



HAL
open science

**Avis en réponse à la saisine HCB - dossier
C/NL/06/01_001. Paris, le 17 octobre 2018**

. Comité Scientifique Du Haut Conseil Des Biotechnologies, Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie Anne M. A. Barny, Florence Bellivier, Philippe Berny, Pascal Boireau, Thierry Brévault, Bruno B. Chauvel, et al.

► **To cite this version:**

. Comité Scientifique Du Haut Conseil Des Biotechnologies, Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie Anne M. A. Barny, et al.. Avis en réponse à la saisine HCB - dossier C/NL/06/01_001. Paris, le 17 octobre 2018. [0] Haut Conseil des Biotechnologies. 2018, 25 p. hal-02917630

HAL Id: hal-02917630

<https://hal.inrae.fr/hal-02917630>

Submitted on 19 Aug 2020

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

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



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

COMITÉ SCIENTIFIQUE

AVIS

en réponse à la saisine HCB - dossier C/NL/06/01_001¹.

Paris, le 17 octobre 2018

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi le 14 août 2018 par les autorités compétentes françaises (le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation) d'une demande d'avis relative au dossier **C/NL/06/01_001** de demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché de la lignée d'œillets génétiquement modifiés **123.8.12** (identificateur unique **FLO-40689-6**) à des fins d'importation et de commercialisation de fleurs coupées.

Ce dossier a été déposé par la société **Suntory Flowers Limited** auprès des autorités compétentes néerlandaises sur le fondement de la directive 2001/18/CE.

Conformément à cette directive, la Commission européenne a adressé le rapport d'évaluation des Pays-Bas ainsi que le dossier du pétitionnaire à l'ensemble des Etats membres, qui disposent de 60 jours pour faire des commentaires, demander des informations complémentaires ou émettre des objections à la mise sur le marché. Par cette saisine, les autorités compétentes françaises consultent le HCB dans cette perspective, en amont du vote des Etats membres à la Commission européenne.

Le Comité scientifique (CS)² du HCB a examiné le dossier en séance du 17 octobre 2018 sous la présidence de Jean-Christophe Pagès. Le présent avis a été adopté en séance et publié le 23 octobre 2018.

¹ La saisine « saisine HCB - dossier C/NL/06/01_001 » est reproduite dans l'Annexe 1.

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

RESUME DE L'AVIS³

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été saisi au titre de la directive 2001/18/CE d'une demande d'avis relative au dossier C/NL/06/01_001 dans le but d'éclairer les autorités compétentes françaises qui, comme les autres Etats membres de l'Union européenne, disposent de 60 jours pour faire des commentaires, demander des informations complémentaires ou émettre des objections à la mise sur le marché de cette lignée d'œillet auprès de la Commission européenne.

Déposé par la société Suntory Flowers Limited, ce dossier est une demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché de la lignée d'œillets génétiquement modifiés 123.8.12 (identificateur unique FLO-40689-6) à des fins d'importation et de commercialisation de fleurs coupées dans l'Union européenne. Le HCB n'ayant pas analysé le dossier soumis à l'occasion de la demande de mise sur le marché initiale de cette lignée d'œillets, cet avis porte sur l'ensemble des données incluses dans le dossier d'origine et le dossier de demande de renouvellement d'autorisation.

Description du produit

La lignée FLO-40689-6 résulte de la transformation de la lignée FE 123 avec une construction génétique contenant trois cassettes d'expression dont deux incluent des gènes impliqués dans la régulation de la synthèse des anthocyanes dans le but de conférer aux fleurs une couleur lavande. La troisième cassette code une acétolactase synthétase (ALS) mutante de tabac (*Nicotiana tabacum*), conférant une tolérance aux herbicides de la famille des sulfonilurées, exploitée uniquement pour la sélection des transformants primaires.

Trois loci d'insertion sont présents dans la lignée FLO-40689-6, chacun portant des intégrations d'ADN-T différentes, partielles ou totales. Le caractère de coloration est stable au cours des bouturages successifs. Aucun autre transgène que ceux portés par l'ADN-T n'est présent dans la lignée FLO-40689-6.

Les informations supplémentaires du dossier de renouvellement ont permis d'identifier une erreur de séquençage dans le dossier d'origine, sans conséquence sur l'évaluation des risques sanitaires et environnementaux de ces œillets. Une analyse bioinformatique approfondie de la nouvelle séquence à l'aide des bases de données actualisées n'a pas mis en évidence d'homologie biologiquement significative avec des toxines ou des allergènes connus à ce jour.

Impact sur la santé humaine et animale

La demande concerne un usage exclusivement ornemental ; les œillets ne sont pas destinés à l'alimentation humaine et animale. Dans l'hypothèse d'une consommation fortuite, le pétitionnaire a évalué la toxicité ainsi que le potentiel allergénique de la lignée FLO-40689-6 et des nouvelles protéines qu'elle exprime.

Des études de toxicité aiguë par voie orale et de génotoxicité réalisées avec des extraits aqueux de feuilles ou de pétales d'œillet transgénique n'ont pas permis d'identifier d'effet délétère ou mutagène.

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

Les protéines produites par les transgènes et les pigments de delphinidine résultant de leur expression sont naturellement présents dans d'autres fleurs que les œillets et dans des fruits comestibles.

L'acétolactase synthétase (ALS) est une enzyme présente dans les plantes, les bactéries et les champignons. La forme mutée du gène de l'ALS du tabac (*SuRB*) présente dans la lignée d'œillets FLO-40689-6 n'est pas associée à un risque sanitaire particulier.

La protéine ALS et les protéines DFR et F3'5'H exprimées dans l'œillet transgénique ont un potentiel allergénique négligeable. L'absence d'identité ou d'homologie avec des allergènes avérés répertoriés dans les banques spécialisées actualisées en 2017 ne suggère pas non plus de caractère adjuvant. Le contact avec l'œillet transgénique ne présente *a priori* pas de risque d'allergénicité supérieur à celui d'un œillet non GM.

Une revue de littérature de 2010 à 2017 n'a pas mis en évidence de données permettant d'identifier un risque sanitaire potentiel associé à la lignée d'œillets FLO-40689-6.

L'ensemble de ces éléments permet de conclure que la lignée d'œillets FLO-40689-6 ne présente pas de risques sanitaires particuliers dans les conditions d'importation et de commercialisation pour un usage de fleurs ornementales coupées.

Risques de dispersion et impact sur l'environnement

Les risques potentiels pour l'environnement concernent les risques de dispersion des transgènes et leurs conséquences.

Suite à la mise sur le marché de fleurs coupées d'œillets génétiquement modifiés, les transgènes qu'ils portent pourraient théoriquement être disséminés suite à une multiplication végétative, une dispersion de pollen vers d'autres œillets ou espèces apparentées, ou une dispersion de graines qui se seraient développées sur les fleurs coupées. En pratique :

- une multiplication végétative serait impossible naturellement à partir de fleurs coupées ; une multiplication végétative intentionnelle serait difficile mais théoriquement possible par des techniques de bouturage spécifiques appliquées par des individus expérimentés. Les modalités techniques et le taux de succès d'un tel bouturage restent cependant à évaluer ;
- une dispersion de pollen vers d'autres œillets ou espèces apparentées serait peu probable compte tenu : (1) de l'environnement dans lequel les fleurs coupées sont placées (essentiellement des habitations), (2) de la relative faiblesse de la production de pollen des œillets cultivés comparée à celle des œillets « sauvages », (3) du caractère uniquement entomophile de la pollinisation (principalement via des lépidoptères, qui n'ont pas un comportement de butinage optimal), 4) de la faible viabilité du pollen une fois qu'il est accessible aux insectes, c'est-à-dire une fois que la fleur est ouverte, (5) de la durée de vie et des conditions de conservation des fleurs coupées, (6) de la distance de dispersion relativement courte des lépidoptères (quelques centaines de mètres), et (7) de la rareté des espèces sauvages ou naturalisées qui seraient compatibles avec ces œillets ;
- une dispersion de graines qui se seraient développées sur les fleurs coupées serait très improbable considérant notamment que le processus de développement des graines dure cinq semaines et qu'une fleur coupée en vase ne survit pas sur cette durée.

Par ailleurs, dans l'éventualité d'une dispersion, il est peu probable que le caractère de tolérance aux herbicides inhibiteurs d'ALS confère un avantage sélectif aux plantes porteuses de la mutation *S4-Hra* du gène *SurB*, seul un herbicide de cette famille étant homologué en milieu non-agricole.

Plans et rapports de surveillance post-commercialisation

Considérant les résultats de l'analyse de risques de la demande d'autorisation de mise sur le marché d'origine complétée par les données supplémentaires et les rapports de surveillance de commercialisation inclus dans la demande de renouvellement C/NL/06/01_001, le CS du HCB s'accorde avec le pétitionnaire sur le fait qu'un plan de surveillance spécifique n'est pas nécessaire.

Le CS du HCB approuve l'approche générale et les méthodes du plan de surveillance générale indiquées par le pétitionnaire en accord avec la directive 2001/18/CE.

Enfin, le CS du HCB souhaiterait que les modalités d'étiquetage prévues dans le cadre du renouvellement d'autorisation de mise sur le marché soient clarifiées.

Conclusions

Au terme de l'analyse de l'ensemble des données fournies par le pétitionnaire dans le dossier d'origine et le dossier de demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché, le CS du HCB note que :

- Aucun risque particulier de toxicité ni d'allergénicité n'a été identifié suite à l'évaluation et l'analyse bioinformatique de la lignée d'œillet FLO-40689-6, de la delphinidine, de l'enzyme mutante ALS ainsi que des protéines DFR et F3'5'H exprimée(s) dans l'œillet transgénique, ou des ORFs potentiels créés par la modification génétique.
- Il est improbable que les fleurs coupées d'œillet produisent des graines ; le risque de dispersion par des graines produites par ces fleurs est donc quasi nul.
- Le risque de dispersion de gènes par le pollen de fleurs coupées d'œillet est faible mais non nul. Il ne lui serait cependant pas associé d'impact environnemental significatif.
- La dispersion par bouturage à partir de fleurs coupées est difficile à réaliser mais possible par des techniques adaptées.
- Suite à une éventuelle dispersion, le caractère de tolérance aux herbicides inhibiteurs d'ALS ne conférerait vraisemblablement pas d'avantage sélectif aux plantes porteuses du transgène *SurB*.
- Les données supplémentaires soumises dans le dossier de renouvellement et les résultats des rapports de surveillance colligés depuis la première autorisation de commercialisation de 2009 n'ont pas mis en évidence de nouveaux risques environnementaux et sanitaires associés à la lignée d'œillet FLO-40689-6.

Le plan de surveillance proposé par le pétitionnaire semble adapté à l'utilisation prévue des œillets FLO-40689-6 dans la demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché C/NL/06/01_001. Le CS du HCB recommande toutefois que, si son autorisation était renouvelée, la mise sur le marché des œillets FLO-40689-6 soit accompagnée de mesures propres à répondre au risque de dispersion par bouturage des fleurs coupées, par un étiquetage adapté et une communication à l'attention des sociétés d'amateurs quant aux possibilités de diffusion non contrôlée des œillets transgéniques.

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	6
2. CARACTERISTIQUES DES PLANTES GENETIQUEMENT MODIFIEES.....	6
2.1 DESCRIPTION DU PRODUIT – TRANSGENES ET FONCTIONS RECHERCHEES	6
2.2 CONSTRUCTION GENETIQUE A L’ORIGINE DE LA LIGNEE D’ŒILLET FLO-40689-6	7
2.3 METHODE DE TRANSFORMATION.....	7
2.4 CARACTERISATION MOLECULAIRE ET GENETIQUE DE LA LIGNEE D’ŒILLET FLO-40689-6.....	8
2.5 EVALUATION PHENOTYPIQUE DE LA LIGNEE D’ŒILLET FLO-40689-6.....	11
3. EVALUATION DES RISQUES POUR LA SANTE HUMAINE ET ANIMALE.....	12
4. EVALUATION DES RISQUES POUR L’ENVIRONNEMENT	15
4.1 RISQUES POTENTIELS DE DISPERSION	15
4.2 AVANTAGE SELECTIF EVENTUEL ASSOCIE A LA TOLERANCE A CERTAINS HERBICIDES.....	18
5. RAPPORTS ET PLAN DE SURVEILLANCE POST-COMMERCIALISATION	18
6. CONCLUSIONS	20
7. BIBLIOGRAPHIE.....	21
ANNEXE 1 : SAISINE	24
ANNEXE 2 : ELABORATION DE L’AVIS.....	25

1. Introduction

Le dossier C/NL/06/01_001, déposé par la société Suntory Flowers Limited⁴ auprès des autorités compétentes néerlandaises dans le cadre de la directive 2001/18/CE⁵, est une demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché de la lignée d'œillets génétiquement modifiés 123.8.12 contenant l'événement FLO-40689-6 (nom commercial : Florigene Moonqua™) à des fins d'importation et de commercialisation de fleurs coupées. La présente demande exclut la culture ainsi que la consommation animale et humaine.

Conformément à la directive 2001/18/CE, la Commission européenne a adressé le rapport d'évaluation des Pays-Bas ainsi que le dossier du pétitionnaire à l'ensemble des Etats membres, qui disposent de 60 jours pour faire des commentaires, demander des informations complémentaires ou émettre des objections à la mise sur le marché de cette lignée d'œillet auprès de la Commission européenne. Par cette saisine, les autorités compétentes françaises consultent le HCB dans cette perspective, en amont du vote des Etats membres à la Commission européenne.

2. Caractéristiques des plantes génétiquement modifiées

2.1 Description du produit – transgènes et fonctions recherchées

La lignée FLO-40689-6 a été génétiquement modifiée dans le but de conférer aux fleurs une couleur lavande. Elle porte par ailleurs une tolérance aux herbicides de la famille des sulfonylurées, utilisée pour la sélection des transformants primaires.

La couleur des fleurs est due à la concentration relative de deux classes de pigments, les caroténoïdes et les flavonoïdes, ces derniers ayant un rôle prépondérant. Les anthocyanidines constituent une sous-classe des flavonoïdes. Parmi ces pigments, la delphinidine, la cyanidine et la pélagonidine confèrent respectivement les couleurs bleu-violet, rose-rouge et orange-rouge. Deux enzymes jouent un rôle essentiel dans la voie de biosynthèse de ces pigments :

- la dihydroflavonol 4-réductase (DFR), qui est à l'origine de la production des précurseurs glucosylés de la pélagonidine, de la cyanidine et de la delphinidine en utilisant comme substrats respectifs le dihydrokaempférol (DHK), la dihydroxyquercétine (DHQ) ou la dihydromyricétine (DHM),
- la flavonoïde 3'-5'-hydroxylase (F3'5'H), qui assure par ailleurs l'hydroxylation du composé DHK en DHQ puis en DHM.

L'œillet est dépourvu du gène qui code l'enzyme F3'5'H. Afin de favoriser la voie de biosynthèse de la delphinidine, la lignée FLO-40689-6 exprime les deux transgènes suivants :

- le gène *DFR* provenant de pétunia, qui utilise les molécules DHQ et DHM comme substrat, mais non le DHK,

⁴ La société Suntory Flowers Limited a acquis la société Florigene à l'origine de la mise sur le marché initiale de la lignée FLO-4689-6.

⁵ Directive 2001/18/CE du Parlement européen et du Conseil du 12 mars 2001 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement et abrogeant la directive 90/220/CEE du Conseil.

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32001L0018:FR:HTML>

- le gène F3'5'H de pensée, qui permet, en combinaison avec les produits du gène DFR et des gènes endogènes de biosynthèse des anthocyanines, d'accumuler la delphinidine, conférant la couleur lavande à l'œillet transgénique.

La tolérance aux herbicides de la famille des sulfonyleurées dérive de l'expression du gène mutant *SuRB* d'acétolactate synthase (ALS) du tabac (*Nicotiana tabacum*).

2.2 Construction génétique à l'origine de la lignée d'œillet FLO-40689-6

La construction génétique à l'origine de l'événement FLO-40689-6 est présente sur le plasmide binaire pCGP1991 (27 444 pb⁶) (Figure 1), utilisé lors de la transformation. Cette région porte trois cassettes d'expression situées entre les séquences répétées gauche (LB⁷) et droite (RB⁸) d'un plasmide Ti⁹ délimitant la partie d'ADN transférée dans le génome des plantes, séparées par des régions intergéniques plus ou moins longues provenant des vecteurs utilisés pour les clonages (série des pBluescript et pUC).

La première cassette permet l'expression du gène *SuRB* (ALS) provenant du tabac (*Nicotiana tabacum*), conférant la tolérance à des herbicides de la famille des sulfonyleurées, placé sous le contrôle du promoteur 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV) et de son propre terminateur de transcription (t*SuRB*). Une région de 61 pb, correspondant à la région 5' non-codante du gène *Cab* de pétunia (*Petunia X hybrida*), codant une protéine de fixation à la chlorophylle a/b, est présente en amont du gène pour optimiser son expression *in vivo*.

La deuxième cassette porte la séquence codante du gène *DFR* provenant de pétunia, cloné à partir d'ADN génomique, placé sous le contrôle des ses propres promoteur et terminateur de transcription. La protéine DFR produite par ce gène permet la production des précurseurs des pigments cyanidine et delphinidine.

La troisième cassette porte la séquence codante du gène *F3'5'H* d'une pensée noire (*Viola* sp.), sous forme d'ADN complémentaire, placé sous le contrôle du promoteur du gène codant la chalcone synthétase (*pCHS*) de muflier (*Antirrhinum majus*) et du terminateur de la transcription du gène "D8", codant un homologue d'une protéine de transfert de phospholipides putative provenant de pétunia (t"D8"). La protéine F3'5'H assure la réduction du DHK en DHQ puis en DHM, un des précurseurs de la delphinidine.

2.3 Méthode de transformation

A l'origine de la lignée FLO-40689-6, la lignée 123 (FE 123) de *Dianthus caryophyllus*, à fleurs de couleur blanc-crème, a été inoculée par la souche AGL0 d'*A. tumefaciens* portant le plasmide binaire pCGP1991 (27,444 kb). Après élimination de l'agrobactérie avec l'antibiotique ticarcilline, le transformant primaire FLO-40689-6 a été sélectionné grâce à l'expression du gène *SuRB*, conférant la tolérance aux herbicides de la famille des sulfonyleurés. L'absence d'agrobactéries résiduelles dans les transformants primaires a été vérifiée par amplification PCR d'une région de 430 pb du gène *VirG* d'*A. tumefaciens*.

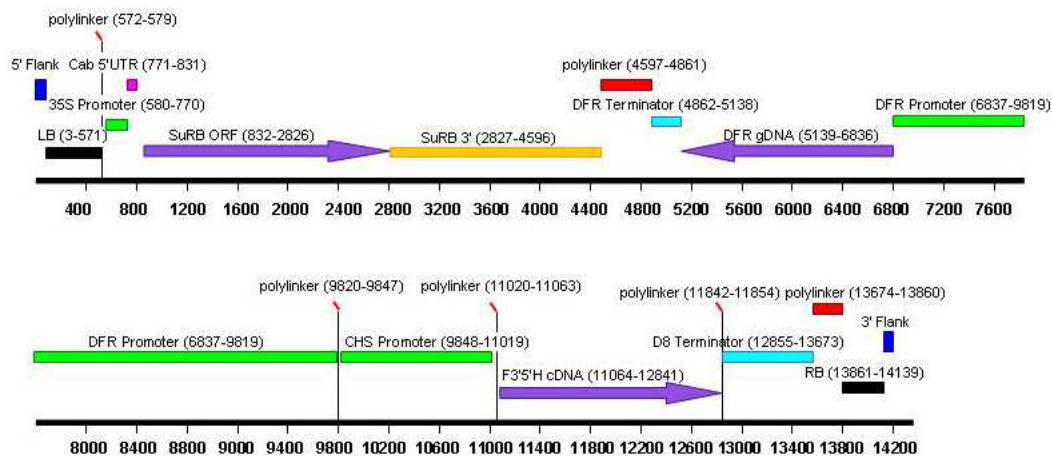
⁶ pb : paire de bases d'ADN.

⁷ LB : *left border*, bordure gauche de la région d'ADN destinée au transfert (ADN-T).

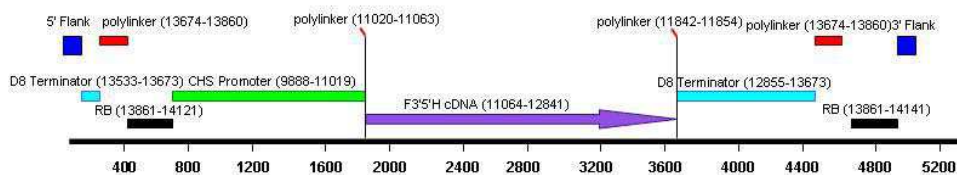
⁸ RB : *right border*, bordure droite de l'ADN-T.

⁹ Ti : *Tumor inducing*, induisant une tumeur. Les souches virulentes d'*A. tumefaciens* induisent des tumeurs dans les plantes par le transfert de leur ADN-T dans le génome des plantes. Les souches utilisées pour la transgénèse ne sont plus virulentes car l'ADN-T ne contient plus les gènes sauvages nécessaires à cette virulence.

Moonaqua Integration Locus 1 (14433 bp)



Moonaqua Integration Locus 2 (5140 bp)



Moonaqua Integration Locus 3 (1741 bp)

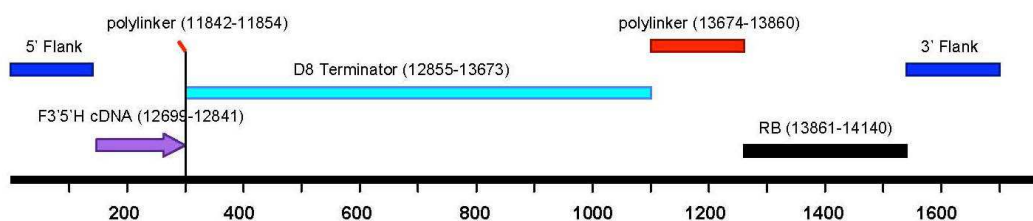


Figure 2. Schéma des insertions dans les loci 1, 2 et 3 de la lignée d'œillet FLO-40689-6 (Dossier d'origine, Attachment A6, p. 125, 126 et 127). (Le CS du HCB a noté une erreur de numérotation dans le schéma du locus 1 (voir plus loin, analyse des données supplémentaires, séquençage des inserts).

- Séquençage des régions flanquantes

Cent cinquante paires de bases ont été séquençées dans les régions flanquant les trois insertions.

- Identification des ORFs¹⁰ potentiels présents dans les inserts et leurs jonctions

Dans le dossier d'origine, les analyses bioinformatiques des ORFs étaient limitées aux régions flanquantes. Une analyse bioinformatique plus complète est fournie dans le dossier de renouvellement (voir plus loin, Analyse des données supplémentaires, avec une analyse du potentiel toxique et allergène réalisée avec les bases de données actualisées).

- Stabilité et héritabilité des transgènes et de leur phénotype dans les œillets

Les fleurs coupées qui font l'objet de cette demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché sont prélevées sur des plantes issues de bouturages successifs du transformant primaire. Le matériel transgénique ne sera pas utilisé dans des croisements avec d'autres cultivars d'œillet dans le cadre de cette demande. Il n'y a donc pas de données sur l'héritabilité des transgènes.

La stabilité des transgènes est déduite du maintien de la couleur lavande des fleurs après plusieurs bouturages successifs. La lignée FLO-40689-6, multipliée végétativement depuis 1999, apparaît stable quant à la couleur des pétales. Quelques hors type (2/1.000) ont été repérés en juin 2003, montrant des stries blanches.

- Expression des transgènes

L'expression des transgènes a été déterminée par hybridation moléculaire et par dosage des pigments principaux par chromatographie en phase liquide à haute pression (HPLC) :

- Des analyses de type northern ont été réalisées à partir d'ARN totaux extraits de plantes génétiquement modifiées ou non. Les différents ARN transcrits ont été recherchés à l'aide de sondes spécifiques des trois transgènes présents dans l'insertion. Les ARN de taille escomptée n'ont été retrouvés que dans les pétales des fleurs des plantes FLO-40689-6. La coloration n'est visible que dans les pétales de ces plantes, et non dans les tiges, nœuds, feuilles et racines du fait de la spécificité des promoteurs des transgènes *F3'5'H* et *DFR*, et de la localisation des substrats sur lesquels agissent les enzymes produits par ces transgènes.
- Dosés par HPLC, les pigments de delphinidine et cyanidine représentent respectivement 0,07 mg/g et 0,02 mg/g de poids frais des pétales de fleurs des plantes FLO-40689-6, contre 0 mg/g de poids frais des deux pigments chez les plantes réceptrices FE 123.

Analyse des données supplémentaires fournies lors de la demande de renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché de la lignée d'œillet FLO-40689-6 (mai 2018) :

- Séquençage des inserts

L'événement FLO-40689-6 a été re-séquencé. La nouvelle séquence a été fournie à la Commission européenne en février 2017 et vérifiée par le Centre commun de recherche¹¹. Les séquences des loci 2 et 3 sont identiques aux séquences d'origine. Concernant le locus 1, la nouvelle séquence montre une délétion d'une base en position 12.996, dans la région d'un linker, juste avant le

¹⁰ ORF (*Open Reading Frame*) : cadre ouvert de lecture, détecté par des programmes informatiques, correspondant à une séquence d'ADN qui peut coder, si elle est préalablement transcrite, un peptide ou une protéine. Des analyses supplémentaires sont nécessaires pour tester si un ORF potentiel ainsi détecté est effectivement transcrit en ARN et traduit en peptide ou protéine.

¹¹ Le Centre commun de recherche ou JRC (*Joint Research Center*) est le laboratoire de recherche scientifique et technique de la Commission européenne. Il réalise des recherches et fournit des conseils scientifiques indépendants fondés sur des éléments factuels, qui contribuent à étayer l'élaboration des politiques de l'Union européenne (https://ec.europa.eu/info/departments/joint-research-centre_fr).

terminateur du gène *D8* (Dans le dossier d'origine, le CS du HCB note qu'il y a une erreur de numérotation sur le schéma du locus 1 p. 125 et 128 par rapport à la séquence reproduite p. 129 de ce même document (*Attachment A7*). Ainsi, le terminateur du gène *D8* est numéroté de 12.855 à 13.673 sur le schéma du locus 1 (également reproduit en Figure 2 de cet avis) alors qu'il est situé entre les bases 13.000 et 13.818 de la séquence du locus. La délétion ayant été identifiée en position 12.996, elle apparaît faussement localisée dans le terminateur si l'on considère le schéma du locus, alors qu'elle est effectivement localisée dans un linker de la séquence). L'identification de cette délétion dans la nouvelle séquence par rapport à la séquence d'origine du locus 1 est probablement le signe qu'une erreur de séquençage avait été faite dans le dossier d'origine. En effet, l'œillet étant multiplié végétativement, la probabilité qu'une mutation se fixe ainsi en 10 ans est nulle.

- Analyse bioinformatique des nouvelles séquences

Ces analyses ont été réalisées en utilisant des bases de données actualisées et tous les ORF possibles (de codon stop à codon stop), dans les 6 phases de lecture et pour l'ensemble des trois loci (bordure de 150 pb comprises) ont été étudiées. Une base de données intégrant le génome nucléaire de l'œillet a aussi été utilisée pour déterminer les sites d'intégration des trois fragments d'ADN-T dans le génome de FLO-40689-6. Ces analyses montrent que :

- les loci 1 et 2 sont intégrés dans des régions présentant des ORF. Le locus 3 est intégré dans une région *a priori* non codante ;
- les 2.186 ORF potentiels identifiés (dont 31 à la jonction entre ADN génomique et ADN-T) ne possèdent pas d'identités significatives avec des protéines allergènes ou toxiques ;
- il en est de même pour les 3 protéines (DFR, F3'5'H, SuRB) exprimées chez l'œillet FLO-40689-6 (voir Chapitre 3 pour plus de détails).

Conclusion de l'analyse moléculaire

L'analyse moléculaire de la lignée d'œillet FLO-40689-6 permet de conclure à la stabilité génétique et phénotypique des trois loci d'insertion. L'intégrité des événements d'insertion a été vérifiée à la fois par des expériences d'hybridation moléculaire de type Southern et par séquençage des trois inserts et de leurs régions flanquantes. Le re-séquençage de ces régions une dizaine d'années après l'évaluation de cet événement a permis de mettre en évidence une différence de séquence, témoignant probablement d'une erreur dans la séquence d'origine du locus 1. L'analyse bioinformatique de ces dernières séquences avec des bases de données actualisées ne permet pas de mettre en évidence de risques sanitaires nouveaux associés à la mise sur le marché de ces œillets.

2.5 Evaluation phénotypique de la lignée d'œillet FLO-40689-6

Deux expérimentations comparatives en serre sont rapportées dans le dossier initial: l'une conduite en 2000 aux Pays-Bas, l'autre en 2005 en Australie. A chaque fois, 18 traits morphologiques ont été mesurés. Vingt plantes (en 2000) ou 18 plantes (en 2005) de la lignée d'œillet FLO-40689-6 (123.8.12) et de la lignée parentale non transgénique (123) ont été comparées. La significativité des différences est évaluée par analyse de variance.

En 2000, des différences significatives au seuil de 1 % sont observées pour sept traits, qui concernent les entre-nœuds de la tige, les pétales des fleurs, le nombre de styles. En 2005, des différences significatives au seuil de 1 % sont observées pour deux traits : le nombre de styles et la longueur des étamines. En outre, le nombre d'anthères et la longueur des étamines sont

significativement différents au seuil de 5 % dans les deux expérimentations et plus faibles pour le transgénique. Une même différence significative du nombre d'anthères a été observée sur des échantillons de huit fleurs prélevées en serre de production en Equateur.

Une nouvelle évaluation phénotypique comparative est rapportée dans le dossier de renouvellement. Cette expérimentation a été réalisée en 2015 en Colombie. Elle est organisée en trois blocs complets, avec 12 plantes de chaque type (FLO-40689-6 et parent non transgénique) par bloc. Les effectifs évalués sont donc supérieurs à ceux du dossier initial. Les même 18 traits ont été mesurés.

Les résultats montrent une différence significative pour 13 traits. En comparaison du parent non transgénique, la lignée d'œillet FLO-40689-6 possède des fleurs plus petites. Concernant les traits associés au succès reproducteur, la tendance est inverse à celle qui était décrite dans le dossier initial, avec une longueur du style, un nombre d'étamines, un nombre total d'anthères et un nombre d'anthères viables significativement plus élevés chez FLO-40689-6. La valeur moyenne du nombre d'anthères viables par fleur reste faible : 0,5 (contre 0,2 pour le non-transgénique). Les données brutes fournies montrent que si le nombre total d'anthères par fleur varie de 0 à 12, le nombre d'anthères viables est de zéro pour la majorité des fleurs et ne dépasse jamais 2 (la même valeur maximale étant observée chez le parent non-transgénique).

De nouvelles données sont également présentées sur le nombre d'anthères par fleur observé sur des échantillons de 10 à 200 fleurs coupées issues des sites de production en Equateur et en Colombie. Aucune anthère viable n'a été observée sur ces échantillons.

En conclusion, les traits associés à la fertilité mâle de la lignée d'œillet FLO-40689-6 sont variables entre conditions de cultures et entre plantes, mais le nombre toujours très faible d'anthères viables suggère qu'il n'existe pas de risque accru de dispersion de transgènes par flux de pollen.

3. Evaluation des risques pour la santé humaine et animale

La demande concerne un usage exclusivement ornemental ; les œillets ne sont pas destinés à l'alimentation humaine et animale. Dans l'hypothèse d'une consommation fortuite, par exemple dans le cas où les œillets seraient utilisés en décor de salade, le pétitionnaire a évalué la toxicité ainsi que le potentiel allergénique de la lignée FLO-40689-6.

- Analyse de la toxicité et de l'allergénicité des œillets transgéniques

Les œillets sont utilisés à titre ornemental depuis des décennies, sans qu'aucun problème significatif de sécurité pour l'homme n'ait jamais été signalé. Les œillets ne sont pas connus comme étant des plantes toxiques. Aucune donnée ne fait état d'un risque particulier avec la variété réceptrice utilisée, la lignée 123 (FE 123).

Plusieurs cas d'allergie de contact à l'œillet ont été rapportés dans la littérature (Lamminpaa et al., 1996; Stefanaki and Pitsios, 2008). Il s'agit essentiellement d'allergies professionnelles qui s'observent notamment chez les fleuristes, les maraîchers, les personnels d'entretien des serres ou des chercheurs, et non d'allergies après ingestion. Elles se traduisent principalement par des manifestations ORL et respiratoires (rhinites, asthme) et des manifestations cutanées (urticaire, dermatites).

Une étude de toxicité aiguë par voie orale a été réalisée chez la souris afin d'évaluer l'impact de la consommation accidentelle d'œillet FLO-40689-6 sur la santé humaine ou animale. Des groupes de cinq souris mâles ont reçu par gavage un extrait aqueux de feuilles ou de pétales

d'œillet transgénique (correspondant à une dose unique de 4 g/kg de poids corporel). Les anthocyanes étant solubles dans l'eau, les extraits contenaient de la delphinidine et de la cyanidine. Les groupes témoins ont reçu soit des extraits aqueux de feuilles ou des pétales de la variété parentale FE123, soit de l'eau. Aucun effet délétère n'a été observé à l'issue de la période d'observation de 14 jours.

Une étude de génotoxicité sur bactéries *Salmonella typhimurium* (test de Ames¹²) a été réalisée avec des extraits aqueux de feuilles ou de pétales d'œillet transgénique et de la variété parentale FE123. Aucun effet mutagène n'a été observé.

La lignée FLO-40689-6 se distingue de la variété réceptrice par la production de delphinidine et de cyanidine, qui conditionne la couleur lavande des fleurs de cette lignée, et par la production d'une acétolactase synthétase mutante de tabac, qui confère une tolérance à des herbicides de la famille des sulfonilurées et a permis ainsi la sélection des transformants primaires. La cyanidine étant un pigment présent dans de nombreuses variétés d'œilletons non transgéniques, l'évaluation sanitaire ciblera plus particulièrement la delphinidine, dont l'œillet est naturellement dépourvu.

- Evaluation des risques potentiels associés à la delphinidine

La delphinidine, produite par modification génétique dans la lignée FLO-40689-6 dans le but de conférer une couleur lavande aux fleurs d'œilletons, existe naturellement dans beaucoup d'autres plantes (myrtilles, mûres, etc.). La delphinidine n'est pas connue pour être toxique ou allergène.

Plus généralement, les anthocyanes ont fait l'objet de très nombreux travaux montrant des activités pharmacologiques variées, dont des propriétés bénéfiques anti-oxydantes ou antivirales (Broadhurst, 2001; Kong et al., 2003, 2008; Martin et al., 2013).

La delphinidine a été spécifiquement étudiée (en dehors de ce dossier) dans un test de Ames sur cinq souches de *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 et TA1538), avec et sans activation métabolique, sans montrer d'effet mutagène (Brown and Dietrich, 1979).

La delphinidine est absente des racines et des feuilles et présente dans les pétales au même titre que d'autres pigments comme la cyanidine et la pélargonidine. La DL₅₀¹³ par voie orale d'un mélange de ces trois anthocyanes obtenu après extraction à partir de myrtilles est supérieure à 20 et 25 g/kg de poids corporel respectivement chez le rat et la souris (Pourrat et al., 1967). Des teneurs plus importantes en delphinidine sont observées dans d'autres plantes ornementales ou alimentaires, comme les myrtilles¹⁴.

La littérature ne rapporte pas de réactions allergiques en relation avec des colorants alimentaires contenant de la delphinidine (Lucas et al., 2011).

On peut conclure que la delphinidine ne présente pas en soi de risque toxique ou allergène, en particulier dans le cadre d'une présence dans des plantes à usage ornemental.

¹² Le test de Ames est un test biologique permettant de déterminer le potentiel mutagène d'un composé chimique, dont le protocole a été décrit par Bruce Ames.

¹³ DL₅₀ : DL signifie « dose létale ». La DL₅₀ est la quantité d'une matière, administrée en une seule fois, qui cause la mort de 50 % d'un groupe d'animaux d'essai. La DL₅₀ est une façon de mesurer le potentiel toxique à court terme (toxicité aiguë) d'une molécule.

¹⁴ Les baies de myrtilles contiennent typiquement 5 mg/g de poids frais de delphinidine (Kalt, W., McDonald, J.E., Ricker, R.D., and Lu, X. (1999). Anthocyanin content and profile within and among blueberry species. *Can J Plant Sci* 79, 617-623.)

- **Evaluation des risques potentiels associés à l'acétolactase synthétase mutante**

L'acétolactate synthétase (ALS), ou acétohydroxyacide synthétase, est une enzyme qui exerce deux rôles métaboliques (Duggleby and Pang, 2000) : un rôle anabolique dans les premières phases de biosynthèse des acides aminés branchés, et un rôle catabolique pour la production de butanediol, uniquement chez certains micro-organismes.

La revue de Duggleby and Pang (2000) fait un état complet de la fonction biochimique de l'enzyme. L'acétolactate synthétase est présente dans les plantes, les bactéries et les champignons, absente chez les animaux. Chez les plantes, elle catalyse la biosynthèse des acides aminés branchés leucine, valine et isoleucine. Les animaux ne synthétisent pas les acides aminés branchés. L'enzyme ALS est très labile et il est difficile de la purifier. Southan et Copeland ont purifié et caractérisé cette enzyme à partir du blé, mais elle n'a pas été isolée des œillettes (Southan and Copeland, 1996).

L'enzyme ALS est inhibée par quatre classes d'herbicides : les sulfonilurées (Chaleff and Ray, 1984; Ray, 1984), les imidazolinines (Shaner et al., 1984), les triazolopyrimidines (Subramanian et al., 1990) et les pyrimidines.

La mutation du gène ALS conférant une tolérance à certains herbicides a été observée dans plusieurs plantes : *Brassica napus*, *Xanthium sp.*, *Lactuca sativa*, *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana tabacum*. Elle a été utilisée dans différentes céréales (Newhouse et al., 1991). La relative facilité avec laquelle la plante résiste a été mise à profit par les sélectionneurs pour développer des plantes tolérantes (Tan et al., 2005).

L'ALS mutante de tabac utilisée dans la lignée FLO-40689-6, produite par la forme mutée *S4-Hra* du gène *SuRB*, est identique, sur le plan fonctionnel, aux nombreuses enzymes ALS retrouvées dans les plantes et les bactéries.

Dans le dossier de renouvellement d'autorisation, la recherche actualisée des identités et homologies de séquence des trois loci avec les allergènes de différentes banques mises à jour (SwissProt, FARRP) effectuée avec les algorithmes classiques (FASTA, BLAST, matrice BLOSUM62), ne fournit aucune homologie globale (homologie $\geq 35\%$ sur une fenêtre de 80 résidus) ou locale (100 % d'homologie sur une fenêtre de 8 résidus successifs) de l'enzyme ALS avec des allergènes avérés.

Par ailleurs, l'ALS du soja, voisine de l'ALS du tabac, est rapidement dégradée en présence de protéases digestives (Mathesius et al., 2009).

- **Evaluation des risques potentiels associés aux protéines DFR et F3'5'H**

En utilisant la même méthodologie de recherche d'homologie de séquence, aucune homologie significative des protéines DFR et F3'5'H avec des allergènes avérés n'a été identifiée.

- **Evaluation des risques potentiels associés aux ORF putatifs**

Dans le dossier de demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché, la recherche actualisée d'homologies de séquences des ORF putatifs avec les toxines et allergènes des différentes banques citées ci-dessus n'a pas mis en évidence d'homologie biologiquement significative avec des toxines ou des allergènes connus.

- Analyse de l'allergénicité des plantes d'origine des transgènes

Les gènes *DFR* du pétunia (*Petunia hybrida*) et *F3'5'H* de la pensée (*Viola hortensis*) ayant été utilisés, l'allergénicité du pétunia et de la pensée a été considérée. Une analyse bibliographique ne révèle aucun résultat concernant l'allergie au pétunia ou à la pensée.

- Revue de littérature

Dans le dossier de renouvellement, conformément à la réglementation, une revue de la littérature a été réalisée de 2010 à 2017 afin d'identifier toute donnée ou événement susceptible de remettre en cause les conclusions initiales. Aucune des publications identifiées depuis l'approbation initiale émise en 2007 ne met en évidence de risques sanitaires particuliers associés à la lignée d'œillet FLO-40689-6.

Conclusion de l'évaluation des risques pour la santé humaine et animale

Les données de sécurité présentes dans le dossier initial, portant sur les risques toxiques et allergiques des œillets GM et non GM, des protéines exprimées dans l'œillet GM, des pigments à l'origine des modifications de coloration et des parties de plantes pouvant être consommées en dehors de l'usage envisagé (feuilles et fleurs), permettent de conclure à un risque négligeable des œillets FLO-40689-6 en conditions d'importation et de commercialisation pour un usage de fleurs coupées. Les données supplémentaires fournies lors de la demande de renouvellement ne modifient pas cette conclusion.

4. Evaluation des risques pour l'environnement

La plante génétiquement modifiée est l'œillet horticole. C'est une forme cultivée issue de la domestication de l'espèce *Dianthus caryophyllus*, ou possiblement d'un hybride entre *Dianthus caryophyllus* et une ou plusieurs autres espèces. Il s'agit d'une espèce annuelle qui est cultivée de manière intensive et reproduite par bouturage.

La lignée d'œillet FLO-40689-6 est cultivée en Colombie et en Equateur et importée sous forme de fleurs coupées. Le transport est effectué par avion, les principaux aéroports d'entrée dans l'Union européenne étant ceux de Londres, Amsterdam et Francfort. A leur arrivée, les fleurs sont déballées et reconditionnées dans de nouveaux emballages avant d'être livrées aux revendeurs. L'usage des fleurs coupées de l'œillet FLO-40689-6 n'est pas différent de celui de fleurs issues de plantes non génétiquement modifiées.

Les risques potentiels de la lignée d'œillets FLO-40689-6 pour l'environnement concernent essentiellement les risques de dispersion de ses transgènes et leurs conséquences. La question d'un avantage sélectif éventuellement associé à la tolérance à certains herbicides conférée par le transgène *SuRB* présent dans les œillets FLO-40689-6 a également été examinée.

4.1 Risques potentiels de dispersion

Suite à la mise sur le marché de fleurs coupées d'œillets génétiquement modifiés, les transgènes qu'ils portent pourraient théoriquement être dispersés suite à une multiplication par bouturage, une dispersion de pollen vers d'autres œillets ou espèces apparentées, ou une dispersion de graines qui se seraient développées sur les fleurs coupées.

- Dispersion potentielle des transgènes par bouturage

L'œillet ne peut se disséminer via multiplication végétative sans intervention humaine car les plants ne peuvent pas produire naturellement de stolons, rhizomes, bulbes, etc. Les plants d'œillets sont produits via des techniques de bouturages (cultures de tissus ou autres techniques de multiplication). Cependant, les œillets transgéniques étant commercialisés sous forme de fleurs coupées, les techniques optimales de multiplication végétative par enracinement de boutures végétatives prélevées sur des pieds-mères seront impossibles, étant donné que les tiges de fleurs coupées sont dépourvues de telles boutures végétatives.

Il serait cependant possible de multiplier ces œillets génétiquement modifiés en enracinant des tronçons des tiges florales, soit *in vitro*, soit dans un substrat adapté (ex : sable, sable et terre, perlite) (Renuka et al., 2015). En effet, il existe à l'aisselle de chaque feuille un bourgeon végétatif dormant que l'on peut développer en enracinant les tronçons de tige en condition d'humidité élevée ou *in vitro* (Casas et al., 2010). Le pourcentage de réussite d'une telle opération est faible, et d'autant plus faible lors d'un prélèvement de tronçons sur fleurs coupées ayant subi un transport à sec, le stress induisant la production d'éthylène, accélérant la sénescence, et de fait, réduisant la capacité des bourgeons axillaires à se développer. Un amateur éclairé pourrait toutefois réaliser cette opération pour se constituer un lot de plantes qu'il pourra utiliser soit pour son jardin soit pour réaliser des hybridations avec d'autres œillets (*Dianthus caryophyllus*, *Dianthus* sp.) afin de créer de nouvelles variétés. L'œillet de fleuriste est peu rustique et ne survit pas aux conditions hivernales d'Europe du Nord, mais pourrait survivre en climat méditerranéen. Il y a là un risque de transfert de gènes des œillets transgéniques et donc perte de la maîtrise de la diffusion des variétés transgéniques proposées par le pétitionnaire. Le dossier de renouvellement n'apporte pas d'éléments nouveaux sur la possibilité de régénération de plantes entières par bouturage volontaire à partir de fragments de tiges florales.

- Dispersion potentielle des transgènes par le pollen

Les deux autres voies de dispersion de gènes à partir des fleurs coupées impliquent une dispersion *via* le pollen ou les graines.

Les cultivars d'œillet de type double comme FLO-40689-6 produisent très peu ou aucun pollen du fait que le développement des anthères s'oriente vers la formation de pétales très tôt au cours du développement des fleurs. Les fleurs coupées tenues en vase s'ouvrent seulement à un stade tardif de développement ; à ce stade il est probable que les anthères soient déjà tombées et le pollen non viable (Keane, 1989). On peut également souligner ici que l'évaluation phénotypique de l'œillet 40689-6, avec des nombres très faibles d'anthères viables, suggère qu'il ne présente pas de risque accru de dispersion de transgènes par flux de pollen.

Les espèces sauvages du genre *Dianthus* sont visitées par les insectes pollinisateurs, il n'y a pas de dispersion du pollen par le vent. Seuls les lépidoptères assurent une fécondation efficace des fleurs du fait de leur forme tubulaire (Knuth, 1908). La pollinisation semble principalement assurée par des papillons de nuit selon des données plus récentes de la littérature citées dans le dossier de renouvellement (Jurgens, 2006; Jurgens et al., 2003).

L'éventualité d'une pollinisation à partir de plants coupés d'œillets cultivés semble très faible compte tenu : (1) de l'environnement dans lequel les fleurs coupées sont placées (essentiellement des habitations), (2) du caractère uniquement entomophile de la pollinisation (principalement *via* des lépidoptères, qui n'ont pas un comportement de butinage optimal), (3) de la relative faiblesse de la production de pollen des œillets cultivés comparée à celle des œillets « sauvages », (4) de la viabilité du pollen une fois qu'il est accessible aux insectes, c'est-à-dire une fois que la fleur est ouverte, (5) de la durée de vie des fleurs coupées (tenue en vase de 12 à 28 jours selon les variétés et des conditions de conservation (expertise CNIH et URIH Sophia Antipolis, C. Metay), et (6) de la distance de dispersion relativement courte parcourue par les lépidoptères (quelques centaines de mètres) (Nilsson et al., 1992; Price, 1984).

Ce risque de pollinisation par le pollen des fleurs coupées n'est cependant pas nul. La dispersion du pollen pourrait avoir principalement lieu quand la plante est commercialisée chez les fleuristes, pendant le transport après l'achat chez le fleuriste et dans le lieu où l'acheteur disposera les fleurs. Dans le dernier cas, il s'agira principalement d'un lieu d'habitation, mais il n'est cependant pas exclu que les plantes soient posées à l'extérieur, par exemple lors d'une cérémonie. La présence de pollinisateurs à proximité des fleurs coupées, même réduite, n'est pas à exclure. Concernant la pollinisation par les insectes, même si la pollinisation semble principalement assurée par des lépidoptères (noctuelles et sphinx), les fleurs d'œillets peuvent être visitées marginalement par les abeilles et les syrphes (cas de *D. silvester* ; (Erhardt, 1988)), ce qui élargit le spectre des pollinisateurs potentiels.

Si la probabilité d'une dispersion de pollen efficace (produisant des graines) est faible, il faut cependant considérer que les événements d'hybridation entre espèces du genre *Dianthus* par le biais des pollinisateurs sont possibles. Les hybridations interspécifiques existent dans le genre *Dianthus*. Selon les données actualisées du dossier de renouvellement, seize espèces de *Dianthus* ont été identifiées comme s'hybridant potentiellement avec *D. caryophyllus* (hybridations forcées réalisées dans le sens espèces sauvages vers espèces cultivées dans le but d'introgesser des caractères génétiques intéressants), dont l'œillet des dunes (*D. gallicus*), qui est une espèce protégée au niveau national en France (Arrêté ministériel du 20 janvier 1982 modifié le 31 août 1995). Si des dizaines d'espèces du genre *Dianthus* sont présentes en Europe, la plupart se concentrent en région méditerranéenne et possèdent des aires de distributions restreintes. Selon les données actualisées du dossier de renouvellement, l'espèce la plus à risque serait *Dianthus sylvestris*, de par sa proximité phylogénétique avec *Dianthus caryophyllus* et son aire de répartition étendue (du sud de l'Espagne au nord des Alpes, (Bacchetta et al., 2010)). Il est cependant indiqué qu'aucun hybride entre *D. caryophilus* et *D. sylvestris* n'a jamais été observé (Tutin and Walters, 1993).

Concernant les risques de transfert de gènes par pollen vers la forme sauvage de l'espèce *D. caryophyllus*, les données actualisées de répartition fournies dans le dossier de renouvellement indiquent sa présence en France, en Espagne, en Grèce et en Italie. En France, elle est observée essentiellement dans le sud-est (<http://www.tela-botanica.org>). L'espèce n'est protégée que dans certains départements du nord-ouest (Normandie, Bretagne). Etant donné le recouvrement entre l'aire de répartition de la forme sauvage et la région où l'œillet était cultivé dans les années 60 (Côte d'azur, avec 6000 producteurs d'œillets en 1960), on peut penser que si des hybridations, suivies d'un maintien des populations hybrides dans le milieu naturel avaient eu lieu, elles auraient été détectées par les naturalistes.

Concernant la présence de populations naturalisées à partir des formes cultivées de l'espèce *D. caryophyllus*, de rares cas ont été rapportés en Grande Bretagne. Il s'agit de variétés anciennes de jardin, différentes des variétés pour fleuristes, et naturalisées uniquement dans des milieux très particuliers : vieux murs principalement (Clement and Foster, 1994). Le dossier de renouvellement indique, sur la base de publications plus récentes, la possible présence de semblables populations naturalisées en Italie (Bracchi and Romani, 2007).

En conclusion, le risque de dispersion par le pollen semble très peu probable, notamment du fait d'une part, de la non-production ou très faible production de pollen par les fleurs coupées, et d'autre part, de la faible probabilité de présence d'espèces compatibles dans l'environnement. Sur ce dernier point on constate que les connaissances sur la biologie et la répartition des espèces du genre *Dianthus* restent imparfaites et susceptibles d'évoluer, il sera donc nécessaire de prendre en compte toute nouvelle donnée.

- Dispersion potentielle des transgènes par les graines

Concernant la dispersion *via* des graines produites par les fleurs coupées, celle-ci devrait être très réduite voire nulle en pratique considérant notamment que le processus de développement des

graines d'œillet nécessite cinq semaines et qu'une fleur coupée ne survit pas plus de trois semaines (Gatt et al., 1998; Sparnaaij and Koehorstvanputten, 1990). De plus, il semble difficile d'imaginer une pollinisation des fleurs avant la récolte pour des fleurs coupées car celles-ci sont encore fermées et carpelles et étamines ne sont pas suffisamment développés (Kim et al., 2005a; Kim et al., 2005b). Compte tenu de ces éléments, la dispersion via des graines produites par les fleurs coupées semble donc très improbable. Ces éléments sont décrits dans le dossier initial et repris dans le dossier de demande de renouvellement.

4.2 Avantage sélectif éventuel associé à la tolérance à certains herbicides

La forme mutée de l'acétolactase synthétase de tabac insérée dans la variété FLO-40689-6 (*SurB S4-Hra*, possédant les deux substitutions Pro196Gln et Trp573Leu) confère aux œillets une tolérance aux herbicides de la famille des sulfonylurées. Cette résistance a été utilisée lors de la production initiale de la variété, pour trier *in vitro* les pousses génétiquement modifiées par application de l'herbicide Chlorsulfuron.

Les herbicides de la famille des sulfonylurées ne sont *a priori* pas utilisés lors de la culture commerciale de la variété FLO-40689-6 du fait que la société Florigene interdit leur utilisation par les producteurs sous contrat et ces herbicides ne sont pas homologués pour un usage sur plantes ornementales. Il est donc peu probable que la culture de l'œillet FLO-40689-6 entraîne un usage accru d'herbicides en comparaison d'un œillet non transgénique.

Les inhibiteurs de l'ALS entrent dans la composition de produits herbicides utilisés essentiellement en milieux agricoles (sur grandes cultures). En usage non agricole, deux substances actives inhibitrices de l'ALS (le Prosulfuron et l'Iodosulfuron) sont utilisées uniquement en association avec une substance active d'une autre famille. Une troisième substance inhibitrice de l'ALS (le Flazasulfuron) entre, seule ou en association avec d'autres matières actives, dans la composition d'une dizaine de produits herbicides autorisés pour un usage non agricole en France.

Ainsi, dans l'éventualité où des plantes auraient acquis la mutation *S4-Hra* suite à un événement rare de dispersion associée à la mise sur le marché des œillets FLO-40689-6 sous forme de fleurs coupées, il serait peu probable qu'elles se retrouvent exposées à des herbicides auxquels elles seraient tolérantes, sauf dans le cas particulier où elles seraient exposées à des herbicides dont la seule matière active est le Flazasulfuron. L'utilisation de ces herbicides est autorisée au stade de pré-émergence à début de post-émergence des adventices (feuilles de 10 cm maximum), pour le désherbage des allées de parcs, jardins publics, trottoirs, cimetières, voies de communications et des voies ferrées.

En conclusion, il est peu probable que la protéine ALS mutée confère un avantage sélectif en cas de dispersion suite à la mise sur le marché des œillets FLO-40689-6.

5. Rapports et plan de surveillance post-commercialisation

En matière de surveillance post-commercialisation, la directive 2001/18/CE¹⁵ (EC, 2001), complétée par les règlements (CE) 1829/2003 (EC, 2003a) et 1830/2003¹⁶ (EC, 2003b), prévoit que soient mis en place :

¹⁵ La directive 2001/18/CE est une directive du Parlement européen et du Conseil du 12 mars 2001 qui fixe les règles communautaires relatives à la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement. Elle abroge la directive 90/220/CEE du Conseil. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32001L0018:FR:HTML>.

- un plan de surveillance spécifique, pour tester/confirmer d'éventuelles hypothèses émises lors de l'évaluation des risques pour l'environnement en ce qui concerne l'apparition et l'impact d'effets néfastes potentiels de l'OGM ou de son utilisation. Le plan de surveillance spécifique est destiné à mettre en évidence les changements prévisibles.
- un plan de surveillance générale, pour identifier l'apparition d'éventuels effets néfastes de l'OGM ou de son utilisation sur la santé humaine ou animale ou sur l'environnement qui n'auraient pas été anticipés lors de l'évaluation des risques pour l'environnement. Le plan de surveillance générale vise à mettre en évidence les changements non prévus par les plans de surveillance spécifique.

Considérant les résultats de l'analyse de risques présentée dans les chapitres précédents et l'utilisation prévue des œillets dans la demande d'autorisation de mise sur le marché d'origine et dans la demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché C/NL/06/01_001, le CS du HCB s'accorde avec le pétitionnaire sur le fait qu'un plan de surveillance spécifique n'était pas nécessaire lors de la mise sur le marché d'origine et n'est pas nécessaire pour ce renouvellement d'autorisation.

Le plan de surveillance générale proposé et implémenté depuis l'autorisation d'origine en 2009 repose sur :

1. des questionnaires remis aux importateurs, permettant d'établir une traçabilité du produit dans le système commercial,
2. un réseau d'experts constitué de spécialistes de la biologie du genre *Dianthus*, composé de laboratoires académiques ou d'obteneurs-sélectionneurs, permettant de signaler la survenue d'éléments suspects en matière d'hybridation entre l'œillet des fleuristes et la flore sauvage (genre *Dianthus*),
3. un réseau de surveillance impliquant des institutions (laboratoires, jardins botaniques, conservatoires botaniques, herbiers) et des experts scientifiques, pour permettre d'assurer une vigilance sur les collections de *Dianthus* qui viendraient en leur possession et faciliter les signalements de toute anomalie observée dans des populations d'œillet sauvages,
4. une revue de littérature scientifique basée sur des mots-clés adaptés (309 rapports et articles identifiés depuis 2010, sans mise en évidence de risques particuliers),
5. une revue de bases de données pertinentes (169 sites inventoriés depuis 2011, sans identification de populations d'œillets des fleuristes sauvages),
6. la diffusion d'informations et la possibilité d'échanges par l'intermédiaire d'un site Web dédié (<http://www.florigene.com>).

Enfin, bien que cela ne soit pas requis dans le cadre de la directive 2001/18/CE, une surveillance d'éventuelles repousses a également été effectuée sur les sites de production en Amérique du Sud, particulièrement dans les tas de compostage formés par des résidus de culture d'œillets GM précédemment autorisés. Aucune repousse d'œillets des fleuristes n'a été détectée autour des sites de production.

Les rapports de surveillance générale, colligés depuis l'autorisation de 2009, n'ont pas mis en évidence d'effets négatifs inattendus associés à la mise sur le marché de la lignée d'œillets FLO-40689-6.

¹⁶ Le règlement (CE) 1830/2003 est un règlement du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2003 concernant la traçabilité et l'étiquetage des organismes génétiquement modifiés et la traçabilité des produits destinés à l'alimentation humaine ou animale produits à partir d'organismes génétiquement modifiés, et modifiant la directive 2001/18/CE. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32003R1830:FR:HTML>.

Un plan de surveillance générale similaire, conforme aux exigences réglementaires, est proposé dans le cadre de la demande de renouvellement d'autorisation. Considérant les résultats de surveillance de la première période de commercialisation de 10 ans, certains membres du CS s'interrogent sur la proportionnalité de ce plan par rapport aux risques encourus.

Concernant la traçabilité, le pétitionnaire indique qu'une méthode de détection a été approuvée par le Centre Commun de Recherche lors de la demande de mise sur le marché initiale. Le CS du HCB note que le lien fourni dans le dossier de renouvellement n'est pas fonctionnel et que, sauf erreur, la base de données du Centre Commun de Recherche ne contient pas d'information correspondant à l'identificateur unique FLO-40689-6¹⁷. Ce point devrait être clarifié par le pétitionnaire, une méthode de détection devrait être clairement indiquée dans le dossier. En tout état de cause, le CS du HCB s'accorde avec le pétitionnaire sur le fait que l'identification d'une erreur dans la séquence d'origine ne devrait pas avoir de conséquence sur l'efficacité d'une méthode de détection qui a déjà fait ses preuves.

En matière d'étiquetage, il a été indiqué, dans le dossier d'origine, que des informations écrites seraient diffusées aux distributeurs (nom du produit, restrictions commerciales, coordonnées de la société...) et que la mention spécifique suivante serait apposée sur les produits qui leur sont vendus : "*These flowers are genetically modified to alter the flower colour and are for ornamental use only*"¹⁸¹⁹. Aucune information n'est fournie dans le dossier de renouvellement concernant l'étiquetage de ces œillets. Le CS du HCB souhaiterait que le pétitionnaire clarifie les modalités d'étiquetage prévues dans le cadre du renouvellement d'autorisation de mise sur le marché. Outre le fait que l'étiquetage est une exigence réglementaire, il souligne l'importance de l'information des fleuristes détaillants et des consommateurs, considérant notamment le risque que des individus expérimentés, non informés de la nature GM de ces fleurs coupées, tentent de les multiplier par bouturage.

6. Conclusions

Au terme de l'analyse de l'ensemble des données fournies par le pétitionnaire dans le dossier d'origine et le dossier de demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché, le CS du HCB note que :

- Aucun risque particulier de toxicité ni d'allergénicité n'a été identifié suite à l'évaluation et l'analyse bioinformatique de la lignée d'œillet FLO-40689-6, de la delphinidine, de l'enzyme mutante ALS ainsi que des protéines DFR et F3'5'H exprimée(s) dans l'œillet transgénique, ou des ORFs potentiels créés par la modification génétique.
- Il est improbable que les fleurs coupées d'œillet produisent des graines ; le risque de dispersion par des graines produites par ces fleurs est donc quasi nul.
- Le risque de dispersion de gènes par le pollen de fleurs coupées d'œillet est faible mais non nul. Il ne lui serait cependant pas associé d'impact environnemental significatif.

¹⁷ Essai de connexion au lien figurant dans le dossier d'origine et recherche directe dans la base de données des méthodes de détection sur le site du Centre Commun de Recherche le 18 octobre 2018.

¹⁸ En français : « Ces fleurs sont génétiquement modifiées dans le but de modifier la couleur des fleurs et sont uniquement destinées à un usage ornemental ».

¹⁹ Selon le dossier d'origine, cet étiquetage devait être garanti jusqu'aux grossistes, auxquels il devait être distribué des vignettes, étiquettes ou cartes contenant la même mention, à destination des fleuristes détaillants, dans l'optique que ceux-ci les apposent sur les bouquets contenant des œillets GM à destination des consommateurs. Le pétitionnaire considérait en effet que l'étiquetage des fleurs individuelles ne serait pas pratique, et sûrement enlevé par les fleuristes lors de la constitution de bouquets à destination des consommateurs.

- La dispersion par bouturage à partir de fleurs coupées est difficile à réaliser mais possible par des techniques adaptées.
- Suite à une éventuelle dispersion, le caractère de tolérance aux herbicides inhibiteurs d'ALS ne conférerait vraisemblablement pas d'avantage sélectif aux plantes porteuses du transgène *SurB*.
- Les données supplémentaires soumises dans le dossier de renouvellement et les résultats des rapports de surveillance colligés depuis la première autorisation de commercialisation de 2009 n'ont pas mis en évidence de nouveaux risques environnementaux et sanitaires ou d'impacts négatifs inattendus associés à la lignée d'œillet FLO-40689-6.

Le plan de surveillance proposé par le pétitionnaire semble adapté à l'utilisation prévue des œillets FLO-40689-6 dans la demande de renouvellement d'autorisation de mise sur le marché C/NL/06/01_001. Le CS du HCB recommande toutefois que, si son autorisation était renouvelée, la mise sur le marché des œillets FLO-40689-6 soit accompagnée de mesures propres à répondre au risque de dispersion par bouturage des fleurs coupées, par un étiquetage adapté et une communication à l'attention des sociétés d'amateurs quant aux possibilités de diffusion non contrôlée des œillets transgéniques.

7. Bibliographie

Bacchetta, G., Brullo, S., Casti, M., and del Galdo, G.P.G. (2010). Taxonomic revision of the *Dianthus sylvestris* group (Caryophyllaceae) in central-southern Italy, Sicily and Sardinia. *Nord J Bot* 28, 137-173.

Bracchi, G., and Romani, E. (2007). La flora alloctona della Provincia di Piacenza (Emilia Romagna, Italia) e le sue variazioni dalla fine dell'ottocento a oggi. *Parva Naturalia* 8, 169-231.

Broadhurst, C.L. (2001). Phytochemicals: The Ties That Bind. *Nutrition Science News July 2001 issue*.

Brown, J.P., and Dietrich, P.S. (1979). Mutagenicity of plant flavonols in the Salmonella-mammalian microsome test - activation of flavonol glycosides by mixed glycosidases from rat cecal bacteria and other sources. *Mutat Res* 66, 223-240.

Casas, J.L., Olmos, E., and Piqueras, A. (2010). In vitro propagation of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ) 589, 109-116.

Chaleff, R.S., and Ray, T.B. (1984). Herbicide-resistant mutants from tobacco cell-cultures. *Science* 223, 1148-1151.

Clement, E.J., and Foster, M.C. (1994). Alien plants of the British Isles. *Botanical Society of the British Isles* (London).

Duggleby, R.G., and Pang, S.S. (2000). Acetohydroxyacid synthase. *J Biochem Mol Biol* 33, 1-36.

EC (2001). Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. *Official Journal of the European Communities L106*, 1-36.

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

EC (2003b). Regulation (EC) No 1830/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and

the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC. Official Journal of the European Union L268, 24-28.

Erhardt, A. (1988). Pollination and reproduction in *Dianthus silvester* Wulf. In Proceedings of the Tenth International Symposium on the Sexual Reproduction of Higher Plants, M. Cresti, P. Gori, and E. Pacini, eds. (Berlin, Germany, Springer-Verlag), pp. 351-356.

Gatt, M.K., Hammett, K.R.W., Markham, K.R., and Murray, B.G. (1998). Yellow pinks: interspecific hybridization between *Dianthus plumarius* and related species with yellow flowers. *Sci Hortic* 77, 207-218.

Jurgens, A. (2006). Comparative floral morphometrics in day-flowering, night-flowering and self-pollinated Caryophylloideae (*Agrostemma*, *Dianthus*, *Saponaria*, *Silene*, and *Vaccaria*). *Plant Syst Evol* 257, 233-250.

Jurgens, A., Witt, T., and Gottsberger, G. (2003). Flower scent composition in *Dianthus* and *Saponaria* species (Caryophyllaceae) and its relevance for pollination biology and taxonomy. *Biochem Syst Ecol* 31, 345-357.

Kalt, W., McDonald, J.E., Ricker, R.D., and Lu, X. (1999). Anthocyanin content and profile within and among blueberry species. *Can J Plant Sci* 79, 617-623.

Keane, A.T. (1989). Breeding new carnation cultivars. In *Int Plant Prop Soc Combined Proc* 39, pp. 88-89.

Kim, Y.A., Joung, H.Y., Kwon, O.K., and Shin, H.K. (2005a). Morphological Observation of Anther and Pollen by Stages of Flower Development for Improvement of the Breeding Efficiency in Carnation 'Desio'. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 23, 446-450.

Kim, Y.A., Joung, H.Y., and Shin, H.K. (2005b). Morphological Observation of Floral Organs to Investigate the Cause of Poor Pollen Formation in Carnation 'Desio'. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 23, 440-445.

Knuth, P. (1908). *Handbook of flower pollination*, Vol. 2 (Oxford University Press).

Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F., and Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* 64, 923-933.

Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F., and Brouillard, R. (2008). Analysis and biological activities of anthocyanins (vol 64, pg 923, 2003). *Phytochemistry* 69, 1939-1940.

Lamminpaa, A., Estlander, T., Jolanki, R., and Kanerva, L. (1996). Occupational allergic contact dermatitis caused by decorative plants. *Contact Dermatitis* 34, 330-335.

Martin, C., Zhang, Y., Tonelli, C., and Petroni, K. (2013). Plants, Diet, and Health. *Annual Review of Plant Biology*, Vol 64 64, 19-46.

Mathesius, C.A., Barnett, J.F., Cressman, R.F., Ding, J., Carpenter, C., Ladics, G.S., Schmidt, J., Layton, R.J., Zhang, J.X.Q., Appenzeller, L.M., *et al.* (2009). Safety assessment of a modified acetolactate synthase protein (GM-HRA) used as a selectable marker in genetically modified soybeans. *Regul Toxicol Pharmacol* 55, 309-320.

Newhouse, K., Singh, B., Shaner, D., and Stidham, M. (1991). Mutations in corn (*Zea-mays* L) conferring resistance to imidazolinone herbicides. *Theor Appl Genet* 83, 65-70.

Nilsson, L.A., Rabakonandrianina, E., and Pettersson, B. (1992). Exact tracking of pollen transfer and mating in plants. *Nature* 360, 666-668.

Pourrat, H., Bastide, P., Dorier, P., and Tronche, P. (1967). Préparation et activité thérapeutique de quelques glycosides d'anthocyanes. *Chim Thérap*, 33-38.

Price, P.W. (1984). *Insect ecology* (New York, John Wiley and Sons).

- Ray, T.B. (1984). Site of action of chlorsulfuron - inhibition of valine and isoleucine biosynthesis in plants. *Plant Physiol* 75, 827-831.
- Renuka, K., Chandrasekhar, R., and Pratap, M. (2015). Effect of different media treatments on rooting of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) cuttings of cv. BALTICO under poly house conditions. *Asian J Hortic* 10, 118-121.
- Shaner, D.L., Anderson, P.C., and Stidham, M.A. (1984). Imidazolinones - potent inhibitors of acetohydroxyacid synthase. *Plant Physiol* 76, 545-546.
- Southan, M.D., and Copeland, L. (1996). Physical and kinetic properties of acetohydroxyacid synthase from wheat leaves. *Physiol Plant* 98, 824-832.
- Sparnaaij, L.D., and Koehorstvanputten, H.J.J. (1990). Selection for early flowering in progenies of interspecific crosses of 10 species in the genus *Dianthus*. *Euphytica* 50, 211-220.
- Stefanaki, E.C., and Pitsios, C. (2008). Occupational dermatitis because of carnation. *Contact Dermatitis* 58, 119-120.
- Subramanian, M.V., Hung, H.Y., Dias, J.M., Miner, V.W., Butler, J.H., and Jachetta, J.J. (1990). Properties of mutant acetolactate synthases resistant to triazolopyrimidine sulfonanilide. *Plant Physiol* 94, 239-244.
- Tan, S.Y., Evans, R.R., Dahmer, M.L., Singh, B.K., and Shaner, D.L. (2005). Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. *Pest Manage Sci* 61, 246-257.
- Tutin, T.G., and Walters, S.M. (1993). *Dianthus* L. In *Flora europaea*, T.G. Tutin, V.H. Heywood, N.A. Burges, D.H. Valentine, and D.M. Moore, eds. (Cambridge, Cambridge University Press), pp. 227-246.

Annexe 1 : Saisine



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
ET DE L'ALIMENTATION

Direction générale de
l'alimentation

Service des actions
sanitaires en production
primaire

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

Bureau des semences et
de la protection intégrée
des cultures

251, rue de Vaugirard
75732 Paris cedex 15

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

Paris, le **14 AOUT 2018**

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

Références : saisine HCB – Dossier C/NL/06/01_001

Affaire suivie par : Anne Grevet

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

courriel : anna.grevet@agriculture.gouv.fr

Monsieur le Président,

Dans le cadre de la directive 2001/18/CE relative à la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement, l'évaluation initiale d'un dossier de demande de mise sur le marché est confiée à l'Etat membre qui a reçu le dossier. Lorsque l'Etat membre a transmis son rapport d'évaluation à la Commission européenne, celle-ci adresse le dossier à l'ensemble des États membres qui disposent de 60 jours pour faire des commentaires, demander des informations complémentaires ou émettre des objections à la mise sur le marché.

Le dossier suivant, qui a fait l'objet d'un rapport d'évaluation des Pays-Bas, est soumis aux États membres :

- dossier C/NL/06/01_001, concernant le renouvellement de la mise sur le marché d'oignons génétiquement modifiés, lignée 123.8.12 (identificateur unique FLO-40689-6), pour l'importation et la commercialisation de fleurs coupées.

Les États membres peuvent transmettre à la Commission leurs commentaires, demandes d'informations complémentaires ou objections jusqu'au 23 septembre 2018.

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, le cas échéant, des commentaires ou demandes d'informations complémentaires à transmettre à la Commission, au plus tard le **17 septembre 2018**.

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

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

Anne-Cécile DOTILLON

Annexe 2 : Elaboration de l'avis

Cet avis a été élaboré par le CS du HCB à partir de la discussion de rapports d'expertise et d'un projet d'avis en séance du 17 octobre 2018²⁰ sous la présidence du Dr Jean-Christophe Pagès et la vice-présidence du Dr Pascal Boireau et du Dr Claudine Franche.

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

Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Avner Bar-Hen, Marie-Anne Barny, Pascal Boireau, Thierry Brévault, Bruno Chauvel, Cécile Collonnier, Denis Couvet, Elie Dassa, Barbara Demeinex, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Guillermina Hernandez-Raquet, Jamal Khalife, Bernard Klonjowski, 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, Hubert de Verneuil, Jean-Luc Vilotte²¹.

Le dossier a été examiné par quatre experts rapporteurs du CS du HCB, sélectionnés pour leurs compétences dans les disciplines requises.

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.

²⁰ Membres du CS présents et représentés lors de la discussion du projet d'avis en séance du 17 octobre 2018 : Frédérique Angevin, Claude Bagnis, Marie-Anne Barny, Pascal Boireau, Bruno Chauvel, Cécile Collonnier, Elie Dassa, Claudine Franche, Joël Guillemain, Guillermina Hernandez-Raquet, Jamal Khalife, Bernard Klonjowski, Didier Lereclus, Rémi Maximilien, Eliane Meurs, Didier Nègre, Sergio Ochatt, Jean-Christophe Pagès, Xavier Raynaud, Catherine Regnault-Roger, Michel Renard, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Marie-Bérengère Troadec, Bernard Vaissière, Hubert de Verneuil.

²¹ Composition du CS en vigueur suite au décret de nomination des membres du HCB du 30 décembre 2014, à la loi du 2 décembre 2015, et à l'arrêté du 10 avril 2017 portant nomination des membres du HCB.