

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 17 septembre 2024

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché
au titre du Règlement (CE) n°1829/2003, de denrées alimentaires et d'aliments
pour animaux produits à partir de la betterave sucrière génétiquement modifiée
KWS20-1 développée pour être tolérante à plusieurs substances herbicides
(dicamba, glufosinate-ammonium et glyphosate), pour l'importation ainsi que
l'utilisation en alimentation humaine et animale de ces produits**

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux, l'évaluation des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles des aliments et, en évaluant l'impact des produits réglementés, la protection de l'environnement.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du Code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 24 octobre 2023 par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) pour la réalisation de l'expertise suivante : « Demande d'avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM), au titre du Règlement (CE) n°1829/2003, de denrées alimentaires et d'aliments pour animaux produits à partir de la betterave sucrière génétiquement modifiée KWS20-1 développée pour être tolérante à plusieurs substances herbicides (dicamba, glufosinate-ammonium et glyphosate), pour l'importation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de ces produits transformés (dossier de la Commission n° GMFF-2023-14732) ».

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Conformément au Règlement (CE) n° 1829/2003, notamment aux articles 6 et 18, l'Autorité européenne de sécurité des aliments – *European Food Safety Authority* (EFSA) – est chargée de procéder à l'évaluation des dossiers concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux génétiquement modifiés et de rendre un avis à la Commission européenne.

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

Cette demande porte uniquement sur les produits issus de la transformation de la betterave génétiquement modifiée KWS20-1, nommés ci-après "produits transformés". En conséquence, l'évaluation environnementale n'est pas requise pour cette demande qui ne vise pas à autoriser la betterave génétiquement modifiée KWS20-1 en tant que telle.

Le Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013 s'applique pour ce dossier.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Janvier 2024) ».

Depuis le 1^{er} février 2024, le GT PGM rattaché au CES « Biotechnologies » prend en charge l'évaluation des risques sanitaires et environnementaux liés à des demandes d'autorisation de plantes génétiquement modifiées (PGM). Le mandat du GT « Biotechnologie » ayant pris fin le 31 janvier 2024, l'expertise collective de cette saisine a été poursuivie par le GT PGM, sur la base des précédents travaux.

L'expertise collective a été réalisée par le GT « Biotechnologie » réuni le 20 décembre 2023 et par le GT PGM réuni les 8 février et 13 juin 2024, sur la base de rapports initiaux rédigés par cinq rapporteurs. Elle a été conduite en se basant sur les documents guides de l'EFSA et du panel GMO de l'EFSA ainsi que sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts des GT « Biotechnologie » et GT PGM.

Les commentaires du GT « Biotechnologie » sur le dossier initial ont été examinés et validés lors de la réunion du 20 décembre 2023 et transmis à la DGAI le 24 janvier 2024 (cf. annexe 1), afin de permettre aux autorités françaises de participer à la consultation des États-membres organisée par l'EFSA.

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

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

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT PGM

La betterave sucrière est essentiellement cultivée dans les régions chaudes et tempérées, jusqu'à la récolte des racines. En 2022, les dix premiers pays producteurs de betterave sucrière étaient la Russie, la France, les USA, l'Allemagne, la Turquie, la Pologne, l'Égypte, l'Ukraine, la Chine et les Pays-Bas qui représentaient environ 81 % de la production mondiale (FAOStat¹). La production mondiale était d'environ 261 millions de tonnes sur une surface récoltée de 4 millions d'hectares (dont 103 451 320 tonnes pour une surface cultivée de 1 426 060 hectares dans l'Union européenne).

La betterave sucrière est une plante bisannuelle appartenant à la famille des *Chenopodiaceae*. La première année, la plante se développe de la germination de sa graine jusqu'à la formation d'une racine. Cette racine est récoltée pour la production de saccharose. Si la plante est maintenue en terre une seconde année, une tige florifère pousse et produit des graines.

La racine de betterave sucrière est composée (en pourcentage de matière sèche) de 65 à 70 % de saccharose. Il s'agit du principal produit obtenu à partir de la betterave sucrière. Le saccharose est destiné majoritairement à l'alimentation humaine.

Les co-produits suivants, issus de la production de ce sucre, sont destinés majoritairement à l'alimentation animale :

- les mélasses, riches en saccharose (43 à 50 %) et en protéines (7 à 11 %) ;
- les pulpes contenant principalement des carbohydrates (5 à 10 % de saccharose, 15 à 21 % de fibres totales) et des protéines (7 à 10 %).

Les parties aériennes de la betterave (feuilles et collet, « tops ») peuvent aussi être utilisées dans l'alimentation animale.

La betterave sucrière KWS20-1 est issue d'une variété de l'espèce *Beta vulgaris ssp vulgaris* var *Altissima* qui a été génétiquement modifiée afin d'introduire dans son génome les cassettes d'expression portant les gènes *dmo*, *CP4 epsps* et *pat*, codant respectivement une dicamba mono-oxygénase (protéine DMO), une 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (protéine CP4 EPSPS) et une phosphinothricine N-acétyltransférase (protéine PAT) qui lui confèrent respectivement une tolérance aux substances herbicides dicamba, glyphosate et glufosinate-ammonium.

Les modes d'action de ces trois nouvelles protéines exprimées dans la plante traitée, sont les suivants :

- la protéine DMO catalyse la déméthylation du dicamba en acide 3,6-dichlorosalicylique, non phytotoxique, et en formaldéhyde ;
- la protéine CP4 EPSPS n'est pas sensible à l'inhibition induite par le glyphosate, et permet à la plante de continuer à produire des acides aminés aromatiques ;
- la protéine PAT acétyle le glufosinate-ammonium en N-acétyl L-glufosinate (NAG), non phytotoxique.

Ce dossier correspond à une première demande d'autorisation de mise sur le marché au titre du Règlement (CE) n°1829/2003, pour l'importation de denrées alimentaires et d'aliments pour animaux produits à partir de la betterave sucrière génétiquement modifiée KWS20-1, donc des

¹ <http://www.fao.org/faostat/en/#home>

« produits transformés ». Il ne concerne pas la mise en culture de la betterave sucrière KWS20-1.

Il convient de rappeler que, comme toutes les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine et les aliments destinés à l'alimentation animale dans l'Union européenne (UE), les denrées alimentaires et aliments pour animaux produits à partir de la betterave sucrière génétiquement modifiée KWS20-1 seraient entre autres, soumis à une limite maximale pour les résidus (LMR) de produits phytopharmaceutiques afin de protéger la santé humaine et animale (Règlement (CE) n°396/2005).

1. Identification et caractérisation des dangers

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

La demande d'AMM porte uniquement sur l'importation de produits transformés issus de la betterave sucrière KWS20-1, destinés à l'alimentation humaine et animale. La betterave sucrière KWS20-1 ne sera pas importée en tant que telle pour transformation en Europe, ni cultivée. En conséquence, les caractéristiques relatives à la dispersion des graines et du pollen de la betterave sucrière, à la pollinisation et au risque de flux de gènes de plante à plante n'ont pas été considérées dans cet avis.

1.2 Caractérisation moléculaire

1.2.1 Informations concernant la modification génétique

La betterave sucrière KWS20-1 est issue d'une variété de l'espèce *Beta vulgaris ssp vulgaris* var *Altissima* qui a été génétiquement modifiée afin d'introduire dans son génome les cassettes d'expression portant les gènes :

- *dmo*, issu de la bactérie *Stenotrophomonas maltophilia*,
- *CP4 epsps*, issu de la bactérie *Agrobacterium* sp. souche CP4,
- *pat*, issu de la bactérie *Streptomyces viridochromogenes*.

Le pétitionnaire indique que la protéine DMO présente l'insertion d'une lysine à l'extrémité N terminale en comparaison de la séquence protéique de la bactérie *Stenotrophomonas maltophilia*.

La transformation génétique par *Agrobacterium tumefaciens* à l'origine de la betterave sucrière KWS20-1 a été réalisée avec la betterave parentale de fond génétique 04E05B1DH05. Des hypocotyles sectionnés de betterave ont été co-cultivés avec la souche d'*Agrobacterium tumefaciens* contenant le vecteur portant l'ADN-T. Après une étape d'embryogénèse indirecte *in vitro* en présence de la timentine (élimination des *A. tumefaciens* résiduelles) et sur milieu sélectif avec du glufosinate-ammonium, des embryons somatiques de betterave génétiquement modifiée ont été sélectionnés pour régénérer des plantules entières.

1.2.2 Informations concernant la plante génétiquement modifiée

Le pétitionnaire présente l'arbre de sélection de la betterave sucrière KWS20-1 depuis la betterave de fond génétique 04E05B1DH05.

Le locus d'insertion et les séquences insérées présentes dans le génome de la betterave sucrière KWS20-1 (génération T2) ont été caractérisés par une combinaison de séquençages directionnels et de Southern blot en utilisant pour témoin la betterave isogénique non

génétiqnement modifiée. Le pétitionnaire détermine une insertion unique des séquences génétiques attendues et n'identifie pas de séquence ADN du vecteur en dehors de celles souhaitées.

Le séquençage de l'insert complet et des régions flanquantes en 5' et en 3' du site d'insertion présent dans la betterave sucrière KWS20-1 a été réalisé. Le séquençage de la région génomique correspondante pour le témoin 04E05B1DH05 a aussi été effectué. Le pétitionnaire montre une identité de séquence de l'insert avec les séquences attendues provenant du plasmide, une délétion de quelques bases d'ADN génomique au site d'insertion de l'ADN-T ainsi que l'absence d'interruption de gènes endogènes à cette insertion dans le génome de la betterave sucrière KWS20-1.

Les analyses bio-informatiques des cadres ouverts de lecture (ORF) potentiels au niveau des jonctions et de l'insert dans la betterave sucrière KWS20-1 ont porté sur les six cadres de lecture possibles. Des analyses *in silico* ont été effectuées dans des bases de données actualisées en 2022 à la recherche d'identité avec des allergènes (AD-2022 et FCD-2022) et des toxines (Tox-2022 et PRT-2022). Les analyses des ORF ne révèlent pas d'identité biologiquement significative totale, globale ou locale avec des protéines toxiques ou allergiques connues.

En 2020, la betterave sucrière KWS20-1 a été cultivée sur cinq sites aux États-Unis avec ou sans traitement par les trois préparations herbicides d'intérêt à base de dicamba, glyphosate et glufosinate-ammonium. Les teneurs en protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT dans la plante, ont été quantifiées par des tests ELISA, à trois stades de développement, pour des tissus issus de plantes traitées avec les trois herbicides d'intérêt :

- feuilles et racines au stade juvénile, développement des feuilles (stade 1 = BBCH² 17-18),
- feuilles et racines au stade de croissance en rosette (stade 3 = BBCH 32-39),
- feuilles et collets (« tops ») et racines au stade de la récolte (stade 4, BBCH 49).

Les teneurs des trois protéines ont aussi été quantifiées pour des betteraves sucrières KWS20-1 n'ayant pas reçu le traitement avec les herbicides d'intérêt, mais seulement pour les feuilles et collets (« tops ») et les racines au stade de la récolte (stade 4, BBCH 49).

Après ajustement avec les pourcentages d'efficacité d'extraction pour chaque protéine, les teneurs moyennes les plus élevées dans la betterave sucrière KWS20-1, traitée avec trois préparations herbicides d'intérêt à base de dicamba, glyphosate et glufosinate-ammonium, sont retrouvées dans les feuilles juvéniles pour les trois protéines nouvellement exprimées : 141,3, 592 et 25,4 µg/g de matière sèche (MS) respectivement pour les protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT.

Le tableau 1 présente les teneurs en protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT mesurées dans les feuilles et collets (« tops ») et les racines, les deux parties de la plante à l'origine de produits consommés en alimentation humaine ou animale.

² Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie. BBCH scale used to identify growth stages.

Tableau 1 : Teneurs ($\mu\text{g/g}$ de MS) en protéines exogènes ajustées avec les pourcentages d'efficacité d'extraction pour chaque protéine, dans les feuilles et collets (« tops ») et les racines (stade BBCH 49) de betterave sucrière KWS20-1, traitée ou non avec les trois préparations herbicides d'intérêt (dicamba, glyphosate et glufosinate-ammonium).

| | Conditions de traitement (dicamba, glyphosate et glufosinate-ammonium) | Teneurs exprimées en $\mu\text{g/g}$ de matière sèche \pm écart-type | | |
|-----------------------------------|--|---|---------------|--------------------|
| | | DMO | CP4 EPSPS | PAT |
| feuilles et collets (« tops ») | Betterave traitée | 59 \pm 3,5 | 310 \pm 12 | 5,1 \pm 0,45 |
| | Betterave non traitée | 60 \pm 2,9 | 290 \pm 18 | 4,8 \pm 0,36 |
| Racines | Betterave traitée | 12 \pm 0,53 | 100 \pm 5,9 | < LOQ ³ |
| | Betterave non traitée | 11 \pm 0,57 | 110 \pm 3,6 | < LOQ |

L'ensemble des mesures réalisées sur les plantes de cet essai au champ ne met pas en évidence un effet du traitement, par les trois substances herbicides d'intérêt, sur le niveau d'expression des protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT.

La stabilité génétique du locus GM de la betterave sucrière KWS20-1 a été confirmée sur cinq générations (T1, T2, T3, T4 et T5), par deux analyses en Southern blot. L'analyse de ségrégation de l'insert réalisée par Southern blot sur une génération permet de conclure que l'insertion est unique et à hérédité mendélienne.

1.2.4 Conclusions de la caractérisation moléculaire

Le GT PGM considère que les informations disponibles dans ce dossier permettent la caractérisation moléculaire de la betterave sucrière KWS20-1.

1.3 Évaluation comparative

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

La betterave sucrière KWS20-1 est comparé à son témoin quasi-isogénique de même fond génétique (04E05B1DH05). Leurs semences ont été produites dans le même État aux États-Unis en 2019. Le pétitionnaire utilise, en plus, quatorze variétés hybrides commerciales non génétiquement modifiées comme variétés de référence dans les essais.

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

En 2020, la betterave sucrière KWS20-1, son témoin isogénique 04E05B1DH05 et les variétés commerciales (quatre variétés par site) ont été cultivés sur huit sites aux États-Unis. Ces huit sites expérimentaux sont indiqués par le pétitionnaire comme représentatifs de la production de betterave aux États-Unis. Chaque modalité (variété témoin, variétés commerciales et

³ LOQ = limite de quantification

betterave sucrière KWS20-1 traitée ou non avec les trois substances herbicides d'intérêt) a été répétée quatre fois sur chaque site selon un plan d'expérience en blocs randomisés. Pour la variété génétiquement modifiée, deux modalités sont réalisées : soit les plantes subissent les mêmes traitements que les variétés témoins, soit elles reçoivent en plus un traitement avec du dicamba et du glyphosate suivi d'un second traitement avec du glufosinate-ammonium. Le plan expérimental correspond aux recommandations de l'EFSA (EFSA, 2015).

Des échantillons de feuilles et collets (« tops ») et de racines ont été récoltés sur les 8 sites d'essais. Les analyses phénotypiques et agronomiques, et de composition ont été réalisées sur tous les sites.

Les caractéristiques agronomiques, phénotypiques et de composition ont fait l'objet d'une analyse statistique. La betterave sucrière KWS20-1 (traitée ou non avec les trois substances herbicides d'intérêt) est comparée à la variété témoin isogénique par des tests de différence et aux variétés commerciales de référence par des tests d'équivalence. L'erreur de type 1 retenue par le pétitionnaire est de 10 % pour les tests de différence et de 5 % pour les tests d'équivalence.

Le modèle statistique utilisé est un modèle linéaire à effets mixtes incluant :

- un effet fixe « génotype », distinguant la betterave sucrière KWS20-1 traitée ou non avec les trois substances herbicides, la variété témoin isogénique non transgénique ou les variétés commerciales de référence.
- des effets aléatoires : « sites », « bloc dans le site » et « variété commerciale ».

Un modèle est également utilisé pour étudier l'interaction génotype/site.

Les résultats des tests statistiques sont interprétés selon l'approche décrite par le Panel GMO de l'EFSA (2010) en classant les variables en quatre catégories selon les résultats des tests d'équivalence et sept types après combinaison avec les résultats des tests de différence.

L'ensemble des modèles et méthodes est décrit dans les annexes. Les données brutes sous format électronique et les programmes de calcul sont fournis.

1.3.3 Sélection du matériel et des composés pour analyse

Le pétitionnaire montre que la capacité de germination des graines de betterave sucrière KWS20-1 est équivalente à celle du témoin quasi-isogénique.

L'analyse de composition a été réalisée sur les feuilles et les collets (« tops ») et les racines. Les composés recherchés et leurs méthodes d'analyse mises en œuvre sont en accord avec le document consensus de l'OCDE (OCDE, 2002), auquel a été ajouté un métabolite secondaire, l'acide oléanolique.

Le GT PGM estime que le matériel végétal utilisé (feuilles et collets (« tops ») et racines) et les composés analysés sont en accord avec le document consensus de l'OCDE (OCDE, 2002).

1.3.4 Analyse comparative de la composition

Trente composés ont été mesurés pour la racine et six pour les feuilles et le collet (« top »). Ces 36 paramètres sont utilisables pour les analyses statistiques.

Le pétitionnaire considère avoir démontré une équivalence entre la composition de la betterave sucrière KWS20-1 et celle des variétés de betterave commerciales.

Dans les racines de betterave sucrière KWS20-1 non traitée avec les trois substances herbicides d'intérêt, l'analyse statistique des teneurs en histidine classe ce composé en type 5 (non équivalence probable avec les variétés de référence et non différence avec la variété quasi-isogénique).

Le GT PGM note que ce résultat obtenu pour l'histidine ne se retrouve pas dans la comparaison avec la betterave sucrière KWS20-1 traitée avec les trois substances herbicides d'intérêt. De plus, les teneurs moyennes en histidine sont de 0,085 % de la masse sèche pour la betterave sucrière KWS20-1 et de 0,083 % de la masse sèche pour la variété quasi-isogénique, et leurs gammes de valeurs minimales et maximales (respectivement 0,062-0,11 et 0,068-0,12 % de la masse sèche).

Le GT PGM considère que cette variation très faible de la teneur en histidine (0,002 % de la masse sèche) n'a pas de signification biologique. Le GT PGM souligne cependant le manque d'argumentation du pétitionnaire sur cette variation.

Pour la betterave sucrière KWS20-1 traitée ou non traitée avec les herbicides d'intérêt, le pétitionnaire indique que les données des teneurs en fibres brutes des feuilles et collets (« tops ») et des racines ainsi que les teneurs en pectine des racines n'ont pas été utilisées pour réaliser des tests d'équivalence en raison d'un manque de variation des teneurs de ces deux composés dans les variétés de référence de betterave sucrière, à partir des échantillons récoltés sur certains des sites d'expérimentation.

Afin de compléter l'analyse comparative de la composition, le GT PGM demande au pétitionnaire de réaliser des tests d'équivalence pour les teneurs en pectine et en fibres brutes avec les données issues des sites d'expérimentation présentant une variation suffisante de ces deux composés dans les variétés de référence, pour pouvoir réaliser ces tests.

1.3.5 Analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques

Les caractéristiques agronomiques et phénotypiques de la betterave sucrière KWS20-1 ont été évaluées sur 8 sites d'expérimentation, en suivant 10 paramètres dont 8 sont utilisables pour les analyses statistiques.

Sur la base de l'analyse des résultats des 8 sites d'expérimentation, le couvert végétal de la betterave sucrière KWS20-1, traitée ou non avec les trois substances herbicides d'intérêt (dicamba, glufosinate ammonium et glyphosate) montre une non-équivalence probable avec les variétés de référence et une différence avec la variété quasi-isogénique (observation de catégorie III type 6) (Efsa, 2010).

Le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir un argumentaire sur la signification biologique de la non-équivalence probable avec les variétés de référence et de la différence avec la variété isogénique, pour la diminution du couvert végétal de la betterave sucrière KWS20-1.

1.3.6 Effets de la transformation

Le pétitionnaire affirme que les produits transformés issus de la betterave sucrière génétiquement modifiée KWS20-1 ne devraient pas être différents de ceux issus de betteraves sucrières non génétiquement modifiées, sans aucune analyse des produits transformés. **Considérant la nature de la transformation, le GT PGM estime qu'il n'est pas attendu de modification de la composition et qu'en conséquence, ces analyses ne sont pas requises.**

1.3.7 Conclusions de l'évaluation comparative

Sur la base des éléments présentés dans le dossier initial, le GT PGM conclut que la betterave sucrière génétiquement modifiée KWS20-1 apparaît équivalente aux variétés commerciales de référence. Le GT PGM demande cependant :

- **pour compléter l'analyse comparative de la composition, de réaliser des tests d'équivalence pour les teneurs en pectine (dans les racines) et en fibres brutes (dans les feuilles et collets (« tops ») et dans les racines) avec les données issues des sites d'expérimentation où les variétés de référence présentent une variation permettant l'analyse statistique de ces deux composés,**
- **pour compléter l'analyse des caractéristiques agronomiques, de fournir un argumentaire sur la signification biologique de la non-équivalence probable avec les variétés de référence et de la différence avec la variété isogénique, pour la diminution du couvert végétal de la betterave sucrière KWS20-1.**

1.4 Toxicologie

1.4.1 Analyse des protéines nouvellement exprimées

La betterave sucrière KWS20-1 exprime trois protéines exogènes : DMO, CP4 EPSPS et PAT. Les données relatives à la sécurité toxicologique des micro-organismes sources (*Stenotrophomonas maltophilia*, *Agrobacterium sp.* souche CP4 et *Streptomyces viridochromogenes*), les recherches bioinformatiques d'identités de séquences entre les protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT et des séquences d'allergènes et de toxines connus, la dégradabilité de ces protéines par les enzymes digestives, la thermosensibilité de ces protéines et les teneurs de ces protéines nouvellement exprimées dans les racines et les feuilles et collets (« tops ») ainsi que leur analyse sont détaillées dans les sections sur la caractérisation moléculaire de la plante génétiquement modifiée (section 1.2.2) et sur l'allergénicité (section 1.5).

Le pétitionnaire se prévaut d'un historique d'utilisation sûre pour les trois protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT, nouvellement exprimées dans la betterave sucrière KWS20-1, mais ne présente pas les principales données toxicologiques existantes sur ces trois protéines. Il n'apporte pas non plus d'argumentaire sur les interactions potentielles entre ces trois protéines.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir un argumentaire sur l'historique des données toxicologiques des protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT ainsi que sur leurs interactions potentielles.

1.4.2 Analyse des nouveaux constituants autres que les protéines

Le pétitionnaire ne fournit pas d'information sur la présence éventuelle de nouveaux composés en dehors des protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT dans la betterave sucrière KWS20-1.

1.4.3 Informations sur les constituants naturels de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux

Aucune analyse n'a été réalisée sur des denrées alimentaires ou des aliments pour animaux dérivés de la betterave sucrière KWS20-1.

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

Une étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours sur le rat a été menée en novembre 2021 selon un protocole s'appuyant sur la ligne directrice OCDE 408 (2018) et les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).

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

- 5 % de pulpe de betterave sucrière de la variété génétiquement modifiée KWS20-1 ;
- 2,5 % de pulpe de betterave sucrière de la variété génétiquement modifiée KWS20-1 complétée avec 2,5 % issue de pulpe de betterave sucrière de la variété isogénique ;
- 5 % de pulpe de betterave sucrière de la variété isogénique.

La betterave sucrière KWS20-1 utilisée dans cette étude a été traitée avec les trois substances herbicides d'intérêt (dicamba, glyphosate et glufosinate-ammonium). Les analyses réalisées sur les aliments distribués aux différents groupes d'animaux montrent qu'ils sont équivalents sur le plan nutritionnel et en termes de teneurs en résidus de contaminants.

Les données individuelles de l'étude sont présentées, mais pour les données historiques, seules celles correspondant aux paramètres statistiquement différents entre les groupes testés et le groupe contrôle sont présentées. De plus, ces données historiques du centre investigateur ne couvrent pas la période de réalisation de l'étude de toxicité sub-chronique conduite avec un aliment contenant de la pulpe de betterave sucrière KWS20-1.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir l'ensemble des données historiques du centre investigateur sur une période de cinq ans, couvrant la période de réalisation de l'étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours sur le rat. Il note également que le nombre de rats est insuffisant par groupe et par régime (16 rats par sexe), par rapport à sa recommandation d'un nombre de 20 mâles et 20 femelles par groupe (Anses, 2011).

Les résultats du dosage de l'hormone T4 montrent une diminution de sa teneur chez les rats mâles et femelles (données combinées) nourris avec un aliment contenant la faible quantité de pulpe de betterave KWS20-1 (2,5 %). Les poids des organes thyroïdiens (en poids absolu et relatif /poids total) des rats femelles consommant des aliments contenant la faible (2,5 %) ou la forte teneur (5 %) de pulpe de betterave KWS20-1 sont statistiquement inférieurs à ceux des rats témoins, et en dehors de la gamme des données historiques.

Afin de pouvoir évaluer de potentiels effets sur la thyroïde, le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir une analyse statistique des résultats du dosage de l'hormone T4 pour chaque sexe, et de commenter les différences des poids des organes thyroïdiens observées.

Le calcul de puissance de l'étude présenté par le pétitionnaire est de plus considéré comme non valide par le GT PGM. En effet, ce calcul s'appuie sur seulement huit paramètres biologiques, avec des tailles d'effets cibles supérieures à 25 % jugées trop peu précises par le GT (par exemple 200 % pour le cholestérol, 100 % pour la phosphatase alcaline ou 50 % pour la créatinine).

Le GT PGM demande au pétitionnaire de présenter un calcul de puissance approprié. Pour information, l'US EPA (2002) indique que de manière générale, les tailles d'effets cibles doivent être comprises entre 10 et 25 %.

1.4.5 Conclusions de l'évaluation toxicologique

Le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir un argumentaire démontrant un historique d'utilisation sûre à partir des principales données toxicologiques existantes sur les protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT afin de pouvoir se prononcer sur ce point, et des données sur leurs interactions potentielles, ou justifier de l'absence de ces données.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir les informations complémentaires (précisées ci-dessus) relatives à l'étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours sur le rat, présentée dans le dossier. En l'absence, le GT PGM ne peut pas se prononcer sur la sécurité sanitaire liée à la consommation des denrées et aliments pour animaux issus de la betterave sucrière KWS20-1 pour l'alimentation humaine et animale.

1.5 Allergénicité

1.5.1 Évaluation de l'allergénicité des protéines nouvellement exprimées

Le potentiel allergénique des trois protéines nouvellement exprimées dans la betterave sucrière KWS20-1, DMO, CP4 EPSPS et PAT, a été évalué selon les critères d'évaluation de l'allergénicité recommandés par l'EFSA (EFSA, 2017), à savoir :

- l'innocuité des sources de protéines exprimées dans la plante génétiquement modifiée ;
- l'absence d'identités de séquences entre ces protéines et des allergènes ou toxines connus lorsque la recherche est effectuée avec l'algorithme FASTA et des fenêtres glissantes de 80 et 8 résidus ;
- la dégradation des protéines nouvellement exprimées, par la pepsine et la pancréatine dans des tests de digestions gastrique et intestinale simulées ;
- la thermorésistance des protéines nouvellement exprimées ;
- la faible teneur en protéines nouvellement exprimées dans les racines de la plante génétiquement modifiée.

Les sources des protéines nouvellement exprimées dans la betterave sucrière génétiquement modifiée KWS20-1 sont *Stenotrophomonas maltophilia* pour DMO, *Agrobacterium sp.* souche CP4 pour CP4 EPSPS et *Streptomyces viridochromogenes* pour PAT. L'analyse de la bibliographie présentée n'évoque pas de risque préoccupant pour ces trois micro-organismes.

La recherche d'identités de séquences totales, globales et locales entre les protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT et des protéines allergéniques avérées effectuée avec les algorithmes FASTA (2022) et Compare (2022) ne conduit pas le pétitionnaire à identifier des identités préoccupantes. La recherche d'identités de séquences globales et locales effectuée par le

GT PGM avec l'algorithme Compare (2023) confirment ces résultats. De plus, les analyses bioinformatiques en utilisant la banque TOX-2022 ne mettent pas en évidence d'identité de séquence entre les protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT et des toxines avérées ou des protéines adjuvantes confirmées.

La recherche de peptides immunotoxiques potentiels (« non IgE-mediated adverse immune reactions to foods », maladie cœliaque) ne met pas en évidence d'identité de séquence avec les peptides identifiés expérimentalement comme épitopes restreints capables de s'ancrer « dans la corbeille du CMH-II » des groupes HLA-DQ2 et HLA-DQ8 et de déclencher une réponse immunotoxique. Toutefois, avec une tolérance de 3 mésappariements (mismatches) dans la recherche bioinformatique des peptides immunotoxiques, deux peptides de la protéine PAT possédant la séquence ELPF sont identifiés comme homologues du motif ELPY contenu dans certains peptides DQ2-spécifiques.

L'analyse du « docking moléculaire » de ces deux peptides dans la corbeille des groupes HLA-DQ2 et HLA-DQ8 réalisée par le GT PGM indique que l'ancrage de ces peptides n'est que partiel et n'est pas susceptible de déclencher une réponse immunotoxique.

Pour la réalisation des essais de dégradation *in vitro* de la protéine DMO par la pepsine et la pancréatine et pour les essais de résistance à la chaleur, le pétitionnaire utilise la protéine DMO produite dans une souche recombinante d'*Escherichia coli*. De plus, la digestion par la pepsine a été réalisée à un seul pH au lieu de deux pH, comme demandé par l'EFSA (2017). Le pétitionnaire ne présente pas de tests de dégradation *in vitro* et de thermosensibilité sur les protéines CP4 EPSPS et PAT, mais cite des études sur ces protéines des dossiers de demandes d'AMM antérieures sur d'autres PGM, sans les fournir dans le dossier.

Considérant les quantités des protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT synthétisées dans les feuilles juvéniles de la betterave sucrière génétiquement modifiée KWS20-1 et les faibles quantités nécessaires pour la réalisation des tests de dégradation *in vitro* et de résistance à la chaleur, le GT PGM demande au pétitionnaire de réaliser ces tests avec les protéines exogènes extraites de la plante, conformément aux recommandations de l'EFSA (2017).

1.5.2 Évaluation de l'allergénicité de la plante génétiquement modifiée entière

Le GT PGM estime qu'aucune information disponible ne laisse supposer que la betterave sucrière KWS20-1 puisse développer une allergénicité différente de celle des variétés de betterave non génétiquement modifiées.

1.5.3 Adjuvantité

Le GT PGM estime que les résultats disponibles ne laissent pas supposer que les trois protéines nouvellement exprimées dans la betterave sucrière KWS20-1, DMO, CP4 EPSPS et PAT, puissent développer des propriétés adjuvantes.

1.5.4 Conclusions de l'évaluation de l'allergénicité

Concernant les trois protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT, le GT PGM considère qu'elles n'ont apparemment pas de propriétés adjuvantes, ni de propriétés immunotoxiques vis-à-vis de malades souffrant de maladie cœliaque. Afin de finaliser l'évaluation de leur potentiel allergénique, le GT PGM demande au pétitionnaire de réaliser un test de dégradation *in vitro* par la pepsine et la pancréatine, ainsi qu'un test de résistance à la

chaleur, avec des protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT extraites de la betterave sucrière KWS20-1, comme recommandé par l'EFSA (2017).

Concernant la betterave génétiquement modifiée KWS20-1, le GT PGM considère que l'allergénicité de cette betterave GM est probablement similaire à celle d'une betterave conventionnelle (non génétiquement modifiée).

1.6 Évaluation nutritionnelle

Le pétitionnaire n'a pas réalisé d'évaluation nutritionnelle estimant avoir démontré l'équivalence de composition entre la betterave sucrière KWS20-1 et les variétés de betterave non transgéniques.

Le GT PGM estime que la betterave sucrière génétiquement modifiée KWS20-1 apparaît équivalente aux variétés commerciales de référence mais cette équivalence devra être confirmée par l'analyse des informations complémentaires demandées dans la section 1.3.7.

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

Les concentrations moyennes et maximales en protéines nouvellement exprimées dans la betterave sucrière KWS20-1, DMO, CP4 EPSPS et PAT, proviennent des données de l'étude au champ conduite en 2020 (section 1.2.2).

Pour rappel, la demande d'AMM porte sur les produits alimentaires transformés issus de la betterave sucrière KWS20-1 et pas sur la racine entière. Selon USDA (2022), les États-Unis exportent uniquement du sucre et des pulpes de betterave vers l'Europe. Toutefois dans les calculs d'exposition réalisés, le pétitionnaire tient également compte de la consommation de mélasse et des feuilles et collets (« tops ») pour l'alimentation animale.

L'estimation de la consommation journalière des protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT par l'animal se base sur les données de l'OCDE (OCDE, 2009) relatives à la consommation d'aliments issus de betterave par les animaux d'élevage, les teneurs moyennes et maximales en protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT dans les pulpes, les mélasses et les feuilles et collets (« tops ») de betterave sucrière KWS20-1 et un scénario « pire cas » considérant que toute la betterave sucrière consommée est considérée comme étant de la betterave sucrière KWS20-1 et que les protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT sont conservées y compris lors de la fabrication des pulpes et des mélasses.

Les teneurs moyennes et maximales en protéines DMO et CP4 EPSPS mesurées dans la racine de la betterave sucrière KWS20-1 traitée avec les trois herbicides d'intérêt sont respectivement de 12 et de 17 µg/g de masse sèche pour DMO et de 100 et 150 µg/g de masse sèche pour CP4 EPSPS. La limite de quantification (LOQ) de la protéine PAT (0,125 µg/g de masse sèche) est utilisée pour les calculs d'exposition en raison de teneurs inférieures à cette valeur dans la racine de betterave sucrière KWS20-1.

Les teneurs moyennes et maximales en protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT mesurées dans les feuilles et collets (« tops ») de la betterave sucrière KWS20-1 traitée avec les trois herbicides d'intérêt sont respectivement de 59 et de 88 µg/g de masse sèche pour DMO, de 310 et 400 µg/g de masse sèche pour CP4 EPSPS et de 5,1 et de 8,3 µg/g de masse sèche pour PAT.

Les protéines se retrouvant dans les pulpes et mélasses après transformation de la racine, le pétitionnaire utilise un facteur multiplicatif respectivement de 1,4 et de 1,5 pour calculer l'apport en protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT par la consommation de ces deux aliments.

En utilisant les données de l'OCDE (OCDE, 2009), les teneurs moyennes et maximales des protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT et le scénario « pire cas », le pétitionnaire estime que les apports journaliers les plus élevés sont obtenus :

- pour les porcs en finition consommant des pulpes et des mélasses de betterave sucrière KWS20-1, avec 128 et 181 µg/kg p.c./jour de protéine DMO, de 1065 et 1598 µg/kg p.c./jour de protéine CP4 EPSPS et de 1,33 µg/kg p.c./jour de protéine PAT,
- pour les vaches en lactation consommant des feuilles et collets (« tops »), des pulpes et des mélasses de betterave sucrière KWS20-1, avec 879 et 1297 µg/kg p.c./jour de protéine DMO, de 5231 et 7096 µg/kg p.c./jour de protéine CP4 EPSPS et de 61 et 98 µg/kg p.c./jour de protéine PAT.

Le pétitionnaire a réalisé en 2022 une étude sur les expositions alimentaires aiguë et chronique de l'humain aux protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT selon les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2019). Le pétitionnaire indique que le sucre blanc raffiné, issu de la betterave sucrière, est composé de 99,8 % de saccharose (USDA, 2022). La teneur en protéines dont les protéines exogènes est négligeable dans cette denrée. Toutefois le pétitionnaire a formulé des hypothèses conservatives en se plaçant dans un scénario « pire cas » :

- tout le sucre consommé est issu de la betterave sucrière KWS20-1 ;
- le procédé de transformation des aliments n'impacte pas les concentrations en protéines exogènes DMO et CP4 EPSPS qui restent identiques aux concentrations moyennes présentes dans la racine de betterave sucrière KWS20-1 et la teneur en protéine PAT dans le sucre est fixée à la LOQ.

Un second calcul est réalisé par le pétitionnaire en appliquant un facteur de réduction de $3,3 \times 10^{-4}$ pour tenir compte de l'effet du procédé d'extraction du sucre raffiné.

Le pétitionnaire indique que les expositions alimentaires les plus élevées aux protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT sont pour la classe d'âge « Autres enfants » (3 à 9 ans) :

- pour une exposition alimentaire aiguë :
 - pour les forts consommateurs européens identifiés en Lettonie avec des estimations de consommation respectivement, de 1600, 14000 et 1,7 µg/kg p.c./jour et en appliquant le facteur de réduction, de 5×10^{-3} , $4,1 \times 10^{-2}$ et $5,2 \times 10^{-5}$ µg/kg p.c./jour ;
 - pour les moyennes de consommation européennes identifiées en Finlande avec des estimations de consommation respectivement, de 0,76, 6,3 et $7,9 \times 10^{-3}$ µg/kg p.c./jour et en appliquant le facteur de réduction, de $2,3 \times 10^{-5}$, $1,9 \times 10^{-4}$ et $2,4 \times 10^{-7}$ µg/kg p.c./jour ;
- pour une exposition alimentaire chronique :
 - pour les forts consommateurs européens identifiés en Lettonie avec des estimations de consommation respectivement, de 100, 8600 et 1,1 µg/kg p.c./jour et en appliquant le facteur de réduction, de $3,1 \times 10^{-3}$, $2,6 \times 10^{-2}$ et $3,3 \times 10^{-5}$ µg/kg p.c./jour ;

- pour les moyennes de consommation européennes identifiées en Finlande avec des estimations de consommation respectivement, de 0,76, 6,3 et $7,9 \times 10^{-3}$ $\mu\text{g}/\text{kg p.c./jour}$ et en appliquant le facteur de réduction, de $2,3 \times 10^{-5}$, $1,9 \times 10^{-4}$ et $2,4 \times 10^{-7}$ $\mu\text{g}/\text{kg p.c./jour}$.

Le GT PGM conclut que l'évaluation relative à l'exposition alimentaire aux produits transformés issus de la betterave sucrière KWS20-1 ne présente pas de préoccupation sanitaire quant à l'utilisation de ces produits transformés dans l'alimentation animale ou humaine.

3. Caractérisation des risques

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

Les commentaires et conclusions du GT PGM concernant l'évaluation des risques pour la santé animale ou humaine sont formulés dans les précédentes parties.

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

Considérant l'absence de risque identifié pour la santé animale ou humaine, le pétitionnaire ne propose pas de plan de surveillance de denrée alimentaire ou d'aliment pour animaux provenant de produits issus de la betterave sucrière KWS20-1, consécutivement à leur mise sur le marché.

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

L'évaluation des risques pour l'environnement de la betterave sucrière KWS20-1 n'est pas demandée dans le cadre de cette saisine, qui concerne uniquement les produits transformés issus de cette betterave génétiquement modifiée. Cette dernière ne sera ni importée, ni transformée, ni cultivée dans l'Union européenne.

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

La demande d'autorisation de mise sur le marché concernant uniquement les produits issus de la betterave génétiquement modifiée KWS20-1, cette dernière ne sera pas dans l'environnement.

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

Le pétitionnaire a procédé à une analyse de la littérature sur la période 2012-2023. La question formulée était la suivante : *“Does KWS20-1 sugar beet derived food/feed products and the introduced herbicide tolerance traits have adverse effects on human and animal health and the environment ?”*. Suite à la recherche dans les bases de données, 796 publications ont été identifiées dont aucune n'a été retenue pour une lecture par les « reviewers ».

Le GT PGM demande au pétitionnaire que les critères de sélection appliqués pour la recherche et la sélection bibliographique ne soient pas limités à la betterave KWS20-1 et soient étendus aux articles concernant l'expression conjointe des protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT dans des plantes génétiquement modifiées, autres que la betterave.

8. Conclusions du groupe de travail (GT) PGM

Cette expertise concerne une première demande d'autorisation de mise sur le marché des produits transformés, denrées alimentaires et aliments pour animaux, issus de la betterave sucrière génétiquement modifiée KWS20-1 pour l'importation et l'alimentation humaine et animale de ces produits. Elle ne concerne ni la betterave sucrière génétiquement modifiée KWS20-1 en tant que telle, ni sa mise en culture.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir un argumentaire démontrant un historique d'utilisation sûre à partir des principales données toxicologiques existantes sur les protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT afin de pouvoir se prononcer sur ce point, et des données sur leurs interactions potentielles, ou justifier de l'absence de ces données.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir l'ensemble des données toxicologiques historiques du centre investigateur sur cinq ans, de présenter un calcul de puissance approprié, de réaliser une analyse statistique des résultats du dosage de l'hormone T4 pour les deux sexes séparément, et de commenter les différences des poids des organes thyroïdiens observées.

En l'absence de ces informations, le GT PGM ne peut se prononcer sur la sécurité sanitaire liée à l'utilisation des produits transformés issus de la betterave sucrière KWS20-1 dans l'alimentation humaine ou animale.

4. CONCLUSIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) endosse les conclusions du GT PGM, qui considère qu'en l'absence de certaines données déterminantes, il ne peut se prononcer sur la sécurité sanitaire liée à l'utilisation des produits transformés issus de la betterave sucrière KWS20-1 dans l'alimentation humaine ou animale.

Considérant que des études ou données complémentaires pourraient être versées au dossier par le pétitionnaire à la demande de l'Efsa, le présent avis ne préjuge pas de conclusions finales qui pourraient être rendues ultérieurement par l'Anses au vu d'un dossier complété.

Pr Benoît Vallet

MOTS-CLÉS

OGM, PGM, betterave sucrière KWS20-1, tolérance, herbicides, glufosinate-ammonium, glyphosate, dicamba, PAT, DMO, CP4 EPSPS.

GMO, GMP, sugar beet KWS20-1, tolerance, herbicides, glufosinate-ammonium, glyphosate, dicamba, PAT, DMO, CP4 EPSPS.

BIBLIOGRAPHIE

Anses, 2011. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Recommandations pour la mise en œuvre de l'analyse statistique des données issues des études de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché d'OGM. Maisons-Alfort : Anses, 8 p.

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

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

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

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

NF X50-110 Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110) (janvier 2024).

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2002. Consensus document on compositional considerations for new varieties of sugar beet: Key food and feed nutrients and antinutrients.

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques). 2009. "Guidance Document on overview of Residue chemistry studies (as revised in 2009)." ENV/JM/MONO(2009)31, Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), Paris (France), 1-93.

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2018. Essai n° 408: Toxicité orale à doses répétées - rongeurs: 90 jours, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE.

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. *JO L 268* du 18.10.2003, pp. 1-23.

Règlement (CE) n°396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur

les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil. *JO L 70* du 16.3. 2005, pp. 1-16.

Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013 de la Commission du 3 avril 2013 relatif aux demandes d'autorisation de denrées alimentaires et d'aliments pour animaux génétiquement modifiés introduites en application du règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement européen et du Conseil et modifiant les règlements de la Commission (CE) n° 641/2004 et (CE) n° 1981/2006. *JO L 157* du 8.6.2013, pp. 1-48.

USDA (2022) Food data central. Sucrose composition. Food data central (usda.gov).

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2024). Avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n°1829/2003, de denrées alimentaires et d'aliments pour animaux produits à partir de la betterave sucrière génétiquement modifiée KWS20-1 développée pour être tolérante à plusieurs substances herbicides (dicamba, glufosinate-ammonium et glyphosate), pour l'importation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM. Saisine 2023-SA-0190. Maisons-Alfort : Anses, 22 p.



Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2022-14732
Saisine n° 2023-SA-0190

Annexe

Commentaires de l'Anses à destination de la DGAL pour transmission à l'EFSA

concernant la demande d'avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n°1829/2003, de denrées alimentaires et d'aliments pour animaux produits à partir de la betterave sucrière génétiquement modifiée KWS20-1 développée pour être tolérante à plusieurs substances herbicides (dicamba, glufosinate-ammonium et glyphosate), pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° GMFF-2023-14732)

1. Identification et caractérisation des dangers

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

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

1.2. Caractérisation moléculaire

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

1.3. Analyse comparative

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

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

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

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

1.3.3 Sélection du matériel et des composés pour analyse

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

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2022-14732
Saisine n° 2023-SA-0190

1.3.4 Analyse comparative de la composition

Le pétitionnaire indique que les données de deux composés des racines de betterave sucrière, à savoir les teneurs en pectine et en fibres brutes, n'ont pas été utilisées pour réaliser des tests d'équivalence en raison d'un manque de variation des teneurs de ces deux composés dans les racines des variétés de référence, à partir des échantillons issus de certains sites d'expérimentation.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de réaliser des tests d'équivalence pour les teneurs en pectine et en fibres brutes avec les données issues des sites d'expérimentation présentant une variation de ces composés suffisante dans les racines des variétés de référence.

1.3.5 Analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques

Sur la base de l'analyse des résultats des 8 sites d'expérimentation, le couvert végétal de la betterave sucrière KWS20-1, traitée ou non avec les 3 substances herbicides d'intérêt (dicamba, glufosinate ammonium et glyphosate), montre une non-équivalence probable avec les variétés de référence et une différence avec la variété isogénique ID 11511557 (observation de catégorie III type 6). Le pétitionnaire n'apporte pas d'explication sur cette observation.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de fournir une argumentation sur la signification biologique de la non-équivalence probable avec les variétés de référence et de la différence avec la variété isogénique, pour le couvert végétal de la betterave sucrière KWS20-1.

II.1.3.6. Effets de la transformation

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

II.1.3.7. Conclusions de l'évaluation comparative

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses renvoie aux conclusions des sections du §1.3 concernant l'analyse comparative.

1.4. Toxicologie

1.4.1. Analyse des protéines nouvellement exprimées

Le pétitionnaire n'apporte aucune indication sur les données toxicologiques existantes des trois protéines nouvellement exprimées, DMO, PAT et CP4 EPSPS, ni sur leurs interactions potentielles.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de fournir un argumentaire sur l'historique des données toxicologiques des protéines DMO, PAT et CP4 EPSPS ainsi que sur leurs interactions potentielles.

1.4.2. à 1.4.3.

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

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

Une étude de toxicité sub-chronique pendant 90 jours chez le rongeur a été menée en novembre 2021 selon un protocole s'appuyant sur la ligne directrice OCDE 408 (1998) et les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).

Le pétitionnaire présente uniquement les données historiques des paramètres statistiquement différents entre les groupes testés et le groupe contrôle et ces données historiques ne couvrent pas la période de réalisation de l'étude de toxicité sub-chronique conduite avec un aliment contenant de la pulpe de betterave sucrière KWS20-1.

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2022-14732
Saisine n° 2023-SA-0190

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de fournir l'ensemble des données historiques du centre investigateur et ce sur une période de cinq ans couvrant la période de réalisation de l'étude de toxicité sub-chronique présentée.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses note également que le nombre de rats est insuffisant par groupe et par régime (16 rats par sexe), par rapport à sa recommandation d'un nombre de 20 mâles et 20 femelles par groupe (Anses, 2011).

Les résultats du dosage de l'hormone T4 montrent une diminution de sa teneur chez les rats mâles et femelles (données combinées) nourris avec un aliment contenant la faible quantité de pulpe de betterave KWS20-1. Les poids des organes thyroïdiens des rats consommant des aliments contenant la faible ou la forte quantité de pulpe de betterave KWS20-1 sont statistiquement différents de ceux des rats témoins et en dehors de la gamme des données historiques.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de fournir une analyse statistique des résultats du dosage de l'hormone T4 pour les deux sexes séparément et de commenter les différences des poids des organes thyroïdiens.

Le calcul de puissance de l'étude présenté par le pétitionnaire est de plus considéré non valide par le GT « Biotechnologie ». Ce calcul s'appuie sur seulement huit paramètres biologiques, avec des tailles d'effets cibles jugées non appropriées par le GT (par exemple 200 % pour le cholestérol, 100 % pour la phosphatase alcaline ou 50 % pour la créatinine).

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de présenter un calcul de puissance approprié. Pour information, l'US EPA (2002) indique que de manière générale, les tailles d'effets doivent être comprises entre 10 et 25 %.

1.4.5. Conclusion de l'évaluation toxicologique

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses renvoie aux conclusions des sections du §1.4 concernant l'évaluation toxicologique.

1.5. Évaluation de l'allergénicité

Le pétitionnaire ne présente pas de tests de dégradation *in vitro* et de thermosensibilité sur les protéines CP4 EPSPS et PAT.

Pour la réalisation des essais de dégradation *in vitro* de la protéine DMO par la pepsine et la pancréatine et pour les essais de résistance à la chaleur, le pétitionnaire utilise la protéine DMO produite dans une souche recombinante d'*Escherichia coli*. De plus, la digestion par la pepsine a été réalisée à un seul pH au lieu de deux pH, comme demandé par l'EFSA (2017).

Étant donné les quantités des protéines exogènes synthétisées dans la betterave sucrière génétiquement modifiée KWS20-1 et les faibles quantités nécessaires pour la réalisation des tests de dégradation *in vitro* et de résistance à la chaleur, le GT « Biotechnologie » de l'Anses considère que les protéines extraites de la plante devraient être utilisées, conformément aux recommandations de l'EFSA (2017).

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de réaliser un test de dégradation *in vitro* des protéines DMO, CP4 EPSPS et PAT extraites de la betterave sucrière KWS20-1, par la pepsine et la trypsine, ainsi qu'un test de résistance à la chaleur de ces trois protéines, selon les recommandations de l'EFSA (2017).

1.6. Évaluation nutritionnelle

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

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2022-14732
Saisine n° 2023-SA-0190

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

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

3. Caractérisation des risques

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

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

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

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

L'évaluation des risques pour l'environnement de la betterave sucrière KWS20-1 ne fait pas l'objet de la saisine par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) étant donné que la demande d'autorisation de mise sur le marché concerne uniquement les denrées alimentaires et les aliments pour animaux issus de cette betterave génétiquement modifiée.

6. Plan de surveillance des effets sur l'environnement

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

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

7.1. Études publiées dans la littérature scientifique

Le pétitionnaire a procédé à une analyse de la littérature sur la période 2012-2023. La question formulée était la suivante : *"Does KWS20-1 sugar beet derived food/feed products and the introduced herbicide tolerance traits have adverse effects on human and animal health and the environment ?"*. Suite à la recherche dans les bases de données, 796 publications ont été identifiées dont aucune n'a été retenue pour une lecture par les « reviewers ».

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire que les critères de sélection appliqués pour l'analyse de la littérature ne soient pas limités à la betterave KWS20-1 et que les articles concernant l'expression conjointe des protéines DMO, PAT et CP4 EPSPS dans d'autres plantes génétiquement modifiées soient retenus pour analyse.

7.2. Autres informations complémentaires

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

Références

Anses. 2011. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Recommandations pour la mise en œuvre de l'analyse statistique des données issues des études de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché d'OGM. Maisons-Alfort : Anses, 8 p.

EFSA. 2017. "Guidance on allergenicity assessment of genetically modified plants". EFSA Journal 15: 1-49.