraves cultivées au champ aux USA en 2003 (5 sites).

Ces deux études ont été présentées dans le dossier de 2003 et avaient permis de considérer que la betterave H7-1 présentait une composition équivalente à la betterave non génétiquement modifiée.

Des données d'analyse de composition comparative ont été apportées dans le présent dossier et complètent ces précédents résultats. Il s'agit :

- D'une étude réalisée à partir des échantillons cultivés en 2003 aux USA (5 sites) qui compare la composition dans les racines de 4 paramètres proximaux (cendres, lipides, protéines et fibres), de 18 acides aminés, de 2 minéraux et du saccharose. Après analyse statistique, les résultats ne montrent pas de différence entre les échantillons issus des betteraves H7-1 et ceux issus des betteraves quasi isogéniques.
- Les paramètres de qualité des racines de betteraves H7-1 ont été comparés à ceux de racines de betteraves quasi isogéniques et de différentes variétés commerciales. Les betteraves ont été cultivées en 1998 et 1999 sur 8 sites différents en Allemagne, en France et en Belgique. Ces analyses comprennent les teneurs en sucre, en sodium, en potassium et en azote aminé. Les résultats de cette analyse ne font pas apparaître de différence statistiquement significative entre la betterave génétiquement modifiée et son témoin excepté pour la teneur en azote aminé qui est plus élevée dans les betteraves H7-1 mais reste très inférieure à la valeur maximale des références de la littérature.

(7.4) **Caractéristiques agronomiques**

Cf avis 2006-SA-0226

(7.6) **Effets du procédé**

Le dossier déposé en 2003 concernait une demande d'autorisation de mise sur le marché des produits dérivés des racines de la betterave H7-1 soit le sucre, la mélasse et les pulpes. Pour ces dérivés il avait été établi les conclusions suivantes : (cf avis 2006-SA-0226)

- Le sucre contient moins de 1% de matière azotée. La quantité de la protéine CP4 EPSPS dans le sucre est non détectable et les traitements thermiques et le pH mis en œuvre dans le procédé de fabrication du sucre entraînent une inactivation de la CP4 EPSPS ;
- Les mélasses, qui suivent le même procédé de traitement (température et pH) que le sucre, présentent moins de 0,002 ppm de protéine CP4EPSPS.
- Dans les pulpes humides, ADN et protéine CP4 EPSPS sont détectables mais en revanche dans les pulpes séchées (>100°C), seule la protéine CP4 EPSP reste détectable.

(7.7) **Utilisation et consommation prévue**

99% de la betterave sucrière est cultivée pour la production de sucre raffiné destiné principalement à l'alimentation humaine. Les sous-produits sont la pulpe et la mélasse.

(7.8) **Toxicologie**

**Sécurité de la protéine CP4 EPSPS**

L'évaluation de la sécurité de la protéine CP4 EPSPS est basée sur les données suivantes :

1. La protéine CP4 EPSPS présente une forte homologie de séquence avec les protéines de la même famille qui sont très répandues dans de nombreux organismes vivants (végétaux & micro-organismes) ;
2. Des analyses *in silico* réalisée en 2003 et actualisée en 2009 indiquent que la protéine CP4 EPSPS ne présente aucune homologie de séquence avec des

protéines toxiques connues répertoriées dans les banques de données actualisées ;

3. La protéine CP4 EPSPS est très rapidement dégradée *in vitro* dans des milieux mimant les fluides gastriques et intestinaux ;
4. La protéine CP4 EPSPS, clonée et extraite d'une souche d'E. coli\*, n'induit pas de mortalité chez la souris à la dose maximale de 572 mg / kg administrée par voie orale.

\*Le pétitionnaire fait état d'études comparatives de la protéine CP4 EPSPS extraite de la betterave H7-1 et extraite d'E. Coli (masse moléculaire en Western blot et MALDI TOF, identité de séquence N terminale et peptides internes, non glycosylation, activité enzymatique). Les résultats bruts des expériences ne sont pas fournis.

#### **Étude de toxicité sub-chronique chez l'animal de laboratoire**

Une étude de toxicité sub-chronique a été réalisée durant 90 jours sur des rats (20 rats de chaque sexe/traitement) en vue d'étudier les effets sur l'animal de la consommation de pulpe de betterave H7-1 (taux d'incorporation : 2 % et 5 %) comparés à ceux d'une consommation de pulpe de betterave quasi isogénique à 5%. Les résultats sont par ailleurs comparés à ceux issus d'une étude conduite selon le même protocole avec quatre groupes de rats ayant consommé un régime contenant des pulpes de betteraves de quatre variétés conventionnelles, chacune incorporée à 5 % dans la ration alimentaire.

Parmi les paramètres observés, des différences significatives sont révélées pour les leucocytes, lymphocytes et neutrophiles dans les groupes de rats mâles alimentés avec 2 % ou 5 % de pulpe H7-1 par rapport au groupe témoin de rats mâles. De même, une différence sur la masse de la rate, exprimée en valeur absolue ou relativement au poids corporel, est observée dans le groupe des rats mâles alimentés avec 5 % de pulpe H7-1 par rapport au groupe témoin des rats.

Toutefois, ces différences se situent dans les fourchettes des valeurs observées pour l'étude réalisée avec les variétés conventionnelles de référence et des valeurs des données historiques du laboratoire pour cette souche de rat. Elles n'ont donc pas de signification toxicologique, cette conclusion étant soutenue par le fait qu'aucune autre observation au niveau hématologique et histologique ne vient corréliser ces résultats

Cette étude permet de conclure que l'administration de pulpe de betterave H7-1 à la dose maximale de 5 % ne modifie aucun des paramètres mesurés au cours de l'étude, et que par conséquent la fraction testée n'induit pas d'effet toxique chez l'animal.

Bien que réalisée à partir de pulpe de betterave, cette étude est considérée comme suffisante pour évaluer la sécurité de la betterave en tant que telle, ce produit étant riche en protéine CP4-EPSPS.

#### (7.9) **Allergénicité**

Considérant les éléments suivants :

- ✓ *Arabidopsis* est l'organisme donneur du gène CP4epsps, il n'est pas connu pour être à l'origine d'allergie ;
- ✓ la comparaison de la séquence en acides aminés de la protéine CP4 EPSPS (recherche à la fois sur les homologies de séquence de plus de 80 acides aminés et sur 8 acides aminés contigus) avec celles de protéines connues pour être allergènes et répertoriées dans les bases de données ne permet pas d'identifier de telles identités, des analyses récentes ont été conduites en 2009 sur des bases de données actualisées.
- ✓ l'hydrolyse rapide *in vitro* de la protéine CP4 EPSPS en milieux gastriques et intestinaux,

l'existence d'un potentiel allergénique de la betterave H7-1 génétiquement modifiée ne peut être suspectée. Les données concernant l'état de glycosylation de la protéine CP4 EPSPS dans la betterave font l'objet d'un commentaire dans le dossier technique sans que les résultats bruts soient fournis.

Il convient toutefois de noter que ces données ne suffisent pas, pour autant, à 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.

(7.10) ***Évaluation nutritionnelle de l'hybride***

Un essai de digestibilité de la betterave H7-1 réalisé sur des moutons avait été présenté dans le dossier de 2003 et avait permis de conclure que tous les nutriments de la betterave H7-1 avaient une digestibilité comparable à celle des variétés conventionnelles de référence sauf pour les lipides dont la teneur s'est révélée plus élevée dans la betterave H7-1 sans que cette différence ait eu un effet sur la digestibilité globale de l'aliment (avis 2006-SA-0226).

Il aurait été préférable d'inclure le témoin quasi isogénique dans cette étude.

**Conclusion de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments**

Lors de l'examen du précédent dossier relatif à une demande de mise sur le marché des produits dérivés de la betterave pour l'alimentation humaine et animale, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments avait estimé que la consommation par l'homme et l'animal des produits dérivés de la betterave H7-1, notamment de sucre, ne présentait pas de risques nutritionnels.

Le présent dossier correspond à une demande d'autorisation à la culture et à une extension des applications dans le domaine industriel et alimentaire.

Au vu des exigences actuelles pour ce type de demande, ce dossier aurait du être complété notamment par :

- par une analyse complète et réactualisée du site d'insertion et des régions bordant l'insertion.
- par une nouvelle étude visant à déterminer la teneur en protéines CP4 EPSPS dans les tissus de la betterave.

Par conséquent en l'absence de ces compléments, l'Afssa ne peut se prononcer sur la sécurité sanitaire de la betterave sucrière H7-1 en tant que telle ou sur d'autres produits (feuilles, racines) que ceux issus de la transformation.

**Mots clés : betteraves H7-1, tolérance au glyphosate.**

Le directeur général

**Marc MORTUREUX**