

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 31 juillet 2014

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

relatif à une demande d'évaluation de certaines données complémentaires relatives au soja génétiquement modifié 305423 (dossier n° EFSA-GMO-NL-2007-45)

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.

L'Anses a été saisie le 6 mai 2014 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) pour la réalisation de l'expertise suivante : Demande d'avis relatif à une demande d'évaluation de certaines données complémentaires relatives au soja génétiquement modifié 305423 (dossier n° EFSA-GMO-NL-2007-45).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Conformément au Règlement (CE) n° 1829/2003, notamment aux articles 6 et 18, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (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 les dossiers initiaux.

Dans ce cadre, le dossier n° EFSA-GMO-NL-2007-45 de demande d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié 305423 a été évalué par l'Afssa (saisine 2007-SA-0363). Dans son avis du 21 janvier 2008¹, l'Agence indiquait qu'elle ne pouvait pas se prononcer sur la sécurité sanitaire des produits dérivés des variétés de soja portant l'événement de transformation 305423 en l'absence d'une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours chez l'animal de laboratoire

¹ Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à un dossier de mise en marché d'un soja génétiquement modifié 305423, enrichi en acide oléique et tolérant aux herbicides, pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de grains et de ses produits dérivés, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003. <http://www.anses.fr/sites/default/files/documents/BIOT2007sa0363.pdf>

par prise réitérée de l'huile destinée à l'alimentation humaine et du tourteau de soja destiné à l'alimentation animale.

Depuis, le pétitionnaire a fourni des données complémentaires par rapport au dossier initial, dont une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours, et l'EFSA a rendu son avis le 4 décembre 2013. Dans l'imminence du vote par les Etats membres sur ce dossier au Comité Permanent de la Chaîne Alimentaire et de la Santé Animale (CPCASA), section OGM, la DGCCRF a saisi l'Anses afin de procéder à l'évaluation de ces données complémentaires.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

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

L'expertise collective a été effectuée par le Groupe de Travail (GT) « Biotechnologie », réuni le 18 juillet 2014. L'évaluation du dossier se base sur les lignes directrices de l'EFSA² et ³ et sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts du GT « Biotechnologie ».

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GROUPE DE TRAVAIL

3.1 Information générale

Le soja 305423 a été génétiquement modifié afin d'introduire dans son génome un fragment du gène *gm-fad2-1*, de manière à supprimer l'expression du gène endogène *fad2-1*, qui code une oméga-6 désaturase. Cette modification conduit à l'augmentation de la teneur en acide oléique (C18:1) des graines au détriment de l'acide linoléique (C18:2). L'huile obtenue à partir des graines de ce soja devrait être plus stable et ne pas nécessiter de traitement chimique d'hydrogénation, qui génère des acides gras *trans* nocifs pour la santé.

Le soja 305423 contient aussi *gm-hra*, un gène modifié de soja codant une acétolactate synthétase (GM-HRA) dont l'activité n'est pas inhibée par les herbicides de la famille des sulfonylurées, imidazolinones, triazolopyrimidines, pyrimidinylthio- (ou oxy-) benzoates et sulfonylamino-carbonyltriazolinones (inhibiteurs de l'acétolactate synthase (ALS)).

3.2 Rappels sur l'évaluation de la sécurité sanitaire du soja 305423

Le dossier initial déposé à l'EFSA en 2007 (dossier n° EFSA-GMO-NL-2007-45) correspondait à une première demande d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié 305423, pour l'importation et la transformation, ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de ses graines et produits dérivés, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003. Il ne concernait pas sa mise en culture.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 5 novembre 2007 par la DGCCRF d'une demande d'avis relatif à cette demande d'autorisation de mise sur le marché. Dans son avis du 21 janvier 2008 (saisine 2007-SA-0363), elle concluait que :

"Au vu des analyses moléculaires du soja 305423, qui montrent que celui-ci comporte 4 insertions

² Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants, The EFSA Journal 2011; 9(5): 2150.

³ Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed, The EFSA Journal 2006; 99: 1-100.

indépendantes comprenant elles-mêmes plusieurs fragments PHP19340A et PHP17752A intacts ou tronqués ainsi qu'une région du plasmide ayant servi à la construction génétique, le soja 305423 n'est pas satisfaisant d'un point de vue moléculaire et que les 3 insertions inutiles à l'expression des 2 caractères recherchés auraient du être éliminées.

Les données analytiques de composition ne permettent pas de conclure à une équivalence en substance entre le soja 305423 et son témoin en raison en particulier de teneurs en acide heptadécanoïque (C17:0) et en acide heptadécénoïque (C17:1) plus élevées dans la plante transgénique. De plus, il aurait été souhaitable de compléter les analyses en accord avec les recommandations du codex alimentarius 2007 et de l'OCDE 2002 concernant la composition comparée de l'huile (phytostérols), de la lécithine et des protéines isolées de soja.

La composition des rations de l'étude d'alimentarité réalisée chez le poulet qui ne contient que 0,5 % d'huile de soja ne permet pas de conclure sur les effets éventuels de la modification de la composition en acides gras de l'huile et sur l'équivalence nutritionnelle du soja 305423 et de son témoin.

En conséquence, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime qu'elle ne peut pas se prononcer sur la sécurité sanitaire des produits dérivés des variétés de soja portant l'événement de transformation 305423 pour l'alimentation humaine et animale. Une étude de toxicité subchronique de 90 jours chez l'animal de laboratoire aurait permis de préciser les éventuels effets toxiques par prise répétée de l'huile destinée à l'alimentation humaine et du tourteau de soja destiné à l'alimentation animale."

Le 4 décembre 2013, le panel OGM de l'EFSA a rendu un avis favorable sur l'utilisation du soja 305423 et de ses produits dérivés pour l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale, en recommandant la mise en place d'un suivi post-mise sur le marché visant à recueillir des données de consommation de la population européenne pour les aliments pour animaux et les denrées alimentaires mis sur le marché.

3.3 Analyse des éléments fournis par le pétitionnaire

Compte tenu du nombre très important de données complémentaires fournies par le pétitionnaire depuis l'évaluation du dossier initial par l'Afssa en 2007, l'Anses a choisi, en accord avec le GT « Biotechnologie », de produire un nouvel avis complet. Les sections, telles que définies dans le formulaire de commentaires de l'EFSA, sont reprises ci-dessous.

A. Identification et caractérisation du danger

A.1 Information relative aux plantes parentales

La transformation génétique a été réalisée sur le cultivar conventionnel Jack.

A.2 Caractérisation moléculaire

A.2.1 Information relative à la modification génétique

A.2.1.1 Description des méthodes utilisées pour créer la modification génétique

Des embryons somatiques secondaires dérivés d'explants de graines immatures ont été transformés par bombardement avec des micro-billes d'or enrobées avec les fragments d'ADN linéaires des constructions à intégrer dans la plante. Deux populations de fragments d'ADN ont été utilisées : PHP19340A (2924 pb), qui porte le fragment du gène *gm-fad2-1* et PHP17752A (4512 pb), qui porte le gène *gm-hra*.

La plante initiale transformée (T₀) a été autofécondée afin d'obtenir une lignée homozygote (T₁) stable. Ensuite, différentes générations d'autofécondation (T₂ à T₅) ont été produites, ainsi qu'une F₁, une F₂ et une F₃ issues du croisement de la T₃ avec une lignée élite et des générations BC₁F₁

à BC₁F₆ issues du backcross de la F₁ avec la lignée élite suivi d'autofécondations. La tolérance aux herbicides a été utilisée pour la sélection des explants transformés.

A.2.1.2 Source et caractérisation des acides nucléiques utilisés pour la transformation

Les deux fragments d'ADN utilisés pour la transformation du soja 305423 sont d'origine endogène (soja). Il s'agit :

- d'un fragment du gène *gm-fad2-1* (qui permet une augmentation de la teneur en acide oléique des graines par un mécanisme de co-suppression du gène *fad2-1* endogène) placé sous le contrôle des séquences promotrice et de terminaison du gène de la « Kunitz trypsin inhibitor 3 » (KTI3) de soja,
- la partie codante du gène *gm-hra* (qui code une acétolactate synthase de soja (GM-HRA) tolérante aux herbicides inhibiteurs de l'ALS) placée en 5' sous le contrôle de plusieurs séquences régulatrices (promoteur, séquence de la région 5' transcrite non traduite, séquence intronique et séquence de la région 5' transcrite non traduite) du gène de soja codant la S-adénosyl-L-méthionine synthétase (SAMS) et sous le contrôle de la séquence de terminaison du gène *als* de soja en 3'.

A.2.1.3 Nature et source du vecteur utilisé incluant les séquences nucléiques destinées à être insérées

Aucun plasmide n'a été utilisé pour la transformation. Les fragments linéaires des ADN à transférer dans la plante sont issus de la digestion des plasmides ayant servi à leur clonage suivie d'une purification après migration sur gel d'électrophorèse. Bien que les plasmides utilisés pour le clonage n'aient pas été utilisés pour la transformation des plantes, des séquences issues de ces plasmides sont présentes dans le génome du soja 305423.

A.2.2 Information relative à la plante GM

A.2.2.1 Description générale du ou des caractère(s) et des caractéristiques introduits ou modifiés

Le soja 305423 a été génétiquement modifié afin d'introduire dans son génome un fragment du gène *gm-fad2-1* et le gène *gm-hra*, ce qui conduit à l'augmentation de la teneur en acide oléique (C18:1) des graines au détriment de l'acide linoléique (C18:2) et confère à la plante la tolérance aux herbicides inhibiteurs de l'ALS.

A.2.2.2 Information sur les séquences effectivement insérées/supprimées ou altérées

Les analyses moléculaires de type Southern blot ont été réalisées avec des plantes des générations T₄, T₅ et F₂. Les résultats montrent que :

- le profil d'insertion comprend plusieurs copies intactes et tronquées du fragment PHP19340A et une seule copie du fragment PHP17752A,
- ces copies sont réparties dans 4 insertions bien caractérisées et dont la structure a été confirmée par séquençage,
- l'insertion 1 (12928 pb), qui permet à elle seule l'expression des traits agronomiques recherchés, comprend un fragment PHP19340A tronqué (contenant un terminateur KTI3 tronqué, le fragment de *gm-fad2-1* intact et un promoteur KTI3 intact), un fragment PHP19340A intact, un fragment PHP17752A intact, un fragment PHP19340A tronqué (contenant un promoteur KTI3 intact et le fragment de *gm-fad2-1* tronqué), un fragment PHP19340A tronqué (contenant un promoteur KTI3 tronqué et le fragment de *gm-fad2-1* tronqué),
- un fragment de 495 pb du plasmide ayant servi au clonage du fragment PHP19340A est présent dans le génome du soja 305423, mais il ne contient pas de séquence fonctionnelle,
- la bande surnuméraire observée sur une analyse de type Southern blot présentée dans le dossier initial s'explique par une digestion partielle de l'ADN lors de cette analyse.

Par ailleurs, les fragments de jonction entre l'ADN-T et l'ADN génomique de la plante, en 5' et 3' de chacune des 4 insertions, ont été séquencés. La comparaison de ces séquences avec les

séquences répertoriées dans les bases de données publiques et privées montre qu'il s'agit bien de séquences génomiques de soja. La modification génétique ne semble pas avoir interrompu un gène endogène et les analyses bioinformatiques ne mettent pas en évidence d'ORF putative présentant des homologies avec des toxines, des allergènes ou des anti-nutriments connus.

A.2.2.3 Information sur l'expression des séquences modifiées ou insérées

Le niveau d'expression des gènes *fad2-1*, *fad2-2* et *fad3* (qui codent chacun une oméga-6 désaturase) et de l'acétolactate synthase endogène (ALS) a été comparé entre le soja 305423 et son témoin, le cultivar Jack, par des analyses de type northern blot réalisées avec des plantes de la génération T₄. Les mesures ont été réalisées dans les feuilles et dans les graines. Les résultats montrent que :

- dans les feuilles, le gène *fad2-1* ne s'exprime pas et le niveau d'expression observé pour *fad2-2* et *fad3* est comparable entre le soja 305423 et son témoin,
- dans les graines du soja 305423, le niveau d'expression du gène *fad2-1* est fortement diminué, celui du gène *fad2-2* est légèrement réduit (ce qui s'explique probablement par une homologie de séquence de 71 % entre les deux gènes) et celui du gène *fad3* n'est pas affecté,
- le niveau d'expression de l'ALS est identique dans les feuilles alors qu'il est plus élevé dans les graines du soja 305423 par comparaison avec son témoin.

Les teneurs en protéine GM-HRA ont été mesurées par la méthode ELISA dans différents organes à des stades clés du développement. Les échantillons de soja 305423 et de soja témoin, traités par des herbicides inhibiteurs de l'ALS ou non traités, ont été prélevés sur des plantes cultivées sur 6 sites aux Etats-Unis et au Canada en 2005 et sur 6 sites au Chili et en Argentine en 2005-2006. Les résultats montrent que :

- l'expression de cette protéine est ubiquitaire,
- les teneurs les plus élevées (5,7 µg/g poids sec) sont mesurées dans les feuilles et la plante entière au stade formation des gousses,
- le niveau d'expression de cette protéine est très faible dans les racines,
- les teneurs dans les graines sont comparables d'un site de culture à l'autre (de l'ordre de 2,5 µg/g poids sec) et que le traitement herbicide n'a pas d'influence sur le résultat.

Les résultats d'une analyse de type northern blot, réalisée avec des plantes de la génération T₄, montrent que le niveau d'expression du gène KTi3 est diminué dans le soja 305423 par rapport à son témoin (le mécanisme mis en cause est une co-suppression due à la présence du promoteur KTi3 dans les insertions). La teneur en protéine inhibitrice de la trypsine (« Kunitz trypsin inhibitor 3 ») est réduite de 40 % dans les graines du soja 305423 par rapport au témoin, tout en restant dans la gamme des valeurs habituelles pour le soja.

Le pétitionnaire indique également que les plantes de soja 305423 ne présentent pas de symptômes associés à un déficit de SAMS, ce qui suggère que le niveau d'expression du gène endogène codant cette protéine n'est pas affecté par la présence de séquences régulatrices de ce gène dans les insertions. Par ailleurs, une analyse bioinformatique du petit ARN exprimé dans le soja 305423 a été réalisée et aucune homologie exacte de 21 nucléotides (condition nécessaire à un phénomène de silencing par petit ARN) n'est observée avec des bases de données animales. Une analyse incluant des séquences nucléotidiques relatives aux micro-organismes de la flore des animaux aurait été utile.

A.2.2.4 Stabilité génétique de la séquence insérée ou modifiée et stabilité phénotypique de la plante GM

Le nombre de copies et l'intégrité des fragments PHP19340A et PHP17752A présents dans le soja 305423 ont été vérifiés par Southern blot sur des plantes des générations T₄ et T₅. La stabilité phénotypique a également été vérifiée sur 100 plantes hémizygotés de la génération F₂ par mesure de la teneur en acide oléique. Les résultats montrent que le soja 305423 porte l'insertion 1

en un seul locus et que le caractère "riche en acide oléique" est transmis selon les lois d'une ségrégation mendélienne. Au cours de ces analyses, un évènement de recombinaison entre deux promoteurs KTi3, conduisant à la suppression de la cassette *gm-hra*, a été observé pour une plante F₂ sur 76. La fréquence de cette recombinaison est très faible, puisque le même évènement a été recherché sans succès par PCR sur 1000 plantes F₂.

A.2.3 Conclusions

Les éléments fournis par le pétitionnaire pour compléter la caractérisation moléculaire du soja 305423 ne permettent pas de lever toutes les réserves exprimées dans l'avis du 21 janvier 2008 (saisine 2007-SA-0363), notamment celles qui concernent la présence des 3 insertions inutiles à l'expression des 2 caractères recherchés. Toutefois, les informations moléculaires présentées dans le dossier ne soulèvent pas de problème particulier lié à la consommation des produits dérivés de ce soja.

A.3 Evaluation comparative

A.3.1 Critères de sélection des comparateurs

Dans les essais réalisés en Amérique du Nord en 2005 et en Amérique du Sud en 2005-2006, le soja 305423 a été comparé avec un ségrégeant négatif obtenu après 3 cycles d'autofécondation et 4 variétés commerciales. Dans les essais de 2011, réalisés aux Etats-Unis, le soja 305423 a été comparé avec le cultivar témoin Jack et 10 variétés commerciales.

A.3.2 Expérimentation au champ : dispositif expérimental et analyse statistique

A.3.2.1 Dispositif expérimental

Les deux premières séries d'analyses de composition chimique et de caractérisation agronomique et phénotypique ont été effectuées à partir de plantes cultivées au champ sur 6 sites en Amérique du Nord en 2005 et sur 6 sites en Amérique du Sud en 2005-2006 (3 répétitions par site pour chaque essai). Dans les 2 séries, les analyses des échantillons de graines ou de plantes entières de soja 305423, traité ou non par un mélange chlorimuron et thifensulfuron⁴, ont été comparées à celles d'échantillons issus du ségrégeant négatif.

Une nouvelle analyse de composition chimique et des caractéristiques agronomiques et phénotypiques a été réalisée à partir de plantes cultivées aux Etats-Unis en 2011. Le soja 305423 et le cultivar témoin Jack ont été cultivés sur 10 sites, de même que les 10 variétés commerciales (3 variétés par site). Le soja génétiquement modifié a été cultivé avec et sans traitement par un mélange chlorimuron et thifensulfuron. Chaque modalité (variété témoin, variétés commerciales et variété génétiquement modifiée traitée et non traitée) a été répétée quatre fois sur chaque site selon un plan d'expérience en blocs randomisés. Les caractéristiques de ce plan d'expérience respectent les recommandations de l'EFSA (2011).

A.3.2.2 Analyse statistique

Pour les essais réalisés en 2005 et 2006, le soja 305423 (traité ou non) et son témoin (ségrégeant négatif) ont été comparés via des tests *t*. Le pétitionnaire a également analysé les données après correction statistique par la méthode FDR (False Discovery Rate).

Pour les analyses réalisées en 2011, les caractéristiques phénotypiques, agronomiques et de composition ont été comparées à l'aide d'analyses de variance. Le soja 305423 a été comparé au cultivar témoin Jack par des tests de différence et aux variétés commerciales par des tests d'équivalence. Une ANOVA a été réalisée avec un modèle linéaire mixte incluant :

- un effet fixe "génotype" (indiquant s'il s'agit du soja 305423 traité ou non traité, de la variété témoin ou des variétés commerciales),

⁴ Le chlorimuron et le thifensulfuron sont des herbicides de la famille des sulfonilurés.

- des effets aléatoires : "site", "bloc dans le site", "variété commerciale" et "interaction génotype/site".

L'erreur de type 1 retenue par le pétitionnaire est de 10 %.

Les tests d'équivalence consistent à comparer la composition du soja 305423 aux plages de valeurs obtenues sur les variétés commerciales incluses dans l'expérimentation. Dans certains cas, en raison du manque de variabilité entre les variétés commerciales, le pétitionnaire n'a pas pu conclure.

Le modèle statistique utilisé, qui inclut un effet fixe "génotype" et un effet aléatoire "variété commerciale", correspond à celui proposé par l'EFSA (2011).

A.3.3 Analyse de composition

Pour les deux premières séries d'analyses, la comparaison a porté sur 7 paramètres de la composition fourragère et du grain et sur un ensemble de paramètres de la graine, dont 25 acides gras, 18 acides aminés, 9 minéraux, 4 ou 7 vitamines, 12 isoflavones, 3 oligosaccharides et 4 métabolites secondaires et facteurs antinutritionnels potentiels. Les résultats montrent que la composition fourragère est très similaire entre le soja 305423, non traité et traité avec les herbicides, et le témoin. Par contre, dans les graines, outre l'augmentation attendue (conséquence de la transformation génétique) de la teneur en acide oléique (C18:1) au détriment de l'acide linoléique (C18:2) et de l'acide linoléique (C18:3), on observe une augmentation non expliquée par la modification génétique des teneurs d'acide heptadécanoïque (C17:0) et d'acide heptadécénoïque (C17:1), qui sont multipliées par 8 et 43 respectivement dans la graine de soja 305423, traité ou non traité par les herbicides, par rapport au soja témoin.

L'analyse de composition réalisée en 2011 sur le fourrage et la graine crue est conforme aux recommandations de l'OCDE (2002). Elle a porté sur 7 paramètres pour le fourrage et 92 paramètres pour la graine, dont 31 acides gras, 18 acides aminés, 9 minéraux, 11 vitamines, 9 isoflavones, 3 oligosaccharides et 4 métabolites secondaires et facteurs antinutritionnels potentiels. Le soja 305423, traité ou non traité par les herbicides, est à la fois différent du témoin et non équivalent aux variétés commerciales sur les paramètres suivants :

- fibre brute et NDF pour le fourrage,

- acide arachidique (C20:0), acide béhénique (C22:0), acide eicosénoïque (C20:1), glycitine (isoflavone), acide heptadécanoïque (C17:0), acide heptadécénoïque (C17:1), isomère 2 de l'acide nonadécénoïque (C19:1), acide lignocérique (C24:0), acide linoléique (C18:2), acide linoléique (C18:3), acide myristique (C14:0), acide oléique (C18:1), acide palmitique (C16:0), équivalent de la glycitine totale (comprenant à la fois la glycitine et la glycitine exprimées en équivalents aglycones) et inhibiteur trypsique pour la graine.

Il n'a pas été possible de conclure (en raison du manque de variabilité entre les variétés commerciales) pour 3 paramètres dans la graine (fibre brute et teneurs en calcium et en γ -tocophérol).

De même que lors des études précédentes, outre l'augmentation attendue de la teneur en acide oléique (C18:1) au détriment de l'acide linoléique (C18:2) et de l'acide linoléique (C18:3), une augmentation non expliquée par la modification génétique est observée pour les teneurs en acide heptadécanoïque (C17:0) et en acide heptadécénoïque (C17:1), qui sont multipliées par 9 et 21 respectivement dans la graine de soja 305423, traité ou non traité par les herbicides, par rapport au soja témoin. Les teneurs mesurées pour 10 autres paramètres sont à la fois différentes de celles du témoin et non équivalentes à celles des variétés commerciales.

A.3.4 Caractéristiques agronomiques et phénotypiques

L'analyse des caractères agronomiques et phénotypiques réalisée en 2005 et 2006 montre qu'il n'y a pas de différences entre les plantes de soja génétiquement modifié 305423 et les plantes témoin. Dans les essais réalisés en 2011, le soja 305423 apparaît équivalent aux variétés

commerciales pour les 10 paramètres mesurés, à l'exception de la verse et de l'égrainage prématuré.

A.3.5 Effets de la transformation de la plante en sous-produits

Aucune analyse n'a été réalisée sur les sous-produits, notamment l'huile.

A.3.6 Conclusion

Le pétitionnaire fournit trois études de composition. L'étude réalisée en 2011, qui est conforme aux recommandations de l'OCDE (2002) et de l'EFSA (2011), ne permet pas de conclure à une équivalence en substance entre le soja 305423 et les variétés conventionnelles de soja. De plus, aucune analyse n'a été réalisée sur les produits dérivés de ce soja, notamment l'huile.

A.4 Evaluation toxicologique

A.4.2 Evaluation des protéines nouvellement produites

Le fragment du gène *gm-fad2-1* introduit dans le soja 305423 ne codant pas une nouvelle protéine, l'évaluation toxicologique n'a porté que sur la protéine GM-HRA. Cette protéine diffère de l'ALS par deux acides aminés. Elle ne présente pas d'homologies de séquence avec des protéines connues pour leurs propriétés toxiques ou allergéniques chez l'homme.

Une étude de toxicité aiguë par voie orale (administration unique) a été réalisée sur des souris mâles et femelles avec la protéine GM-HRA synthétisée par *E. coli*. En effet, les quantités de GM-HRA présentes dans la plante étant très faibles et insuffisantes pour réaliser les essais de toxicité, la protéine GM-HRA a été produite en grande quantité après clonage dans *E. coli*. L'équivalence fonctionnelle et biochimique entre cette protéine et celle extraite du soja 305423 a été vérifiée à l'aide de plusieurs méthodes analytiques (vérification du poids moléculaire, des séquences d'acides aminés N-terminales et de peptides internes et vérification de l'absence de glycosylation). Aucun effet toxique n'a été observé à la dose maximale testée (582 mg/kg).

A.4.3 Evaluation des nouveaux constituants

L'analyse de composition du soja 305423 n'a pas mis en évidence de nouveaux constituants.

A.4.4 Evaluation des constituants des denrées alimentaires et aliments pour animaux dont les niveaux sont altérés

L'huile provenant du soja 305423 présente une teneur élevée en acide oléique, mais les niveaux atteints sont comparables à ceux des huiles d'arachide, d'olive et de tournesol oléique obtenus par sélection végétale classique. Toutefois, la composition de la graine de ce soja n'est pas équivalente à celle des variétés de soja conventionnelles sur de nombreux autres paramètres. Il aurait donc été souhaitable de réaliser une évaluation de la fraction lipidique de ce soja.

A.4.5 Evaluation de l'aliment dérivé de plante GM (denrées alimentaires et/ou aliments pour animaux)

Le pétitionnaire fait référence à deux études de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat. La première porte sur le soja génétiquement modifié 305423, mais les plantes n'ont pas été traitées avec l'un des herbicides auxquelles elles sont tolérantes. La seconde porte sur le soja génétiquement modifié 356043 et non sur le soja 305423.

A.4.6 Conclusion

Les deux études de toxicité sub-chronique de 90 jours présentées dans le dossier ne permettent pas de conclure sur les éventuels effets toxiques par prise répétée de l'huile destinée à l'alimentation humaine et du tourteau de soja destiné à l'alimentation animale.

A.5 Evaluation de l'allergénicité

A.5.1 Evaluation de l'allergénicité des protéines nouvellement produites

Le potentiel allergénique de la protéine GM-HRA a été évalué à l'aide des critères d'évaluation de l'allergénicité recommandés par l'EFSA :

- 1) absence d'allergénicité connue de la source de la protéine GM-HRA : le soja est reconnu comme un allergène alimentaire important, responsable d'allergies alimentaires parfois sévères, dont l'étiquetage est obligatoire. Toutefois, l'acétolactate synthétase (HRA), présente dans de nombreuses bactéries, algues, champignons et plantes, n'a jamais été identifiée comme allergène.
- 2) absence d'homologies de séquence entre GM-HRA et les allergènes avérés d'une banque de séquences lorsque la recherche est réalisée avec l'algorithme FASTA et des fenêtres glissantes de 80 et 8 résidus.
- 3) très faible résistance à la protéolyse digestive de la protéine.
- 4) faible teneur en protéine GM-HRA des graines du soja 305423.

Le pétitionnaire ne donne pas d'indication sur la résistance de GM-HRA à la trypsine. Il présente par contre des résultats qui démontrent que l'activité de la protéine GM-HRA est thermosensible.

L'ensemble des résultats présentés dans le dossier suggère que le potentiel allergénique de la protéine GM-HRA exprimée dans le soja 305423 est négligeable.

A.5.2 Evaluation de l'allergénicité de l'aliment dérivé de plante GM

Le soja est inscrit dans les allergènes à étiquetage obligatoire (directive de l'EFSA). Les allergies alimentaires au soja et produits dérivés (« lait de soja » principalement) sont assez fréquentes et parfois graves. Ainsi, en 2009-2010, le Réseau français d'Allergo-Vigilance (RAV) a recensé 9 cas d'allergie sévère au lait de soja, nécessitant un traitement d'urgence. Des réactions allergiques à des produits alimentaires renfermant du soja ont également été rapportées. De nombreux allergènes ont été identifiés dans les graines de soja et certains d'entre eux sont des allergènes majeurs (allergènes dont les IgE correspondantes sont présentes chez plus de la moitié des patients allergiques au soja).

Dans ce cas de figure, où la plante (soja) est elle-même un allergène reconnu, l'EFSA recommande au pétitionnaire de procéder à une analyse de l'allergénicité, à l'aide de sérums de patients allergiques, de la plante génétiquement modifiée et de son comparateur. Ce type d'expérience a été réalisé par le pétitionnaire. Les résultats montrent que l'introduction du gène codant l'enzyme GM-HRA dans le soja 305423 ne modifie pas sensiblement l'allergénicité de ses graines par rapport à l'allergénicité naturelle des graines de soja.

A.5.3 Propriétés adjuvantes

Le pétitionnaire ne fournit aucun renseignement sur le caractère adjuvant de la protéine GM-HRA. Toutefois, il mentionne des analyses bioinformatiques qui ne mettent pas en évidence d'homologies de séquence entre la protéine GM-HRA et des protéines à caractère toxique. D'autre part, le caractère adjuvant de la protéine GM-HRA n'a jamais été rapporté. Enfin, la faible teneur en protéine GM-HRA du soja 305423 (de l'ordre de 2 ng/g de matière sèche), la sensibilité de cette protéine aux protéases digestives et sa thermosensibilité (perte d'activité) vis à vis des procédés de traitement des produits à base de soja, sont *a priori* incompatibles avec un éventuel effet adjuvant significatif dans le cadre d'un apport alimentaire modéré en soja génétiquement modifié. L'huile de soja, qui ne contient pratiquement aucune trace de protéines, ne constitue pas une source d'exposition à la protéine GM-HRA.

A.5.4 Conclusion

Sur la base des données et des commentaires fournis par le pétitionnaire, le potentiel allergénique de la protéine GM-HRA exprimée dans le soja 305423 paraît extrêmement faible. L'expression de la protéine GM-HRA ne modifie apparemment pas l'allergénicité naturelle des graines de soja. La

protéine GM-HRA ne partage aucune homologie de séquence avec des protéines à propriétés adjuvantes (toxines) et des propriétés adjuvantes n'ont jamais été rapportées pour cette protéine. Enfin, l'huile de soja, préparée à chaud, blanchie et désodorisée, ne renferme pratiquement aucune trace de protéines.

A.6 Evaluation nutritionnelle

A.6.2 Evaluation nutritionnelle des aliments pour animaux dérivés de PGM

Une étude d'alimentarité a été réalisée chez le poulet (600 animaux, 5 mâles et 5 femelles, 12 répétitions par traitement, 5 traitements) nourris pendant 42 jours avec trois régimes (un régime de "démarrage" contenant 26,5 % de tourteau de soja, un régime de "croissance" contenant 23 % de tourteau de soja et un régime de " finition" contenant 21,5 % de tourteau de soja, les 3 régimes contenant également 1 % de coque de soja et 0,5 % d'huile de soja). Les animaux nourris à base de soja 305423, traité ou non traité, ont été comparés aux animaux nourris avec le soja témoin et avec 3 variétés commerciales de soja. Des analyses de la composition chimique des tourteaux, des coques de soja, des trois rations successives et des acides gras de l'huile ont été effectuées à partir du soja 305423, du soja témoin et des variétés commerciales. Les teneurs en mycotoxines (n = 9) ont été vérifiées dans les rations. Les observations ont porté sur 5 paramètres zootechniques, sur des données de rendement de la carcasse et de 12 morceaux de découpe et sur le poids des organes. Le taux de mortalité enregistré (0,83) au cours de l'expérimentation est sans relation avec le traitement. Les résultats montrent qu'aucune différence due aux traitements n'est observée entre les animaux nourris avec le soja 305423 non traité et le soja témoin ou les variétés commerciales.

Les matières grasses de ce régime proviennent essentiellement du maïs (représentant entre 62 et 71 % de la ration) et non de l'huile de soja 305423 (dont le taux d'introduction dans les aliments de poulets a été limité à 0,5 %). Il est de ce fait impossible de conclure sur un effet quelconque de la modification de la composition de l'huile et sur son équivalence nutritionnelle avec son témoin. Le pétitionnaire ne donne aucune explication relative aux niveaux faibles d'incorporation d'huile dans les aliments. Il argumente sur le fait que les performances de croissance et les rendements obtenus avec les aliments renfermant les fractions de soja 305423 sont similaires à celles obtenues avec les sojas conventionnels et dans la gamme des résultats obtenus dans 6 essais réalisés entre 2003 et 2007 sur le même site expérimental avec les mêmes animaux. Il présente deux autres essais, l'un sur poule pondeuse, l'autre sur porcs en croissance, qui montrent l'équivalence du tourteau issu du soja 305423 chez deux autres catégories d'animaux de rente.

A.6.3 Conclusions de l'évaluation nutritionnelle

En conclusion, les essais présentés ne permettent pas de conclure sur l'équivalence nutritionnelle de tous les éléments de la graine du soja 305423. Cette équivalence est démontrée pour le tourteau mais pas pour les pellicules ni pour l'huile.

B. Evaluation de l'exposition – consommation prévue/extension d'emploi

Pour les composés dont les teneurs dans la graine sont à la fois différentes et non équivalentes entre le soja 305423 et les variétés de soja conventionnelles, aucune analyse des teneurs et consommations de ces composés dans les produits dérivés du soja (particulièrement les huiles) n'est présentée pour l'étude de 2011, alors que ces données étaient disponibles pour les essais réalisés en 2005 et 2006. Le pétitionnaire a réalisé une analyse basée sur les connaissances des teneurs en ces composés présents à des concentrations similaires dans l'alimentation humaine. D'après cette étude, la modification du profil en acides gras des graines du soja 305423 ne semble pas poser de problème en termes de sécurité alimentaire. De plus, le niveau de consommation d'huile de soja est faible en Europe et très inférieur à la consommation aux USA. Ainsi, la consommation d'huile de soja 356043 aurait très peu d'impact sur le niveau et le type d'acides

gras consommés. Cependant, aucune information n'est rapportée sur l'impact de telles modifications sur la santé des consommateurs.

Conclusions du Groupe de travail « Biotechnologie »

Bien que les éléments fournis par le pétitionnaire pour compléter la caractérisation génomique du soja 305423 ne permettent pas de lever toutes les réserves exprimées dans l'avis du 21 janvier 2008 (saisine 2007-SA-0363), l'ensemble des données moléculaires présentées ne soulèvent pas de problème particulier lié à la consommation des produits dérivés de ce soja.

Sur la base des données et des commentaires fournis par le pétitionnaire, le potentiel allergénique de la protéine GM-HRA exprimée dans le soja 305423 paraît extrêmement faible. L'huile, préparée à chaud, blanchie et désodorisée, ne renferme pratiquement aucune trace de protéines.

Le pétitionnaire fournit trois études de composition. L'étude réalisée en 2011, qui est conforme aux recommandations de l'OCDE (2002) et de l'EFSA (2011), ne permet pas de conclure à une équivalence en substance entre le soja 305423 et les variétés conventionnelles de soja. De plus, aucune analyse n'a été réalisée sur les produits dérivés de ce soja, notamment l'huile.

Les deux études de toxicité sub-chronique de 90 jours présentées dans le dossier ne permettent pas de conclure sur les éventuels effets toxiques par prise répétée de l'huile destinée à l'alimentation humaine et du tourteau de soja destiné à l'alimentation animale.

Par conséquent, le GT « Biotechnologie » ne peut statuer sur les risques liés à l'utilisation de cet OGM dans l'alimentation humaine et animale.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail adopte les conclusions du Groupe de travail « Biotechnologie ». Sur la base du dossier initial disponible dans les délais prévus, l'Agence émet un avis défavorable à la demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du règlement (CE) n°1829/2003, du soja génétiquement modifié MON87769 x MON89788.

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

OGM, Soja 305423, riche en acide oléique, tolérance aux herbicides inhibant l'ALS