

Groupe de travail « Biotechnologie »

Procès-verbal de la réunion du 12 juillet 2018

Considérant le décret n° 2012-745 du 9 mai 2012 relatif à la déclaration publique d'intérêts et à la transparence en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, ce procès-verbal retranscrit de manière synthétique les débats d'un collectif d'experts qui conduisent à l'adoption de conclusions. Ces conclusions fondent un avis de l'Anses sur une question de santé publique et de sécurité sanitaire, préalablement à une décision administrative.

Les avis de l'Anses sont publiés sur son site internet (www.anses.fr).

Etaient présents :

- Membres du groupe de travail pérenne
Mmes BAEZA, CLAUW, GADONNA-WIDEHEM (matin), HYMERY, SEGURENS, VERNIS
MM. ALLEMAN, GAUTIER, GUILLEMAIN, HAERTLE, KLONJKOWSKI, LESSIRE,
MAXIMILIEN, ROUGE, SERVIEN
- Expert rapporteur
M. NESSLANY
- Coordination scientifique de l'Anses

Etaient excusés, parmi les membres du collectif d'experts :

Mme GADONNA-WIDEHEM (après-midi)
MM. CACHON, DIETRICH, GUILLOU, JACQUES, LEGAVRE, MONTET,
VANDERSCHUREN

Présidence

M. Guillemain assure la présidence de la journée.



1. ORDRE DU JOUR

Les expertises ayant fait l'objet d'une finalisation et d'une adoption des conclusions sont les suivantes :

1. Demande d'avis relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une glucose-oxydase issue d'une souche génétiquement modifiée d'*Aspergillus niger* porteuse d'un gène codant une glucose-oxydase d'*Aspergillus niger* pour la panification (à l'exception du pain de tradition française), la panification spéciale, la viennoiserie, la pâtisserie, la biscuiterie, la biscotterie, la production de pâtes et de nouilles et le traitement des œufs (saisine 2016-SA-0282),
2. Demande d'avis relatif à l'évaluation de l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours réalisée avec le soja génétiquement modifié DAS-81419-2 (dossier n° EFSA-GMO-NL-2013-116, saisine 2017-SA-0047),
3. Demande d'avis relatif à une demande de renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003, du soja génétiquement modifié MON89788 développé pour être tolérant au glyphosate, pour l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-RX-011, saisine 2018-SA-0122).

2. GESTION DES RISQUES DE CONFLITS D'INTERETS

Le Président, après avoir vérifié en début de réunion que les experts n'ont pas de nouveaux liens d'intérêts à déclarer, précise que l'analyse des liens déclarés n'a pas mis en évidence de risque de conflit au regard des points de l'ordre du jour mentionnés ci-dessus.

3 SYNTHESE DES DEBATS, DETAIL ET EXPLICATION DES VOTES, Y COMPRIS LES POSITIONS DIVERGENTES

3.1 DEMANDE D'AVIS RELATIF A UNE DEMANDE D'AUTORISATION D'EMPLOI D'UNE GLUCOSE-OXYDASE ISSUE D'UNE SOUCHE GENETIQUEMENT MODIFIEE D'ASPERGILLUS NIGER PORTEUSE D'UN GENE CODANT UNE GLUCOSE-OXYDASE D'ASPERGILLUS NIGER POUR LA PANIFICATION (A L'EXCEPTION DU PAIN DE TRADITION FRANCAISE), LA PANIFICATION SPECIALE, LA VIENNOISERIE, LA PATISSERIE, LA BISCUITERIE, LA BISCOTTERIE, LA PRODUCTION DE PATES ET DE NOUILLES ET LE TRAITEMENT DES OEUFS

Numéro de la saisine : 2016-SA-0282

Le Président vérifie que le quorum est atteint, avec 15 experts présents sur 22 experts composant le GT, dont aucun membre ne présente de risque de conflit d'intérêt pour cette saisine.

L'Anses a été saisie le 21 décembre 2016 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) pour la réalisation de l'expertise suivante : Demande d'avis relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une glucose-oxydase issue d'une souche génétiquement modifiée d'*Aspergillus niger* porteuse d'un gène codant une glucose-oxydase d'*Aspergillus niger* pour la panification (à l'exception du pain de tradition française), la panification spéciale, la viennoiserie, la pâtisserie, la biscuiterie, la biscotterie, la production de pâtes et de nouilles et le traitement des œufs.

La saisine a été présentée au GT « Biotechnologie » en séance du 19 janvier 2017 et cinq rapporteurs ont été désignés. Afin de compléter les données initiales présentes dans le dossier, l'Anses a effectué auprès de la DGCCRF une demande de compléments d'information le 20 mars 2017. Depuis cette date, les différents échanges ayant eu lieu avec la DGCCRF ont permis à



Procès-verbal du GT Biotechnologie – 12 juillet 2018

l'Anses de recevoir quelques éléments de réponse le 12 mars 2018. N'ayant pu obtenir l'ensemble des informations complémentaires demandées le 20 mars 2017, l'Anses a décidé de reprendre l'examen du dossier avec les pièces dont elle dispose, le dossier déposé initialement et les éléments reçus le 12 mars 2018. L'expertise collective a été réalisée lors des séances des 16 mars 2017, 15 mars 2018, 21 juin 2018 et 12 juillet 2018, sur la base des rapports initiaux rédigés par les rapporteurs.

Les discussions selon les séances ont porté sur l'identité de l'enzyme alimentaire, l'organisme de production génétiquement modifié, le procédé de fabrication de l'enzyme, les conditions d'utilisation et les applications technologiques revendiquées, les potentiels toxiques (toxicité générale, génotoxicité) et allergique de l'enzyme alimentaire ainsi que l'exposition alimentaire à celle-ci. Des discussions plus poussées ont concerné :

- La nécessité d'argumenter la potentielle formation de produits non intentionnels dans les denrées traitées via le pouvoir oxydant du peroxyde d'hydrogène généré par la réaction enzymatique de la glucose-oxydase ainsi que les conséquences pour la santé de tels produits d'oxydation. Une activité enzymatique secondaire catalase doit être présente en quantité suffisante pour empêcher l'accumulation du peroxyde d'hydrogène. Cette démonstration doit aussi être faite.
- La preuve de l'absence d'effets clastogène et aneugène de l'enzyme alimentaire. Le test d'aberrations chromosomiques sur des lymphocytes humains en culture primaire, *in vitro*, laisse supposer une activité clastogène de l'enzyme alimentaire et le test de micronoyau *in vivo* ne peut être considéré en absence de démonstration de l'exposition effective de la moelle osseuse à l'enzyme testée. En complément du test d'Ames qui renseigne sur des effets mutagènes, une autre étude permettant de rechercher les effets clastogène et aneugène de l'enzyme alimentaire est nécessaire pour renseigner le potentiel génotoxique de l'enzyme alimentaire. Les experts s'accordent pour conseiller soit un test du micronoyau *in vitro* sur cellules humaines (OCDE 487), soit un second test d'aberrations chromosomiques *in vitro* sur cellules humaines en utilisant une lignée de cellules humaines stable génétiquement (OCDE 473) plutôt qu'un test de toxicité *in vivo*.

A l'issue des débats, le Président propose une étape formelle de validation avec délibération et vote. Il rappelle que chaque expert donne son avis et peut exprimer une position divergente.

Lors de la séance du 12 juillet 2018, les experts présents adoptent à l'unanimité les conclusions de l'expertise relative à la demande d'autorisation d'emploi d'une glucose-oxydase issue de la souche génétiquement modifiée *d'Aspergillus niger* porteuse d'un gène codant une glucose-oxydase *d'Aspergillus niger* (souche DP-Aze23 ou AGME9#J39) pour la panification (à l'exception du pain de tradition française), la panification spéciale, la viennoiserie, la pâtisserie, la boulangerie, la biscuiterie, la biscotterie, la production de pâtes et de nouilles et le traitement des œufs. Le GT « Biotechnologie » conclut :

*« Au vu des résultats fournis et dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire, le Groupe de travail (GT) « Biotechnologie » estime que l'absence de risque sanitaire pour le consommateur lié à l'emploi de la glucose-oxydase issue de la souche génétiquement modifiée *d'Aspergillus niger* porteuse d'un gène codant une glucose-oxydase *d'Aspergillus niger* (souche DP-Aze23 ou AGME9#J39) pour la panification (à l'exception du pain de tradition française), la panification spéciale, la viennoiserie, la pâtisserie, la boulangerie, la biscuiterie, la biscotterie, la production de pâtes et de nouilles et le traitement des œufs n'est pas démontrée en raison de l'absence des informations suivantes :*

- valeurs précises (ou intervalles de valeurs) des activités minimales garanties de glucose-oxydase et des TOS calculés des deux formulations commerciales de l'enzyme ;*
- démonstration de la stabilité de l'enzyme alimentaire sous forme de poudre ;*
- certificat de dépôt de la souche de production dans une collection de souches de micro-organismes ;*
- argumentation sur les produits d'oxydation générés par l'action de la glucose-oxydase et du peroxyde d'hydrogène dans les denrées traitées ;*



- démonstration pour les différentes applications revendiquées que l'activité secondaire catalase est suffisante pour dégrader le peroxyde d'hydrogène au fur et à mesure de sa production par l'action de la glucose-oxydase ;
- preuves de l'inactivation de la glucose-oxydase lors du traitement des œufs ;
- preuves de l'inactivation des enzymes secondaires pour les différents usages revendiqués ;
- calculs détaillés permettant d'exprimer les doses testées formulées en mg de protéines totales/ml de produit en mg TOS d'enzyme mises en œuvre dans les études de toxicologie. Cette conversion permettant de connaître les doses d'enzyme testées, de fixer une NOAEL en mg TOS/kg p.c./jour et de calculer une marge de sécurité,
- étude de génotoxicité permettant d'identifier des effets clastogène et aneugène de l'enzyme alimentaire. ».

3.2 DEMANDE D'AVIS RELATIF A L'EVALUATION DE L'ETUDE DE TOXICITE SUB-CHRONIQUE DE 90 JOURS REALISEE AVEC LE SOJA GENETIQUEMENT MODIFIÉ DAS-81419-2 (DOSSIER N° EFSA-GMO-NL-2013-116, SAISINE 2017-SA-0047)

Numéro de la saisine : 2017-SA-0047

Le Président vérifie que le quorum est atteint, avec 14 experts présents sur 22 experts composant le GT, dont aucun membre ne présente de risque de conflit d'intérêt pour cette saisine.

L'Anses a été saisie le 6 mars 2017 par la DGCCRF d'une demande d'avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003, du soja génétiquement modifié DAS-81419-2 x DAS-44406-6, développé pour être tolérant à plusieurs herbicides (glyphosate, glufosinate-ammonium et 2,4-D) et résistant à certains lépidoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-NL-2016-132).

Le soja DAS-81419-2 x DAS-44406-6 a été obtenu par croisement conventionnel des sojas DAS-81419-2 et DAS-44406-6. Ces sojas ont été évalués par l'Anses dans le cadre de demandes d'autorisation de mise sur le marché au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003 (dossiers n° EFSA-GMO-NL-2013-116 et EFSA-GMO-NL-2012-106, respectivement) et ont fait l'objet d'avis défavorables (saisine 2014-SA-0055 pour le soja DAS-81419-2 et saisines 2013-SA-0071 et 2017-SA-0044 pour le soja DAS-44406-6).

Concernant le soja DAS-81419-2, l'avis de l'Anses du 23 mai 2014 était défavorable du fait de l'absence d'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours réalisée avec ce soja. Or, l'examen de la liste des pièces du dossier du soja DAS-81419-2 x DAS-44406-6 (n° EFSA-GMO-NL-2016-132) montre qu'il contient une telle étude. Dans ce contexte, l'Anses a choisi, en accord avec la DGCCRF et le GT « Biotechnologie », d'évaluer cette étude pour déterminer si les réserves précédemment exprimées au sujet du soja DAS-81419-2 peuvent être levées, avant tout examen d'un dossier relatif à une plante génétiquement modifiée (PGM) empilée comportant ce soja. En effet, le maintien d'un avis défavorable concernant le soja DAS-81419-2 amènerait l'Anses à rendre un avis défavorable pour toute PGM empilée comportant ce soja. C'est pourquoi l'intitulé initial de la saisine a été remplacé par l'intitulé suivant : « Demande d'avis relatif à l'évaluation de l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours réalisée avec le soja génétiquement modifié DAS-81419-2 (dossier n° EFSA-GMO-NL-2013-116) ».

Le soja DAS-81419-2 a été génétiquement modifié afin d'introduire dans son génome les cassettes d'expression des gènes *cry1Fv3*, *cry1Ac(synpro)* et *pat*. Ces gènes codent respectivement les protéines Cry1F, Cry1Ac et PAT, qui confèrent à la plante la résistance à certains lépidoptères et la tolérance au glufosinate-ammonium.



Procès-verbal du GT Biotechnologie – 12 juillet 2018

Deux rapporteurs ont été désignés en juillet 2017 et un 3^{ème} en septembre 2017. L'évaluation du dossier s'appuie sur les documents guides du Panel GMO de l'EFSA (2006 et 2011)^{1 et 2} et sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts du GT « Biotechnologie ».

L'expertise collective a été réalisée par le Groupe de travail (GT) « Biotechnologie », réuni les 20 juillet et 21 décembre 2017, ainsi que le 12 juillet 2018. Les discussions ont principalement porté sur les sujets suivants :

- Le nombre de rats utilisés dans l'étude (12 rats/groupe/sexe) et l'absence de calcul de puissance ;
- L'absence d'information concernant le traitement ou non du soja utilisé dans l'étude avec l'herbicide auquel il est tolérant ;
- Le fait que la sécurité de l'huile n'est pas documentée puisque les tourteaux de soja utilisés étaient déshuilés.

A l'issue des débats, le Président propose une étape formelle de validation avec délibération et vote. Il rappelle que chaque expert donne son avis et peut exprimer une position divergente. Les experts présents adoptent à l'unanimité les conclusions de l'expertise :

« *L'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours fournie à l'occasion du dépôt du dossier n° EFSA-GMO-NL-2016-132 ne permet pas de lever la réserve exprimée à ce sujet dans l'avis initial de l'Anses relatif au soja DAS-81419-2 (Anses, 2014). Dans ces conditions, le GT « Biotechnologie » ne peut pas se prononcer sur la sécurité sanitaire de ce soja.* ».

3.3 DEMANDE D'AVIS RELATIF A UNE DEMANDE DE RENOUVELLEMENT DE L'AUTORISATION DE MISE SUR LE MARCHE, AU TITRE DU REGLEMENT (CE) N° 1829/2003, DU SOJA GENETIQUEMENT MODIFIÉ MON89788 DEVELOPPE POUR ETRE TOLERANT AU GLYPHOSATE, POUR L'UTILISATION EN ALIMENTATION HUMAINE ET ANIMALE DE CET OGM (DOSSIER N° EFSA-GMO-RX-011)

Numéro de la saisine : 2018-SA-0122

Le Président vérifie que le quorum est atteint, avec 14 experts présents sur 22 experts composant le GT, dont aucun membre ne présente de risque de conflit d'intérêt pour cette saisine.

L'Anses a été saisie le 16 mai 2018 par la DGCCRF d'une demande d'avis relatif à une demande de renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003, du soja génétiquement modifié MON89788 développé pour être tolérant au glyphosate, pour l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-RX-011).

Le soja MON89788 a été génétiquement modifié afin d'introduire dans son génome la cassette d'expression du gène *cp4 epsps*. Ce gène code une 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase isolée d'*Agrobacterium* sp. strain CP4 (CP4 EPSPS), qui confère à la plante la tolérance au glyphosate.

Ce dossier n'est pas une demande d'autorisation initiale mais une demande de renouvellement d'une autorisation de mise sur le marché délivrée au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003 (décision de la Commission du 4 décembre 2008, 2008/933/CE, JO L 333 du 11.12.2008, pp. 7-10). Cette autorisation vise tous les produits contenant du soja MON89788, consistant en ce soja ou produits à partir de celui-ci, pour les mêmes usages que tout autre soja, à l'exception de la culture.

¹ EFSA GMO Panel. 2006. "Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed." *EFSA Journal* 99: 1-100.

² EFSA GMO Panel. 2011. "Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants." *EFSA Journal* 9(5): 2150, 37 pp.



Conformément au Règlement (CE) n° 1829/2003, notamment aux articles 6 et 18, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) est chargée de procéder à l'évaluation des dossiers concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux issus de plantes génétiquement modifiées et de rendre un avis à la Commission européenne. L'EFSA a cependant offert la possibilité aux États membres de faire connaître leurs observations sur ces dossiers. C'est dans ce cadre que la DGCCRF a sollicité l'avis de l'Anses.

Trois rapporteurs ont été désignés en mai 2018. L'évaluation du dossier s'appuie sur les documents guides de l'EFSA³ et ⁴ et du Panel GMO de l'EFSA¹, ² et ⁵ et sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts du GT « Biotechnologie ». Les rapports d'expertise ont porté sur :

- une revue systématique de la littérature menée par le pétitionnaire sur la période du 1^{er} janvier 2007 au 4 août 2017 ;
- une actualisation des analyses bioinformatiques, réalisée en 2017 ;
- 7 études de composition et 2 études sur les caractéristiques agronomiques et phénotypiques du soja MON89788 ;
- les méthodes statistiques utilisées dans les études de composition et des caractéristiques agronomiques et phénotypiques ci-dessus ;
- une étude de la résistance à la dénaturation thermique de la protéine nouvellement exprimée CP4 EPSPS.

L'expertise collective a été réalisée par le Groupe de travail (GT) « Biotechnologie », réuni les 21 juin et 12 juillet 2018, sur la base des rapports d'expertise rédigés par les rapporteurs. Les discussions ont principalement porté sur les sujets suivants :

- Le fait que parmi les 31 articles retenus pour une évaluation détaillée, 24 ont été exclus parce qu'ils ne portent pas spécifiquement sur le soja MON89788, ce qui paraît trop restrictif ;
- Le fait que 6 des 7 publications retenues *in fine* correspondent à des études réalisées par le pétitionnaire ;
- Le fait que les résultats des essais de Berman (2011) et Philipps (2012) n'aient pas été traités selon les recommandations de l'EFSA (2010) concernant l'utilisation de tests de différences et d'équivalence, alors que le dispositif expérimental de ces essais le permet.

A l'issue des débats, le Président propose une étape formelle de validation avec délibération et vote. Il rappelle que chaque expert donne son avis et peut exprimer une position divergente. Les experts présents adoptent à l'unanimité les conclusions de l'expertise :

« Si le plan de surveillance post-commercialisation, ciblé sur les risques environnementaux, apporte des informations pertinentes sur les conséquences de l'importation ou de la culture du soja MON89788, il ne permet pas de tirer des enseignements pertinents sur l'innocuité de son utilisation en alimentation animale ou humaine. Au mieux peut-on conclure à l'absence d'un effet intrinsèque majeur, dans un contexte de multi-exposition qui ne facilite pas la recherche de l'effet d'un composant au sein de matrices complexes. »

Les résultats des analyses bioinformatiques actualisées et de la nouvelle étude de résistance à la dénaturation thermique de la protéine CP4 EPSPS exprimée dans le soja MON89788 ne conduisent pas à modifier les conclusions précédemment établies quant à la sécurité sanitaire de ce soja.

³ EFSA. 2010. "Application of systematic review methodology to food and feed safety assessments to support decision making." *EFSA Journal* 8(6): 1637, 90 pp.

⁴ EFSA. 2017. "Explanatory note on literature searching conducted in the context of GMO applications for (renewed) market authorisation and annual post-market environmental monitoring reports on GMOs authorised in the EU market." EFSA Supporting Publications 14(4): 1207E, 48 pp.

⁵ EFSA GMO Panel. 2015. "Guidance for renewal applications of genetically modified food and feed authorised under Regulation (EC) No 1829/2003." *The EFSA Journal* 13(6): 4129, 8 pp.



Procès-verbal du GT Biotechnologie – 12 juillet 2018

En revanche, le GT « Biotechnologie » considère que la revue systématique de la littérature fournie par le pétitionnaire n'est pas recevable en l'état, car ce dernier a utilisé un critère d'exclusion trop restrictif.

Dans ces conditions le GT « Biotechnologie » ne peut pas se prononcer sur la sécurité sanitaire du soja MON89788. ».