

Avis en réponse à la saisine HCB – dossier RX-016. Paris, le 21 février 2019

. Comité Scientifique Du Haut Conseil Des Biotechnologies, Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie-Anne Barny, Pascal Boireau, Thierry Brévault, Bruno B. Chauvel, Cécile Collonnier, Denis Couvet, et al.

▶ **To cite this version:**

. Comité Scientifique Du Haut Conseil Des Biotechnologies, Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie-Anne Barny, et al.. Avis en réponse à la saisine HCB – dossier RX-016. Paris, le 21 février 2019. [0] Haut Conseil des Biotechnologies. 2019, 23 p. hal-02917709

HAL Id: hal-02917709
https://hal.inrae.fr/hal-02917709

Submitted on 19 Aug 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - ShareAlike 4.0 International License

Haut Conseil des Biotechnologies

COMITÉ SCIENTIFIQUE

AVIS

en réponse à la saisine HCB – dossier RX-016[1].

Paris, le 21 février 2019

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 4 décembre 2018 par les autorités compétentes françaises (le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation) d'une demande d'avis relative à une évaluation du dossier **EFSA-GMO-RX-016** de demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié **Bt11** à des fins d'importation, transformation, et alimentation humaine et animale.

Ce dossier a été déposé par la société **Syngenta Crop Protection NV/SA** auprès de la Commission européenne sur le fondement du **règlement (CE) n° 1829/2003**. L'évaluation des dossiers de demande de mise sur le marché est confiée à l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA). Les Etats membres disposent de trois mois pour envoyer leurs commentaires à l'EFSA en contribution à l'évaluation du dossier.

Dans ce contexte, le HCB est invité à proposer des commentaires à destination de l'EFSA au plus tard le 26 février 2019.

Le Comité scientifique (CS)[2] du HCB a examiné le dossier en séance du 21 février 2019 sous la présidence de Jean-Christophe Pagès. Le présent avis a été adopté en séance et publié le 4 mars 2019.

[1] La saisine HCB – dossier EFSA-GMO-RX-016 est reproduite dans l'Annexe 1.

[2] Les modalités de l'élaboration de l'avis et la composition du CS sont indiquées dans l'Annexe 2.

RESUME DE L'AVIS[3]

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi sur le fondement du règlement (CE) n° 1829/2003 d'une demande d'avis relative au dossier EFSA-GMO-RX-016 dans le but de proposer des commentaires à destination de l'EFSA en contribution à l'évaluation européenne du dossier, et d'éclairer les autorités compétentes françaises dans une étape intermédiaire en amont du vote à la Commission européenne. Déposé par la société Syngenta Crop Protection NV/SA, ce dossier est une demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié Bt11 à des fins d'importation, transformation, et alimentation humaine et animale dans l'Union européenne.

Description du produit

Le maïs Bt11 exprime le transgène *Cry1Ab*, codant la fraction toxique de la toxine insecticide Cry1Ab de *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-1, et le transgène *pat*, codant la phosphinothricine-*N*-acetyltransférase, dérivé de *Streptomyces viridochromogenes*. Cry1Ab confère une résistance à certains lépidoptères comme la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*, *European corn borer*) et à la sésamie ou noctuelle du maïs (*Sesamia nonagrioides*, *Mediterranean corn borer*), ravageurs des cultures de maïs. L'enzyme PAT confère une tolérance aux herbicides dont la matière active est la phosphinothricine[4], tel que le glufosinate d'ammonium.

Ce maïs a été obtenu par transfert direct d'un fragment d'ADN plasmidique porteur des deux cassettes d'expression *cry1Ab* et *pat*, dans des protoplastes de maïs. Les analyses initiales du dossier ont montré que l'insertion est présente en une seule copie dans un site unique au sein du chromosome 8 du maïs. La stabilité de l'insertion a été vérifiée sur plusieurs générations.

Remarques générales à destination de l'EFSA

Commentaire préliminaire :

Deux instances sont chargées de l'évaluation de ce type de dossier en France : le Haut Conseil des biotechnologies (HCB), saisi par le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation (MAA), et l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), saisie par le ministère de l'Economie et des Finances (MEF). De manière complémentaire, les commentaires concernant l'évaluation environnementale du dossier sont envoyés par le HCB *via* le MAA et les commentaires concernant l'évaluation sanitaire du dossier sont envoyés par l'Anses *via* le MEF.

Remarques principales :

Le CS du HCB reconnaît que les nouveaux éléments fournis par le pétitionnaire ne permettent pas d'identifier de risques nouveaux pour l'environnement. Il note toutefois les points suivants :

- l'analyse actualisée du risque de transfert de gènes est confuse en ce que le texte principal du dossier de renouvellement contredit l'annexe dédiée à cette analyse, qui identifie des régions d'homologies susceptibles de contribuer à des événements de recombinaison homologue pouvant conduire au transfert de la cassette d'expression de *cry1Ab* à des bactéries. Le CS du HCB s'accorde toutefois avec les conclusions du pétitionnaire, considérant

[3] Ce résumé ne se substitue pas à l'analyse du dossier développée dans cet avis.

[4] La phosphinothricine est aussi connue sous le nom de glufosinate.

que si ces événements, de faible probabilité, devaient advenir, les conséquences environnementales et sanitaires associées seraient négligeables ;

- l'existence de populations de téosintes compatibles avec le maïs cultivé a été signalée dans l'Union européenne pendant la période de commercialisation du maïs Bt11. Le risque associé à la possibilité d'un transfert de gènes du maïs Bt11 à des téosintes devrait désormais être pris en compte par le pétitionnaire ;
- enfin, globalement, le dossier initial ainsi que le dossier de renouvellement ne se réfèrent qu'à une importation dans les régions de l'Union européenne de climat tempéré. Or, l'Union européenne comprend également des régions ultrapériphériques situées en zones tropicales plus propices à la persistance du maïs. C'est le cas pour certains des départements et régions d'outre-mer du territoire français. Le CS du HCB souhaite que les caractéristiques environnementales particulières de ces régions soient considérées dans l'évaluation des risques et les plans de surveillance des dossiers de mise sur le marché de graines issues de plantes génétiquement modifiées dans l'Union européenne. Une alternative serait d'exclure ces territoires du périmètre de la commercialisation.

Remarques supplémentaires :

Certains membres du CS du HCB soulignent qu'une étude plus large serait souhaitable concernant les conséquences pour l'Europe de la culture du maïs Bt11 dans des pays tiers exportateurs, non seulement en termes socio-économiques, mais également en termes de biodiversité. Ils rappellent que, dans le cadre de la Convention pour la diversité biologique, les pays exportateurs ont des responsabilités internationales sur les espèces menacées. Ils suggèrent que le dossier fasse état des résultats d'une analyse d'impact de la culture sur la biodiversité des pays producteurs exportateurs. De plus, ils recommandent que soit également prise en compte l'influence de l'importation de ce maïs sur le choix des cultures en Europe, et donc sur la biodiversité résultant de ces choix agrosystémiques.

Enfin, certains membres du CS du HCB soulèvent la question éthique d'autoriser l'importation dans l'Union européenne d'un produit dont la production dans les pays exportateurs impliquera l'exposition des opérateurs à un produit phytopharmaceutique (à base de glufosinate d'ammonium) qui a été retiré du marché français pour des raisons sanitaires.

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION 5

1.1. CONTEXTE REGLEMENTAIRE DE LA SAISINE 5

1.2. HISTORIQUE DU DOSSIER 7

1.3. PRESENTATION DE LA PLANTE GENETIQUEMENT MODIFIEE 8

2. COMMENTAIRES A DESTINATION DE L'EFSA 8

2.1. REMARQUES GENERALES 8

2.2. COMMENTAIRES PAR SECTIONS DEFINIES PAR L'EFSA 9

3. BIBLIOGRAPHIE 13

ANNEXE 1 : SAISINE 16

ANNEXE 2 : ELABORATION DE L'AVIS 17

ANNEXE 3 : COMMENTAIRES TRADUITS EN ANGLAIS A DESTINATION DE L'EFSA 18

A3.1. GENERAL COMMENTS 18

A3.2. COMMENTS PER SECTION 19

1. Introduction

1.1. Contexte règlementaire de la saisine

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 4 décembre 2018 par les autorités compétentes françaises (le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation) d'une demande d'avis relative à une évaluation du dossier EFSA-GMO-RX-016, portant sur une demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié Bt11 à des fins d'importation, transformation, et alimentation humaine et animale dans l'Union européenne. Le dossier a été déposé par la société Syngenta Crop Protection NV/SA auprès de la Commission européenne sur le fondement du règlement (CE) n° 1829/2003[5] (EC, 2003).

Les autorisations accordées en vertu du règlement (CE) n° 1829/2003 sont renouvelables pour des périodes de dix ans, sur demande adressée à la Commission par le titulaire de l'autorisation au plus tard un an avant la date d'expiration de celle-ci. Selon le règlement, la demande doit être accompagnée des éléments suivants :

1. une copie de l'autorisation de mise sur le marché ;
2. un (ou des) rapport(s) de surveillance, selon ce qui est stipulé dans l'autorisation ;
3. toute autre nouvelle information qui serait devenue disponible en ce qui concerne l'évaluation de l'innocuité d'utilisation pour l'alimentation humaine et animale et les risques sanitaires et environnementaux ;
4. le cas échéant, une proposition visant à modifier ou à compléter les conditions de l'autorisation initiale, entre autres les conditions relatives à la future surveillance.

Conformément aux articles 11(6) et 23(6) du règlement (CE) n° 1829/2003, l'EFSA a publié en 2015 des lignes directrices détaillées dans le but d'assister les pétitionnaires dans la préparation et la présentation de leurs dossiers de renouvellement (EFSA, 2015) (voir 1.2).

Sur le fondement du règlement (CE) n° 1829/2003, l'évaluation des dossiers de demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché de plantes génétiquement modifiées est centralisée par l'EFSA, qui dispose d'un délai de 6 mois, à compter de la date de validation du dossier, pour transmettre son avis à la Commission européenne. En pratique, le décompte de cette période de six mois est suspendu à chaque demande d'information supplémentaire adressée au pétitionnaire.

En parallèle, les Etats membres disposent d'un délai ferme de trois mois pour envoyer leurs commentaires à l'EFSA en contribution à l'évaluation sanitaire et environnementale du dossier. En France, les autorités compétentes saisissent d'une part l'Anses (l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), pour réaliser l'évaluation sanitaire du dossier, et d'autre part le HCB, pour réaliser l'évaluation environnementale associée à un risque de dissémination de l'OGM. En l'absence d'un tel risque (par exemple, dans le cas d'une mise sur le marché de produits dérivés d'OGM comme des tourteaux de soja), seule l'Anses est saisie. La France couvre ainsi les deux pans de l'évaluation réalisée par l'EFSA. Elle transmet en

[5] Règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2003 concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux génétiquement modifiés. (Plus précisément, pour clarifier une confusion inhérente à la traduction française de ce titre, ce règlement concerne les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, ces denrées alimentaires ou aliments pour animaux pouvant consister en des OGM, contenir des OGM, ou être issus d'OGM.) : http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32003R1829:FR:HTML.

sus les remarques du Comité économique, éthique et social du HCB concernant les aspects socio-économiques du dossier.

Les commentaires des Etats membres, dès réception par l'EFSA, sont transmis d'une part aux experts de trois groupes de travail du panel OGM[6] de l'EFSA (Analyse moléculaire, Alimentation humaine et animale, Environnement), et d'autre part à l'Etat membre auquel l'EFSA a délégué l'évaluation du risque environnemental. En l'occurrence, la culture étant exclue du champ de demande d'autorisation de ce dossier, l'EFSA a choisi de ne pas déléguer cette évaluation.

Les groupes de travail de l'EFSA examinent les commentaires des Etats membres, les intègrent dans leur analyse des dossiers, et, quand ils le jugent pertinent, les transmettent au pétitionnaire sous forme de questions pour clarification ou demande d'information supplémentaire. Si tous les commentaires ne sont pas nécessairement transmis au pétitionnaire, ils font tous l'objet d'une réponse spécifique par l'EFSA. Les commentaires de chaque Etat membre, ainsi que les réponses correspondantes de l'EFSA, sont rendus publics, en annexe de l'avis scientifique de l'EFSA à destination de la Commission européenne.

La procédure de transmission des commentaires à l'EFSA est strictement cadrée. Les autorités compétentes des Etats membres sont invitées à poster des commentaires en ligne, en anglais, dans des formulaires distincts pour chaque section des dossiers. Les sections sont explicitées dans le document d'orientation de l'EFSA relatif à la soumission de dossiers de demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché de plantes génétiquement modifiées à des fins alimentaires (EFSA, 2013). Ces commentaires doivent être ciblés sur des demandes spécifiques adressées à l'EFSA, soit pour une demande de clarification ou d'information supplémentaire de la part du pétitionnaire, soit pour la prise en compte de remarques spécifiques dans son évaluation des dossiers et l'élaboration de son avis scientifique.

C'est dans ce cadre que le HCB a été saisi. L'objectif de cet avis du HCB est donc de contribuer à l'évaluation environnementale du dossier par l'EFSA.

En fin d'évaluation, la Commission européenne soumettra au vote des Etats membres un projet de décision concernant le renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché du maïs Bt11 dans l'Union européenne, élaboré sur la base de l'avis de l'EFSA. Le HCB pourra à nouveau être saisi par les autorités compétentes françaises pour qu'il puisse réviser son évaluation selon les éventuelles informations supplémentaires versées au dossier depuis son évaluation initiale. A ce stade ultérieur, le HCB rédigera un avis fournissant un éclairage complet sur le dossier à destination du Gouvernement.

1.2. Lignes directrices de l'EFSA

Conformément aux articles 11(6) et 23(6) du règlement (CE) n° 1829/2003, l'EFSA a publié en 2015 des lignes directrices détaillées dans le but d'assister les pétitionnaires dans la préparation et la présentation de leurs dossiers de renouvellement (EFSA, 2015). Les précisions suivantes sont apportées :

- concernant la surveillance : le pétitionnaire doit fournir le(s) plan(s) de surveillance et éventuel(s) rapport(s) de surveillance réalisés selon les conditions de l'autorisation, et indiquer si les résultats de la surveillance remettent en cause ou modifient les conclusions de l'évaluation initiale des risques et conduisent à modifier les mesures de surveillance et de gestion mises en œuvre pour la plante génétiquement modifiée ;
- la recherche d'éventuelles nouvelles informations pertinentes pour l'évaluation des risques doit couvrir :

[6] OGM : organisme génétiquement modifié.

- l'évaluation de la littérature et des bases de données scientifiques actualisées pertinentes pour la caractérisation moléculaire, les risques sanitaires et les risques environnementaux, selon les lignes directrices et la note explicative de l'EFSA de 2010 et 2017 (EFSA, 2010a; EFSA et al., 2017) ;
- l'actualisation des données bioinformatiques avec les bases de données pertinentes mises à jour, pour permettre d'identifier (1) d'éventuelles interruptions de gènes par les inserts, (2) d'éventuelles similarités des protéines nouvellement exprimées ou des ORFs (présents dans les inserts ou à leur jonction) avec des protéines toxiques ou allergènes, selon les recommandations pertinentes de l'EFSA (EFSA, 2010b, 2011), et (3) d'éventuelles similarités des séquences d'ADN insérées avec des séquences d'ADN microbien. Si de telles similarités sont identifiées, le pétitionnaire doit actualiser son évaluation des risques de transfert de gène horizontal vers des microorganismes environnementaux ou intestinaux ;
- tout document ou étude menée par le pétitionnaire ou porté(e) à sa connaissance durant la période d'autorisation ;

- pour conclure, le pétitionnaire doit estimer si ces nouvelles informations remettent en question l'évaluation des risques réalisée lors de la demande initiale de mise sur le marché, que ce soit par l'identification de nouveaux dangers, une exposition modifiée, ou la mise en évidence de nouvelles incertitudes, auquel cas de nouvelles études doivent être réalisées ;
- sur la base des conclusions ci-dessus, le pétitionnaire peut être amené à actualiser le(s) plan(s) de surveillance(s) et proposer des modifications aux restrictions et conditions de dissémination ou d'utilisation de la plante génétiquement modifiée spécifiées dans l'autorisation d'origine.

1.3. Historique et contexte du dossier

Le dossier examiné a été soumis par la société Syngenta Crop Protection NV/SA à la Commission européenne le 24 septembre 2018. L'EFSA l'a reçu de la Commission européenne le 11 octobre 2018 et, après vérification de sa conformité réglementaire, l'a validé le 26 novembre 2018 sous la référence EFSA-GMO-RX-016 et soumis à consultation des Etats membres jusqu'au 4 mars 2019.

Le dossier est une demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché du maïs Bt11 à des fins d'importation, transformation, et alimentation humaine et animale dans l'Union européenne.

Selon le pétitionnaire, au moment de la demande de renouvellement en septembre 2018, le maïs Bt11 était autorisé :

- à la culture dans neuf pays : Argentine, Brésil, Canada, Colombie, Etats-Unis, Paraguay, Philippines, Uruguay et Vietnam ;
- à l'importation pour l'alimentation animale dans 20 pays (ou entités réglementaires) : Afrique du Sud, Argentine, Brésil, Canada, Chine, Colombie, Japon, Corée, États-Unis, Malaisie, Mexique, Paraguay, Philippines, Russie (fin d'autorisation en 2017), Singapour, Taiwan, Turquie, Union européenne, Uruguay, et Vietnam ;
- à l'importation pour l'alimentation humaine dans 24 pays (ou entités réglementaires) : Afrique du sud, Argentine, Australie, Biélorussie, Brésil, Canada, Chine, Colombie, États-Unis, Indonésie, Japon, Kazakhstan, Corée, Malaisie, Mexique, Nouvelle Zélande, Paraguay, Philippines, Russie, Singapour, Taiwan, Union européenne, Uruguay et Vietnam.

Selon les rapports de surveillance du maïs Bt11, envoyés annuellement par la société Syngenta à la Commission européenne depuis son autorisation en 2009, le pourcentage estimé de maïs Bt11 représentait 1 % de l'ensemble du maïs importé dans l'Union européenne en 2010, 2 % jusqu'en 2012, puis a régulièrement diminué les années suivantes pour atteindre environ 0,06 % en 2017.

Les pays européens important du maïs pouvant contenir du maïs Bt11 (c'est-à-dire les pays important du maïs provenant de pays cultivant du maïs Bt11) sont, depuis 2014, essentiellement l'Espagne, le Portugal et les Pays-Bas, et dans une moindre mesure, l'Italie. Ces pays reçoivent cependant de plus en plus de cargaisons provenant de pays comme l'Ukraine ou la Russie qui ne cultivent pas de maïs Bt11 ; les importations provenant du Brésil, d'Argentine, d'Afrique du Sud et des États-Unis, pays qui cultivent le maïs Bt11, sont fluctuantes, dépendant des lois du marché et des aléas climatiques.

1.4. Présentation de la plante génétiquement modifiée

Le maïs Bt11 exprime le transgène *Cry1Ab*, codant la fraction toxique de la toxine insecticide Cry1Ab de *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-1, et le transgène *pat*, codant la phosphinothricine-*N*-acetyltransférase, dérivé de *Streptomyces viridochromogenes*. Cry1Ab confère une résistance à certains lépidoptères comme la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*, *European corn borer*) et à la sésamie ou noctuelle du maïs (*Sesamia nonagrioides*, *Mediterranean corn borer*), ravageurs des cultures de maïs. L'enzyme PAT confère une tolérance aux herbicides dont la matière active est la phosphinothricine[7], tel que le glufosinate d'ammonium.

Ce maïs a été obtenu par transfert direct d'un fragment d'ADN plasmidique porteur des deux cassettes d'expression *cry1Ab* et *pat*, dans des protoplastes de maïs. Les analyses initiales du dossier ont montré que l'insertion est présente en une seule copie dans un site unique au sein du chromosome 8 du maïs. La stabilité de l'insertion a été vérifiée sur plusieurs générations.

Le pétitionnaire présente dans ce dossier de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché une actualisation des informations nécessaires à l'évaluation des risques environnementaux et sanitaires associés à l'importation, la transformation et l'utilisation dans l'alimentation humaine et animale du maïs Bt11 dans l'Union européenne. Le CS du HCB propose d'envoyer les remarques suivantes à l'EFSA concernant les points du dossier identifiés comme critiquables au sujet de l'évaluation des risques environnementaux. Les commentaires concernant l'évaluation des risques sanitaires relèvent de l'analyse de l'Anses.

2. Commentaires à destination de l'EFSA

2.1. Remarques générales

Commentaire préliminaire :

Deux instances sont chargées de l'évaluation de ce type de dossier en France : le Haut Conseil des biotechnologies (HCB), saisi par le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation (MAA), et l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), saisie par le ministère de l'Economie et des Finances (MEF). De manière complémentaire, les commentaires concernant l'évaluation environnementale du dossier sont envoyés par le HCB *via* le MAA et les commentaires concernant l'évaluation sanitaire du dossier sont envoyés par l'Anses *via* le MEF.

[7] La phosphinothricine est aussi connue sous le nom de glufosinate.

Remarques principales :

Le CS du HCB reconnaît que les nouveaux éléments fournis par le pétitionnaire ne permettent pas d'identifier de risques nouveaux pour l'environnement. Il note toutefois les points suivants :

- l'analyse actualisée du risque de transfert de gènes est confuse en ce que le texte principal du dossier de renouvellement contredit l'annexe dédiée à cette analyse, qui identifie des régions d'homologies susceptibles de contribuer à des événements de recombinaison homologue pouvant conduire au transfert de la cassette d'expression de *cry1Ab* à des bactéries. Le CS du HCB s'accorde toutefois avec les conclusions du pétitionnaire, considérant que si ces événements, de faible probabilité, devaient advenir, les conséquences environnementales et sanitaires associées seraient négligeables ;
- l'existence de populations de téosintes compatibles avec le maïs cultivé a été signalée dans l'Union européenne pendant la période de commercialisation du maïs Bt11. Le risque associé à la possibilité d'un transfert de gènes du maïs Bt11 à des téosintes devrait désormais être pris en compte par le pétitionnaire ;
- enfin, globalement, le dossier initial ainsi que le dossier de renouvellement ne se réfèrent qu'à une importation dans les régions de l'Union européenne de climat tempéré. Or, l'Union européenne comprend également des régions ultrapériphériques situées en zones tropicales plus propices à la persistance du maïs. C'est le cas pour certains des départements et régions d'outre-mer du territoire français. Le CS du HCB souhaite que les caractéristiques environnementales particulières de ces régions soient considérées dans l'évaluation des risques et les plans de surveillance des dossiers de mise sur le marché de graines issues de plantes génétiquement modifiées dans l'Union européenne. Une alternative serait d'exclure ces territoires du périmètre de la commercialisation.

Remarques supplémentaires :

Certains membres du CS du HCB soulignent qu'une étude plus large serait souhaitable concernant les conséquences pour l'Europe de la culture du maïs Bt11 dans des pays tiers exportateurs, non seulement en termes socio-économiques, mais également en termes de biodiversité. Ils rappellent que, dans le cadre de la Convention pour la diversité biologique, les pays exportateurs ont des responsabilités internationales sur les espèces menacées. Ils suggèrent que le dossier fasse état des résultats d'une analyse d'impact de la culture sur la biodiversité des pays producteurs exportateurs. De plus, ils recommandent que soit également prise en compte l'influence de l'importation de ce maïs sur le choix des cultures en Europe, et donc sur la biodiversité résultant de ces choix agrosystémiques.

Enfin, certains membres du CS du HCB soulèvent la question éthique d'autoriser l'importation dans l'Union européenne d'un produit dont la production dans les pays exportateurs impliquera l'exposition des opérateurs à un produit phytopharmaceutique (à base de glufosinate d'ammonium) qui a été retiré du marché français pour des raisons sanitaires.

2.2. Commentaires par sections définies par l'EFSA

N.B. : Les titres soulignés correspondent aux sections réglementaires du dossier et aux différents formulaires mis à disposition par l'EFSA pour la collecte de commentaires en ligne. Seules les sections pour lesquelles le HCB transmet des commentaires sont indiquées ici. Chaque commentaire est écrit de manière indépendante. La somme des commentaires n'est pas destinée à constituer un texte en soi.

2. Data requirements

2.2. Post-market monitoring and post-market environmental monitoring reports

Dans ses rapports annuels de surveillance post-commerciale, les chiffres donnés par Syngenta pour l'importation de grains de maïs (GM et non GM) par Etat membre de l'Union européenne et par pays d'origine posent question considérant que les chiffres donnés pour la France ne correspondent pas aux chiffres obtenus de source administrative locale, que ce soit pour les quantités importées ou pour leurs origines. Par ailleurs, selon les années, les commentaires associés aux tableaux d'importation de maïs, en tonnes, font une erreur d'un facteur 1.000.

Le CS du HCB s'étonne que les derniers rapports de surveillance ne mentionnent pas la présence de populations de téosintes compatibles avec le maïs cultivé, récemment signalées en Espagne[8] (Pardo et al., 2014; Pardo et al., 2015) et en France[9] (Arvalis, 2013), en termes de risque associé à un possible transfert de gène du maïs GM à des téosintes (Devos et al., 2018; EFSA, 2016; HCB, 2016; Trtikova et al., 2017).

2.3. New information

2.3.1. Systematic search and evaluation of literature

Une analyse de la littérature scientifique et des nouvelles données en lien avec le maïs Bt11 a été réalisée, couvrant une période de 10 ans (janvier 2008 à septembre 2018). Les bases de données Medline, Agricola, CAB Abstracts, BIOSIS, TOXCENTER, FSTA, FROSTI, POLLUAB, AQUASCI, BIOTECHNO, ESBIOBASE, BIOENG, AQUALINE et EMBASE ont été consultées. Selon les indications du dossier, les recherches ont porté sur les mots clés apparentés à Bt11, Cry1Ab et PAT. Au total, 2.029 publications ont été extraites des bases de données, et plus de 100 ont fait l'objet d'analyses approfondies. Aucune publication n'a mis en évidence de nouveaux risques pour l'environnement ou la santé. Le CS du HCB note que des mots clés relatifs à la résistance des insectes n'ont pas été utilisés depuis 2011. De plus, les organismes cibles ne semblent pas considérés dans les critères retenus pour la recherche bibliographique. Le CS du HCB s'interroge sur la prise en compte, par le pétitionnaire, des articles concernant la résistance des insectes à la toxine Cry1Ab.

2.3.2. Updated bioinformatics

- *Analyse des régions flanquantes*

Les nouvelles analyses des régions flanquantes, en date de mars 2018, sont restées limitées aux 352 pb de la région en 5' de l'événement d'insertion et aux 540 pb de la région génomique située en 3'. Le CS du HCB note que le pétitionnaire n'a pas étendu le séquençage à 1.000 pb pour chacune de ces deux régions, comme recommandé par l'EFSA pour permettre de déterminer clairement si des gènes endogènes ont été interrompus (EFSA, 2015).

Les analyses reposant sur les bases de données NCBI les plus récentes ont confirmé la présence de séquences répétées de maïs de part et d'autre du site d'insertion, pouvant correspondre à des séquences « knob » ou des séquences répétées d'hétérochromatine (Appendices 2.3.2-01_BLASTN_Bt11 ; 2.3.2-02_BLASTN_Bt11 ; 2.3.2-03_BLASTX_Bt11). Aucun des alignements observés ne met en évidence d'homologie avec des séquences codantes ou régulatrices connues

[8] Centro de Sanidad y Certificaction Vegetal – Gobierno de Aragon, Informaciones fitosanitarias, Septiembre 2014, www.aragon.es.

[9] Arvalis, 2013 ; Chambre d'Agriculture des Deux-Sèvres, http://www.agri79.com/actualites/teosinte-la-teosinte-exige-une-vigilance-toute-particuliere:JFNK3KKU.html.

de maïs au niveau du site d'insertion. Au final, le CS du HCB estime cette analyse suffisante pour exclure l'interruption de gènes ou séquences régulatrices du maïs par l'insert.

- *Analyse de transfert de gène horizontal*

Le pétitionnaire a réalisé une analyse visant à déterminer les possibilités de recombinaison homologue entre l'insert et des séquences d'ADN issues de microorganismes selon les recommandations de l'EFSA, c'est-à-dire visant à mettre en évidence 95 % d'identité sur une séquence d'au moins 200 pb et la présence d'au moins deux régions de similarité entre l'insert Bt11 et une séquence de microorganisme donnée. Des homologies ont été recherchées entre la séquence de l'insert et les banques de données NCBI (décembre 2017) concernant les génomes microbiens, les plasmides et les bactériophages (Appendix 2.3.2-08_BLASTN microbial_Bt11).

Selon le document Appendix 2.3.2-08_BLASTN microbial_Bt11, les résultats des recherches effectuées avec la base de données « NCBI *complete microbial genomes* » mettent en évidence des homologies répondant aux critères de l'EFSA avec deux accessions, l'une de *Mycoplasma mycoides* sbsp. capri str. GM12 et l'autre de *Bacillus subtilis* BSn5. Avec la base de données « NCBI *representative plasmids* », des alignements sont observés avec *Escherichia coli* (4 accessions), *Bacillus cereus* (1 accession) et *Staphylococcus aureus* (2 accessions). Ce résultat est en contradiction avec le texte figurant dans le document principal du dossier, qui indique (*Part II Scientific info, Main Text_EFSA-GMO-RX002, p. 17*) :

> *"The results of these analyses returned no alignments that met the threshold of 95% identity in alignments of at least 200 base pairs in length and at least two regions of similarity between the Bt11 insert and a microbial sequence."*

L'analyse est toutefois approfondie dans le document Appendix 2.3.2-08_BLASTN microbial_Bt11. Pour chacune de ces accessions, les régions d'homologie identifiées correspondent à des séquences provenant du plasmide pUC18, localisées de part et d'autre de la cassette d'expression de *cry1Ab* (comprenant le promoteur 35S, le gène *cry1Ab* et le terminateur NOS). Le pétitionnaire a évalué la probabilité d'un transfert horizontal de la cassette d'expression de *cry1Ab* chez ces bactéries par double recombinaison homologue. La région qui sépare les deux zones d'homologie avec des séquences de chacune de ces accessions étant supérieure à 3.100 pb dans l'insert Bt11, le pétitionnaire a considéré, sur la base de données bibliographiques (Kung et al., 2013), qu'une double recombinaison était improbable (Le CS du HCB souligne que la publication citée concerne l'efficacité de recombinaison dans *Xylella fastidiosa*, et que les données rapportées ne peuvent être extrapolées à toutes les autres bactéries).

Même si le pétitionnaire considère qu'un transfert de la cassette d'expression de *cry1Ab* par double recombinaison homologue dans des bactéries serait improbable, il en a toutefois analysé les conséquences. Le niveau d'expression attendu de ce gène serait limité en raison de l'optimisation des codons selon l'usage privilégié chez le maïs, et de la présence d'un promoteur 35S de virus de plante et d'un intron, inadaptés à une expression en système procaryote. Par ailleurs, le gène *cry1Ab* étant originaire d'une bactérie appartenant au genre *Bacillus*, naturellement présente dans l'environnement, son transfert hypothétique conduirait tout au plus à une augmentation négligeable d'exposition environnementale à la toxine, sans constituer de nouveau risque pour l'environnement. Le CS du HCB s'accorde avec ces conclusions du pétitionnaire.

Par ailleurs, le CS du HCB s'interroge sur le fait que l'analyse bioinformatique réalisée par le pétitionnaire n'ait pas identifié d'homologies avec les séquences du gène *cry1Ab* de *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-1, et du gène *pat* de *Streptomyces viridochromogenes* intégrées dans la construction. Il est possible que l'optimisation de la séquence des codons selon l'usage

privilégié chez le maïs diminue les pourcentages d'homologie sous le seuil considéré par le pétitionnaire de 95 % sur des longueurs de 200 pb. Le pétitionnaire pourrait-il apporter plus d'information concernant ces alignements ? Enfin, le document Appendix 2.3.2-08_BLASTN microbial_Bt11 rapporte, entre autres, des alignements avec un plasmide de *Bacillus thuringiensis* CT43 avec un taux de 98 % sur 290 pb. Le pétitionnaire pourrait-il expliquer pourquoi ces alignements ne sont pas considérés dans l'analyse d'homologies avec l'insert ?

Dans tous les cas, si un transfert des transgènes *cry1Ab* et *pat* se réalisait, respectivement dans *Bacillus thuringiensis* et *Streptomyces viridochromogenes*, le mécanisme de recombinaison mis en jeu entraînerait le remplacement d'un allèle fonctionnel d'une bactérie indigène par un allèle possiblement associé au promoteur de la construction, dont l'expression dans un organisme procaryotique serait faible voire nulle, rendant ainsi l'allèle non fonctionnel. Même en cas de fonctionnalité, les conséquences seraient neutres.

Enfin, le transfert par recombinaison illégitime dans d'autres bactéries, événement encore plus rare, serait soumis aux mêmes limites d'expression qu'indiqué précédemment, et même en cas d'expression non négligeable, les conséquences pour la structure taxonomique du microbiote de l'écosystème considéré et son fonctionnement seraient négligeables.

Plus généralement, concernant les recommandations de l'EFSA sur les recherches de similarité de séquence pour l'évaluation de transfert de gènes horizontaux de plantes aux microorganismes, le CS du HCB souhaiterait émettre les remarques suivantes :

S'il est vrai que les transferts horizontaux sont favorisés par (1) la possibilité d'une double recombinaison homologue, (2) une similarité la plus parfaite possible sur les zones d'homologie encadrant le fragment considéré, (3) une longueur des zones d'homologie adaptée à la recombinaison chez les bactéries receveuses, et (4) une distance entre ces zones d'homologie adaptée aux bactéries receveuses (il n'y a pas de règle générale), il n'en reste pas moins vrai que des transferts horizontaux restent possibles (1) en présence d'une zone d'homologie unique, soit par une recombinaison homologue unique (et ajout d'une séquence au lieu de remplacement d'une séquence dans le génome receveur), soit par une double recombinaison homologue sur une zone d'homologie suffisamment longue pour que les recombinaisons aient lieu aux deux extrémités de cette zone, et (2) à un niveau de similarité inférieur, pour des recombinaisons dites homéologues, voire même illégitimes (Meier and Wackernagel, 2003), même si la probabilité de réalisation du transfert décroît avec le degré de similarité, sans qu'on sache s'il existe un seuil de similarité sous lequel les recombinaisons deviendraient impossibles, et sachant que d'éventuels mésappariements ont un impact différent selon leur répartition dans la zone d'homologie. Il est également notable que la probabilité de transferts horizontaux varie aussi selon les régions génomiques concernées de la bactérie, plus ou moins propices à la recombinaison (Fall et al., 2007; Ray et al., 2009).

Ainsi, les seuils de 95 % d'identité sur un fragment de 200 pb minimum, et la répétition d'une zone d'homologie, recommandés par l'EFSA, semblent arbitraires et trop radicaux pour entraîner des conclusions tranchées dans un sens ou dans l'autre concernant la possibilité d'un transfert de gène.

Même s'il examine les différents facteurs pouvant favoriser le transfert à des microorganismes d'une séquence d'origine bactérienne présente dans une cassette d'expression génique d'une PGM, le CS du HCB analyse systématiquement les conséquences que pourraient avoir un tel transfert s'il venait à se réaliser. En effet, à l'échelle d'une culture au champ, considérant le volume de sol concerné et le fait que l'on trouve de l'ordre de 1 milliard de bactéries par gramme de sol, on ne peut exclure qu'un événement de probabilité infime ne se réalise.

2.3.3. Additional documents or studies performed by or on behalf of the applicant

Le 18 octobre 2018, le pétitionnaire a transmis à l'EFSA un nouveau document rapportant de nouvelles données expérimentales en lien avec l'analyse moléculaire, concernant, entre autres, la vérification de la séquence de l'insert Bt11. Le document « 2.3.1.-1_Annex 2_List of Studies - Bt11_new » indique, d'après le rapport d'une étude de 2012, p. 4-5 :

> *"The DNA sequence analysis demonstrated that the Bt11 insert was intact, there were no nucleotide differences between the insert and the transformation fragment, and the organization of the genetic elements within the insert, as present in plasmid pZO1502, was maintained. The NotI restriction sites used to create the transformation fragment, and two additional base pairs (bp), adjacent to the NotI restriction site, were not transferred into Bt11 maize."*

Ce paragraphe semble contradictoire en lui-même, indiquant d'abord que l'insert est intact puis qu'il ne l'est pas, comparé au fragment d'ADN utilisé pour la transformation, les sites *Not*I ayant été délétés ainsi que 2 pb supplémentaires situées à l'une des extrémités du fragment *Not*I.

Si le CS du HCB considère que ces modifications ne devraient pas affecter les cassettes d'expression des gènes *cry1Ab* et *pat*, il souhaiterait néanmoins que le pétitionnaire rapporte les données et rédige ses conclusions d'une manière plus rigoureuse.

4. Monitoring plan and proposal improving the conditions of the original authorisation

Aucun effet adverse n'ayant été rapporté pendant les dix ans de commercialisation du maïs Bt11 dans l'Union européenne, aucune modification n'a été proposée par rapport au plan de surveillance initial (à part une mise à jour de format). Le plan de surveillance post-commercialisation est conforme aux exigences réglementaires.

Le CS du HCB s'accorde avec l'approche de surveillance générale proposée par le pétitionnaire. Toutefois, il recommande au pétitionnaire de se rapprocher des différents opérateurs locaux manipulant le maïs Bt11 pour insister sur les mesures appropriées à prendre pour éviter ou limiter le risque d'un échappement accidentel : bâchage des camions de transport, examen *a posteriori* des voies empruntées par les engins de transport entre le lieu d'importation et le lieu de stockage ou de transformation pour d'éventuels traitements mécaniques ou chimiques (autres que glufosinate d'ammonium) sur les bas-côtés de ces voies en cas d'échappement de grains. Les mesures de surveillance devront être adaptées au contexte spécifique de chaque Etat membre, prenant notamment en compte les régions où des populations de téosintes ont été signalées.

Après dix ans de surveillance post-commercialisation du maïs Bt11 sans signalisation d'effet adverse, certains experts s'interrogent sur la proportionnalité entre les risques encourus et les moyens engagés pour la surveillance, sur la pertinence de maintenir ce niveau de surveillance pour les dix années de commercialisation à venir, et sur l'opportunité de réviser la réglementation en vigueur.

3. Bibliographie

Arvalis (2013). Téosinte, une adventice qui demande une vigilance toute particulière, pp. 4.

Devos, Y., Ortiz-Garcia, S., Hokanson, K.E., and Raybould, A. (2018). Teosinte and maize x teosinte hybrid plants in Europe — Environmental risk assessment and management implications for genetically modified maize. Agric Ecosyst Environ *259*, 19-27.

EC (2003). Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed. Official Journal of the European Union *L268*, 1-23.

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

EFSA (2010b). Scientific Opinion on the assessment of allergenicity of GM plants and microorganisms and derived food and feed. EFSA Journal *8*, 168 pp.

EFSA (2011). Scientific opinion on guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. EFSA Journal *9 (5): 2150*, 37 pp.

EFSA (2013). EFSA guidance on the submission of applications for authorisation of genetically modified plants under Regulation (EC) No 1829/2003. EFSA Journal *11(12):3491*, 21 pp.

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

EFSA (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 *2016:EN-1094*.

EFSA, Devos, Y., Guajardo, I.M., Glanville, J., and Waigmann, E. (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, 48 pp.

Fall, S., Mercier, A., Bertolla, F., Calteau, A., Gueguen, L., Perriere, G., Vogel, T.M., and Simonet, P. (2007). Horizontal gene transfer regulation in bacteria as a "Spandrel'' of DNA repair mechanisms. Plos One *2*.

HCB (2016). Avis HCB-2016.03.17 du Comité scientifique du HCB relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié 1507x59122 à des fins de culture, d'importation, de transformation et d'alimentation humaine et animale (dossier EFSA-GMO-NL-2005-28). Disponible sur http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr. (Paris), pp. 73.

Kung, S.H., Retchless, A.C., Kwan, J.Y., and Almeida, R.P.P. (2013). Effects of DNA size on transformation and recombination efficiencies in *Xylella fastidiosa*. Appl Environ Microbiol *79*, 1712-1717.

Meier, P., and Wackernagel, W. (2003). Mechanisms of homology-facilitated illegitimate recombination for foreign DNA acquisition in transformable *Pseudomonas stutzeri*. Mol Microbiol *48*, 1107-1118.

Pardo, G., Cirujeda, A., Betrán, E., Fernández-Cavada, S., Fuertes, S., Rodríguez, E., Perdiguer, A., Aibar, J., and Zaragoza, C. (2014). El Teosinte (Zea mays, spp.) In Informaciones Técnicas GIoberno del Aragone (Dirección General De Alimentación Y Fomento Agroalimentario, Centro de Sanidad y Certificacion Vegetal), pp. 6.

Pardo, G., Fuertes, S., Fernández-Cavada, S., Betrán, E., Cirujeda, A., Marí, A.I., Aibar, J., Zaragoza, C., Perdiguer, A., Llenes, J.M*., et al.* (2015). Presencia de teosinte (Zea spp.) como mala hierba en los regadíos del valle del Ebro. In XV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología: La Malherbología y la transferencia tecnológica, Junta de Andalucia ed, (Sevilla, 19 - 22 octubre 2015), pp. 417-423.

Ray, J.L., Harms, K., Wikmark, O.G., Starikova, I., Johnsen, P.J., and Nielsen, K.M. (2009). Sexual isolation in *Acinetobacter baylyi* is locus-specific and varies 10,000-fold over the genome. Genetics *182*, 1165-1181.

Trtikova, M., Lohn, A., Binimelis, R., Chapela, I., Oehen, B., Zemp, N., Widmer, A., and Hilbeck, A. (2017). Teosinte in Europe — Searching for the origin of a novel weed. Scientific Reports *7*.

Annexe 1 : Saisine

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
ET DE L'ALIMENTATION

Direction générale de l'alimentation

Service des actions sanitaires en production primaire

Sous direction de la qualité, de la santé et de la protection des végétaux

Bureau des semences et de la protection intégrée des cultures

251, rue de Vaugirard
75732 Paris cedex 15

Monsieur Jean-Christophe PAGÈS
Président du Haut conseil des biotechnologies par intérim
244, boulevard Saint-Germain
75007 PARIS

Paris, le – 4 DEC. 2018

Objet : saisine du Haut conseil des biotechnologies sur un dossier de demande de mise sur le marché d'OGM

Références : saisine HCB – dossier RX-016

Affaire suivie par : Anne Grevet
tél. : 01 49 55 58 25 fax : 01 49 55 59 49
courriel : anne.grevet@agriculture.gouv.fr

Monsieur le Président,

Dans le cadre du règlement 1829/2003 relatif aux denrées alimentaires et aliments pour animaux génétiquement modifiés, l'évaluation des dossiers de demande de mise sur le marché est confiée à l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA). Lorsqu'un dossier est considéré comme valide par l'EFSA, le dossier est mis à disposition des États membres qui disposent de 3 mois pour faire des commentaires.

Le dossier suivant a été déclaré valide par l'EFSA et est soumis à consultation des États membres :

- dossier **EFSA-GMO-RX-016**, concernant le renouvellement de la mise sur le marché du maïs Bt11 pour l'importation, la transformation, l'alimentation humaine et animale.

Les États membres peuvent transmettre leurs commentaires à l'EFSA jusqu'au 4 mars 2019.

Dans cette perspective, j'ai l'honneur de vous demander, par la présente saisine, de bien vouloir procéder à une évaluation de ce dossier afin de proposer des commentaires à transmettre à l'EFSA au plus tard **le 26 février 2019.**

J'appelle votre attention sur le fait que le dossier contient des informations que le pétitionnaire souhaite maintenir confidentielles.

Je vous prie de croire, Monsieur le Président, à l'assurance de ma considération distinguée.

La sous-directrice de la qualité, de la santé et de la protection des végétaux

Anne-Cécile COTILLON

Annexe 2 : Elaboration de l'avis

Cet avis a été élaboré par le CS du HCB à partir de la discussion de rapports d'expertise et d'un projet d'avis en séance du 21 février 2019[10] sous la présidence du Dr Jean-Christophe Pagès et la vice-présidence du Dr Pascal Boireau et du Dr Claudine Franche.

Le CS du HCB est un comité pluridisciplinaire composé de personnalités scientifiques nommées par décret au titre de leur spécialité en relation avec les missions du HCB. Par ordre alphabétique des noms de famille, le CS du HCB est composé de :

Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie-Anne Barny, Pascal Boireau, Thierry Brévault, Bruno Chauvel, Cécile Collonnier, Denis Couvet, Elie Dassa, Barbara Demeneix (démissionnaire), Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Guillermina Hernandez-Raquet, Jamal Khalife, Bernard Klonjkowski, Marc Lavielle, Valérie Le Corre, François Lefèvre, Olivier Lemaire, Didier Lereclus, Rémi Maximilien, Eliane Meurs, Nadia Naffakh, Didier Nègre, Jean-Louis Noyer (démissionnaire), Sergio Ochatt, Jean-Christophe Pagès, Xavier Raynaud, Catherine Regnault-Roger, Michel Renard, Tristan Renault, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Marie-Bérengère Troadec, Bernard Vaissière, Hubert de Verneuil, Jean-Luc Vilotte[11].

Le dossier a été examiné par quatre experts rapporteurs sélectionnés parmi les membres du CS pour leurs compétences dans les disciplines requises pour l'analyse du dossier.

Les membres du CS du HCB remplissent annuellement une déclaration publique d'intérêts. Ils sont également interrogés sur l'existence d'éventuels conflits d'intérêts avant l'examen de chaque dossier. Aucun membre du CS n'a déclaré avoir de conflits d'intérêts qui auraient pu interférer avec l'élaboration de cet avis.

[10] Membres du CS présents et représentés lors de la discussion du projet d'avis en séance du 21 février 2019 : Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Marie-Anne Barny, Pascal Boireau, Cécile Collonnier, Elie Dassa, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Guillermina Hernandez-Raquet, Bernard Klonjkowski, Didier Lereclus, Rémi Maximilien, Didier Nègre, Sergio Ochatt, Jean-Christophe Pagès, Xavier Raynaud, Catherine Regnault-Roger, Michel Renard, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Marie-Bérengère Troadec, Bernard Vaissière, Hubert de Verneuil, Jean-Luc Vilotte.

[11] Composition du CS en vigueur suite au décret de nomination des membres du HCB du 30 décembre 2014, à la loi du 2 décembre 2015, et à l'arrêté du 10 avril 2017 portant nomination des membres du HCB.

Annexe 3 : Commentaires traduits en anglais à destination de l'EFSA

Cette annexe est une compilation des commentaires du HCB sur le dossier EFSA-GMO-xxxxxx traduits en anglais à destination de l'EFSA, prêts à être postés en ligne de manière indépendante par section dans les formulaires du site de l'EFSA.

A3.1. General comments

Preliminary remark:

Two bodies are responsible for assessing this type of application in France: the High Council for Biotechnology (HCB), receiving referrals from the French Ministry of Food and Agriculture (MAA), and the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health and Safety (Anses), receiving referrals from the French Ministry for the Economy and Finance (MEF). Comments on the application's environmental risk assessment are sent by HCB through MAA, and comments on its health risk assessment are sent by Anses through MEF. The two sets of comments are complementary.

Main comments:

The HCB Scientific Committee recognises that the new information supplied by the applicant does not provide evidence of any new risks to the environment. It nevertheless notes the following:

- The updated gene-transfer risk assessment is confusing in that the main text of the renewal application is at variance on this subject with the relevant part of the updated annex, which identifies regions of homology capable in theory of contributing to homologous recombination events that could result in transfer of the *cry1Ab* expression cassette to bacteria. However, the HCB Scientific Committee agrees with the applicant's conclusions, considering that if these unlikely events were to occur, the attendant environmental and health consequences would be negligible;
- Occurrence of teosinte populations compatible with cultivated maize was reported in the European Union during the marketing period. The risk from potential gene transfer from Bt11 maize to teosinte ought now to be taken into account by the applicant;
- Lastly, in general, both the original application and the renewal application refer only to import into temperate regions of the European Union. Yet the European Union also includes outermost regions in tropical zones more conducive to persistence of maize. This is the case for some French overseas departments and regions. The HCB Scientific Committee would like the specific environmental characteristics of these regions to be taken into consideration in safety assessment and monitoring plans for applications for placing on the market of seed from genetically modified plants in the European Union. One alternative would be to exclude these regions from the marketing area.

Additional comments:

Some members of the HCB Scientific Committee have emphasised that a broader study of the consequences for Europe of cultivation of Bt11 maize in exporting third-countries would be desirable, not only in socio-economic terms but also concerning biodiversity. They point out that, under the Convention on Biological Diversity, exporting countries have international responsibilities with regard to threatened species. They suggest that the application should

mention the results of an assessment of the crop's biodiversity impact in producing and exporting countries. In addition, they recommend taking account of how import of this maize influences selection of crops in Europe and therefore the biodiversity resulting from these agrosystem choices.

Lastly, some members of the HCB Scientific Committee have raised the ethical issue of authorising import into the European Union of a commodity whose production in the exporting countries will entail operators' exposure to a plant protection product (containing glufosinate-ammonium) that has been withdrawn from the French market on health grounds.

A3.2. Comments per section

2. Data requirements

2.2. Post-market monitoring and post-market environmental monitoring reports

The figures given by Syngenta in its annual post-market monitoring reports for import of maize grain (GM and non-GM) by EU Member State and by country of origin raise questions, since the figures given for France do not tally with the figures obtained from local official sources, whether for the quantities imported or for their origin. Moreover, depending on the year, the comments on the tables for import of maize in tons are out by a factor of 1,000.

The HCB Scientific Committee is surprised that the latest monitoring reports do not mention the occurrence of teosinte populations compatible with cultivated maize, recently reported in Spain[1] (Pardo et al., 2014; Pardo et al., 2015) and France[1] (Arvalis, 2013), in terms of the attendant risk of potential gene transfer from GM maize to teosinte (Devos et al., 2018; EFSA, 2016; HCB, 2016; Trtikova et al., 2017).

1. Centro de Sanidad y Certificacíon Vegetal, Gobierno de Aragon, *Informaciones fitosanitarias*, septiembre 2014, https://www.aragon.es/estaticos/GobiernoAragon/Departamentos/AgriculturaGanaderiaMedioAmbiente/TEMAS_AGRICULTURA_GANADERIA/Areas/03_Sanidad_Vegetal/PUBLICACIONES_CSCV/I_F_TEOSINTE.pdf.

2. Arvalis, 2013; Deux-Sèvres Chamber of Agriculture, http://www.agri79.com/actualites/teosinte-la-teosinte-exige-une-vigilance-toute-particuliere:JFNK3KKU.html

Arvalis (2013). Téosinte : une adventice qui demande une vigilance toute particulière. In: Information technique du Service Communication Marketing Arvalis, Institut du végétal. Paris, 1-4.

Devos, Y., Ortiz-Garcia, S., Hokanson, K.E., and Raybould, A. (2018). Teosinte and maize x teosinte hybrid plants in Europe — Environmental risk assessment and management implications for genetically modified maize. Agric Ecosyst Environ *259*, 19-27.

EFSA (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 *2016:EN-1094*.

HCB (2016). Avis HCB-2016.03.17 du Comité scientifique du HCB relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié 1507x59122 à des fins de culture, d'importation, de transformation et d'alimentation humaine et animale (dossier EFSA-GMO-NL-2005-28). Available at: http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr. (Paris), pp. 73.

Pardo, G., Cirujeda, A., Betrán, E., Fernández-Cavada, S., Fuertes, S., Rodríguez, E., Perdiguer, A., Aibar, J., and Zaragoza, C. (2014). El Teosinte (Zea mays, spp.) In Informaciones Técnicas GIoberno del Aragone (Dirección General De Alimentación Y Fomento Agroalimentario, Centro de Sanidad y Certificacion Vegetal), pp. 6.

Pardo, G., Fuertes, S., Fernández-Cavada, S., Betrán, E., Cirujeda, A., Marí, A.I., Aibar, J., Zaragoza, C., Perdiguer, A., Llenes, J.M. *et al.* (2015). Presencia de teosinte (Zea spp.) como mala hierba en los regadíos

del valle del Ebro. In XV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología: La Malherbología y la transferencia tecnológica, Junta de Andalucia ed, (Sevilla, 19 - 22 octubre 2015), pp. 417-423.

Trtikova, M., Lohn, A., Binimelis, R., Chapela, I., Oehen, B., Zemp, N., Widmer, A., and Hilbeck, A. (2017). Teosinte in Europe — Searching for the origin of a novel weed. Scientific Reports *7*.

2.3. New information

2.3.1. Systematic search and evaluation of literature

A review of scientific literature and new data relating to Bt11 maize has been conducted, covering a period of 10 years (January 2008 to September 2018). The Medline, Agricola, CAB Abstracts, Biosis, Toxcenter, FSTA, Frosti, Polluab, AquaSci, Biotechno, Esbiobase, Bioeng, Aqualine and Embase databases were searched. According to the application, searches were made on terms linked to Bt11, Cry1Ab and PAT. In all, 2,029 papers were retrieved from the databases, and over a hundred were studied in depth. No papers showed any new environmental or health risks. The HCB Scientific Committee notes that insect-resistance search terms have not been used since 2011. Moreover, target organisms do not seem to have been included in the criteria for the literature review. The HCB Scientific Committee has doubts regarding the applicant's coverage of papers on insect resistance to the Cry1Ab toxin.

2.3.2. Updated bioinformatics

- *Analysis of flanking regions*

The new analyses of flanking regions, dating from March 2018, are still confined to 352 bp of the 5' upstream and 540 bp of the 3' downstream genomic sequences flanking the insert. The HCB Scientific Committee notes that the applicant has not widened sequencing to cover 1,000 bp for each of these regions, as recommended by EFSA in order clearly to determine whether endogenous genes have been interrupted (EFSA, 2015).

The analyses using the most recent NCBI databases have confirmed the presence of repetitive maize sequences on either side of the insertion site that could be knob or repetitive heterochromatin sequences (Appendices 2.3.2-01_BLASTN_Bt11; 2.3.2-02_BLASTN_Bt11; 2.3.2-03_BLASTX_Bt11). None of the alignments found showed homology with known maize coding or regulatory sequences at the insertion site. On balance, the HCB Scientific Committee believes that this analysis is enough to rule out disruption of maize regulatory sequences or genes by the insert.

- *Analysis of horizontal gene transfer*

The applicant has carried out an assessment to determine the possibility of homologous recombination between the insert and microbial DNA sequences in line with EFSA guidance, i.e. to show 95% identity over a sequence of at least 200 bp in length and the presence of at least two regions of similarity between the Bt11 insert and a particular microbial sequence. Screening was carried out for homology between the insert sequence and DNA sequences in the NCBI databases (December 2017) for microbial genomes, plasmids and bacteriophages (Appendix 2.3.2-08_BLASTN microbial_Bt11).

According to Appendix 2.3.2-08_BLASTN microbial_Bt11, the search results from the NCBI Complete Microbial Genomes database show homology meeting the EFSA criteria for two accession numbers, one for *Mycoplasma mycoides* sbsp. capri str. GM12 and the other for *Bacillus subtilis* BSn5. In the NCBI Representative Plasmids database, alignments were found with *Escherichia coli* (four accession numbers), *Bacillus cereus* (one accession number) and

Staphylococcus aureus (two accession numbers). This is at variance with the application's main text, where it is stated (*Part II Scientific info, Main Text_EFSA-GMO-RX002, p. 17*):

> *'The results of these analyses returned no alignments that met the threshold of 95% identity in alignments of at least 200 base pairs in length and at least two regions of similarity between the Bt11 insert and a microbial sequence.'*

However, there is a more detailed analysis in Appendix 2.3.2-08_BLASTN microbial_Bt11. For each of these accession numbers, the regions of homology identified correspond to pUC18 plasmid sequences on either side of the *cry1Ab* expression cassette (comprising the 35S promoter, the *cry1Ab* gene and the NOS terminator). The applicant has assessed the probability of horizontal transfer of the *cry1Ab* expression cassette to these bacteria by double homologous recombination. Since the distance separating the two regions of homology with sequences from each of these accession numbers is over 3,100 bp in the Bt11 insert, the applicant considers, on the basis of bibliographical data (Kung et al., 2013), that double recombination is unlikely (the HCB Scientific Committee notes that the paper cited concerns recombination efficiency in *Xylella fastidiosa* and that the data reported cannot be extrapolated to all other bacteria).

Even if the applicant considers transfer of the *cry1Ab* expression cassette to bacteria by double homologous recombination to be unlikely, its consequences have nevertheless been examined in the application. This gene could be expected to have a limited level of expression because of codon optimisation according to preferred usage for maize and because of the presence of a 35S plant virus promoter and an intron, which are not suited to expression in a prokaryotic system. Furthermore, since the *cry1Ab* gene comes from a bacterium belonging to the genus *Bacillus*, naturally present in the environment, its hypothetical transfer would at most result in an insignificant increase in environmental exposure to the toxin without constituting a new environmental risk. The HCB Scientific Committee agrees with the applicant's conclusions.

The HCB Scientific Committee questions why the applicant's bioinformatic analysis has identified no homologies with *cry1Ab* gene sequences from *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-1 and with the *pat* gene sequences from *Streptomyces viridochromogenes* inserted in the construct. It is possible that codon optimisation according to preferred usage for maize could reduce identity levels below the applicant's 95% threshold for 200 bp lengths. Could the applicant provide more information on these alignments? Lastly, Appendix 2.3.2-08_BLASTN microbial_Bt11 reports, amongst others, alignments having 98% identity to a CT43 *Bacillus thuringiensis* plasmid over 290 bp. Could the applicant explain why these alignments are not taken into consideration in analysis of homology with the insert?

In any case, if transfer of the *cry1Ab* and *pat* transgenes did occur, in *Bacillus thuringiensis* and *Streptomyces viridochromogenes* respectively, the recombination mechanism involved would lead to replacement of a functional allele from the indigenous bacterium by an allele possibly associated with the construct promoter, whose expression in a prokaryotic organism would be weak or even nil, thus rendering the allele non-functional. Even if it was functional, the consequences would be neutral.

Lastly, transfer to other bacteria by illegitimate recombination, an even rarer event, would encounter the same expression limits as above, and even if expression were to be significant, the consequences for the taxonomic structure of the relevant ecosystem microbiota and their functioning would be negligible.

More broadly, concerning the EFSA guidance on sequence similarity searches for assessment of horizontal gene transfer from plants to microorganisms, the HCB Scientific Committee would like to make the following comments:

While it is true that horizontal transfer is facilitated by (1) the possibility of double homologous recombination, (2) near-perfect similarity over homologous regions flanking the relevant fragment, (3) homologous regions of a length suitable for recombination in recipient bacteria, and (4) a distance between these homologous regions that is suited to recipient bacteria (there is no general rule), the fact remains that horizontal transfer is possible (1) with a single region of homology, either through single homologous recombination (and addition of a sequence instead of a sequence replacement in the recipient genome) or through double homologous recombination over a region of homology long enough for recombination to occur at both ends, and (2) with a lower degree of similarity for what are known as homeologous recombinations, or even illegitimate recombinations (Meier and Wackernagel, 2003), even though the likelihood of transfer diminishes with the degree of similarity, although it is not clear whether there is a threshold beneath which recombination becomes impossible, and bearing in mind that the impact of any mismatches will differ according to their distribution in the region of homology. It is further worth noting that the likelihood of horizontal transfer also varies depending on the relevant genomic regions of the bacteria and the extent to which they facilitate recombination (Fall et al., 2007; Ray et al., 2009).

Thus the threshold of 95% identity for an alignment of at least 200 bp and the repetition of a region of homology, as recommended by EFSA, appear arbitrary and too basic for drawing clear-cut conclusions one way or the other regarding the possibility of gene transfer.

Even though it considers the different factors that could facilitate transfer to microorganisms of a bacterial sequence in a GM plant gene expression cassette, the HCB Scientific Committee systematically examines the consequences that such a transfer might have if it were to occur. In field cultivation, given the volume of soil concerned and the fact that there are some 1 billion bacteria per gramme of soil, even the most unlikely event cannot be ruled out.

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

Fall, S., Mercier, A., Bertolla, F., Calteau, A., Gueguen, L., Perriere, G., Vogel, T.M., and Simonet, P. (2007). Horizontal gene transfer regulation in bacteria as a "Spandrel" of DNA repair mechanisms. Plos One *2*.

Kung, S.H., Retchless, A.C., Kwan, J.Y., and Almeida, R.P.P. (2013). Effects of DNA size on transformation and recombination efficiencies in *Xylella fastidiosa*. Appl Environ Microbiol *79*, 1712-1717.

Meier, P., and Wackernagel, W. (2003). Mechanisms of homology-facilitated illegitimate recombination for foreign DNA acquisition in transformable *Pseudomonas stutzeri*. Mol Microbiol *48*, 1107-1118.

Ray, J.L., Harms, K., Wikmark, O.G., Starikova, I., Johnsen, P.J., and Nielsen, K.M. (2009). Sexual isolation in *Acinetobacter baylyi* is locus-specific and varies 10,000-fold over the genome. Genetics *182*, 1165-1181.

2.3.3. Additional documents or studies performed by or on behalf of the applicant

On 18 October 2018, the applicant sent EFSA a new document reporting fresh experimental data for molecular characterisation, including, amongst other things, verification of the Bt11 insert sequence. Document 2.3.1.-1_Annex 2_List of Studies -Bt11_new states on pp. 4/5, in a report on a 2012 study:

> *'The DNA sequence analysis demonstrated that the Bt11 insert was intact, there were no nucleotide differences between the insert and the transformation fragment, and the organization of the genetic elements within the insert, as present in plasmid pZO1502, was maintained. The* NotI *restriction sites used to create the transformation fragment, and two additional base pairs (bp), adjacent to the* NotI *restriction site, were not transferred into Bt11 maize.'*

This paragraph seems self-contradictory, first stating that the insert was intact and then that it was not, compared to the DNA fragment used for the transformation, since the *Not*I sites were deleted together with two additional base pairs at one end of the *Not*I fragment.

While the HCB Scientific Committee considers that these modifications ought not to affect the *cry1Ab* and *pat* gene expression cassettes, it would nevertheless like the applicant to report the data and formulate its conclusions more meticulously.

4. Monitoring plan and proposal improving the conditions of the original authorisation

Since no adverse effects have been reported during the ten years of Bt11 maize marketing in the European Union, no changes to the original monitoring plan have been proposed (other than updating the format). The post-market monitoring plan meets regulatory requirements.

The HCB Scientific Committee agrees with the general surveillance approach proposed by the applicant. However, it advises the applicant to contact the various local operators handling Bt11 maize in order to call their attention to appropriate steps for preventing or limiting accidental release: sheeting of haulage lorries, subsequent inspection of routes used by haulage units between place of import and storage/processing sites for possible mechanical or chemical treatment (other than with glufosinate-ammonium) of road verges in the event of spillage. Monitoring measures should be adapted to the specific context in each Member State, taking particular account of regions where teosinte populations have been reported.

After ten years of post-market monitoring of Bt11 maize without any adverse effects having been reported, some experts have asked whether the resources committed to monitoring are commensurate with the risks involved, whether it is appropriate to maintain this level of monitoring for the next ten years of marketing and whether it might be advisable to review current regulations.