



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

relatif à un dossier de demande de mise sur le marché du soja génétiquement modifié DAS-68416-4, développé pour être tolérant à certains herbicides pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM au titre du règlement (CE) n° 18 29/2003.

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

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

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

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

Ses avis sont rendus publics.

1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a été saisie le lundi 19 septembre 2011 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes d'une demande d'avis relatif à un dossier de mise sur le marché du soja génétiquement modifié DAS-68416-4, développé pour être tolérant à certains herbicides pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM au titre du règlement (CE) n° 1829/2003. (dossier EFSA-NL-2011-91)

2. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Conformément au Règlement (CE) N°1829/2003, notamment aux articles 6 et 18, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) est chargée de procéder à l'évaluation des dossiers concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, issus de plantes génétiquement modifiées et de rendre un avis à la Commission Européenne. L'EFSA a cependant offert la possibilité aux Etats-membres de faire connaître leurs observations sur le dossier initial. C'est dans ce cadre que la DGCCRF a sollicité l'avis de l'Anses.

3. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été effectuée par le Comité d'experts spécialisé "Biotechnologie", réuni le 17 novembre 2011. L'évaluation du dossier se base sur les lignes directrices de l'EFSA¹ et sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts du CES Biotechnologie. L'analyse du CES suit les sections, telles que définies dans le formulaire de commentaires de l'EFSA.

4. ANALYSE DU CES

(A) Information générale

Le soja est une culture des zones chaudes à semi-tropicales. C'est une légumineuse peu envahissante et difficile à désherber en condition de printemps normale. Pour les plantes produites hors Europe, les cultures sont souvent envahies par des graminées et les graines toxiques de certaines espèces (*Datura ferox*) qui se retrouvent mélangées à la récolte du soja. En Europe et en Amérique du nord, le soja implanté au printemps est régulièrement envahi par l'ambrosie (*Ambrosia artemesifolia*), plante dont le pollen est particulièrement allergène pour les populations riveraines.

La graine de soja est très peu utilisée à l'état cru en raison notamment de la présence de facteurs antinutritionnels (notamment l'acide phytique, les facteurs antitrypsiques ou les lectines). Le soja contient aussi de nombreuses protéines naturellement allergènes. Les produits destinés à l'alimentation animale sont la graine toastée ou le tourteau déshuilé toasté. Les produits destinés à l'alimentation humaine sont très divers, notamment la farine, les protéines (isolats et concentrats), l'huile, la margarine et les lécithines utilisées comme émulsifiants dans de nombreux produits alimentaires.

La demande est une première demande d'autorisation de mise sur le marché pour l'alimentation humaine et animale du soja génétiquement modifié portant l'événement DAS-68416-4 et de ses produits dérivés; elle ne concerne pas sa mise en culture.

Le soja DAS-68416-4 contient les gènes codant :

- l'enzyme aryloxyalkanoate dioxygénase-12 (AAD-12) qui dégrade le 2,4D utilisé comme herbicide.
- la phosphinothricine acétyl transférase qui inactive le glufosinate ammonium.

Ces deux enzymes modifient la molécule active des herbicides. Par conséquent, il conviendrait également d'évaluer dans le cadre du règlement (CE) N°1107/2009, le métabolisme de ces herbicides quand ils sont appliqués au soja DAS-68416-4.

Le développement d'un soja tolérant au 2,4D et au glufosinate ammonium permettrait de contrôler les adventices indésirables devenues résistantes aux autres herbicides, en particulier au glyphosate.

(C) Informations relatives à la modification génétique

(1) Le soja DAS-68416-4 résulte de la transformation de nœud cotylédonaire de soja par *Agrobacterium tumefaciens* contenant un plasmide binaire de transformation portant un ADN-T. L'ADN-T possède deux cassettes d'expression : celle du gène *aad-12* et celle du gène *pat*. Les événements de transformation ayant intégré l'ADN-T portant les gènes d'intérêt ont été sélectionnés pour leur capacité à pousser après un traitement au glufosinate. Les plantes T0 ainsi sélectionnées ont été analysées au niveau moléculaire. DAS-68416-4 a été obtenu après plusieurs étapes de croisement (autofécondation et rétrocroisement).

(2) L'ADN-T contient les éléments suivants :

- une bordure (appelée B) de l'ADN-T ;

¹ Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants, The EFSA Journal 2011; 9(5): 2150.

Guidance document of the scientific panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plant, The EFSA Journal 2006; 99, 1-100.

- la séquence d'ADN de *Nicotiana tabacum* (RB7 MAR) permettant l'attachement d'éléments nucléaires et améliorant potentiellement l'expression des transgènes ;
- la séquence de la polyubiquitine UBQ10 d'*Arabidopsis thaliana* comprenant le promoteur, la région 5' non codante et le premier intron ;
- la séquence synthétique optimisée pour l'expression dans les plantes codant pour l'aryloxyalkanoate dioxygénase de *Deftia acidovorans* ;
- la région 3' non codante comprenant le terminateur et le site de polyadénylation de l'ORF23 du plasmide pTi15955 d'*Agrobacterium tumefaciens* ;
- la séquence promotrice et la région 5' non codante du virus CsVMV (cassava vein mosaic virus) ;
- la séquence synthétique optimisée pour l'expression dans les plantes codant pour la phosphinothricine N-acétyl transférase (PAT) de *Streptomyces viridochromogenes* ;
- la région 3' non codante comprenant le terminateur et le site de polyadénylation de l'ORF1 du plasmide pTi15955 d'*Agrobacterium tumefaciens* ;
- trois bordures A de l'ADN-T.

(D) Informations relatives à la plante génétiquement modifiée

- (1)** Le soja DAS-68416-4 a été modifié par transformation génétique pour exprimer deux protéines l'aryloxyalkanoate dioxygénase-12 (AAD-12) et la phosphinothricine acétyl transférase (PAT).

L'AAD-12 (293 acides aminés et 32kDa) dégrade le 2,4D utilisé comme herbicide. AAD-12 est codée par le gène *aad-12* dans une version synthétique optimisée selon l'usage des codons dans les plantes. Le gène provient de *Deftia acidovorans*.

L'enzyme AAD-12 est active sur d'autres herbicides² appartenant à la famille des phénoxy-acétate achiraux comme le MCPA ((4-chloro-2-méthylphénoxy) acetic acid) ou de la famille des pyridoxy-acétate (trichloropyr, fluoroxy-pyr). AAD-12 transforme l'herbicide en la forme phénolique inactive. AAD-12 n'est pas active sur les herbicides commerciaux de type phénoxy-acide chiraux.

La PAT (183 acides aminés et 21 kDa) inactive les herbicides de type glufosinate par acétylation. PAT est codée par le gène *pat* dans une version synthétique optimisée selon l'usage des codons dans les plantes. Le gène provient de *Streptomyces viridochromogenes*.

- (2)** Des analyses par Southern de l'ADN génomique, extrait de feuilles de soja portant l'événement DAS-68416-4 (générations T3 à T6³) ont été réalisées afin de caractériser l'insertion. Le témoin utilisé est l'ADN génomique extrait de la lignée Maverick qui a été utilisée pour la transformation. Les résultats indiquent que l'événement DAS-68416-4 contient une seule copie de l'ADN-T intégrée en un seul locus. Aucune séquence du squelette du plasmide de transformation n'a pu être détectée.

La construction insérée dans l'événement DAS-68416-4 a été entièrement séquencée sur 10212 pb incluant les 6400 pb de l'ADN-T ainsi que 2730 pb de la bordure adjacente 5' et 1082 pb de la bordure adjacente 3'.

Aucun changement de nucléotides, ni aucune insertion/délétion n'est observé sur les 6400pb de l'ADN-T. Les séquences adjacentes correspondent bien au génome nucléaire du soja qui ne présente pas d'homologie (analyse BLAST) avec une phase ouverte de lecture. Enfin, l'analyse révèle une délétion de 55 nucléotides du génome du soja et une insertion de 9 nucléotides au niveau de la jonction en 3' du site d'insertion de l'ADN-T dans le génome du soja.

La stabilité de l'insert a été étudiée sur les descendants après plusieurs cycles d'autofécondation. Les résultats des profils Southern montrent que l'insert est intact, stable et en simple copie.

² Non documenté dans le dossier,

cf <http://www.fda.gov/downloads/food/biotechnology/submissions/UCM222238.pdf>

³ T3 et T6 correspondent respectivement à 3 et 6 cycles d'autofécondation de la lignée T0 transformée (T0 = événement primaire de transformation de la lignée Maverick).

L'expression de protéines de fusion potentielles est étudiée par analyse bioinformatique basée sur la recherche d'ORF (Open Reading Frame ou phase ouverte de lecture) dans les régions de jonction entre l'insert et le génome de soja. Les séquences de jonction 5' et 3' ont été traduites dans les 6 phases de lecture entre 2 codons STOP.

Ainsi, douze ORF potentielles ont été identifiées dont huit présentent un cadre de lecture d'au moins 16 acides aminés. La séquence de ces ORFs putatives a été comparée aux banques de données de protéines (« nr » de Genbank, 2010) et d'allergènes (FARRP allergen database version 10, janvier 2010). Aucune de ces ORF ne présente d'homologie significative avec des protéines et des allergènes connus.

(3) Informations relatives aux produits d'expression du transgène.

Les gènes d'intérêt agronomique *aad-12* et *pat* sont sous le contrôle de promoteurs constitutifs. Les niveaux d'expression de ces protéines ont été évalués par des tests ELISA dans les feuilles, les racines, les tiges et les graines. Les échantillons proviennent de plantes cultivées en 2009 aux USA dans 8 sites répartis dans 6 états correspondant aux régions de production de soja. Trois traitements ont été appliqués : sans traitement, glufosinate ammonium, 2,4D et glufosinate ammonium + 2,4D.

Les valeurs limites de quantification (LOQ) et limites de détection (LOD) ont été déterminées pour chacun des tissus.

La concentration la plus forte est observée dans les feuilles pour les deux protéines avec une moyenne maximale de 80 et 8 ng/mg de matière sèche de protéine AAD-12 et PAT, respectivement.

Dans les graines, les concentrations sont faibles et homogènes quel que soit le traitement herbicide appliqué (tableau 1).

Tableau 1 : Teneurs moyennes dans les graines de soja DAS-68416-4 en protéines AAD-12 et PAT en ng/mg de poids sec.

	AAD-12 (SD)[Gamme]	PAT (SD)[Gamme]
contrôle	ND	ND
DAS-68416-4	22.92 (4.17) [16.29-32.18]	2.66 (0.46) [1.80-3.71]
DAS-68416-4 gluf	21.67 (4.47) [14.21-31.59]	2.66 (0.37) [1.80-3.52]
DAS-68416-4 2,4D	20.19 (4.16) [12.14-29.77]	2.57 (0.40) [1.91-3.34]
DAS-68416-4 gluf+2,4D	21.16 (4.63) [11.51-31.97]	2.62 (0.44) [1.55-3.41]

gluf= glufosinate ammonium

(5) Informations relatives à la stabilité génétique et phénotypique

La stabilité de l'insertion portant les gènes de tolérance aux herbicides a été vérifiée sur plusieurs type de croisements, par des analyses de type Southern ainsi que par l'étude de la ségrégation du caractère d'intérêt agronomique.

L'observation des résultats de Southern et de ségrégation des caractères de résistance aux herbicides est conforme à la transmission de caractères uniques et dominants selon les lois mendéliennes.

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

(7.1-3) Analyse comparative de la composition chimique

Une étude est présentée dans laquelle les sojas ont été cultivés en 2009 sur 8 sites répartis dans 6 états des Etats-Unis, selon un plan d'expérience en blocs randomisés avec 4 blocs par site.

La lignée transgénique DAS-68416-4 issus de 6 cycles d'autofécondation après transformation a été cultivée conjointement à une lignée contrôle (Maverick) et à six lignées commerciales. Quatre modalités de traitement pendant la culture ont été appliquées sur les lignées transgéniques (sans traitement, glufosinate ammonium, 2,4D et glufosinate ammonium + 2,4D).

L'analyse de composition des graines a porté sur cinq paramètres proximaux (cendres, humidité, protéines, hydrates de carbones et lipides), sur les fibres ADF, NDF et totales, sur 18 acides aminés, 22 acides gras (C8-C22), 9 minéraux, 13 vitamines, 3 isoflavones (daidzéine, génistéine et glycitéine) et 5 facteurs antinutritionnels (lectine, acide phytique, inhibiteur de trypsine, raffinose et stachyose).

Les valeurs pour 14/22 acides gras sont inférieures à la LOQ, ces composés n'ont pas été inclus dans l'analyse statistique.

Une ANOVA globale a été réalisée avec un modèle linéaire mixte incluant un effet traitement fixe, et des effets site, bloc dans site, et site*traitement aléatoires. Le modèle a été utilisé pour tester des différences (test de Student et de Fisher) entre, d'une part, chacun des 4 sojas transgéniques correspondant aux quatre modalités de traitement de la culture et, d'autre part, le contrôle non transgénique soit 4 comparaisons par substance. Le modèle statistique utilisé ne correspond pas à celui proposé par l'EFSA (EFSA, 2010⁴).

L'erreur de type 1 a été fixée à 5%. Les tests statistiques ont été systématiquement ajustés pour limiter le nombre de faux positifs par la technique FDR (False Discovery Rate).

Des intervalles basés sur les variétés commerciales cultivées dans l'expérimentation du pétitionnaire et sur les valeurs reportées dans la littérature (OCDE 2001, ILSI database 2006) ont été utilisées pour vérifier que les teneurs moyennes du soja transgénique ne sortent pas des gammes de variation habituelle. Cette approche ne prend pas en compte l'erreur d'estimation des valeurs moyennes du soja transgénique ; il aurait été préférable de faire un test d'équivalence comme le recommande l'EFSA (EFSA, 2010⁴).

Des différences de concentration de certains composés ont été observées entre les graines de soja DAS-68416-4 et le soja contrôle. Pour la plupart, ces différences ne sont plus significatives après ajustement FDR, ne sont pas observées pour les 4 comparaisons et sont de faibles amplitudes. De plus, les teneurs sont le plus souvent comprises dans l'intervalle de tolérance établi à partir des variétés commerciales.

Cependant, pour l'acide folique et la glycitéine, la différence entre la concentration dans le soja GM et le témoin est significative pour les quatre comparaisons et reste significative après les ajustements FDR. Il serait pertinent de démontrer l'équivalence par un test statistique tel que proposé par l'EFSA et de les discuter en cas de non équivalence.

Ainsi, la concentration d'acide folique diminue d'environ 10% dans le soja GM alors que celle de la glycitéine augmente d'environ 10% par rapport au témoin. La glycitéine est une isoflavone dont les effets oestrogéno-mimétiques sont documentés dans la littérature. Toutefois, elle est considérée comme mineure par rapport aux isoflavones majeures du soja (génistéine daidzéine)⁵. La dose maximale d'isoflavones recommandée par l'Anses est de 1mg/kg p.c./jour, ce qui correspond à 60-80 mg/jour pour un adulte. Cette dose est très supérieure à l'apport supplémentaire qui pourrait résulter de la consommation de produit issu du soja DAS-68416-4.

En conclusion, cette étude ne met pas en évidence de différence de composition entre les sojas DAS-68416-4 et les sojas témoins, excepté une légère diminution de la teneur (moins 10%) en acide folique et une légère augmentation (plus 10%) de la teneur en glycitéine par rapport au témoin. Ces observations sont toutefois sans conséquence sur la sécurité de consommation des sojas DAS-68416-4 par l'homme et l'animal.

(7.4) Analyse comparative des caractéristiques agronomiques

Les caractères agronomiques et phénotypiques des sojas DAS-68416-4 ont été comparés à ceux de plantes témoins (Maverick). Les plantes sont issues de l'essai précédemment décrit. Les paramètres agronomiques évalués au nombre de 12 incluent le développement précoce, la hauteur, la morphologie, la vigueur, la sensibilité aux prédateurs, la floraison et le rendement en grains.

Les résultats montrent que les caractéristiques agronomiques de la variété DAS-68416-4 ne sont pas significativement différentes de la variété de référence Maverick.

⁴ Statistical considerations for GMOs safety EFSA Journal 2010; 8(1):1250

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1250.pdf>

⁵ rapport Afssa/Afssaps 2005 <http://www.anses.fr/Documents/NUT-Ra-Phytoestrogenes.pdf>

(7.5-6) Spécificité des produits, effets des traitements

Les sojas DAS-68416-4 sont considérés par le pétitionnaire comme ayant la même composition chimique que le soja témoin. Dans ces conditions, aucun effet particulier dû à la présence de l'événement de transformation n'est attendu au cours du traitement de la graine. Concernant les protéines nouvellement exprimées, le pétitionnaire indique qu'elles seront dégradées lors des processus de traitement.

(7.7) Utilisation et consommation prévue

Des données de consommation chez l'homme et l'animal ont été fournies afin d'estimer l'exposition aux protéines nouvellement présentes PAT et AAD-12 dans les sojas DAS-68416-4. Considérant que la protéine PAT est une protéine couramment exprimée dans les plantes génétiquement modifiées, que sa sécurité a déjà été évaluée et qu'elle est présente en faible concentration dans la graine des sojas DAS-68416-4, seule l'exposition à la protéine AAD-12 a été prise en compte.

L'exposition chronique à la protéine AAD-12, estimée à partir de données européennes (WHO/cluster F diet, 39,6 g/personne/jour) est de 0,0142 mg/kg/jour pour la population générale.

(7.8) Toxicologie

L'évaluation du potentiel toxique de la protéine AAD-12 est basée sur les éléments suivants :

- La protéine AAD-12 dérivant de *Pseudomonas fluorescens* présente la même séquence en acides aminés que la protéine purifiée à partir du soja DAS-68416-4, à l'exception de l'addition d'une alanine en position 2.
- La protéine AAD-12 exprimée dans les sojas DAS-68416-4 présente l'activité enzymatique attendue. Des substrats endogènes pour l'enzyme dans le soja ont été recherchés. L'oxydation de l'acide transcinnamique et celle de l'acide indole-3 acétique ont pu être observées, avec des Km très élevés, indiquant la faible affinité de ces substrats pour l'enzyme ; elle n'est pas glycosylée.
- La protéine AAD-12 est inactivée et perd son immunoréactivité (99%) après traitement thermique (50°C pendant 30 min) ;
- L'organisme source *Delftia acidovorans* est retrouvé dans les sols, l'eau, la boue et est utilisé dans l'industrie alimentaire.
- Une analyse *in silico* réalisée à l'aide du logiciel BLASTp (janvier 2010) indique que la protéine AAD-12 ne présente aucune homologie de séquence avec des protéines toxiques pour l'homme ou l'animal.
- La protéine AAD-12 extraite à partir de *P. fluorescens*⁶ n'induit pas de mortalité chez la souris après une administration unique de 2000 mg/kg p.c. par voie orale (gavage).
- La protéine AAD-12 dérivant de *P. fluorescens*⁶ n'induit pas d'effets sur les paramètres mesurés chez des souris traitées pendant 28 jours à la dose maximale de 47 mg/kg/jour.

L'étude de toxicité par administration répétée pendant 28 jours permet de dériver une marge de sécurité pour l'homme supérieure à 3309. Un autre calcul de sécurité tenant compte de la quantité réellement dosée dans le régime final conduit à une marge plus faible (1232) qui reste toutefois acceptable.

La protéine PAT est une protéine couramment exprimée dans les plantes génétiquement modifiées et sa sécurité a déjà été évaluée (dossier soja A2702) :

⁶ Les protéines AAD-12 et PAT utilisées dans les études toxicologiques et *in vitro*, ont été produites dans *Pseudomonas fluorescens*. Il a été démontré qu'elles présentaient les mêmes caractéristiques biochimiques (taille, immunoréactivité, séquence d'acides aminés, absence de glycosylation) que les protéines AAD-12 et PAT purifiées à partir du soja DAS-68416-4.

De nombreuses études de toxicité aiguë ont été réalisées par voie orale avec la protéine PAT; ces études n'ont jamais mis en évidence d'effet néfaste (dose sans effet supérieure à 5000 mg/kg p.c.) (avis Afssa 2006-SA-0065). De plus :

- l'organisme source *Streptomyces viridichromogenes* ne présente pas de potentiel toxique ou pathogénique.
- une analyse *in silico* réalisée à l'aide du logiciel BLASTp (janvier 2010) indique que la protéine PAT ne présente aucune homologie de séquence avec des protéines toxiques pour l'homme ou l'animal.

(7.8.4) Étude de toxicité sub-chronique

Aucune étude de toxicité sub-chronique de 90 jours n'a été réalisée avec l'aliment chez le rat. Le CES rappelle que pour les études futures, il est recommandé de suivre les développements formulés dans le rapport de l'Anses pour l'analyse statistique des données de l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours⁷.

Il recommande aussi que les sojas testés soient traités par les herbicides auxquels ils sont résistants.

(7.9) Evaluation nutritionnelle

Une étude d'alimentarité a été réalisée chez des poulets de façon à comparer les caractéristiques nutritionnelles du tourteau de soja DAS-68416-4 avec le témoin Maverick.

Le protocole met en œuvre cinq groupes de 120 poulets (12 réplicats de 10 animaux par enclos) correspondant à 5 traitements différents : la variété DAS-68416-4, la variété témoin et 3 variétés commerciales. Les poulets ont tous reçu pendant 42 jours successivement trois régimes différents correspondant aux trois phases de développement : démarrage, croissance et finition. Les aliments contenaient 40.4%, 36.4%, et 31.5% de tourteau de soja respectivement pour les trois phases.

L'analyse de composition chimique des tourteaux de soja génétiquement modifié DAS-68416-4, de soja témoin et des sojas commerciaux a été réalisée. Les principaux composés et anti-nutriments ont été mesurés, leurs concentrations sont similaires dans les différents tourteaux. De même que 12 mycotoxines ont été recherchées, leurs niveaux est inférieurs à la limite de détection ou sont très faibles.

Les animaux ont été observés deux fois par jour, pour évaluer leur état de santé et leur mortalité et pour mesurer les paramètres de croissance (consommation d'aliment, le gain de poids et le rapport consommation/gain de poids). Après 42 jours, les poulets ont été sacrifiés et sur 4 animaux par enclos, les paramètres suivants ont été mesurés : poids des carcasses, des muscles (poitrine, cuisse, patte et aile), du foie et des dépôts de graisse abdominale.

La mortalité des poulets pour les 5 traitements était en moyenne de 2,3% sans rapport avec la nature du régime alimentaire et inférieure au taux moyen de 3,5% observés dans les mêmes conditions expérimentales.

L'analyse statistique des résultats des paramètres mesurés dans l'étude ne met pas en évidence de différences entre les animaux nourris avec les sojas DAS-68416-4 et les sojas témoins ou les variétés commerciales. Seule la prise de nourriture chez les mâles est inférieure chez les poulets nourris à base de soja DAS-68416-4. Cette observation est attribuée à la mort d'animaux mâles dans tous les groupes, qui a pu fausser transitoirement les mesures de prise de nourriture. Ce fait n'a pas été observé chez les femelles ; la croissance journalière et le taux de conversion de la nourriture chez les mâles ne sont pas affectés.

En conclusion, cette étude ne met pas en évidence de différence de croissance entre les animaux nourris avec les sojas DAS-68416-4 et ceux nourris avec les sojas témoins ou commerciaux. Il aurait toutefois été préférable d'utiliser le soja DAS-68416-4 traité par les herbicides 2,4D et glufosinate ammonium.

⁷ Recommandations pour la mise en œuvre de l'analyse statistique des données issues des études de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché d'OGM <http://www.anses.fr/Documents/BIOT2009sa0285Ra.pdf>

(7.10) Allergénicité

L'évaluation de la potentialité allergénique de la protéine AAD-12 considère les données suivantes :

- absence de risque allergique de l'organisme source ;
- absence d'homologie de séquence avec des allergènes connus, soutenue par une analyse *in silico* réalisée en 2010 avec la base de données FARRP ;
- hydrolyse rapide en milieu simulant le fluide gastrique (moins de 30 secondes) ;
- absence de glycosylation.

De même pour la protéine PAT :

- absence de risque allergique de l'organisme source ;
- absence d'homologie de séquence avec des allergènes connus, soutenue par une analyse réalisée en 2010 avec la base de données FARRP ;
- hydrolyse rapide en milieu simulant le fluide gastrique ;
- absence de glycosylation (EFSA 2007⁸).

Il convient de noter que ces données ne suffisent pas, pour autant, à conclure de façon certaine à l'absence d'un potentiel toxique et allergénique mais, qu'en l'état actuel des connaissances, une telle certitude ne pourrait être obtenue pour aucune protéine.

Potentialité allergène de la plante entière

Afin de déterminer si la transformation génétique pouvait modifier le potentiel allergisant du soja, une étude a été menée visant à comparer par western blot et inhibition en ELISA, la fixation des IgE de 20 sérums de patients allergiques, à des extraits protéiques de soja DAS-68416-4 ou de soja témoin (Maverick). L'analyse des résultats montre qu'il n'y a pas de différences entre les types de sojas testés.

De même, en analyse électrophorétique bidimensionnelle, les profils sont similaires quelle que soit l'origine du soja montrant que la modification génétique ne fait pas apparaître de nouvelles protéines allergènes et/ou ne modifie pas l'allergénicité endogène du soja.

CONCLUSION DU CES

Au regard des résultats moléculaires présentés, l'événement de transformation intégré dans le génome des sojas DAS-68416-4 correspond à l'insertion d'une copie stable et en un seul locus de l'ADN-T. Le site d'intégration et les régions flanquant l'insert ont été caractérisés et leur analyse ne soulève pas de question de sécurité sanitaire.

L'analyse comparée de composition chimique montre que celle des graines de soja DAS-68416-4 n'est pas différente de celle des graines de soja témoin et des variétés commerciales pour la plupart des composés analysés. De faibles différences sont observées pour l'acide folique et la glycitéine sans conséquence sur la sécurité sanitaire liée à la consommation du soja DAS-68416-4. Cependant, ces résultats auraient dû inciter le pétitionnaire à démontrer l'équivalence par des tests statistiques plus appropriés. En cas de non équivalence, les résultats auraient dû être discutés.

L'analyse des résultats de l'étude d'alimentarité chez le poulet durant 42 jours à partir des tourteaux issus de sojas DAS-68416-4 non traités par les herbicides 2,4D et glufosinate ammonium, permet de conclure que ces tourteaux ne présentent pas de propriétés nutritionnelles différentes de celles des tourteaux de soja témoin.

Concernant l'évaluation du potentiel toxique, les données fournies permettent d'évaluer la sécurité des protéines nouvellement présentes dans les sojas génétiquement modifiés DAS-68416-4. Toutefois, l'absence d'une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours avec l'aliment entier ne permet pas d'apprécier le risque potentiel lié à la consommation de produits alimentaires issus des

⁸ Scientific Opinion on application (EFSA-GMO-NL-2008-52) for the placing on the market of herbicide tolerant genetically modified soybean A5547-127 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience. The EFSA Journal (2011); 9:2147, 1-28.

sojas portant l'événement DAS-68416-4. Par conséquent, le CES Biotechnologie ne peut se prononcer sur la sécurité sanitaire liée à la consommation de ce soja génétiquement modifié.

5. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du Comité d'Experts spécialisés « Biotechnologie ».

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

OGM, soja DAS-68416-4, tolérance au glufosinate ammonium, PAT, tolérance au 2,4D, ADD-12.