



HAL
open science

EFSA-GMO-DE-2017-141 1

Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie-Anne Barny, Pascal Boireau, Thierry Brévault, Bruno B. Chauvel, Cécile Collonnier, Denis Couvet, Elie Dassa, et al.

► **To cite this version:**

Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie-Anne Barny, Pascal Boireau, et al.. EFSA-GMO-DE-2017-141 1. [0] Haut Conseil Des Biotechnologies. 2017. hal-02791061

HAL Id: hal-02791061

<https://hal.inrae.fr/hal-02791061v1>

Submitted on 5 Jun 2020

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

COMITÉ SCIENTIFIQUE

AVIS

en réponse à la saisine HCB-
dossier EFSA-GMO-DE-2017-141 ¹.

Paris, le 19 octobre 2017

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 10 août 2017 par les autorités compétentes françaises (le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation) d'une demande d'avis relative au dossier **EFSA-GMO-DE-2017-141** de demande d'autorisation de mise sur le marché du cotonnier génétiquement modifié **COT102** à des fins d'importation, transformation, alimentation humaine et animale.

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

Dans ce contexte, le HCB est invité à proposer des commentaires à destination de l'EFSA au plus tard le 25 octobre 2017.

Le Comité scientifique (CS)² du HCB a examiné le dossier en séance du 19 octobre 2017 sous la présidence de Jean-Christophe Pagès. Le présent avis a été adopté le 19 octobre et publié le 15 novembre 2017.

¹ La saisine HCB- dossier EFSA-GMO-DE-2017-141 est reproduite dans l'Annexe 1.

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

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	3
1.1. CONTEXTE REGLEMENTAIRE DE LA SAISINE	3
1.2. HISTORIQUE DU DOSSIER	4
1.3. PRESENTATION DE LA PLANTE GENETIQUEMENT MODIFIEE.....	4
2. COMMENTAIRES A DESTINATION DE L'EFSA	5
2.1. REMARQUES GENERALES	5
2.2. COMMENTAIRES PAR SECTIONS DEFINIES PAR L'EFSA POUR LES COMMENTAIRES	6
ANNEXE 1 : SAISINE	9
ANNEXE 2 : ELABORATION DE L'AVIS.....	10
ANNEXE 3 : COMMENTAIRES TRADUITS EN ANGLAIS A DESTINATION DE L'EFSA	10

1. Introduction

1.1. Contexte réglementaire de la saisine

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 10 août 2017 par les autorités compétentes françaises (le ministère de l'Agriculture, et de l'alimentation) d'une demande d'avis relative à une évaluation du dossier EFSA-GMO-DE-2017-141, portant sur une demande d'autorisation de mise sur le marché du cotonnier génétiquement modifié COT102. Le dossier a été déposé par la société Syngenta auprès de la Commission Européenne sur le fondement du règlement (CE) n° 1829/2003³.

Sur le fondement du règlement (CE) n° 1829/2003, l'évaluation des dossiers de demande d'autorisation de mise sur le marché de plantes génétiquement modifiées est centralisée par l'EFSA⁴, qui dispose d'un délai de 6 mois, à compter de la date de validation du dossier, pour transmettre son avis à la Commission européenne.

Les Etats membres disposent d'un délai ferme de trois mois pour envoyer leurs commentaires à l'EFSA en contribution à l'évaluation sanitaire et environnementale du dossier. En France, les autorités compétentes saisissent d'une part l'Anses (l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail), pour réaliser l'évaluation sanitaire du dossier, et d'autre part le HCB, pour réaliser l'évaluation environnementale associée à un risque de dissémination de l'OGM. En l'absence d'un tel risque, seule l'Anses est saisie. La France couvre ainsi les deux pans de l'évaluation réalisée par l'EFSA. Elle transmet en sus les remarques du Comité économique, éthique et social du HCB concernant les aspects socio-économiques du dossier.

Les commentaires des Etats membres, sont transmis d'une part aux experts de trois groupes de travail du panel OGM⁵ de l'EFSA (Analyse moléculaire, Alimentation humaine et animale, Environnement), et d'autre part à l'Etat membre auquel l'EFSA a délégué l'évaluation du risque environnemental. En l'occurrence, la culture étant exclue du champ de demande d'autorisation de ce dossier, l'EFSA a choisi de ne pas déléguer cette évaluation.

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

La procédure de transmission des commentaires à l'EFSA est cadrée. Les autorités compétentes des Etats membres sont invitées à poster des commentaires en ligne, en anglais, dans des formulaires distincts pour chaque section des dossiers. Les sections sont explicitées dans le document d'orientation de l'EFSA relatif à la soumission de dossiers de demande de

³ Règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2003 concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux génétiquement modifiés. (Plus précisément, pour clarifier une confusion inhérente à la traduction française de ce titre, ce règlement concerne les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, ces denrées alimentaires ou aliments pour animaux pouvant consister en des OGM, contenir des OGM, ou être issus d'OGM.) : <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32003R1829:FR:HTML>.

⁴ EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments, traduction de *European Food Safety Authority*.

⁵ OGM : organisme génétiquement modifié.

renouvellement d'autorisation de mise sur le marché de plantes génétiquement modifiées à des fins alimentaires (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO), 2015). Ces commentaires doivent être ciblés sur des demandes spécifiques adressées à l'EFSA, soit pour une demande de clarification ou d'information supplémentaire de la part du pétitionnaire, soit pour la prise en compte de remarques spécifiques dans son évaluation des dossiers et l'élaboration de son avis scientifique.

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

En fin d'évaluation, la Commission européenne soumettra au vote des Etats membres un projet de décision concernant l'autorisation de mise sur le marché du cotonnier COT102 dans l'Union européenne, élaboré sur la base de l'avis de l'EFSA. Le HCB pourra à nouveau être saisi par les autorités compétentes françaises pour qu'il puisse réviser son évaluation selon les informations supplémentaires versées au dossier depuis son évaluation initiale. A ce stade ultérieur, le HCB rédigera un avis fournissant un éclairage complet sur le dossier à destination du Gouvernement.

1.2. Historique du dossier

L'EFSA a reçu le dossier EFSA-GMO-DE-2017-141 des autorités compétentes allemandes le 10 avril 2017 et, après vérification de sa conformité réglementaire, l'a validé le 24 juillet 2017 et soumis à consultation des Etats membres jusqu'au 30 octobre 2017.

1.3. Présentation de la plante génétiquement modifiée

Description du produit et caractéristiques des constructions génétiques :

Syngenta a développé la lignée de cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) Event COT102, appelée COT102, après transformation avec *Agrobacterium tumefaciens* souche EHA101, portant le vecteur de transformation pCOT1, de la variété commerciale Coker 312.

L'ADN-T de ce vecteur porte deux gènes exprimés de manière constitutive dans le coton COT102 :

- la séquence codante (optimisée pour l'expression dans la plante) dérivée du gène *vip3Aa* de *B. thuringiensis* et codant la protéine Vip3Aa19 est toxique pour les larves de certains lépidoptères notamment *Helicoverpa zea* (vers de la capsule du cotonnier). L'expression de Vip3Aa19 est sous le contrôle du promoteur constitutif Act2 du riz et de son premier intron.
- la séquence codante *aph4*, isolée de *E. coli* K12, codant une hygromycine B phosphotransferase, permet la sélection des cellules et des individus transformés. L'expression de *aph4* est sous le contrôle du promoteur constitutif de l'ubiquitine 3, *ubq3*, d'*Arabidopsis thaliana* et de son premier intron.

Structure de l'insertion :

Des expériences d'hybridation moléculaire de type *Southern blot* et de PCR montrent que COT102 porte une copie intacte de l'ADN-T insérée à un locus du génome nucléaire. Le locus d'insertion a été séquencé, ainsi que 1000 pb des régions flanquantes en 5' et 3'.

Ces analyses montrent que l'ADN-T inséré est entier, excepté 24 pb de la région RB et 19 pb de la région LB. La comparaison des séquences entre le génome de la plante mère et de la plante transgénique montre que de petits événements de remaniements ont eu lieu lors de l'insertion, une délétion de 86 pb, l'insertion d'ADN de coton de 4 pb en 5' de l'ADN-T et de 690 pb en 3'. La structure de l'ADN-T dans le génome du coton est représentée sur la figure 1.2.3.

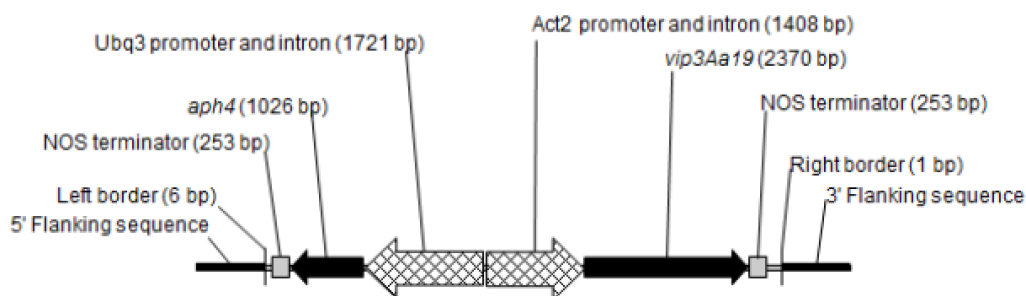


Figure 1 Carte de l'insertion et des régions flanquantes de l'évènement COT102

Analyse bioinformatique

Les analyses bioinformatiques des séquences insérées (ADN-T) et des régions flanquantes montrent que l'insertion n'a pas interrompu de gène du coton et n'a pas créé d'ORF nouveaux ayant une homologie de séquence significative avec des peptides allergènes ou toxiques connus.

Expression :

L'expression des transgènes a été mesurée sur des tissus isolés de plantes cultivées en champ dans 6 localités différentes des USA en 2012. L'expression de la protéine Vip3Aa19 est maximale dans les feuilles de coton où elle atteint 461 µg/g de poids sec. L'expression de l'APH4 est inférieure au niveau minimal de détection par la méthode ELISA dans tous les tissus testés et peut donc être considérée comme très faible.

- Stabilité et héritabilité des transgènes et de leur phénotype au cours des générations

La stabilité de l'insertion a été vérifiée par des expériences de *Southern blot* et de PCR sur 5 générations. Celles-ci montrent que l'insertion est stable et héritée de façon mendélienne.

La stabilité de l'expression des transgènes a été vérifiée sur 3 générations (T7, T9 et T11) à partir de tissus de plantes cultivées en serre. Cette analyse montre que l'expression de la protéine Vip3Aa19 est stable au cours des générations dans tous les tissus testés (environ 220 µg/g de poids sec dans les feuilles et 5,6 dans les graines). L'expression de l'APH4 est aussi stable mais faible dans les tissus testés (environ 0,3 µg/g de poids sec dans les feuilles et 0,4 dans les graines).

2. Commentaires à destination de l'EFSA

2.1. Remarques générales

Commentaire préliminaire :

Deux instances d'évaluation ont été saisies pour l'examen de ce dossier en France : le Haut Conseil des biotechnologies (HCB), saisi par le ministère de l'agriculture et de l'alimentation (MAA), et l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), saisi par le ministère de l'économie, des finances, de l'action et des comptes publics (MEFACP). De manière complémentaire, les commentaires concernant l'évaluation

environnementale du dossier sont envoyés par le HCB *via* le MAA et les commentaires concernant l'évaluation sanitaire du dossier sont envoyés par l'Anses *via* le MEFACP.

Remarque supplémentaire :

Comme pour toute nouvelle semence apportant une innovation, des analyses de cycle de vie (LCA), comparant l'impact de la production du COT102 et celui connu ou que l'on pourrait prévoir d'équivalent, sont indispensables. Elles doivent permettre de savoir si la culture du COT102 a comme effet de réduire ou au contraire d'aggraver les effets sur le changement global (dérèglement climatique, érosion de la biodiversité, eutrophisation...), et ceci de manière intégrative (intégrant l'ensemble des effets environnementaux).

2.2. Commentaires par sections définies par l'EFSA pour les commentaires

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

1.2.1 Information relating to the genetic modification

Questions concernant le document 1.2.11. (Appendices non CI) de Syngenta

Dans le cas de la formulation commerciale Dipel®, il serait intéressant de savoir quelle est la quantité de protéine Vip3A active qui est retrouvée.

Il faudrait aussi comparer cette quantité à celle des protéines Cry présentes dans la formulation Dipel® commerciale. Sur la base des résultats présentés (Table 1 et Figure 1), on peut estimer que 1 g de Dipel® contient 0,2 mg de peptides détectés par l'anticorps anti-Vip3A ; parmi eux seulement quelques ng (entre 1 et 3 ng) semblent correspondre à une protéine entière susceptible d'être fonctionnelle. Or, 1 g de Dipel® contient certainement plus de 100 mg de protéines Cry fonctionnelles. Donc, *in fine*, Vip3A peut représenter environ 1/10⁸ de la quantité de protéine Cry totale.

Les résultats présentés ici ne permettent pas d'apporter la preuve d'une utilisation sans risque depuis 50 ans des protéines Vip3A.

L'historique de l'utilisation des biopesticides à base de Bt ne peut pas être utilisé pour démontrer l'innocuité de la protéine Vip3A pour l'Homme, les animaux et l'environnement.

1.3. Comparative analysis

Aucune correction n'est effectuée pour les tests multiples. Il est donc important d'indiquer le nombre de tests effectués et de corriger pour la multiplicité (par exemple Fig. 1.3.2).

Dans une analyse compositionnelle, la somme des composants vaut 100%. Ceci implique que les tests ne sont pas indépendants. Ce point n'est pas pris en compte.

La puissance des tests n'est jamais évoquée. Il n'est pas possible de tirer des conclusions de non significativité sans cette information.

Les conclusions de la page 90 sont exagérées. On peut seulement dire que l'analyse des résultats n'a pas permis de mettre en évidence une différence. On peut dire la même chose des conclusions du 1.4.4 ainsi que des conclusions des sections du chapitre 5 (il serait bon de préciser ce que veut dire « *negligible* » car il doit probablement s'agir d'un seuil).

1.3.1. Choice of the conventional counterpart and additional comparators

Les concentrations des protéines Vip3Aa19 et APH4 ont été mesurées dans divers types de tissus et stades de développement de plantes de cotonnier COT102 récoltées dans quatre parcelles répliquées plantées dans une distribution au hasard par blocs dans six sites différents dans des régions de production de coton aux Etats-Unis en 2012. Le dossier TK0253035 signale le besoin de faire les études une fois sur trois répétitions ou trois fois sur une répétition. Dans les analyses présentées ici, les études auraient donc respecté la première des options (1 fois et plus de trois sites répétés), même si le dossier indique dans le Tableau 1.3.1 (page 49) une deuxième étude en 2013 avec COT102 de la génération BC₁F₅ sans pour autant fournir d'autres détails à ce sujet.

1.3.2. Experimental design and statistical analysis of data from fields trials for comparative analysis

Il n'existe pas dans cette étude de données confirmant une meilleure tolérance à l'attaque de lépidoptères qui correspondrait à l'avantage conféré par le gène introduit VIP3Aa19.

On peut noter l'absence de mesures de caractéristiques agronomiques sur les semences (poids des semences, viabilité, potentiel de germination).

Il aurait été préférable d'utiliser les mêmes témoins au cours des années successives.

1.4.1. Testing newly expressed proteins

Questions concernant les documents 1.4.11. et 1.4.12 (Appendices non CI) de Syngenta

Les analyses décrites dans ces 2 documents indiquent que la protéine Vip3Aa19 est digérée en totalité et de façon très rapide (1 à 2 minutes) dans des conditions mimant soit le milieu gastrique, soit le milieu intestinal.

Dans le cas des conditions gastriques (doc 1.4.11), les expériences sont faites en présence de pepsine à pH 1,2. Si l'on compare ces résultats à ceux obtenus avec la toxine Cry1Ab : il apparaît que cette toxine était aussi dégradée très rapidement dans ces conditions, alors qu'elle était stable dans un test plus proche des conditions physiologiques, notamment avec un pH de 2,5 (Guimaraes *et al.*, 2010)⁶.

Dans le cas des conditions intestinales (doc 1.4.12), les expériences sont faites en présence de pancréatine. Le pH n'est pas précisé.

Le CS du HCB souhaite que les expériences soient refaites dans différentes conditions se rapprochant des conditions physiologiques, notamment en faisant varier le pH.

⁶ Guimaraes, V., Drumare, M.F., Lereclus, D., Gohar, M., Lamourette, P., Nevers, M.C., Vaisanen-Tunkelrott, M.L., Bernard, H., Guillon, B., Creminon, C., Wal, J.M., and K. Adel-Patient. 2010. In vitro digestion of Cry1Ab proteins and analysis of the impact on their immunoreactivity. *J Agric Food Chem* **58**: 3222-3231.

En ce qui concerne les protéines Cry, l'absence de digestibilité à un pH physiologique ne pose pas un réel problème compte tenu de la spécificité parfaitement démontrée de ces protéines. En ce qui concerne les protéines Vip3A, l'état des connaissances est beaucoup moins avancé et la spécificité cellulaire de ces protéines mériterait d'être précisée.

5.1. Persistence and invasiveness including plant-to-plant gene flow

Il est à noter que ces questions sont posées au niveau européen. Les demandeurs mentionnent que des populations férales de cotonniers ont été observées dans le sud de l'Europe, sans préciser où. En conséquence, ils ne considèrent pas que le risque de voir apparaître des populations de cotonnier en dehors des zones de culture est absent, mais qu'il est seulement faible. Cet argument qui ne nie pas totalement le risque est recevable en tant que tel. Au niveau français et même dans le sud de la métropole ce risque est certainement encore plus faible en relation principalement avec les températures hivernales.

Par contre si la demande d'introduction concerne également les régions ultrapériphériques, françaises, et européennes, la question devrait être à reconsidérer.

5.2. Plant to micro-organisms gene transfer

5.2.1. Step 1: Problem formulation

Il est écrit dans le paragraphe sur les homologues de séquences commençant par « *Bioinformatics analyses [...] Therefore, no sequences able to promote homologous recombination between the COT102 insert and micro-organisms were identified by bioinformatics analyses.* » Le HCB note cependant que les séquences transgéniques sont issues des gènes bactérien *vip3Aa19* de *Bacillus thuringiensis* et *apH4* (hygromycin transferase) de *E. coli* K12.

De même, Page 155 « *Bioinformatics analyses did not show any sequences able to promote homologous combination between the COT102 cotton insert and micro-organisms* ». Le HCB note encore que les séquences transgéniques sont issues des gènes bactérien *vip3Aa19* de *Bacillus thuringiensis* et *apH4* (hygromycin transferase) de *E. coli* K12. En conséquence le dernier paragraphe avant la conclusion de la partie *5.2.1 Step 1: Problem formulation* devrait être modifiée en conséquences.

6. post-Market Environmental Monitoring plan (PMEM)

Le rapport annuel devrait informer des volumes des importations réalisées dans chaque Etat membre ainsi que des volumes par destination (localisation et transformations) des importations. Il devra également renseigner tout échappement accidentel de graine intervenu et les mesures concrètes mises en œuvre pour y pallier (au cas par cas).

Annexe 1 : Saisine

A = 2017 - 390



Courrier reçu le

31 AOUT 2017

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
ET DE L'ALIMENTATION

Direction générale de
l'alimentation

Service des actions
sanitaires en production
primaire

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

Bureau des semences et
de la protection intégrée
des cultures

251, rue de Vaugirard
75732 Paris cedex 15

Madame Christine NOVILLE
Présidente du Haut conseil des
biotechnologies
à l'attention de Madame Joëlle BUSUTTIL
244, boulevard Saint-Germain
75007 PARIS

Paris, le

10 AOUT 2017

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

Références : saisine HCB – dossier 2017-141

Affaire suivie par : Anne Grevet

tél. : 01 49 55 58 25 fax : 01 49 55 59 49

courriel : anne.grevet@agriculture.gouv.fr

Madame la Présidente,

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

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

- dossier **EFSA-GMO-DE-2017-141** concernant la mise sur le marché du coton COT102 pour l'importation, la transformation, l'alimentation humaine et animale.

Les États membres peuvent transmettre leurs commentaires à l'AESA jusqu'au 30 octobre 2017.

Dans cette perspective, j'ai l'honneur de vous demander, par la présente saisine, de bien vouloir procéder à une évaluation de ce dossier afin de proposer des commentaires à transmettre à l'AESA au plus tard **le 25 octobre 2017**.

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

Je vous prie de croire, Madame la Présidente, à l'assurance de ma considération distinguée.

L'adjoint au sous-directeur de la qualité, de la santé
et de la protection des végétaux

Pierre CLAQUIN

Annexe 2 : Elaboration de l'avis

Cet avis a été élaboré par le CS du HCB à partir de la discussion d'un projet d'avis en séance du 19 octobre 2017⁷ sous la présidence du Pr Jean-Christophe Pagès et la vice-présidence du Dr Claudine Franche. Le CS du HCB est un comité pluridisciplinaire composé de personnalités scientifiques nommées par décret au titre de leur spécialité en relation avec les missions du HCB.

Par ordre alphabétique des noms de famille, le CS du HCB est composé⁸ de :

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

Le dossier a été examiné par deux experts rapporteurs, membres du CS du HCB, sélectionnés pour leurs compétences dans les disciplines requises pour l'analyse du dossier. Les membres du CS du HCB remplissent annuellement une déclaration publique d'intérêts. Ils sont également interrogés sur l'existence d'éventuels conflits d'intérêts avant l'examen de chaque dossier. Aucun membre du CS n'a déclaré avoir de conflits d'intérêts qui auraient pu interférer avec l'élaboration de cet avis.

⁷ Membres du CS présents et représentés lors de la discussion du projet d'avis en séance du 19 octobre 2017 : Frédéric Angevin, Claude Bagnis, Pascal Boireau, Bruno Chauvel, Denis Couvet, Elie Dassa, Hubert De Verneuil, Claudine Franche, Philippe Guerche, Guillermina Hernandez-Raquet, Jamal Khalife, Bernard Klonjkowski, Valérie Le Corre, Olivier Lemaire, Didier Lereclus, Rémi Maximilien, Eliane Meurs, Didier Nègre, Sergio Ochatt, Jean-Christophe Pagès, Xavier Raynaud, Catherine Regnault-Roger, Michel Renard, Tristan Renault, Pascal Simonet, Marie-Bérengère Troadec, Jean-Luc Vilotte.

⁸ Composition en vigueur suite au décret de nomination des membres du HCB du 30 décembre 2014, à la loi du 2 décembre 2015 et à l'arrêté du 10 avril 2017 portant nomination des membres du HCB, publié le 28 avril 2017.

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

Cette annexe est une compilation des commentaires du HCB sur le dossier EFSA-GMO-RX-003 traduits en anglais à destination de l'EFSA, prêts à être postés en ligne de manière indépendante par section dans les formulaires du site de l'EFSA.

2.1. General remarks

Supplementary remark:

As for any new plant bred presenting an innovation, life-cycle analysis (LCA), comparing production impact of COT102 to the known or predictable production impact of its counterpart are indispensable. LCA could allow to anticipate whether the culture of COT102 may have reduced or increased effects on global changes (global warming, biodiversity erosion, eutrophication...) in an integrative manner (including all its environmental effects).

2.2. Commentaires par sections définies par l'EFSA pour les commentaires

1.2.1. Information relating to the genetic modification

Questions relating to document 1.2.11. (Appendices non CI) of Syngenta

It would be interesting, for the commercial Dipel® formulation, to know how much active protein Vip3A protein is found. This quantity should be compared to Cry protein quantities in the formulation. Considering the presented results in Table 1 and Figure 1 it can be estimated that 1g of Dipel® could contain 0,2mg of detectable vip3A peptides, among this detected fraction only few ng (between 1 and 3 ng) corresponds to functional protein. Nevertheless, 1g of Dipel® certainly contains more than 100mg of functional Cry protein so *in fine* active Vip3A must represent only 1/10⁸ of the active Cry total proteins. Thus, the reference to Dipel® do not prove an history of safe use for Vip3A proteins. In conclusion, the history of Dipel® safe use shouldn't be used to advocate for the innocuity of Vip3A proteins for humans, animals or environment.

1.3. Comparative analysis

No correction is done for multiple testing. It is necessary to indicate the number of tests and to correct for multiplicity (ie Fig3.2.1)

For compositional analysis, components sum to one. This implies that tests are not independent and that should be considered.

Power of tests is not given. It is not possible to conclude about H₀ without this information

Conclusions of page 90 are not valid. It is only possible to say that the results of the analyses do not permit to see a difference. Same comment can be done about the conclusions of 1.1.1 as well

as the conclusions of sections of chapter 5. Moreover, it would be useful to define “negligible” (as a level of test for example)

1.3.1. Choice of the conventional counterpart and additional comparators

Vip3Aa19 and APH4 protein concentration have been measured for different organs and developmental stages in COT102 harvested in 4 parcels with replica and randomization by blocs in six different regions of U.S.A. in 2012. A second study in 2013 with BC₁F₅ COT102 is indicated in table 1.3.1 p49 but the data are missing in the dossier.

1.3.2. Experimental design and statistical analysis of data from fields trials for comparative analysis

The document does not provide data suggesting a better tolerance to lepidoptery attack conferred by expression of VIP2Aa19 in the COT102.

There is also a lack of agronomic characteristics measurements on seeds (weight of seeds, viability, germination potential...) is noted.

In field studies, the use of a same comparator for each year would have been preferable.

1.4.1. Testing newly expressed proteins

Questions concerning documents 1.4.11. and 1.4.12 (Appendices non CI)

The analyses described in the 2 documents indicate that protein Vip3Aa19 is totally digested very rapidly (1 to 2 minutes) in gastric or intestinal mimicking conditions.

In gastric conditions (doc 1.4.11) experiment are conducted with pepsin at pH1.2. When compared with results obtained with Cry1Ab (Guimaraes *et al.*, 2010)⁹ it appears that this toxin is also quickly degraded under those conditions, but is stable in more physiological conditions especially at pH 2.5.

Concerning intestinal conditions (doc 1.4.12), experiments are conducted with pancreatin but pH is not given.

Experiments should be carried out in conditions closer to physiologic conditions, especially with different pH.

Concerning Cry proteins, the non-digestibility at physiologic pH doesn't present a real problem considering its demonstrated specificity of action. Concerning Vip3A protein, the relative lack of knowledge of its cellular specificity of action advocates for complementary studies.

5.1. Persistence and invasiveness including plant-to-plant gene flow

Feral cotton population have been reported in south of Europe, as noticed by the applicant, but the precise locations are not outlined. Thus, the applicant cannot rule-out that cotton population may appear outside cultivated areas, while the risk could be considered as a weak. In France, even in its southern regions, this risk could be weaker considering low winter temperatures. But

⁹ Guimaraes, V., Drumare, M.F., Lereclus, D., Gohar, M., Lamourette, P., Nevers, M.C., Vaisanen-Tunkelrott, M.L., Bernard, H., Guillon, B., Creminon, C., Wal, J.M., and K. Adel-Patient. 2010. In vitro digestion of Cry1Ab proteins and analysis of the impact on their immunoreactivity. *J Agric Food Chem* **58**: 3222-3231.

if French or European outermost regions are concerned by this demand, the question should be re-addressed.

5.2. Plant to micro-organisms gene transfer

5.2.1. Step 1: Problem formulation

In the paragraph on sequence homology (starting with “Bioinformatics analyses”) it is stated: “therefore, no sequences able to promote homologous recombination between the COT102 insert and micro-organisms were identified by bioinformatics analyses.” It is nonetheless noted that, transgene sequences are from bacterial origin, gene *vip3Aa19* being from *Bacillus thuringiensis* and *apH4* (hygromycin transferase) from *E. coli* K12.

Page 155, paragraph on sequence homology (starting with “Bioinformatics analyses”) it is stated: “therefore, no sequences able to promote homologous recombination between the COT102 insert and micro-organisms were identified by bioinformatics analyses.” It is nonetheless noted that, transgene sequences are from bacterial origin, gene *vip3Aa19* is from *Bacillus thuringiensis* and *apH4* (hygromycin transferase) is from *E. coli* K12.

Hence, the last paragraph before the conclusion to 5.2.1 Step 1 presents a erroneous formulation and must be modified accordingly, to state the bacterial origin of the transgenes (“the latest bioinformatics analyses” cannot be mentioned there).

6. post-Market Environmental Monitoring plan (PMEM)

Annual report should inform on the importation volumes in each Member State and specify each destination (localization and transformation). It should also inform on every accidental seed escape that might have occurred and the appropriate measures implemented in a case by case manner.