

Maisons-Alfort, le 23 janvier 2009

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur le rapport du Pr le Maho adressé à la Commission Européenne en juin 2008.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 5 septembre 2008 par la Direction générale de la santé d'une demande d'avis sur le rapport du Pr le Maho adressé à la commission en juin 2008.

Contexte de la saisine

Suite à l'avis du Comité de Préfiguration de la Haute Autorité sur les OGM (CPHA, 2008), les autorités françaises ont invoqué en février 2008, la clause de sauvegarde pour la culture du maïs MON810 en raison de faits nouveaux suggérant que les maïs portant l'événement MON810 étaient susceptibles de présenter un risque sérieux pour l'environnement.

En réponse à l'avis du CPHA, la société Monsanto, dans un rapport du 30 janvier 2008 (Monsanto, 2008), a présenté des justifications pour soutenir son point de vue d'absence de risque. Pour y répondre, le ministère de l'écologie, de l'énergie, du développement durable et de l'aménagement du territoire (MEEDDAT) a fait appel au Pr le Maho (membre du CPHA).

Le rapport du Pr le Maho, qui a été communiqué à la commission Européenne, développe des arguments sanitaires qui ne sont pas en accord avec l'avis favorable du 30 avril 2008 (AFSSA, 2008a), issu de l'expertise collective de l'AFSSA. Il indique en conclusion qu'il conviendrait d'appliquer le principe de précaution.

L'AFSSA a été saisie par la Direction Générale de la Santé en septembre 2008 pour effectuer une expertise collégiale des aspects strictement sanitaires du rapport du Pr le Maho.

Rappel des conclusions de l'avis de l'AFSSA du 30 avril 2008 (annexe I) : **Avis de l'AFSSA relatif à une demande de renouvellement de mise sur le marché des maïs génétiquement modifiés MON810, résistant aux lépidoptères, pour l'importation, la transformation, ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de ses produits dérivés, au titre du règlement (CE) n°1829/2003.**

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments considère dans son avis que :

- l'analyse moléculaire du maïs portant l'événement MON810 caractérise l'événement de transformation,
- l'analyse de composition ne met pas en évidence de différence significative compromettant l'équivalence en substance des maïs MON810 par rapport aux maïs témoins et aux variétés de maïs conventionnelles,
- l'étude de toxicité sub-chronique réalisée chez le rat pendant 90 jours ne met pas en évidence d'effets délétères liés à la consommation du maïs portant l'événement MON810,
- l'étude d'alimentarité réalisée chez le poulet ne met pas en évidence de différences nutritionnelles entre le grain de maïs MON810 et le grain de maïs témoin.

En conséquence, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime qu'au regard des données présentées dans le dossier, dont certaines ont été réactualisées et de nombreuses publiées dans la littérature scientifique à comité de lecture, les maïs portant l'événement de transformation MON810 et leurs produits dérivés présentent le même niveau de sécurité sanitaire que les variétés de maïs conventionnelles et leurs produits dérivés.

Mode de traitement de la saisine

Le Comité d'Experts Spécialisé Biotechnologie¹ réuni le 20 novembre 2008, a analysé les points de ce rapport relatifs à la sécurité sanitaire (alimentation humaine et animale).

Sécurité de la protéine Cry1Ab exprimée dans les maïs MON810

Extraits du rapport du Pr Le Maho :

« La protéine Bt produite naturellement par le bacille et celle produite par le maïs MON810 n'ont pas les mêmes séquences primaires. La protéine produite par le maïs MON810 peut en outre être modifiée par addition de phosphates N-acétylglucosamine ou d'hexoses qui peuvent modifier sa conformation spatiale ainsi que ses caractéristiques fonctionnelles et donc son pouvoir pathogène éventuel. »

« la protéine produite par le transgène n'est pas identique à celle que produit le Bacille de Thuringe et ses propriétés en termes de repliement, de modification post-traductionnelle, de biodégradabilité, de rémanence ou de spécificité, et donc de toxicité humaine et environnementale potentielle, peuvent être différentes de celles de la toxine Cry1Ab naturelle. »

Les toxines Bt comprennent deux domaines : un domaine toxique N-terminal et un domaine cristal C-terminal. La protéine entière CRY1A(b) codée par le gène endogène *cry1A(b)* de *Bacillus thuringiensis* souche *kurtstaki* HD-1 comporte 1156 acides aminés. C'est une protoxine qui subit dans l'intestin de l'insecte une digestion éliminant la partie C-terminale. Le domaine N terminal suffit à lui conférer son activité toxique (Fischhoff *et al.*, 1987).

Le gène présent dans MON810 code une protéine comprenant les 816 premiers acides aminés N-terminaux de la protéine CRY1A(b) incluant le domaine toxique. Le polypeptide de 816 acides aminés subit le même clivage que la protéine native dans l'intestin de l'insecte. Le gène provient de *Bacillus thuringiensis* souche *kurtstaki* HD-1 (Höfte et Whiteley, 1989). La structure primaire de la protéine CRY1A(b) exprimée dans les maïs portant l'événement MON810 est décrite dans le dossier technique qui accompagne la demande d'autorisation de mise sur le marché.

Comme décrit dans le dossier technique, la jonction 3' de l'insertion ajoute 9 nucléotides à l'ARNm, ce qui conduit à l'ajout de 2 acides aminés en position C terminale (phénylalanine et arginine).

La publication de Rosati *et al.* (2008) met en évidence des variants d'ARNm générés par épissage alternatif de la partie transcrite non traduite. Ces variants peuvent modifier potentiellement l'extrémité C terminale de la protéine CRY1A(b) en y ajoutant un polypeptide de 18 acides aminés. L'article ne nous renseigne pas sur l'abondance et la stabilité de ces transcrits ni sur leur traduction. Même si on ne peut pas exclure que cette forme de protéine soit exprimée, elle n'a jamais été détectée.

Les comparaisons de séquences de la protéine CRY1A(b) comprenant les 18 acides aminés supplémentaires ou la comparaison de séquences des 18 acides aminés seulement ne conduisent à l'établissement d'aucun alignement significatif avec l'ensemble des séquences de protéines répertoriées des bases de données publiques et avec les peptides et protéines de la base ADFS (Allergen Database for Food Safety).

Enfin la protéine présente dans le maïs, comme la protéine native, conserve un site accessible de clivage qui conduit à l'élimination de la partie C-terminale donc des 2 ou potentiellement 18 résidus supplémentaires. La protéine conserve les mêmes propriétés en terme de toxicité vis à vis des insectes.

Le deuxième type de différence évoqué par le Pr Le Maho concerne de possibles modifications post-traductionnelles.

Plusieurs éléments permettent d'exclure que les modifications post-traductionnelles de la protéine exprimée dans la plante la différencient de la protéine naturelle :

¹ Le comité d'experts spécialisé Biotechnologie est composé de 21 scientifiques dans les domaines d'expertise suivants : biologie moléculaire, physiologie végétale, transgénèse et génie génétique, agronomie, toxicologie, nutrition animale et zootechnie, composition chimique des aliments, microbiologie, enzymologie, biochimie.

- Une étude, conduite par le pétitionnaire, montre que la protéine exprimée dans les maïs MON810 n'est pas glycosylée,
- Le poids moléculaire observé de la fraction hydrolysée par la trypsine est identique que la protéine provienne des maïs MON810 ou de *Bacillus thuringiensis* (Western blot).

Les lignes directrices mises en place par l'AESA (AESA, 2006) et auxquelles le pétitionnaire répond par des études appropriées permettent d'évaluer la toxicité potentielle des maïs MON810. L'essai de toxicité sub-chronique, en particulier, est réalisé avec la plante génétiquement modifiée. Les animaux, nourris directement avec du maïs MON810, sont exposés à la protéine Bt telle qu'elle est présente dans ces maïs. Cette étude prend donc en compte les effets que pourraient provoquer d'éventuelles modifications si elles survenaient dans la plante. L'examen des résultats de cette étude ne montre pas de toxicité de cette protéine pour l'homme et l'animal ni de ces maïs (cf. l'évaluation toxicologique des OGM p.5).

Extrait du rapport du Pr le Maho:

« De plus, celle produite par le MON 810 peut éventuellement être modifiées par addition de phosphates, de N-acétylglucosamine, ou d'hexoses, qui peuvent entraîner un changement de la conformation spatiale de la protéine (Ahmad et al. 2006), de ses caractéristiques fonctionnelles, voire son pouvoir pathogène éventuel (Wang et al. 2007, Pang et al. 2007, Chen et al. 2006, Wells et al. 2004, Lüdemann et al. 2005). »

Les exemples de modifications post-traductionnelles des protéines citées dans ce paragraphe correspondent à des protéines d'origine animale ayant une fonction connue de signalisation moléculaire. Les publications décrivent uniquement les possibilités de modifications post-traductionnelles et évoquent leurs conséquences éventuelles mais ne démontrent pas de modification fonctionnelle réelle.

La protéine CRY1A(b) n'a aucune fonction dans la signalisation cellulaire et agit par formation de pores dans les cellules intestinales de certains lépidoptères.

Enfin, l'évaluation toxicologique « plante entière » est mise en oeuvre pour révéler les éventuels effets néfastes de telles modifications de la protéine.

Evaluation de la sécurité de la protéine CRY1A(b)

La protéine CRY1A(b) est considérée comme ne présentant pas de risque par le SCP (Scientific Committee on Plants) depuis 1998 et à plusieurs reprises par l'AESA et l'AFSSA depuis 2005 (cf. annexe II). Parmi les nombreuses études réalisées sur animaux de laboratoire et sur animaux cibles, aucune ne fait état d'un quelconque effet néfaste qui serait lié à la consommation de l'OGM (cf. annexe III).

La protéine CRY1A(b) provient de *Bacillus thuringiensis*, une bactérie du sol, largement répandue dans l'environnement. Isolées pour la première fois en 1901, les protéines dénommées **CRY** sont des δ -endotoxines possédant une activité insecticide très spécifique de leur insecte cible. Les insecticides microbiologiques contenant des δ -endotoxines issues de *Bacillus thuringiensis* sont utilisés comme une alternative à l'utilisation de pesticides chimiques en agriculture depuis 1960 (Mac Clintock et al., 1995). Aujourd'hui, plus de 150 gènes cry différents sont décrits et la nomenclature des δ -endotoxines comprend 51 classes, de CRY1 à CRY 51 (Höfte and Whiteley, 1989). Depuis 1987, certains de ces gènes sont utilisés pour conférer, aux plantes cultivées, la résistance à des insectes (Fischhoff et al., 1987).

La présence et l'utilisation de cette bactérie dans l'environnement de l'homme, lui confèrent un historique d'utilisation sans risque en agriculture depuis plus de 60 ans (Romeis et al., 2006). En dehors des insectes cibles, il a été démontré que les toxines de *Bacillus thuringiensis* (Bt) utilisées en agriculture ne sont pas toxiques pour l'homme ou les animaux (EXTOXNET PIP, 1996). Aucune toxicité n'a été observée chez le rat, la souris, les oiseaux, le chien ou le cobaye qui avaient reçu des cristaux de protéine Bt extraite de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* par voie orale (Mayes et al., 1989) en raison de l'absence de récepteurs à ces toxines dans les cellules épithéliales de l'intestin des mammifères, des oiseaux et des poissons.

Des essais toxicologiques à partir des protéines CRY ont été réalisées chez les mammifères (pour revue, voir Betz et al., 2000). En administration chronique chez le rat de CRY1A(a), CRY1A(b), CRY1A(c) et CRY2A(a) par voie orale (8,4 g/kg/j) pendant 13 semaines, aucun effet

toxique n'est détecté. De même qu'aucune toxicité de la protéine CRY1A(b) n'a été observée dans un modèle *in vitro* utilisant des cellules intestinales de mammifères en culture (Bondzio *et al.*, 2008).

Lors de la demande d'autorisation de renouvellement de mise sur le marché du maïs MON810 examinée par l'AFSSA, le pétitionnaire a fourni les études et les analyses suivantes :

- une analyse comparative réactualisée de structure entre la protéine CRY1A(b) et les protéines connues pour leurs propriétés toxiques, immunotoxiques ou leur activité biologique ou pharmacologique qui ne montre pas de similarités ;
- une étude de la dégradation de la protéine *in vitro*, en présence de fluide gastrique simulé, qui montre que CRY1A(b) est dégradée à 90% en moins de 2 minutes (Sanders *et al.*, 1998) ;
- une étude de toxicité aiguë par voie orale réalisée avec le domaine toxique de la protéine CRY1A(b), synthétisée par *E. coli*, qui montre qu'à la dose maximale administrable de 4000 mg/kg p.c./ jour, on n'observe aucun effet délétère sur les souris testées.

La marge de sécurité pour l'homme calculée à partir de cette dose est très conservatrice (de l'ordre de 10^7) au regard de l'exposition alimentaire estimée des adultes et des adolescents.

Le pétitionnaire a également fourni une étude de la toxicité sub-chronique de 90 jours. Cette étude est publiée dans une revue internationale à comité de lecture (Hammond *et al.*, 2006). Elle est réalisée avec des rats, selon un protocole conforme aux lignes directrices internationales, en vue d'étudier l'effet de la consommation du maïs grain MON810, incorporé à hauteur de 11 % ou 33 % dans la ration alimentaire en comparaison avec un maïs témoin ayant le même fond génétique. Ces doses sont équivalentes à la consommation de 2.5kg de maïs/jour pour un homme de 60 kg. Les résultats qui ont fait l'objet d'une expertise toxicologique de l'AFSSA ne montrent pas d'effets délétères liés à la consommation du maïs portant l'événement de transformation MON810.

Caractérisation du site d'insertion 3' du transgène

Extrait du rapport du Pr le Maho :

« Par rapport à la protéine Cry1A(b) produite naturellement par *Bacillus thuringiensis*, son intégration au génome du maïs a entraîné une recombinaison complexe (Rosati *et al.*, 2008). »

La référence citée dans cette phrase comporte une faute de frappe dans le titre de la publication qui pourrait induire le lecteur en erreur. En effet la référence indiquée dans la liste des publications a pour titre :

“*Characterisation of 30 transgene insertion site and derived mRNAs in MON810 YieldGard maize.*”

Alors que le titre exact est :

Characterisation of 3' transgene insertion site and derived mRNAs in MON810 YieldGard maize. *Plant Mol Biol* 67:271–281.

Les travaux de Rosati *et al.* (2008) précisent le site d'insertion du transgène et confirment ceux de Hernandez *et al.* (2003) qui n'avaient pas réussi à amplifier la région correspondant au site d'insertion à partir d'ADN des lignées non transformées. Séquençant 345 pb supplémentaires en 3', Rosati *et al.* identifient un locus précis sur le chromosome 5 dont les séquences sont homologues d'un gène de riz (*Oryza sativa*) codant une HECT E3 ubiquitine ligase. Ce gène, déjà identifié par le pétitionnaire est décrit dans le dossier technique. Il n'a pas été démontré si ce gène est fonctionnel chez le maïs (*Zea mays*).

Les séquences obtenues en 5' ciblent un autre locus, probablement un rétrotransposon présent dans un locus codant des zéïnes de 22 kDa et plus précisément des séquences LTR (long terminal repeat) (Holck *et al.*, 2002). Rosati *et al.* 2008, qui ont également séquencé 2 kb de la région concernée dans des plantes non transformées ne trouvent pas ce locus de zéïne 22 kDa. Les auteurs supposent que l'insertion aurait conduit à une délétion importante d'une région génomique. Cette délétion n'a pas été caractérisée. Les auteurs confirment que l'insertion est bien unique et d'un seul tenant, que la séquence codante CRY1A(b) est tronquée et que le terminateur NOS a été délété. Les auteurs mentionnent eux mêmes que leurs résultats sont

partiellement en accord avec ceux décrits par le pétitionnaire (US patent 2004/0180373 A1, pub. Date sp.16, 2004).

Rosati *et al.* (2008) précisent enfin que l'insertion du transgène, la délétion d'une partie de la construction génétique et d'une région génomique n'ont de conséquences ni sur l'activité de la protéine, ni sur la vigueur et le rendement des maïs.

Précisons enfin que la caractérisation moléculaire de l'événement conduite par le pétitionnaire et examinée par l'AFSSA lors de la demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché (AFSSA, 2008a), comprend des résultats expérimentaux démontrant l'insertion unique du transgène en une seule copie dans le génome des maïs MON810. Celle-ci comprend l'analyse des régions flanquant l'insert en 5' et en 3', soit la recherche des phases de lecture ouverte (ORF) de fusion, leur traduction et la comparaison des séquences avec les bases de données. Aucune ne présente d'homologie avec une protéine décrite comme toxique, allergène ou ayant un effet pharmacologique.

En conclusion, les résultats de Rosati *et al.* (2008) ne remettent pas en cause la sécurité sanitaire des maïs MON810.

Immunogénicité de la protéine CRY1A(b)

Extrait du rapport du Pr le Maho :

« Il faut tenir compte de problèmes allergiques émergents liés à de nouveaux aliments ou aux procédés industriels dans l'alimentation (Wassenberg et al., 2007). On sait en particulier que le Cry1Ab engendre une réponse immunitaire dans le modèle rat (Kroghsbo et al., 2008). »

L'évaluation sanitaire des OGM tient précisément compte du risque allergénique de la nouvelle protéine. L'allergénicité potentielle ne pouvant être évaluée à partir d'un seul test, l'approche recommandée est celle du « poids de l'évidence » qui repose sur un faisceau d'arguments (AES, 2006).

Les arguments pris en compte sont les suivants :

- La source du ou des différents gènes à l'origine des protéines d'intérêt,
- L'absence d'homologie de séquence de la ou des protéines par rapport aux protéines toxiques ou allergènes connues,
- L'état de glycosylation de ces protéines,
- Le temps de digestion *in vitro* de ces protéines en milieu gastrique et/ou intestinal simulé,
- La teneur en protéine par rapport au poids sec des grains de maïs (0.5 µg/g de CRY1A(b) soit 0.0004% des protéines dans les grains des maïs MON810).

Ces éléments sont fournis dans le dossier technique accompagnant la demande d'autorisation de renouvellement de mise sur le marché du maïs MON810. Le CES Biotechnologie a conclu qu'aucune des données ne suggérait un caractère allergène des maïs MON810.

Notons qu'à ce jour, aucun cas d'allergie qui serait lié à la consommation de produits contenant la protéine CRY1A(b) n'a été rapporté.

Kroghsbo *et al.* (2008) montrent que la protéine Bt utilisée pure dans l'expérience induit une réponse immune spécifique par inhalation. Ce constat n'est pas nouveau, il avait déjà été démontré en 1999 que la protéine CRY1A(c) (même famille) administrée à des souris par voie intrapéritonéale ou orale induit une réponse anticorps systémique et muco-sale (Vazquez *et al.*, 1999).

La production d'IgG qui est constatée suite à l'inhalation par les souris de la protéine Bt pure (0.1% de la ration) n'est pas révélatrice d'un effet physiologique néfaste pour l'homme et l'animal. Kroghsbo *et al.*, (2008) ne l'interprètent pas ainsi et concluent que par comparaison avec le contrôle positif (la lectine PHA-E), la protéine Bt n'induit pas d'effet immunotoxique.

D'autres protéines peuvent provoquer une réponse IgG *in vivo* dans des essais pour animaux (Chen *et al.* 2001 ; Dearman *et al.*, 2003) sans pour autant être des protéines toxiques ou allergènes. Kroghsbo *et al.* n'ont pas recherché le taux d'IGE qui aurait été plus adapté à l'évaluation de l'allergénicité.

Evaluation toxicologique des OGM

Le rapport du Pr le Maho critique à plusieurs reprises l'évaluation toxicologique des OGM et remet en cause le choix et la durée des essais sur animaux qui sont préconisés par l'AESA dans ses lignes directrices.

Ainsi il écrit en conclusion :

- « La durée des tests toxicologiques est insuffisante et ils devraient être conduits sur différents modèles animaux.
- Les tests de toxicologie suivis pour l'évaluation des plantes transgéniques ne couvrent pas les nouveaux domaines de la santé (maladies à prions, oncologie).

En l'absence de tests sur le long terme de la protéine dans la configuration obtenue réellement produite par le MON 810, le principe de précaution devrait prévaloir. »

Dès sa création l'AFSSA s'est penchée sur l'établissement de Lignes Directrices (LD) définissant une stratégie d'évaluation de la sécurité des OGM (AFSSA, 2000).

Dans cette même optique, l'évaluation de la sécurité selon les LD de l'AESA comporte une série d'études complémentaires qui visent à mettre en évidence la possible présence d'un effet néfaste dû à la consommation de l'aliment ou de ses dérivés. Les points critiques de l'évaluation concernent l'analyse de l'insertion du transgène dans le génome, la nature du produit du transgène, la non-équivalence de composition chimique, l'observation d'effets délétères lors des études de toxicité aiguë et sub-chronique et la non-équivalence nutritionnelle lors de l'étude sur animal cible (AESA, 2006).

Lors de l'évaluation toxicologique, trois types d'études peuvent être mises en oeuvre :

- une étude de toxicologie aiguë par administration unique qui a pour objectif de renseigner sur une éventuelle toxicité intrinsèque de la protéine ;
- un étude de toxicologie sub-chronique 90 jours chez le rat (normes OCDE) afin de juger si la plante entière, telle que consommée par l'homme ou l'animal, pourrait générer des effets toxiques ;
- une étude de la valeur alimentaire et de la tolérance sur une ou plusieurs espèces cibles qui apporte des informations complémentaires par rapport à l'étude de toxicité par administration répétée.

Les essais de toxicité sub-chronique sont destinés à évaluer les effets potentiels d'une consommation répétée d'un produit par l'homme ou l'animal et les effets toxiques inattendus ou non intentionnels qui ne se seraient pas révélés par l'analyse chimique ou par les études de toxicité aiguë.

La durée de l'étude de toxicité sub-chronique (90 jours chez le rat) résulte d'un choix entre les durées minimales (14 jours) et maximales chez le rongeur (6 mois) appliquées pour le médicament. Un essai d'une durée supérieure ne se justifie que dans les cas de recherche d'un effet cancérigène (2 ans chez le rat).

L'intérêt des études sur animaux de laboratoire dans le cadre de l'évaluation de la sécurité d'aliment composé ou issu d'OGM, a déjà fait l'objet d'un avis de l'AFSSA qui apporte des éléments d'éclairage sur le choix de la durée des essais sur les animaux (AFSSA, 2002 ; AFSSA 2008b). Ce sujet a également été discuté et documenté dans un récent rapport du panel OGM (AESA, 2008b).

La capacité des études sub-chronique de 90 jours à détecter un effet toxique potentiel a été confirmée. Cette durée est considérée suffisante pour permettre l'identification d'effets liés à des composés qui provoqueraient des désordres toxicologiques suite à une exposition chronique (Munro *et al.*, 1999). L'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours constitue une balise (ou essai sentinelle) (AESA, 2008b, Knudsen and Poulsen, 2007, Knudsen *et al.* 2008) qui peut aboutir à une demande d'essais complémentaires en cas de résultats positifs ou de doutes fondés sur les principes habituels de l'évaluation de la sécurité des OGM.

C'est donc bien au vu de l'ensemble des données, que l'AESA et l'AFSSA évaluent la sécurité sanitaire de l'OGM et de ses produits dérivés pour la consommation humaine et animale et, **au cas par cas**, jugent de la nécessité de compléter les études produites par les industriels.

L'AFSSA recommande fortement la mise en oeuvre d'une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat pour les événements primaires de transformation génétique (AFSSA, 2008b).

Les études de toxicité *in vivo* (à partir de la protéine ou de l'aliment) sont réalisées chez les animaux de laboratoire de type rongeurs (rat ou souris) en accord avec les protocoles OCDE.

L'utilisation d'animaux de type non rongeurs (lapin) est recommandé lorsqu'il est nécessaire de mettre en évidence des effets sur la reproduction et/ou sur le développement.

En rapport avec la capacité des essais chez les rongeurs à détecter d'éventuels effets cancérigènes :

« *Les études toxicologiques doivent désormais également viser la recherche des oncogènes. Les tests sur animaux nouveau-nés sont aussi, et ce depuis longtemps, mis en oeuvre en oncologie virale et non-virale. Ils ont ainsi permis de découvrir les oncogènes, qui sont la cause de très nombreux cancers chez l'être humain (Gelman et al., 1993 ; Bonham et al., 1992; Hassan et al., 1990; Darlix et al., 2007).* »

L'évaluation de la sécurité sanitaire d'un OGM prend en compte la recherche d'un éventuel effet toxique non-intentionnel et inattendu d'une consommation régulière de l'OGM ou de ses produits dérivés. De tels effets pourraient être liés : aux produits d'expression du gène, à ses métabolites et ses produits de dégradation ; à la surproduction d'un produit toxique existant naturellement dans les plantes (type alcaloïde...) enfin, à la présence de nouveaux métabolites ou de résidus issus du traitement de la plante par un herbicide. L'analyse des OGM évalués jusqu'alors par l'AFSSA montre que les effets de ces composés, présents à très faible concentration dans l'OGM et donc dans l'aliment consommé, sont bien documentés et qu'à ce jour aucun n'a été considéré comme évocateur d'un potentiel cancérigène.

Des études toxicologiques d'une durée supérieure à 90 jours ou visant des fonctions spécifiques telles que la reproduction et le développement peuvent être demandées en fonction de :

- la nature de la ou des protéines d'intérêt exprimées,
- des risques spécifiques liés (e.g. gossypol pour le coton, phytoestrogènes du soja) à l'exposition potentielle,
- de la nature et de l'importance quantitative des différences de composition chimique observées entre l'OGM et son témoin non-GM,
- des résultats des autres aspects de l'évaluation (alimentarité et toxicité sub-chronique 90 jours).

Les références citées à l'appui des affirmations du Pr le Maho concernent la découverte d'oncogènes viraux ou non viraux impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire. Cette situation n'est pas comparable au gène codant la toxine CRY1A(b) qui lui n'est pas connu pour avoir un rôle sur le contrôle de la croissance ou de la division cellulaire.

Quant aux tests sur animaux nouveaux nés (juvéniles), ils n'ont été que récemment proposés pour des médicaments à visée pédiatrique. Ils n'ont aucun caractère systématique.

En rapport avec la capacité des essais à appréhender les champs nouveaux de la recherche :

« *Les tests de toxicologie mis en oeuvre sur la protéine Cry1A(b) sont loin de couvrir les champs de recherche nouveaux qui ont été révélés lors des récentes études sur les maladies à prions (CJD, maladie de la vache folle, tremblante du mouton ; contaminations et transplantations), qui ont eu un impact mondial important avec des effets néfastes sur la santé humaine et animale à cause de nouveaux procédés utilisés en agriculture, et qui sont liées à des modifications de conformation de protéines.*

En effet la protéine recombinante (Cry1A(b) n'a pas été testée selon les méthodes en cours dans le domaine de la recherche sur les prions (rats nouveau-nés et injections IC ou IP ; puis études de 120 à 300 jours minimum) (Liberski et Brown, 2007 ; Unterberger et Voigtländer, 2007). On se doit de souligner que de telles études auraient permis d'éviter la crise de « la vache folle », et plus récemment de celle de l'hormone de croissance touchant les jeunes enfants (Lewis et al., 2006 ; Pauli, 2005). »

Ce paragraphe fait un lien entre la protéine CRY1A(b) et les maladies à prion (tremblante du mouton, CJD) avec références à des publications concernant ces domaines.

La connaissance des maladies à prion (biochimie et mode d'action des protéines PrP) ne permet pas de faire un tel lien. Dans le cas des maladies à prions, une protéine homologue de la protéine responsable de la maladie est présente dans les cellules de l'hôte. La sensibilité de l'hôte paraît même conditionnée par le degré d'homologie de séquence ou de conformation de la protéine PrP de l'hôte avec la protéine PrP de l'organisme donneur infecté. Il n'existe pas de lien entre la

structure de la protéine recombinante CRY1A(b) d'origine bactérienne et la protéine PrP des mammifères. De plus, les consommateurs de maïs n'expriment pas le gène *Cry1A(b)*, ni toute autre protéine homologue de protéines CRY.

L'épizootie d'Encéphalopathie Spongiforme Bovine est liée à un recyclage de l'agent infectieux au sein de la même espèce par l'utilisation dans son alimentation des farines de viandes et d'os contaminées ; quant aux cas de MCJ liés à l'hormone de croissance, des lots d'hormones ont été contaminés par l'agent de la maladie de Creutzfeldt-jakob (agent déjà adapté à l'homme) car extrait de personnes atteintes de cette pathologie.

Des inoculations d'échantillons, provenant d'animaux expérimentalement infectés, à des rongeurs de laboratoire sont utilisées en recherche sur les maladies à prions. Ils ne constituent, en aucun cas, un moyen de dépistage utilisable en routine à partir de n'importe quelle matrice qui aurait pu prévenir l'apparition des maladies à prions.

En outre, dans l'exemple des cas de MCJ iatrogènes dues à l'hormone de croissance contaminée, c'est grâce à l'utilisation d'une hormone de croissance recombinante que le risque de transmission de la maladie de Creutzfeldt-Jakob a pu être éliminé.

Indépendance des études toxicologiques

« Dans ce contexte, de tels tests (test toxicologiques) devraient être entrepris de manière totalement indépendante de l'entreprise et en double aveugle. Une fois les résultats obtenus, ceux-ci devraient être rendus publics. »

« Par ailleurs, les scientifiques devraient avoir accès aux données originales sur les tests toxicologiques qui ont été utilisés. Bloquer leur diffusion, comme cela s'est produit dans les années précédentes en ce qui concerne les résultats des tests sur les rats nourris ou non avec du maïs MON 863, empêche l'avancée des connaissances scientifiques et est d'ailleurs contraire à la législation européenne (en particulier, à la Directive CEE/2001/18) et française. »

Les études toxicologiques fournies par les pétitionnaires à l'appui des demandes d'autorisation de mise sur le marché sont réalisées par des sociétés spécialisées extérieures au commanditaire sous statut BPL, mettant en œuvre des protocoles normés par des instances internationales (OCDE et EMEA). Les modalités de mise en œuvre de ces études sont celles appliquées à l'évaluation de la sécurité du médicament. Le principe et les contraintes des BPL permettent d'assurer la traçabilité de toutes les données des études et d'en garantir l'authenticité. Ces laboratoires sont régulièrement contrôlés par des inspecteurs mandatés par une autorité nationale. A ce jour, les études de sécurité non clinique relatives à des médicaments ne sont pas réalisées selon la méthode du double insu.

Les évaluateurs disposent de toutes les données brutes dans les dossiers. Le contenu de ces dossiers est confidentiel et non pas secret. Le pétitionnaire dispose du droit au respect de la propriété intellectuelle et la diffusion de telles données dans le public ne peut se faire que si ce droit est garanti.

Remise en cause des analyses statistiques

« En outre, la puissance des méthodes statistiques utilisées est discutable, car elles apparaissent très peu sensibles aux différences, même si certaines d'entre elles sont significatives. »

« En réexaminant ces résultats, Séralini et al. (2007) ont mis en évidence des différences de variation de poids entre rats mâles et femelles, ainsi que des signes de toxicité hépatorénale. Une étude soutenue par l'entreprise (Doull et al., 2007) a ensuite contesté cette interprétation en arguant qu'une relation dose-effet n'avait pas été mise en évidence et parce que les résultats différaient en fonction du sexe. »

L'auteur évoque le réexamen des données toxicologiques qui concernaient les maïs MON863. Ce ré-examen, effectué par Séralini et al. (2007) correspond à la mise en œuvre de méthodes statistiques différentes aboutissant aux mêmes résultats. Ce qui diffère chez Séralini et al. (2007) porte sur l'interprétation qui a été faite de ces différences.

L'AESA, la CGB (Commission de Génie Moléculaire) et l'AFSSA ont chacune émis un avis sur la publication de Séralini et al. et toutes concluent que cette nouvelle analyse ne remet pas en cause les précédents avis sur MON863 (AFSSA, 2007 ; AESA, 2007 ; CGB, 2007). Les trois avis ne sont pas cités dans le rapport du Pr le Maho.

Lors de l'élaboration de leurs Lignes Directrices, l'AFSSA et l'AESA ont élaboré des documents détaillés sur la conduite de l'analyse statistique des données (AESA, 2008a ; AFSSA, 2002). Lorsque l'évaluation met en évidence une insuffisance ou une absence de données, le dossier est rejeté (cf. les avis publics de l'AFSSA concernant les OGM).

CONCLUSION de l'Agence Française de sécurité sanitaire des aliments :

L'AFSSA considère que les éléments du rapport du Pr le Maho relatifs à l'évaluation des risques relevant de la compétence de l'AFSSA n'apporte aucun élément nouveau qui remettrait en cause la sécurité sanitaire des maïs portant l'événement MON810.

Le dossier technique accompagnant la demande de mise sur le marché satisfait à tous les requis des lignes directrices européennes :

- leur équivalence substantielle a été démontrée,
- les études toxicologiques dont une étude de toxicité sub-chronique chez le rat, n'identifient pas d'effet néfaste lié à la consommation de ces maïs,
- de nombreuses études complémentaires sur espèces cibles (annexe II) ont été réalisées sans mettre en évidence une quelconque toxicité.

Les données de consommation et d'exposition des maïs MON810 sur une période de plus de 10 ans sont informatives même s'il n'y a pas de déclaration systématique des effets indésirables potentiels dans les animaux d'élevage. Les maïs MON810 viennent d'être réévalués positivement par l'AFSSA (AFSSA, 2008a) et par l'AESA.

Après analyse du rapport du Pr le Maho, le groupe scientifique GMO de l'AESA conclut qu'en termes de risques pour la santé humaine et animale, l'ensemble des informations fournies ne présente aucune nouvelle preuve scientifique qui pourrait invalider les évaluations antérieures des risques du maïs MON810 (AESA, 2008c).

Les critiques formulées dans le rapport du Pr le Maho ne conduisent pas à remettre en cause la démarche établie par l'AFSSA pour l'évaluation du risque toxicologique des OGM en matière alimentaire.

Mots clés : OGM, MON810, Pr le Maho.

BIBLIOGRAPHIE

- AESA, 2006** Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plant and derived food and feed. *The EFSA Journal* (2006), 99: 1-100.
http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620775747.htm
- AESA, 2007** EFSA review of statistical analyses conducted for the assessment of the MON 863 90-day rat feeding study, june 2007.
http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Scientific_Document/sc_rep_efsa_stat_review,0.pdf?ssbinary=true
- AESA, 2008a** Updated guidance document for the risk assessment of Genetically Modified Plants and derived food and feed. *The EFSA Journal* (2008) 727, 1-135
- AESA, 2008b** Report of the EFSA GMO panel working group on animal feeding trials “Safety and Nutritional assessment of GM plants and derived food and feed: The role of animal feeding trials” *Food Chem. Toxicol.* 46 (2008), S1.
- AESA, 2008c.** Request from the European Commission related to the safeguard clause invoked by France on maize MON810 according to Article 23 of Directive 2001/18/EC and the emergency measure according to Article 34 of Regulation (EC) No 1829/2003 *The EFSA Journal* (2008) 850, 6-45.
- AFSSA, 2000** éléments pertinents pour l'évaluation des risques liés aux OGM. Comité Biotechnologie, Groupe de travail « Lignes Directrices OGM », Mai 2000.
- AFSSA, 2002** Evaluation des risques relatifs à la consommation de produits alimentaires composés ou issus d'organismes génétiquement modifiés. Annexe 1.
- AFSSA, 2007** Avis relatif à la récente étude publiée (Séralini *et al.*, 2007) sur le maïs génétiquement modifié MON 863, saisine 2007-SA-0109, 26 avril 2007.
- AFSSA, 2008a** Avis relatif à une demande de renouvellement de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié MON 810, résistant aux lépidoptères, pour l'importation, la transformation, ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de ses produits dérivés, au titre du règlement (CE) n°1829/2003, saisine 2008-SA-0043, 30 avril 2008.
- AFSSA, 2008b** Avis relatif aux études de toxicité réalisées dans le cadre des demandes de mises sur le marché d'OGM, saisine 2007-SA-0396, 29 février 2008.
- Betz F.S., Hammond B.G. and Fuchs R.L. 2000**, Safety and Advantages of *Bacillus thuringiensis*-Protected Plants to Control Insect Pests. *Reg. Toxicology and pharmacology*, 32, 156-173.
- Bondzio A., Stumpff F., Schön J., Martens H., Einspanier R. 2008** Impact of *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ab on rumen epithelial cells (REC) - a new in vitro model for safety assessment of recombinant food compounds. *Food Chem. Toxicol.* 46, 6, 1976-1984.
- CPHA, 2008** avis sur la dissémination du MON810 sur le territoire français, 9 janvier 2008.
- CGB, 2007** Avis relatif à une publication de Séralini et al. sur le maïs MON863 adopté par la Commission du génie biomoléculaire lors de la séance du 12 juin 2007.
- Chen J.R., Liao C.W., Mao S.J., Weng C.N. 2001** A recombinant chimera composed of repeat region RR1 of *Mycoplasma hyopneumoniae* adhesin with *Pseudomonas* exotoxin: in vivo evaluation of specific IgG response in mice and pigs. *Vet Microbiol.* 80 347-57.
- Dearman R.J., Stone S., Caddick H.T., Basketter D.A., Kimber I. 2003** Evaluation of protein allergenic potential in mice: dose-response analyses. *Clin Exp Allergy.* 33, 1586-1594.
- EXTOXNET PIP, 1996 *Bacillus thuringiensis*.** Extension toxicological Network-pesticide information profiles, Oregon State University.
<http://ace.ace.orst.edu:info:extoxnet/pips/bacillus.htm>.
- Fischhoff D.A., Bowdish K.S., Perlak F.J., Marrone P.G., McCormick S.M., Niedermeyer J.G., Dean D.A., Kusano-Kretzmer K., Mayer E.J., Rochester D.E., Rogers S.G., Fraley R.T., 1987**, Insect Tolerant Transgenic Tomato Plants, *Bio/Techn.* 5, 807-813.

- Hammond B.G., Dudek R., Lemena J.K., Nemeth M.A 2006** Results of a 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn borer-protected corn *Food Chem. Toxicol.* 44, 1092-1099.
- Hernandez M., Pla M., Esteve T., Prat S., Puigdomenech P., Ferrando A., 2003**, A specific real-time quantitative PCR detection system for event MON810 in maize YieldGard® based on the 3'-transgene integration sequence, *12*, 179–189.
- Höfte H, Whiteley HR. 1989** Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol Rev.* 53, 2, 242-255.
- Holck A., Va M., Didierjean L., Rudi K., 2002** 5'-nuclease PCR for quantitative event-specific detection of the genetically modified Mon810 YieldGard maize. *Eur. Food Res. technol.* 214, 449-453.
- Knudsen I, Poulsen M., 2007** Comparative safety testing of genetically modified foods in a 90-day rat feeding study design allowing the distinction between primary and secondary effects of the new genetic event. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 49,1, 53-62.
- Knudsen I., Søborg I., Eriksen F., Pilegaard K., Pedersen J. 2008** Risk management and risk assessment of novel plant foods: concepts and principles. *Food Chem Toxicol.* 46, 5, 1681-1705.
- Kroghsbo S., Madsen C., Poulsen M., Schrøder M., Kvist P.H., Taylor M., Gatehouse A., Shu Q., Knudsen I., 2008** Immunotoxicological studies of genetically modified rice expressing PHA-E lectin or Bt toxin in Wistar rats. *Toxicology* 12, 245, 24-34.
- Mayes ME, Held GA, Lau C, Seely JC, Roe RM, Dauterman WC, Kawanishi CY. 1989** Characterization of the mammalian toxicity of the crystal polypeptides of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Israelensis*, *Fundam Appl Toxicol.* 13, 2, 310-322.
- McClintock J.T., Schaffer C.R., Sjoblad R.D., 1995**, A comparative review of the mammalian toxicity of *Bacillus thuringiensis*-based pesticides, *Pesticide Science*, 45, 2, 95-105.
- Monsanto, 2008** analyse par la société Monsanto de l'avis sur la dissémination du MON810 sur le territoire français du 9 janvier 2008.
http://www.monsanto.fr/pdf/Analyse_scientifique_version_francaise.pdf
- Munro IC, Kennepohl E, Kroes R 1999** A procedure for the safety evaluation of flavouring substances. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *Food Chem Toxicol.* 37, 207-232.
- Romeis J., Meissle M., Bigler F. 2006**, Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control, *Nature Biotech.* 24, 63-71.
- Rosati A, Bogani P, Santarlasci A, Buiatti M. 2008** Characterisation of 3' transgene insertion site and derived mRNAs in MON810 YieldGard maize. *Plant Mol Biol.* 16, 7, 271-281.
- Sanders P.R, Lee T.C, Groth M.E, Astwood J.D., Fuchs R.L. 1998** Safety assessment of insect-protected corn. *Biotech. safety assess.* 241-256.
- Séralini G.E., Cellier D., Spiroux de Vendomois J. 2007** New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 52, 4, 596-602.
- Vázquez R.I., Moreno-Fierros L., Neri-Bazán L., De La Riva G.A., López-Revilla R. 1999** *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protoxin is a potent systemic and mucosal adjuvant. *Scand J Immunol.* 49, 6, 578-584.

ANNEXE I

Maisons-Alfort, le 30 avril 2008

AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
relatif à une demande de renouvellement de mise sur le marché du maïs
génétiquement modifié MON 810, résistant aux lépidoptères, pour l'importation, la
transformation, ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de ses
produits dérivés, au titre du règlement (CE) n°1829/2003.**

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) a été saisie le 27 février 2008 par la Direction générale de concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes d'une demande d'avis relatif à une demande de renouvellement de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié MON 810, résistant aux lépidoptères, pour l'importation, la transformation, ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de ses produits dérivés, au titre du règlement (CE) n°1829/2003.

Conformément au Règlement (CE) n°1829/2003, notamment aux articles 6 et 18, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA) 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'AESA a cependant décidé de permettre aux Etats-membres de faire connaître leurs observations sur le dossier initial. C'est dans ce cadre que la DGCCRF a sollicité l'avis de l'AFSSA.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé "Biotechnologie", réuni le 17 avril 2008, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments émet l'avis suivant :

(A) Information générale

La demande concerne l'examen d'un dossier en vue du renouvellement d'une autorisation de mise sur le marché pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale des produits dérivés du maïs génétiquement modifié MON 810, résistant aux lépidoptères. Les maïs portant l'événement MON810 ont été autorisés pour la culture et l'alimentation animale en avril 1998 au titre de la directive 90/220 (remplacée par la directive 2001/18). Les produits dérivés des maïs portant l'événement MON810 ont été autorisés en alimentation humaine et animale en février 1998 au titre du règlement 258/97 (remplacé par le règlement N°1829/2003). En juillet 2004, les maïs portant l'événement MON 810 et leurs produits dérivés destinés à l'alimentation humaine et animale ont été notifiés selon les articles 8 et 20 de la directive N°1829/2003 et inscrits sur le registre communautaire en avril 2005.

La présente demande vise à renouveler l'ensemble des autorisations existantes qui sont arrivées à échéance après 10 ans selon les articles 8 et 20 du règlement communautaire N°1829/2003. L'évaluation des risques environnementaux des OGM en rapport avec leur culture n'entre pas dans le champ de compétence de l'AFSSA et le présent avis est relatif à la sécurité alimentaire des maïs portant l'événement MON810.

Des informations concernant le maïs portant l'événement MON810 ont déjà été examinées par l'AFSSA dans le cadre de l'évaluation pour la mise sur le marché d'hybrides contenant l'événement MON810, soit les maïs T25xMON810, NK603xMON810, LY038xMON810, MON88017xMON810, MON810xMON863.

Les maïs MON 810 contiennent le gène codant le domaine toxique de la protéine CRY1Ab issue de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*. Cette protéine a la propriété de créer des

pores dans les cellules intestinales de certains lépidoptères conduisant à la perturbation du système d'absorption intestinal. Le domaine de CRY1Ab exprimé est toxique pour la pyrale (*Ostrinia nubilalis* ou European corn borer) et la sésamie (*Sesamia non agroides* ou Mediterranean Corn Borer).

Les maïs portant l'événement MON 810 sont commercialisés depuis 1997 aux USA. Par la suite, ils ont été cultivés dans de nombreux pays (Canada, Argentine, Afrique du Sud, Uruguay, Philippines, Espagne, France, Allemagne, République Tchèque, Portugal, Slovaquie).

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

- (1) L'événement MON810 résulte de la régénération de la plante entière à partir d'un cal de maïs (variété B73) transformé par biolistique. L'ADN utilisé pour la transformation est le plasmide PV-ZMBK07 et le plasmide PV-ZMGT10.

Le plasmide PV-ZMBK07 est constitué de l'origine de réplication plasmidique *Ori* ; du gène bactérien *NptII* conférant la résistance à la kanamycine ; d'une cassette d'expression chimérique de 4,9 kb contenant :

- le promoteur gouvernant la synthèse de l'ARN 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur avec deux copies de sa séquence enhancer,
- l'intron du gène *ZmHsp70* du maïs,
- la séquence, optimisée pour le végétal, codant un variant de la toxine CRY1Ab de *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* souche HD1,
- le terminateur de transcription du gène d'*A. tumefaciens* codant la nopaline-synthase .

Le plasmide PV-ZMGT10 est constitué de l'origine de réplication *Ori* d'*E. coli*, du gène bactérien *NptII*, et de deux cassettes devant permettre l'expression :

- de la protéine CP4 EPSPS provenant *Agrobacterium tumefaciens*
- de la protéine GOX (glyphosate oxydoréductase) de la souche LBAA d'*Ochrobactrum anthropi*

La fonction de ces deux protéines dans le maïs devait leur assurer une tolérance au glyphosate par 2 mécanismes : synthèse d'une EPSPS (enzyme cible du glyphosate) insensible à cet herbicide et synthèse d'une Glyphosate Oxydoréductase inactivant les molécules de glyphosate.

Pour autant, l'événement MON810 ne correspond pas à l'intégration des deux plasmides ; seul un fragment provenant du plasmide PV-ZMBK07 s'est intégré dans son génome (fraction du gène chimérique *Cry1A(b)*).

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

- (1) L'événement MON 810 ne porte qu'un fragment du plasmide PV-ZMBK07 comportant le gène *cry1Ab* qui confère la résistance à certains lépidoptères.

- (2) Considérant que les analyses de type Southern, utilisant une large gamme d'enzymes de restriction et de sondes correspondant à chacun des 2 plasmides, montrent que la lignée MON810 est dépourvue des séquences *ori* et des gènes *nptII* ainsi que de tout fragment issu du plasmide PV-ZMGT10 (gènes *gox* et *cp4 epsps*) ;

Considérant que la séquence complète de l'insertion et de ses bordures 5' et 3' ont été générées et leurs analyses ont permis d'établir que l'ADN introduit couvre moins de 3,6 kb correspondant à :

- 307 pb dérivées du enhancer/promoteur 35S du CaMV (dont la moitié 5' n'a pas été intégrée),
- l'ensemble des 803 pb correspondant à l'intron du gène *Hsp70* de maïs,
- les premières 2448 pb codant pour les 801 premiers acides aminés de la séquence complète de *Cry1Ab* (1151 acides aminés).

Aucune séquence de terminaison particulière n'est retrouvée pour mettre fin à la transcription du transgène, le terminateur *nos* prévu dans la construction n'ayant pas été intégré lors de l'événement de transformation MON810.

La protéine CRY1Ab exprimée par le gène chimérique est tronquée par rapport à la cassette d'expression initiale mais confère néanmoins au maïs transformé MON810, la résistance attendue à certains insectes de la famille des lépidoptères.

Considérant que les résultats des analyses moléculaires montrent que le maïs MON810 contient une seule copie du fragment introduit, que l'insertion est unique dans le génome nucléaire du maïs ;

Considérant que les régions en amont et en aval de l'insert ont été séquencées en 2001 et qu'en 2005 et 2007, de nouvelles séquences ont été produites et comparées avec les séquences répertoriées dans les bases de données publiques ; les résultats de ces analyses montrent :

- Au niveau de la jonction amont ou 5', la séquence ADN contient 5 ORF (phase de lecture ouverte) potentielles de 15 à 80 acides aminés. La comparaison de la séquence de chacun des 5 polypeptides avec celles répertoriées dans les bases de données ne montre aucune homologie avec une protéine toxique, allergène ou ayant un effet pharmacologique. En outre, rien n'indique que cette région de jonction sera transcrite et traduite.
- Au niveau de la jonction aval ou 3', la séquence ADN de jonction contient 6 ORF potentielles et la comparaison de la séquence de chacun des 6 polypeptides avec celles répertoriées dans les bases de données ne montre aucune homologie avec une protéine toxique, allergène ou ayant un effet pharmacologique. Selon les analyses de 2005, l'ORF la plus longue (278 acides aminés) est similaire à une protéine de riz définie comme une « HECT ubiquitin protein ligase ». L'insertion se situe dans l'exon 7 de ce gène potentiel.

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

Considérant que les teneurs de la protéine CRY1Ab ont été mesurées par ELISA dans les différents tissus de la plante (feuille, fourrage, grain) à partir de maïs MON810 cultivées sur 6 sites aux États-Unis en 1994 et à partir de maïs MON810 et d'hybrides MON810 cultivés en Europe en 1995 ;

Considérant que les teneurs moyennes mesurées dans les grains et dans les feuilles sont présentées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Teneurs moyennes en protéine CRY1Ab mesurée dans des variétés de maïs portant l'événement MON810 en µg/g de poids frais, () étendue des valeurs

	MON810 USA 1994	MON810 Europe 1995	Hybride MON810 Europe 1995
Feuille	9,35 (7,93-10,34)	8,60 (7,59-9,39)	9,26 (8,20-10,51)
Grain	0,31 (0,19-0,39)	0,53 (0,42-0,69)	0,46 (0,35-0,60)

(5) Informations relatives à la stabilité génétique de l'insert et à la stabilité phénotypique de son expression

Considérant que la stabilité génétique de l'insert présent dans le maïs portant l'événement MON810 a été vérifiée par Southern et que la stabilité phénotypique a été vérifiée notamment par la toxicité des maïs portant l'événement MON810 envers les pyrales et les sésamies qui en consomment.

Considérant que les résultats de ces analyses effectuées sur 7 générations de croisements avec le parent récurrent (B73), et 6 générations de croisements avec une autre lignée (MO17) ont confirmé la stabilité de l'insert et du phénotype dans la descendance et montre une hérédité mendélienne classique d'un caractère dominant ;

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

(7.1.3) Plusieurs études visant à comparer la composition chimique des maïs portant l'événement MON810 à celle de ses témoins ont été réalisées et sont résumées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Description des différents essais et paramètres mesurés dans les études de comparaison de la composition chimique des maïs portant l'événement MON810 par rapport à celle de ses témoins.

Date, lieu	1994 USA 6 sites	1995 France 4 sites	1995 France Italie 3 sites	1995 France Italie 5 sites (2)
Evènement Témoin	MON 810 MON 818	MON 810 MON 820	MON 810 MON 820	hybride MON810, hybride contrôle
Tissu	grain	grain	plante entière (fourrage)	Grain et plante entière (fourrage)
Paramètres mesurés	6 paramètres proximaux (1) 18 acides aminés 5 acides gras Fibres Acide phytique Calcium, Phosphore	5 paramètres proximaux (1) 18 acides aminés 9 acides gras 2 Fibres (NDF,ADF)	6 paramètres proximaux (1) 2 Fibres (NDF,ADF)	6 paramètres proximaux (1) 18 acides aminés 8 acides gras 2 Fibres (NDF, ADF)

(1) Les paramètres proximaux sont : teneur en cendres, teneur en eau, matière sèche, hydrates de carbone, lipides, protéines, calories.

(2) Les données ont été mesurées par spectrométrie infrarouge.

Considérant que l'analyse statistique (analyse de variance) des valeurs des différents paramètres montre des différences statistiquement significatives de façon sporadique mais que les teneurs observées restent dans la gamme des valeurs mesurées chez le maïs ; ces études conduisent toutes à démontrer l'équivalence en substance entre des maïs portant l'événement MON810 et les maïs témoins ;

Considérant les analyses de composition chimique réalisées dans le cadre de demande d'autorisation de mise sur le marché d'hybride dont l'un des parents est MON810 ; certaines de ces demandes ont été examinées par le CES Biotechnologie qui a conclu à une équivalence en substance entre l'hybride et son témoin notamment pour NK603xMON810 (avis du 13 septembre 2005), LY038xMON810 (avis du 5 juin 2007), MON88017xMON810 (avis du 3 mai 2007) ;

(7.4) **Analyse comparative des caractères agronomiques**

Considérant que de nombreuses analyses des caractères agronomiques et phénotypiques depuis 1994 ont été menées et que tous les résultats montrent qu'il n'y a pas de différences entre les plantes génétiquement modifiées et les plantes témoins à l'exception de la résistance aux lépidoptères ;

Considérant qu'il a été montré par ailleurs que la culture des maïs résistants aux ravageurs insectes permet de diminuer la teneur en mycotoxines (fumonisines) consécutive à la contamination et au développement de champignons favorisés par les attaques d'insectes (AFSSA, 2004)² ;

(7.4) **Effet du procédé de traitement**

Considérant que le dossier technique fournit un descriptif général des différentes catégories de produits dérivés produits à partir des grains de maïs mais qu'il n'apporte aucun élément sur le devenir et les teneurs en protéine CRY1Ab ;

(7.8) **Toxicologie**

(7.8.1) **Evaluation de la sécurité de la protéine CRY1Ab**

La protéine CRY1Ab a été considérée comme ne présentant pas de risque par le SCP en 1998 et à plusieurs reprises par l'EFSA et l'AFSSA depuis 2005. L'analyse de la toxicité

² AFSSA, 2004 OGM et alimentation : peut-on identifier et évaluer des bénéfices pour la santé.

des protéines CRY ou Bt a fait l'objet d'une revue (Betz *et al.*, 2000³) concluant à la non toxicité pour l'homme.

Considérant les éléments suivants :

- ✓ la protéine CRY1Ab provient de *Bacillus thuringiensis*, une bactérie naturelle du sol, largement répandue
- ✓ l'absence de récepteurs pour les protéines CRY chez les mammifères, les oiseaux et les poissons,
- ✓ la présence à l'état naturel de cette protéine dans l'environnement de l'homme, y compris dans son alimentation,
- ✓ CRY1Ab ne présente pas de similarité de structure avec des protéines répertoriées dans des bases de données internationales, connues pour leurs propriétés toxiques, immunotoxiques ou leur activité biologique ou pharmacologique chez l'homme et les animaux, autres que des propriétés toxiques envers certains lépidoptères pour lesquelles elle a été sélectionnée, les analyses BLAST ont été réactualisées en 2004 et 2007 ;
- ✓ une étude de toxicité aiguë par voie orale réalisée avec le domaine toxique de la protéine CRY1Ab, synthétisée par *E. coli*, montre qu'à la dose maximale administrable de 4000 mg/kg p.c./ jour, on n'observe aucun effet délétère sur les souris testées ;
- ✓ les marges de sécurité calculées pour l'homme à partir de la dose unique maximale et en tenant compte de la teneur maximale en protéine CRY1Ab dans le grain de maïs, est très protectrice (de l'ordre de 10⁷) au regard de l'exposition alimentaire estimée des adultes et des adolescents ;

Considérant que l'étude de toxicité aiguë a été réalisée avec le domaine toxique de la protéine, produite dans *E. coli*, qui comporte 350 acides aminés de plus que le domaine de la protéine exprimé dans les maïs portant l'événement MON810.

(7.8.2) Etude de la toxicité subchronique

Considérant qu'une étude de toxicité subchronique (90 jours) a été réalisée, selon un protocole conforme aux lignes directrices internationales, avec des rats des deux sexes (20 animaux de chaque sexe par traitement) en vue d'étudier l'effet de la consommation du maïs grain MON810, incorporé à hauteur de 11 % ou 33 % dans la ration alimentaire en comparaison avec un maïs témoin (incorporé à hauteur de 33% dans la ration) ayant le même fond génétique ;

Considérant que la composition chimique du grain de maïs MON810 administré aux animaux a été déterminée et est conforme aux résultats de l'analyse de composition présentée ci-dessus (voir 7.1-3) ;

Considérant que l'état clinique général, l'évolution pondérale, la consommation alimentaire, les paramètres hématologiques, biochimiques sanguins et urinaires ont été mesurés après 5 et 14 semaines et qu'au sacrifice des animaux à 14 semaines, des observations macroscopiques et microscopiques des organes ont été effectuées ;

Considérant que :

- l'évolution pondérale et l'efficacité de l'aliment ne sont pas affectées chez les animaux nourris avec le régime à base de maïs MON810 comparées à celles des animaux nourris avec le maïs témoin ;
- certains paramètres hématologiques et de biochimie sanguine varient mais sont inconsistants entre les sexes, ces observations ne permettent pas de conclure à une signification toxicologique ;
- de même quelques paramètres sont significativement différents entre les groupes : certaines de ces différences significatives observées entre les animaux nourris à base de maïs MON810 et ceux recevant le maïs témoin ne sont pas retrouvées en comparant avec les animaux nourris à base de maïs conventionnels. Ces variations ne peuvent donc être directement reliées à la nature du régime alimentaire et sont sans signification toxicologique ;

³ Betz FS, Hammond BG and Fuchs, Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. (2000) Regul.Tox.Pharma., 32, 156-173.

- l'analyse histologique des organes ne montre aucune altération et différence entre les animaux nourris avec le régime à base de maïs MON 810 et les animaux nourris avec le maïs témoin ;

(7.9) **Allergénicité**

L'allergénicité de CRY1Ab a déjà été considérée à plusieurs reprises (SCP en 1998, EFSA, AFSSA) lors de l'évaluation d'autres maïs et espèces végétales génétiquement modifiés exprimant cette protéine ;

Considérant que l'évaluation de l'allergénicité de la protéine CRY1Ab repose sur les éléments suivants :

- ✓ Cry1A(b) est issu d'un organisme qui n'est pas connu comme une source d'allergène
- ✓ la recherche d'identité (réactualisée en 2005 et 2007) de séquence des acides aminés de la protéine CRY1Ab (comparaison de séquences de 80 acides aminés et recherche de 8 acides aminés contigus) avec des séquences de protéines connues pour être allergènes n'a pas mis en évidence de telles identités,
- ✓ la protéine CRY1Ab est sensible à la protéolyse par la pepsine en milieu acide (fluide gastrique simulé), elle est digérée à 90% après 2 minutes d'incubation,
- ✓ CRY1Ab n'est pas N-glycosylée,
- ✓ la concentration de CRY1A est faible dans le grain (0,5µg/g soit 0,0004% des protéines du grain).

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

(7.10) **Evaluation nutritionnelle**

Considérant qu'une étude d'alimentarité a été réalisée chez des poulets (80 mâles et 80 femelles par traitement, 8 traitements) nourris pendant 42 jours avec deux régimes [correspondant aux périodes de démarrage (0-21 jours), de croissance/ finition 21-42 jours]] à base de maïs MON 810 (54 et 60 %) en comparaison avec des poulets nourris dans les mêmes conditions avec du maïs témoin ayant le même fond génétique et 4 variétés commerciales de maïs cultivées aux Etats-Unis en 1999 ;

Considérant que l'équivalence de composition chimique entre le maïs MON 810 et les maïs témoin et contrôles et les teneurs en 19 mycotoxines⁴ et 4 pesticides des rations ont été vérifiées ;

Considérant que les observations ont porté sur 8 paramètres zootechniques, 6 données de découpe et 3x2 données de composition des muscles (cuisse et pectoral) et que le taux de mortalité enregistré au cours de l'expérimentation n'est pas lié au traitement ;

Considérant que les résultats, après analyse statistique, montrent qu'on observe aucune différence due aux traitements entre les animaux nourris avec le maïs MON810 et le maïs témoin ou les variétés commerciales testées pour ce qui concerne les paramètres mesurés et décrits ci-dessus ;

Considérant que, sur la base de l'analyse de ces résultats, on peut conclure à une équivalence nutritionnelle du maïs grain MON810 avec son témoin non génétiquement modifié,

⁴ Il convient de noter que le taux en fumonisines B1 est significativement plus faible dans le maïs MON 810 que dans le maïs témoin.

Considérant que parmi les nombreuses études (voir annexe 1) réalisées chez d'autres espèces (porc, saumon, vache laitière, bouvillon) aucune n'évoque une quelconque toxicité ou différence d'alimentarité entre les maïs portant l'événement MON 810 et leurs témoins ;

Malgré une présentation confuse des données dans le dossier technique, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments considère que :

- l'analyse moléculaire du maïs portant l'événement MON810 caractérise l'événement de transformation,
- l'analyse de composition ne met pas en évidence de différence significative compromettant l'équivalence en substance du maïs MON810 par rapport au maïs témoin et aux variétés de maïs conventionnelles,
- l'étude de toxicité subchronique réalisée chez le rat pendant 90 jours ne met pas en évidence d'effets délétères liés à la consommation du maïs portant l'événement MON810,
- l'étude d'alimentarité réalisée chez le poulet ne met pas en évidence de différences nutritionnelles entre le grain de maïs MON810 et le grain de maïs témoin.

En conséquence, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments estime, qu'au regard des données présentées dans le dossier dont certaines ont été réactualisées et des nombreuses données publiées dans la littérature scientifique à comité de lecture (annexe 1), les maïs portant l'événement de transformation MON810 et leurs produits dérivés présentent le même niveau de sécurité sanitaire que les variétés de maïs conventionnelles et que leurs produits dérivés.

Mots clés. : OGM, maïs MON810, résistant lépidoptères, renouvellement

La Directrice Générale

Pascale BRIAND

Références bibliographiques

Deaville, E.R., Maddison, B.C. 2005

Detection of transgenic and endogenous plant DNA fragments in the blood, tissue and digesta of broilers. *J. Agric. Food Chem.* 53:10268-10275

Donkin, S.S., Velez, J.C., Trotten, A.K., Stanisiewski, E.P. Hartnell, G.F. 2003

Effects of feeding silage and grain from glyphosate- tolerant or insect-protected corn hybrids on feed intake, ruminal digestion and milk production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86: 1780-1788.

Hammond, B.G., Dudek, R., Lemen, J.K., Nemeth, M.A. 2006

Results of a 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn borer-protected corn. *Food Chem. Toxicol.* 44:1092-1099.

Jennings, J.C., Albee, L.D., Kolwyck, D.C., Surber, J.B., Taylor, M.L., Hartnell, G.F., Lirette R.P., Glenn K.C. 2003

Attempts to detect transgenic and endogenous plant DNA and transgenic protein in muscle from broilers fed Yieldgard corn borer corn. *Poult Sci.* 82: 371-380.

Phipps, R. H., Deaville, E.R., Maddison, B.C. 2003

Detection of transgenic and endogenous plant DNA in rumen fluid, duodenal digesta, milk, blood, and feces of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:4070-4078.

Rossi, F., Morlacchini, M., Fusconi, G., Pietri, A., Mazza, R., Piva, G. 2005

Effects of Bt corn on broiler growth performance and fate of feed-derived DNA in the digestive tract. *Poult Sci.* 84:1022-1030.

Sanden, M., Krogdahl, A., Bakke-McKeller, A.M., Buddington, R.K., Hemre, G.I. 2006

Growth performance and organ development in Atlantic salmon *Salmo salar L. parr* fed genetically modified (GM) soybean and maize. *Aquaculture Nutrition.* 12:1-14.

Taylor, M.L., Hartnell, G.F., Riordan, S.G., Nemeth, M.A., Karunanandaa, K., George, B., Astwood, J.D. 2003a

Comparison of boiler performance when fed diets containing grain from Roundup Ready (NK603), YieldGard × Roundup Ready (MON810 × NK603), Non-transgenic Control, or Commercial Corn. *Poult Sci.* 82:443-453.

Taylor, M.L., Hartnell, G.F., Riordan, S.G., Nemeth, M.A., Karunanandaa, K., George, B., Atwood, J.D. 2003b

Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from Yieldgard (Mon 810), Yieldgard x Roundup Ready (GA21), non transgenic control, or commercial corn. *Poult Sci.* 82: 823-830.

Taylor, M.L., Hyun, Y., Hartnell, G.F., Riordan, S.G., Neleth, M.A., Karananandaa, K.3 George, B., Astwood, J.D. 2003c

Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from Yieldgard Rootworm (Mon863) Yieldgard plus (Mon810 x Mon 863), non transgenic control, or commercial reference corn hybrids. *Poult Sci.* 82: 1948-1956.

Taylor, M.L., Hartnell, G.F., Nemeth, M., Karananandaa, K., George, B. 2005

Comparison of broiler performance when fed diets containing corn grain with insect-protected (Corn root worm and European corn borer) and herbicide- tolerant (Glyphosate) traits, control corn, or commercial reference corn. *Poult Sci.* 84: 587-593.

ANNEXE II

HISTORIQUE DES EVALUATIONS DES MAÏS MON810 EN EUROPE

Comité Scientifique des Plantes (SCP) 10 Février 1998 :

Après examen du dossier, le SCP concluait à l'absence d'évidence indiquant que les grains des maïs résistant à des insectes, exprimant le gène *cry1A* et la protéine CRY1A, lorsqu'ils sont cultivés, importés et transformés, sont susceptibles de causer des effets néfastes sur la santé humaine et animale et sur l'environnement.

UK Advisory committee on novel foods and processes (ACNFP) 1996:

L'autorité compétente du Royaume-Uni concluait que les maïs portant l'événement MON810 sont substantiellement équivalents, sont sûrs pour une utilisation en alimentation humaine et ne diffèrent pas en composition chimique des maïs conventionnels.

Commission de Génie Biomoléculaire (CGB) :

1996, avis favorable à la demande de mise sur le marché (avis CGB avril 1996)

2007, avis relatif à un rapport de Greenpeace sur la teneur en protéine Bt du maïs MON810. En conclusion la CGB indiquait que les données apportées par Greenpeace ne remettaient pas en cause l'évaluation environnementale de la culture du maïs MON810.

Agence européenne de la sécurité alimentaire (AESA) :

L'AESA mène ses évaluations depuis 2003 en consultant un comité d'experts appelé « panel OGM⁵ » dont le principe de fonctionnement est proche de celui des CES de l'AFSSA.

L'AESA a examiné des données concernant les maïs portant l'événement de transformations MON810 lors des demandes d'autorisation de mise sur le marché de maïs hybrides dont un des parents est le maïs MON810. Ainsi plusieurs avis favorables à l'importation et à l'utilisation en Europe pour l'alimentation humaine et animale ont été émis :

- MON810xMON863 le 8 juin 2005 EFSA Journal 251 :1-22 et 252 :1-23 ;
- MON810xMON 863xNK603 le 6 Juillet 2005 EFSA Journal 256 :1-25 ;
- MON810xNK 603 le 13 Octobre 2005 EFSA Journal 308 :1-22 et 309 :1-22 ;

Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) :

Certains de ces dossiers évalués par l'AESA ont été aussi examinés par l'AFSSA dans le cadre de la consultation des états membres. C'est le cas des dossiers de demande d'autorisation de mise sur le marché des hybrides T25xMON810, NK603xMON810, LY038xMON810, MON88017xMON810, MON810xMON863.

CULTURE ET UTILISATION DES MAÏS MON810

Des maïs portant l'événement MON810 sont **cultivés depuis 1997 aux USA** ; en 2006 ils étaient cultivés dans 6 pays d'Europe (France comprise), dans 6 pays non Européens dont le Brésil et importé par 10 autres pays.

Seul ou en multi-association avec d'autres événements GM, il représentait en 2006, 39 % de la sole des 32 millions hectares (Mha) de maïs aux USA soit : 5 Mha de MON810, 5Mha de MON810 x NK603 ; 2,4 Mha de MON810 x MON863 x NK603 et 0,5 Mha de MON810x MON863.

⁵ Le panel OGM de l'AESA est composé de 21 membres.

ANNEXE III

Evaluation nutritionnelle des maïs MON810 et tolérance chez les animaux cibles

Les études réalisées pour vérifier l'absence de toxicité, la tolérance et l'équivalence nutritionnelle de ce maïs MON810 par rapport à leurs témoins non GM chez le rat et les espèces cibles ont été récapitulées dans le tableau 1.

Ces expériences ont mis en œuvre et nécessité le sacrifice de 200 rats, 3792 poulets, 144 porcs, 24 bouvillons et 21.000 larves de saumon ; 34 vaches porteuses. Des fistules permanentes du rumen et du duodénum de bovins ont également été utilisées.

Tableau 1 : synthèse des études sur animaux réalisée avec les maïs MON810.

Animal, durée	Evénement	% de la ration	Mesures zootechniques	Biologie	Référence
Rat 90 jours	Mon810	11-33G (1)	Toxicité semi chronique Performance/sexe Organes	12 Hématologie 17 Sérum	Hammond,2006
Poulet 42 jours	MON 810xNK603	55G	9 Performance (2)/sexe Carcasse (3)	6 Composition des muscles,	Taylor,2003a
Poulet 42 jours	MON810 MON810xGA21	55G 54-61G	Performance ; taux survie Carcasse	6 Composition des muscles,	Taylor,2003b
Poulet 42 jours	MON810xMON8 63	53G	Performance/sexe : n=5 Carcasse	6 Composition des muscles,	Taylor,2003c
Poulet 42 jours	MON810xMON8 8017	55G	Performance/sexe Carcasse : n=9	6 Composition des muscles,	Taylor,2005
Poulet 42 jours	MON810	50 G	Performance Mycotoxines (-)	Absence d'ADN, Hématologie	Rossi, 2005
Poulet 42 jours	MON810	-	-	Absence d'ADN, Muscle	Jennings,2003b
Poulet 39-42 jours	MON810	-	Présence de CRYIAb (+) dans digesta (-) sang et organes	-	Deaville,2005
Porc 96 jours	MON810	68-84G	15 Performance 14 Carcasse/ Viande	-	Weber, 2000
Saumon 240 jours	MON810	12,1 G	Performance Composition corporelle	Pds organes, 5 hématologie	Sanden,2006
Vache lait 21/28 jours	MON810	42E ;34G 60E ;0G	Production/ Composition du lait Qualité (4)	10 Digestibilité in vitro	Donkin,2003
Vache lait Bouvillon	MON810	60E ; 20G	Absence de résidu ADN Cry du lait, rein, foie, rate		Jennings2003b
Vache lait	MON810	18,5 G	Présence d'ADN, T digestif (+) Sérum (-), Lait (-)		Phipps 2003

(1) % de grain G et ensilage E dans la ration

(2) performance zootechnique : poids/ gain de poids ; indice de consommation, taux de survie ;

(3) Carcasse : rendement, poids des pièces de découpe, poids des tissus adipeux ;

(4) Composition du lait : Protéines, matière grasse, lactose, cellules totales.

Références bibliographiques

Voir les références de l'avis en annexe I p18

Weber, T.E., Richert, B.T., Kendall, D.C., Bowers, K.A. and Herr, C.T. 2000

Grower-finisher performance and carcass characteristics of pigs fed genetically modified "Bt" corn <http://www.ansc.purdue.edu/swine/swineday/sday00/psd07-2000.html>