

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 18 janvier 2013

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

relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du règlement CE n° 1829/2003 du soja génétiquement modifié MON87705 X MON89788 développé afin de comporter un profil en acides gras modifié et de présenter une tolérance au glyphosate, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM.

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'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a été saisie le 30 octobre 2012 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis concernant l'autorisation de mise sur le marché au titre du règlement CE n° 1829/2003, du soja génétiquement modifié MON 87705 X MON 89788, développé afin de comporter un profil en acides gras modifié et de présenter une tolérance au glyphosate, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (**dossier n°EFSA-NL-2011-100**).

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 le dossier initial. C'est dans ce cadre que la DGCCRF a sollicité l'avis de l'Anses.

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 20 décembre 2012. L'évaluation du dossier se base sur les lignes directrices de l'EFSA¹ et sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts du GT Biotechnologie.

3. ANALYSE DU GT

Information générale

Le dossier correspond à une première demande d'autorisation de mise sur le marché pour l'alimentation humaine et animale du soja génétiquement modifié MON87705xMON89788 et de ses produits dérivés; elle ne concerne pas sa mise en culture.

Le soja MON87705xMON89788 est obtenu par croisement conventionnel entre les sojas génétiquement modifiés MON87705 et les sojas génétiquement modifiés MON89788. Ces deux sojas ont fait l'objet, respectivement, d'une évaluation par l'Anses en 2010 (saisine 2010-SA-0211) et par l'Afssa en 2007 (saisine 2007-SA-0187). Les deux avis initiaux étaient défavorables en l'absence de compléments d'informations.

Le soja MON89788 a fait l'objet d'une deuxième évaluation par l'Afssa dans le cadre d'une demande de mise sur le marché du soja empilé MON87701xMON89788 (avis du 3 mars 2010, saisine 2009-SA-0307). Le soja MON89788 est autorisé pour l'importation et la transformation pour une utilisation en alimentation humaine et animale depuis le 4 décembre 2008 (JOCE L333/7 du 11/12/2008).

Le soja MON87705 a été évalué par l'EFSA et un avis favorable a été publié très récemment².

Le soja est une légumineuse peu envahissante, difficile à désherber par binage. La présence de graminées et de certaines plantes à graines toxiques (*Datura ferox*) gêne le développement du soja et entraîne la contamination des graines de soja à la récolte.

La graine de soja renferme environ 40 % de protéines et 20 % d'huile en pourcentage de la matière sèche, elle renferme des facteurs anti-nutritionnels la rendant impropre à la consommation sans traitement technologique adapté. L'huile est employée principalement dans des produits comestibles comme la margarine et l'huile de cuisson. Le tourteau qui est le résidu de l'extraction de l'huile sert d'aliment riche en protéines pour le bétail. Il peut aussi subir un raffinage plus poussé qui donne divers extraits de protéines destinés à la consommation humaine. Des lécithines sont extraites et utilisées comme émulsifiants dans les produits alimentaires.

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 à l'organisme récepteur ou (le cas échéant) la plante parentale.

¹Guidance 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.

² Scientific Opinion on application (EFSAGMO-NL-2010-78) for the placing on the market of herbicide tolerant genetically modified soybean MON 87705 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. EFSA Journal (2012) 10(10):2909. www.efsa.europa.eu/efsajournal

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

Ces informations sont indiquées dans les avis 2007-SA-0187 et 2010-SA-0211, relatifs à l'évaluation des événements parentaux.

En résumé, les deux événements MON87705 et MON89788 ont été obtenus par transformation de méristèmes des cultivars A3525 (MON87705) et A3244 (MON89788) à l'aide d'une souche d'*Agrobacterium tumefaciens*.

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

Cf avis 2007-SA-0187 et 2010-SA-0211

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

Cf avis 2007-SA-0187 et 2010-SA-0211

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 **MON87705** est porteur du gène CP4-*epsps* codant la 5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase et de deux gènes codant des ARN interférents (ARNi) ciblant deux enzymes, l'une impliquée dans la synthèse d'acide linoléique bisaturé (enzyme FAD2) et l'autre dans l'accumulation d'acides gras saturés (enzyme FATB). Cette modification conduit à une réduction de la proportion d'acides gras saturés (acide palmitique et stéarique) et polyinsaturés (acide linoléique, essentiellement) et a pour objectif d'obtenir une huile de soja riche en acides gras monoinsaturés (acide oléique) plus stable à la chaleur que celle contenant des acides gras polyinsaturés. Cette nouvelle composition permet d'éviter des traitements technologiques, comme l'hydrogénation, qui conduisent à la formation d'acides gras trans considérés comme néfastes pour la santé. Elle améliore la qualité nutritionnelle de l'huile de soja en réduisant la teneur en acides gras saturés. Le soja MON87705 exprimant également la protéine CP4-EPSPS (5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase) est tolérant au glyphosate. Les protéines EPSPS exprimées dans les plantes et les bactéries sont inhibées par le glyphosate. Cette inhibition entraîne l'arrêt de la synthèse des acides aminés aromatiques et conduit à la mort de la plante ou de la bactérie.

Le soja **MON89788** a été génétiquement modifié, pour introduire dans son génome, le gène CP4-*epsps* et exprime donc aussi la protéine tolérante au glyphosate.

Le soja MON87705 x MON89788, objet de la demande, résulte du croisement conventionnel du soja MON87705 et du soja MON89788 suivi d'une série de huit autofécondations. Le soja MON87705xMON89788 possède les caractères phénotypiques des deux événements de transformations (composition modifiée en acides gras dans la graine et tolérance au glyphosate).

Dans la mesure où le soja MON89788 apporte uniquement la cassette d'expression CP4EPSPS déjà présente dans le soja MON87705, l'intérêt du croisement aurait dû être précisé.

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

L'ADN-T (7300 pb) inséré dans le soja MON 87705 contient deux ADN-T juxtaposés et insérés en un seul locus dans le génome du soja constituant deux cassettes d'expression :

- la cassette d'expression de la protéine **CP4 EPSPS** sous le promoteur chimérique constitutif composée de l'enhancer du promoteur du gène de l'ARN 35S du virus

de la mosaïque scrofulaire et du promoteur du gène *Tsf1* d'*Arabidopsis thaliana* codant le facteur d'élongation EF-1 alpha. La séquence codante optimisée pour une expression dans les végétaux provient du gène *aroA* d'*Agrobacterium sp* (souche CP4) et est précédée de la séquence signal issue du gène *ShkG* d'*Arabidopsis thaliana* permettant l'adressage de l'enzyme vers les chloroplastes.

- la cassette d'expression des **ARNi** ciblant les gènes *fad2-1A* et *fatB1-A* sous le contrôle de la région promotrice et du leader du gène *Sphas1* de Soja (*Glycine max*) codant la beta-conglycin permettant la transcription dans les graines, la séquence issue de l'intron 1 du gène *fad2-1A* de Soja (*Glycine max*) codant la désaturase delta-12 et constituant le **segment sens** du premier ARN interférent ; la séquence issue de la région 5' non codante et du signal d'adressage au chloroplaste du gène *fatB1-A* de Soja (*Glycine max*) codant l'ACP (« palmitoyl acyl carrier protein ») thioestérase et constituant le **segment sens** du second ARNi ; la séquence issue de l'intron 1 du gène *fad2-1A* de Soja (*Glycine max*) codant la désaturase delta-12 et constituant le **segment anti-sens** du premier ARNi ; la séquence issue de la région 5' non codante et du signal d'adressage au chloroplaste du gène *fatB1-A* de Soja (*Glycine max*) codant l'ACP (« palmitoyl acyl carrier protein ») thioestérase et constituant le **segment anti-sens** du second ARNi ; la région 3' non traduite du gène *H6* de *Gossypium barbadense* codant une protéine de fibre ;

L'ADN-T (4300 pb) inséré dans le soja MON89788 contient la même cassette d'expression de la protéine CP4-EPSPS que celle du soja MON87705 (promoteur, séquence signal d'adressage dans les chloroplastes, séquence codante de CP4 *epsps*, séquence de terminaison).

Etant donnée la méthode d'obtention des lignées comportant les deux événements de transformation, aucune modification des inserts au niveau moléculaire n'est attendue. Des analyses par *Southern* blot ont été réalisées sur les sojas MON87705 x MON89788 et sur les sojas parentaux MON87705 et MON89788. Les résultats (nombre et taille des fragments) montrent que les deux événements de transformation au sein de la lignée MON87705xMON89788 n'ont subi aucun remaniement majeur.

L'analyse bioinformatique des données de séquences des sojas parentaux correspondant aux régions flanquant les inserts et aux sites d'insertion a été refaite en comparant ces séquences aux bases de données réactualisées en 2011. Ces analyses ont pour but de tester l'homologie des ORF potentielles identifiées aux niveaux des jonctions avec des peptides ou protéines toxiques ou allergènes, répertoriées dans les bases de données. Elles permettent aussi de préciser la nature des séquences aux alentours du site d'insertion. Ces nouvelles analyses bioinformatiques ne montrent pas de telles homologies, ni qu'un gène ait été interrompu par l'insertion. Il aurait été préférable de déterminer la séquence des inserts et de leurs régions en bordure dans le soja MON87705xMON89788 et d'en réaliser l'analyse bioinformatique.

Étant donnée la nature de la modification génétique liée à l'utilisation d'extinction post-transcriptionnel de gènes, il aurait été souhaitable de réaliser *in silico* une recherche d'homologie entre les fragments des gènes *FATB* et *FAD2* transcrits et l'ensemble du génome de soja afin de prédire d'éventuels effets non cibles de ces ARNi, susceptibles de perturber l'expression d'autres gènes.

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

La concentration de la protéine CP4-EPSPS a été mesurée par la méthode ELISA dans la plante entière et dans la graine. Les échantillons proviennent des sojas parentaux MON87705, MON89788 et empilés MON87705 x MON89788 cultivés sur 8 sites différents

aux Etats-Unis en 2009. Les concentrations moyennes de CP4-EPSPS sont reportées dans le tableau 1 en µg/g de poids sec.

La concentration moyenne observée dans le soja MON87705 x MON89788 est plus élevée que dans les sojas parentaux surtout dans la plante entière. Cette augmentation peut s'expliquer par la présence de deux cassettes d'expression fonctionnelle pour la protéine CP4-EPSPS dans le soja empilé.

Tableau 1 : Concentrations de protéine CP4-EPSPS (µg/g de poids sec) dans la plante entière et les graines de soja MON87705 x MON89788 et des deux sojas parentaux (essai Etats-Unis 2009).

	Concentrations moyennes en CP4-EPSPS en µg/g de poids sec (étendue)		
	MON87705	MON89788	MON87705xMON89788
Plante entière (stade R6)	210 (160-270)	140 (120-180)	340 (260-420)
Graines (stade R8)	240 (190-310)	170 (98-220)	270 (210-340)

Aucune information n'est fournie sur le niveau de transcription de la séquence ARNi *FAD2-1A/FATB1-A*, ni sur la diminution de quantité des protéines endogènes *FAD2-1A* et *FATB1-A* et de leurs activités dans le soja MON87705xMON89788.

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

Au regard de l'analyse des résultats de profil obtenu par *Southern blot*, la structure moléculaire des inserts est conservée dans la lignée MON87705 x MON89788.

Les deux événements sont situés sur des chromosomes différents ce qui limite l'occurrence de recombinaison au cours de la méiose ou de la mitose.

A.2.3 Conclusion

Les informations moléculaires présentées par le pétitionnaire pour caractériser le soja MON 87705 x MON 89788 ne montrent pas de différences avec les caractéristiques moléculaires des événements des sojas parentaux. Elles ne sont pas évocatrices d'un risque pour le consommateur de soja MON87705 x MON89788.

A.3 Evaluation comparative

A.3.1 Critères de sélection des comparateurs

Le soja testé MON87705 X MON89788 a été obtenu par croisement conventionnel. MON89788 a été introduit dans la lignée A3244 et MON87705 dans la lignée A3525, elle même issue d'un croisement avec A3244. Au final après 8 cycles d'autofécondation, le fonds génétique de MON87705 x MON89788 est proche de A3525 (90% de marqueurs moléculaires communs). Dans cette analyse de composition, le soja MON87705 X MON 89788 a été comparé à la lignée A3525 et à 18 variétés commerciales de référence.

A.3.2 Expérimentation en champs : dispositif expérimental et analyse statistique

A.3.2.1 Dispositif expérimental

Le soja MON87705 X MON89788 et le soja A3525 ont été cultivés sur 9 sites de production aux Etats-Unis en 2009, en bloc de 4 répétitions. Un site a été écarté pour l'analyse de la composition chimique du fait d'une contamination des échantillons. La variété transgénique a été cultivée sur chaque site avec deux modalités de traitement herbicide : avec glyphosate (traité) et sans glyphosate (non traité). Dix-huit variétés commerciales ont également été cultivées (trois sur chaque site). Les caractéristiques du plan d'expérience respectent les recommandations de l'EFSA.

A.3.2.2 Analyse statistique

Le soja Génétiquement Modifié (traité ou non traité) est comparé au contrôle non transgénique par des tests de différence. L'équivalence a aussi été testée en se basant sur les valeurs obtenues à partir des variétés commerciales. Pour conduire ces tests, une ANOVA globale a été réalisée avec un modèle linéaire mixte incluant un effet fixe « génotype » et un effet aléatoire « variété commerciale ». Le modèle correspond à celui proposé par l'EFSA. Un modèle a également été utilisé pour tester les différences site par site. L'erreur de type 1 retenue pour les tests de différence est de 10%.

Les résultats des tests statistiques ont été interprétés selon l'approche décrite par l'EFSA (2010) en classant les variables en IV catégories et 7 sous catégories selon la combinaison des résultats du test d'équivalence et de différence.

A.3.3 Analyse de composition

L'analyse de composition chimique a porté sur la plante entière (fourrage) et la graine.

Les composés mesurés sont :

- pour la plante entière, 7 paramètres proximaux (humidité, lipides, protéines totales, cendres, hydrates de carbones totaux, fibres ADF, fibres NDF) ;
- pour la graine, les 7 paramètres précédents, 18 acides aminés, 26 acides gras, 5 facteurs antinutritionnels (inhibiteur de trypsine, acide phytique, lectine, raffinose et stachyose), la vitamine E et 3 isoflavones (daidzéine, génistéine et glycitéine).

49 des 67 composés mesurés (42 dans les graines et 7 dans la plante entière) avaient au moins 50 % des mesures au dessus de la limite minimale de détection et étaient analysables d'un point de vue statistique.

Dans la plante entière

L'équivalence est démontrée pour tous les paramètres mesurés. On note que la teneur en hydrates de carbones dans le soja GM non traité ou traité avec le glyphosate est légèrement plus élevée que dans le contrôle. Cependant, cette différence est faible (<1%) et n'est statistiquement significative que pour le groupe traité.

Dans la graine

Pour la majorité des variables, l'hypothèse de non-équivalence peut être rejetée ; les teneurs mesurées dans le soja GM pour ces composés sont donc équivalentes à celles mesurées dans les sojas témoins.

Parmi les acides gras, la non équivalence est démontrée (ou est plus probable que l'équivalence) pour les acides gras totaux et les acides arachidique, palmitique, stéarique, oléique, linoléique, eicosénoïque et béhénique.

Ces résultats sont attendus pour les acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique du fait de la modification génétique présente dans l'événement MON87705.

Les teneurs en acides palmitique, stéarique et linoléique sont volontairement diminuées. La teneur en acide oléique est volontairement augmentée (cf tableau 2). Les teneurs modifiées sont proches de celles également observées dans le soja MON87705.

Parmi les modifications non attendues, une augmentation (+45%) de la teneur en acide eicosénoïque est observée dans la graine de soja GM traité ou non par rapport à la graine de soja témoin, cette teneur est inférieure à la limite supérieure des valeurs de référence de la base ILSI³. Ceci avait déjà été observé pour les graines de soja MON87705. La teneur en acide béhénique et arachidique est légèrement diminuée (-7 et -17%, respectivement). Ces trois derniers acides gras sont des acides gras mineurs et représentent chacun moins de 0,3% des acides gras totaux. La teneur en acide gras totaux diminue elle aussi légèrement (- 1,73%).

³ ILSI International Life Sciences Institute, Crop Composition Database, 2011.

Tableau 2 : Teneurs des différents acide gras (en % des acides gras totaux) dans la graine de soja MON87705 x MON89788, de soja témoin quasi isogénique et des variétés commerciales, des sojas de la base de données ILSI crop database 2011.

Acides gras	MON87705x MON89788	Témoin	Variétés commerciales	ILSI Crop database
Moyenne, % AG totaux (intervalle de variation)				
Acide palmitique	2,50 (2,30-2,80)	11,53 (10,89-12,09)	10,63 (9,37-11,72)	9,55-15,77
Acide stéarique	2,90 (2,46-3,35)	3,84 (3,37-4,39)	3,80 (2,82-5,14)	2,70-5,88
Acide oléique	65,04 (53,47-75-06)	19,15 (16,72-21,29)	20,11 (16,73-27,82)	14,3-32,2
Acide linoléique	19,40 (11,32-29,32)	54,24 (53,22-56,28)	55,09 (50,17-57,67)	42,3-58,8
Acide eicosénoïque	0,27 (0,22-0,35)	0,15 (0,07-0,20)	0,16 (0,14-0,21)	0,140-0,350
Acide béhénique	0,27 (0,23-0,30)	0,29 (0,27-0,32)	0,32 (0,28-0,39)	0,277-0,595

Parmi les acides aminés, la cystine, l'arginine et la méthionine ne sont pas équivalents dans les deux ou dans une des deux comparaisons (soja GM traité vs contrôle ou soja GM non traité vs contrôle). Les différences sont faibles (<4%) et les teneurs restent dans la gamme des valeurs mesurées pour les variétés commerciales.

Parmi les isoflavones, la concentration en daidzéine n'est pas équivalente, elle diminue légèrement (-4%) dans la graine de soja transgénique par rapport à la graine de soja témoin. Les teneurs restent dans la gamme des valeurs mesurées dans les variétés commerciales.

A.3.4 Caractéristiques agronomiques et phénotypiques

Les caractéristiques agronomiques et phénotypiques ont été évaluées sur 10 paramètres. Pour tous ces paramètres, l'hypothèse de non équivalence a été rejetée. Le soja transgénique MON87705 x MON89788 traité ou non traité est donc équivalent au soja témoin A3525 et aux variétés commerciales pour ses caractéristiques agronomiques et phénotypiques, à l'exception de la résistance à l'herbicide glyphosate.

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

Les principaux produits obtenus à partir des graines de soja sont : l'huile, le tourteau, la lécithine et l'isolat protéique. Les effets des processus de transformation sur les produits issus du soja MON87705 x MON89788 ne devraient pas être différents de ceux issus de soja conventionnel. Le dossier du pétitionnaire ne présente donc aucune analyse sur les produits transformés.

Les produits issus de la graine de soja MON87705 avaient été comparés à ceux du soja A3525 (saisine 2010-SA-0211) et seule la composition en acides gras de l'huile était significativement modifiée, ce qui était recherché.

A.3.6 Conclusion

La composition chimique de la plante entière (fourrage) du soja GM traité ou non avec le glyphosate est, pour les paramètres analysés, semblable à la composition de la plante entière issue de soja témoin et des variétés commerciales testées.

La composition chimique de la graine du soja MON87705 x MON89788 traité ou non avec le glyphosate est différente de celles des graines du soja contrôle et des variétés commerciales. Comme attendu, la modification génétique associée à l'événement de transformation MON87705 modifie fortement le profil en acides gras. Les modifications majeures de teneur des acides gras de la graine du soja MON87705 x MON89788 correspondent quantitativement et qualitativement à ce qui est attendu et à ce qui a été mesuré dans les graines de soja MON87705.

A.4 Evaluation toxicologique

Aucun nouvel essai toxicologique n'a été réalisé pour ce dossier. Le pétitionnaire rappelle les données toxicologiques présentées dans les deux dossiers de demande d'autorisation des sojas parentaux portant les événements MON87705 et MON89788 et a actualisé les recherches d'homologies avec les bases de données de séquences.

A.4.1 Lignes directrices normalisées des tests de toxicité

A.4.2 Evaluation des protéines nouvellement produites

L'analyse porte uniquement sur le risque potentiel lié à la protéine CP4 EPSPS. L'évaluation a été réalisée lors de l'examen des sojas parentaux qui expriment tous les deux cette protéine.

La NOAEL déduite de l'étude de toxicité aiguë est de 572 mg/kg de poids corporel.

A.4.3 Evaluation des nouveaux constituants autres que les protéines

Sans objet pour le soja MON87705xMON89788.

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

L'analyse de composition permet de conclure à l'équivalence de concentration entre le soja MON87705xMON89788 et son témoin en ce qui concerne les principaux constituants antinutritionnels et les isoflavones, et à une réelle différence des concentrations en certains acides gras avec en particulier une forte teneur en acide oléique.

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

A.4.5.1 Schéma expérimental et réalisation d'une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours chez les rongeurs.

Aucune étude toxicologique n'a été réalisée avec le soja MON87705 x MON89788.

Des tests de toxicité sub-chronique 90 jours chez le Rat ont été conduits précédemment pour les sojas parentaux. Cependant, ni les résultats et ni les conclusions ne figurent dans le dossier.

A.4.5.2 Interprétation des études sur animaux

Non documenté

A.4.6 Conclusions

Les données disponibles antérieures à ce dossier pour la protéine CP4 EPSPS ne conduisent pas à suspecter une potentialité toxique.

Dans la mesure où l'un des objectifs de la transformation génétique est une modification intentionnelle de la composition (profil d'acides gras), il est nécessaire de disposer d'une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours à partir d'un produit issu du soja MON87705 x MON89788 contenant la fraction lipidique. Ce soja devra avoir été traité par le glyphosate.

A.5 Evaluation de l'allergénicité

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

Le potentiel allergénique de la protéine CP4 EPSPS exprimée dans le soja MON87705 x MON89788, a été évalué à l'aide des critères d'évaluation de l'allergénicité recommandés par l'EFSA, à savoir:

- l'absence d'allergénicité de la source de la protéine CP4 EPSPS, *Agrobacterium sp.* souche CP4.
- l'absence d'homologies de séquence entre la protéine CP4 EPSPS et les allergènes avérés d'une banque de séquences, utilisant l'algorithme FASTA et une fenêtre de 8 résidus (analyse réalisée en 2011 sur les banques AD_2011, TOX_2011, and PRT_2011).
- la très faible résistance à la protéolyse digestive de la protéine CP4 EPSPS en conditions de digestion gastrique simulée *in vitro* (SGF) en présence de pepsine ou de digestion intestinale simulée *in vitro* (SIF) en présence de pancréatine.

A.5.2 Evaluation de l'allergénicité de la plante GM dans sa globalité

Considérant que la PGM est le soja, un allergène reconnu, une analyse complémentaire a été réalisée selon les recommandations de l'EFSA afin de détecter une éventuelle modification de l'allergénicité induite par l'introduction des transgènes dans la plante GM.

Des dosages ELISA et des électrophorèses 2D suivies de Western blots ont été réalisés à l'aide de sérums de patients allergiques au soja, sur les deux sojas MON87705 et MON89788 et comparés à ceux obtenus chez les comparateurs ou des variétés commerciales de soja non GM. Avec tous les sérums testés, les résultats ne montrent pas de différences entre les PGM et les sojas non GM.

A.5.3 Propriétés adjuvantes

Les analyses bioinformatiques ne montrent aucune homologie de séquence entre la protéine CP4 EPSPS et les adjuvants classiques, toxines et lectines. Le caractère adjuvant de la protéine EPSPS, protéine extrêmement répandue chez les végétaux, n'a jamais été rapporté. Enfin, la faible teneur en CP4 EPSPS dans le soja MON87705 x MON89788 et sa sensibilité aux protéases digestives ne semblent pas compatibles avec un éventuel effet adjuvant significatif dans le cadre d'un apport alimentaire modéré en soja GM.

A.5.4 Conclusion

Ces résultats suggèrent l'absence de potentiel allergénique de la protéine CP4 EPSPS exprimée dans les sojas MON87705 x MON89788. 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

Les résultats suggèrent également que les modifications génétiques introduites dans le soja MON87705 x MON89788 ne modifient pas l'expression des allergènes naturellement exprimée par les graines de soja non génétiquement modifié.

Au regard des éléments examinés, la protéine CP4 EPSPS ne présente pas de propriétés adjuvantes.

A.6 Evaluation nutritionnelle

A.6.1 Evaluation nutritionnelle des denrées alimentaires dérivées des PGM

Le soja MON87705 x MON89788 présente un profil en acides gras modifié (cf. A3.3) de même nature que la lignée parentale MON87705.

Une étude présentée dans le dossier de demande d'autorisation du soja MON87705 montre que la substitution d'huiles végétales par de l'huile de soja MON87705 permet une diminution de l'apport en acides gras saturés (étude réalisée au Royaume-Uni, EFSA-GMO-NL-2010-78). Sur la base de cette étude qui s'applique aussi au soja MON87705 x MON89789, le pétitionnaire conclut que la consommation d'huile du soja MON 87705 X MON 89788 devrait donc se traduire par la même diminution d'apports en acides gras saturés. Aucun élément supplémentaire ne vient étayer cette affirmation.

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

Une étude nutritionnelle a été réalisée chez des poulets de façon à comparer les caractéristiques nutritionnelles du soja MON87705 X MON89788 avec celles du soja A3525 et 6 autres variétés conventionnelles de soja. Le matériel testé est le tourteau de soja, la fraction délipidée de la graine. Le protocole met en œuvre 800 poulets Cobb 500 (2 sexes x 5 parquets x 8 traitements alimentaires x 10 poulets) nourris pendant 42 jours. Durant cette période, 2 régimes alimentaires sont utilisés, un régime de démarrage et un régime de croissance-finition contenant respectivement 33% et 29% de tourteau de soja. Les régimes sont supplémentés avec 1 % de coque de soja et 3 % d'huile de soja non génétiquement modifié.

Les analyses chimiques (énergie métabolisable, teneurs en protéines, minéraux et acides aminés) des tourteaux de chaque soja utilisé ont été réalisées. L'analyse de la composition et les contrôles sur les matières premières ne montrent pas de différence significative entre les régimes alimentaires testés. La contamination éventuelle par les mycotoxines (17) a aussi été analysée. Les analyses de composition chimique sur les 8 tourteaux de soja et tous les régimes alimentaires (démarrage et croissance-finition) sont présentées pour chaque soja utilisé. Tous les régimes ont les mêmes caractéristiques. Ils sont bien équilibrés et montrent une formulation de type commercial utilisée pour le poulet en croissance en accord avec les recommandations du NRC guide (nutriment requirements for poultry).

La mortalité des poulets a été suivie pendant les 2 périodes (0-7 jours et 7-42 jours). Elle est faible (0,4% en moyenne) et sans relation avec le régime alimentaire. Les autres observations ont porté sur 6 paramètres de croissance des animaux, 13 mesures de rendement en découpe des carcasses et 3 paramètres de composition chimique des filets et des cuisses. Aucune différence n'a été observée, à un seuil de significativité de 5%, pour ces paramètres entre les animaux nourris avec le tourteau issu du soja MON87705 X MON89788 et ceux recevant les tourteaux issus de soja A3525 et des variétés commerciales conventionnelles. Il n'est pas précisé si le soja MON87705 X MON89788 utilisé dans cette expérience a été traité par le glyphosate lors de sa culture au champ.

A.6.3 Conclusions

Pour le poulet de type standard en croissance, le tourteau issu du soja MON 87705 X MON 89788 a les mêmes qualités nutritionnelles que ceux issus du soja A3525 et des variétés de soja conventionnelles testées dans cette étude.

Sachant que le soja MON 87705 X MON 89788 a été modifié pour sa composition en acides gras, il apparaîtrait pertinent de réaliser une étude nutritionnelle à partir d'un produit contenant la fraction lipidique dont la composition est intentionnellement modifiée.

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

Le principal produit alimentaire pour l'homme à base de soja est l'huile, qui ne renferme plus de protéine CP4 EPSPS.

La présence de la protéine dans notre alimentation sera donc essentiellement liée à d'autres produits dérivés, dont la consommation journalière n'a pas encore fait l'objet d'une évaluation dans l'Union Européenne. Il s'agit de la lécithine, de farine utilisée en pâtisserie, de jus (« lait » de soja), qui peut être caillé (tofu) ou fermenté et de sauces diverses.

L'estimation de l'exposition pour l'Europe proposée par le pétitionnaire repose sur le programme GEMS de l'OMS/food (Global Environment Monitoring System). Selon ce programme, la consommation régulière la plus élevée de produits dérivés du soja en Europe se rencontre dans les pays du Nord, avec une consommation journalière moyenne évaluée à 0,65 g/kg (39,2 g/personne), alors que la consommation ponctuelle peut atteindre 3,03 g/kg chez l'adulte et 5,55 g/kg chez l'enfant de moins de 6 ans.

C. Caractérisation du risque

Sur la base d'une teneur moyenne en protéine CP4-EPSPS de 240 µg/kg (matière fraîche) et d'une NOEL de 572 mg/kg, le coefficient de sécurité calculé est de l'ordre de 400 chez l'enfant, 800 chez l'adulte.

Toutefois, les facteurs de sécurité sont issus d'une NOEL calculée à partir d'une étude de toxicité aiguë et non pas d'une étude de toxicité sub-chronique.

A partir des informations disponibles sur la protéine CP4-EPSPS, il ne peut être conclu à un risque particulier

4. CONCLUSION DU GT

Le soja MON87705 x MON89788 a été obtenu par croisement conventionnel des sojas parentaux contenant les événements de transformation MON87705 et MON89788. Les deux événements parentaux ont déjà été évalués par l'Agence.

D'un point de vue moléculaire, l'analyse des éléments présentés dans le dossier ne soulève pas de questions particulières et n'est pas évocatrice d'un risque pour le consommateur de soja MON87705 x MON89788.

Comme attendu, le profil en acides gras est modifié : la graine de soja MON87705 x MON89788 est riche en acides gras mono-insaturés (acide oléique) et appauvrie en acides gras saturés et polyinsaturés.

Cependant, l'évaluation du risque toxicologique de ce soja n'est pas complète. Considérant que le soja MON87705 x MON89788 a un profil en acides gras intentionnellement modifié, il est nécessaire de disposer d'une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours à partir d'un produit issu du soja MON87705 x MON89788 contenant la fraction lipidique. Ce soja devra avoir été traité par le glyphosate.

Afin que le GT Biotechnologie puisse se prononcer sur la sécurité sanitaire du soja MON87705 x MON89788, le dossier devra être ainsi complété.

5. CONCLUSION 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 MON 87705 X MON 89788, développé afin de comporter un profil en acides gras modifié et de présenter une tolérance au glyphosate.

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

OGM empilé, soja MON87705, Soja MON89788, CP4 EPSPS, tolérance au glyphosate, composition modifiée.