

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, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003, du soja génétiquement modifié FG72, développé pour être tolérant à certains herbicides, 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.

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 7 novembre 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 demande de mise sur le marché, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003, du soja génétiquement modifié FG72, développé pour être tolérant à certains herbicides, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM.

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 15 décembre 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 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.

Il s'agit d'une première demande d'autorisation de mise sur le marché pour l'alimentation humaine et animale du soja génétiquement modifié portant l'événement FG-72 et de ses produits dérivés; elle ne concerne pas sa mise en culture.

Le soja FG-72 contient les gènes codant :

- L'enzyme hydroxy-phenyl-pyruvate-dioxygenase (HPPD W336), codée par le gène mutant *hppdPfw336* issu de *Pseudomonas fluorescens*. Cette enzyme confère la tolérance aux herbicides de type Isoxaflutole (IFT)²
- L'enzyme 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthétase (2mEPSPS) codée par le gène mutant *2mepsps* issu du maïs. Cette enzyme confère la tolérance au glyphosate².

(C) Informations relatives à la modification génétique

(1) La transformation génétique a été réalisée sur des cals embryogènes de la variété « Jack » par bombardement de particules (biolistique) enrobées d'un fragment d'ADN linéaire provenant de la digestion d'un plasmide. Les événements de transformation ayant intégré les gènes de résistance ont été sélectionnés pour leur capacité à pousser sur un milieu contenant l'IFT.

(2) L'ADN linéaire contient les cassettes d'expression des gènes *hppdPfw336* et *2mepsps*.

Cassette d'expression du gène *hppdPfw336* :

- la séquence du promoteur du gène de l'histone H4 d'*Arabidopsis thaliana* incluant une région interne de type « enhancer » dupliquée,
- la séquence 5' non codante dérivée du TEV (Tobacco Etch Virus),
- la séquence codante modifiée du peptide "leader" d'adressage vers les chloroplastes,

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.

² Il convient de rappeler que si ce soja venait à être importé, il devrait satisfaire à la réglementation relative à l'utilisation des herbicides.

- la séquence codante modifiée (substitution de la glycine par un tryptophane en position 336) de la *4-hydroxyphénylpyruvate dioxygénase* de *P. fluorescens*,
- la région 3' non codante comprenant le terminateur et le site de polyadénylation du gène de la nopaline synthétase.

Cassette du gène *2mepsps* :

- la séquence du promoteur du gène de l'histone H4 provenant d'*Arabidopsis thaliana*,
- la séquence du premier intron du gène II de l'histone H3.III provenant d'*Arabidopsis thaliana*,
- la séquence codante modifiée du peptide d'adressage vers les chloroplastes du gène de la petite sous-unité de la RuBisCO du maïs et du tournesol,
- la séquence codante modifiée (deux substitutions d'acides aminés) du gène de la *5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthétase* provenant du maïs,
- la séquence 3' non codante du gène de l'histone H4 provenant d'*Arabidopsis thaliana*.

(D) Informations relatives à la plante génétiquement modifiée

(1) Le soja FG72 a été modifié par transformation génétique pour exprimer deux protéines :

- L'hydroxy-phenyl-pyruvate-dioxygénase (HPPD W336) est une enzyme de la voie de biosynthèse de la tyrosine. La substitution d'une glycine par un tryptophane en position 336 dans la séquence de cette enzyme, lui confère une tolérance aux herbicides de type isoxaflutole (IFT).
- La 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthétase (2mEPSPS) intervient dans la biosynthèse d'acides aminés aromatiques. Deux substitutions d'acides aminés par rapport à la forme native l'empêchent d'être inactivée par les herbicides de type glyphosate.

(2) Des analyses par Southern de l'ADN génomique, extrait de feuilles de soja portant l'événement FG72 (générations T7³) ont été réalisées afin de caractériser l'insertion. Le témoin utilisé est l'ADN génomique extrait de la lignée Jack. L'analyse des profils d'hybridation est compatible avec une insertion en un locus unique, de deux copies en tandem du fragment d'ADN linéaire ainsi que deux séquences partielles du terminateur de l'histone 3 d'*A. thaliana* situé en 5' de l'insertion.

Des hybridations ont été réalisées afin de vérifier qu'aucune séquence d'ADN plasmidique située en dehors du fragment de restriction utilisé pour la transformation et portant les gènes d'intérêt agronomique n'est intégré dans le génome de FG72.

La construction insérée dans l'événement FG72 a été entièrement séquencée sur 20137 pb incluant les 15156 pb de l'insert ainsi que 1451 pb et 3520 pb des bordures de l'insert 5' et 3', respectivement.

Aucun changement de nucléotides, ni aucune insertion/délétion n'est observé sur les 15156 pb de l'insert. Cette analyse confirme l'insertion des deux copies contenant les cassettes d'expression et de deux séquences partielles du terminateur de l'histone 3 en tandem inversé en 5'. L'analyse des séquences, de part et d'autre, du site d'insertion de la construction transgénique correspond bien à du génome de soja. La comparaison de ces séquences avec celle du génome de la variété Jack révèle que la région génomique située en 3' du point d'insertion a subi une translocation en perdant respectivement 2 et 35pb à chaque extrémité. De plus, l'extrémité 3' de cette région transloquée s'est jointe à un fragment de 158 pb provenant du fragment de restriction et correspondant à la séquence du promoteur de l'histone H4.

³ Correspond à 7 cycles d'autofécondation de la lignée T0 transformée (T0 = événement primaire de transformation de la lignée Jack).

Une analyse bioinformatique a permis de prédire la présence de 3 gènes potentiels dans la région d'insertion des transgènes. L'une d'elles coderait pour un polypeptide de 127 acides aminés (avec une méthionine en position 1 dont la séquence est homologue des cystéine-protéases).

L'insertion est en dehors des séquences codantes de ces 3 gènes potentiels. Cependant, la séquence de la cystéine protéase potentielle se situe dans le fragment qui a subi la translocation, ce gène se retrouve donc dans un autre environnement génétique dans les sojas portant l'événement FG72. Ainsi, parmi les 15 promoteurs potentiels identifiés sur la séquence native du soja, 2 sont interrompus par l'insertion du transgène et 4 sont créés au niveau du site d'insertion (coté 5') et au niveau de la jonction de l'ADN ayant subi la translocation. Dans cette nouvelle organisation, la séquence codant pour une cystéine protéase putative se retrouve en aval d'un nouveau promoteur potentiel.

Les cystéine-protéases sont des peptidases qui, comme toutes les protéases, sont fortement régulées. Elles interviennent dans les mécanismes de réponse aux stress biotiques et abiotiques et lors de l'apoptose. Le pétitionnaire n'a pas vérifié si le gène s'exprime ou non dans les sojas FG72.

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 ainsi qu'au niveau des nouvelles jonctions créées par la translocation. Ainsi, 46 ORF potentielles présentant un cadre de lecture d'au moins 8 acides aminés ont été identifiées. Les ORFs putatives identifiées ont été comparées aux séquences répertoriées dans les banques de données d'allergènes et de toxines. Aucune homologie significative n'a été identifiée.

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

Les deux gènes sont sous le contrôle du promoteur Ph4a748 dérivé du gène de l'histone H4 issu d'*A. thaliana*. Ce promoteur permet une expression constitutive et élevée des transgènes, plus particulièrement dans les tissus à croissance rapide.

Les niveaux d'expression des protéines 2mEPSPS et HPPD W336 ont été évalués par des tests ELISA. Une première expérience a permis de mesurer le niveau de protéines à plusieurs stades de développement dans les feuilles, les tiges, les racines et les graines issus de plantes cultivées en serre en 2009. L'analyse des résultats montrent un niveau moyen maximal de 38,4 µg/g de poids sec dans les feuilles jeunes pour la protéine HPPD W336 et de 668 µg/g de poids sec dans les feuilles au stade végétatif V8 pour la protéine 2mEPSPS.

Une seconde étude réalisée à partir des plantes cultivées en champs aux USA en 2008 et en 2009 avait pour objectif de mesurer la quantité présente dans les graines. Les plantes sont soit non traitées, soit traitées par le glyphosate et isoxaflutole. Les résultats montrent que les concentrations obtenues sont stables quels que soient le traitement et la saison. On note cependant, que le niveau d'accumulation de HPPD est deux fois plus important en 2009 par rapport à 2008 (tableau 1).

Tableau 1 : Teneurs moyennes en protéines 2mEPSPS et HPPD W336, dans les graines de soja FG72, exprimées en µg/g de poids sec.

Saison	2mEPSPS (SD)[Gamme]		HPPD W336 (SD)[Gamme]	
	2008	2009	2008	2009
FG72	150	132 (20,8) [79,5-171]	0.936	1,37 (0.23) [0.844-1.7]
FG72 Gly+IFT	150	142 (23,5) [101-176]	0.887	1,77 (0.29) [1,29-2,31]

Gly+IFT= traitement Glyphosate et Isoxaflutole

(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 types de croisement, 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 caractère unique et dominant 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 sur 10 sites en 2008 et sur 8 sites en 2009 des régions traditionnelles de cultures de soja d'Amérique du Nord selon un plan d'expérience en blocs randomisés avec 3 répétitions par site.

La lignée transgénique FG72 issus de 7 cycles d'autofécondation après transformation a été cultivée conjointement à une lignée contrôle Jack et à trois variétés commerciales. Deux types de traitement ont été appliqués pendant la culture. La combinaison génotype, traitement conduit à trois modalités « Jack, traitement conventionnel » ou « FG72, traitement conventionnel » ou « FG72, traitement Glyphosate et Isoxaflutole ».

L'analyse de composition des graines a porté sur cinq paramètres proximaux (humidité, lipides, protéines, cendres, hydrates de carbonés), sur les fibres ADF, NDF, sur 18 acides aminés, 28 acides gras, 6 minéraux, 8 vitamines (dont les tocopherols), 4 isoflavones (daidzéine, génistéine, daidzine et glycitéine) et 5 facteurs antinutritionnels (lectine, acide phytique, inhibiteur de trypsine, raffinose et stachyose).

Pour les acides gras, seuls ceux (9/28) ayant des valeurs supérieures à la LOQ ont été inclus dans l'analyse statistique.

L'approche statistique permet d'étudier les différences entre la variété génétiquement modifiée et le contrôle sur l'ensemble des sites mais aussi site par site. Cette approche permet de détecter l'existence d'une éventuelle interaction entre l'effet OGM et l'effet site.

Des intervalles basés sur les variétés commerciales cultivées dans le même essai et sur les valeurs reportées dans la littérature ont été utilisés pour vérifier que les teneurs moyennes du soja transgénique ne sortent pas des gammes de variation naturelle. Les tests d'équivalence tels que le recommande l'EFSA (EFSA, 2010⁴) ne sont pas réalisés.

Des différences de concentration entre les graines de soja FG72 et les graines de soja Jack sont statistiquement significatives pour certains composés. Elles concernent en particulier les acides gras (C16:0, C18:1, C20:0, C22:0, C18:1) et les isoflavones. Pour la plupart, les teneurs sont comprises ou s'éloignent peu de l'intervalle de tolérance établi à partir des variétés commerciales et toutes les variations observées entre la PGM et le témoin n'excèdent pas plus ou moins 10% de la valeur témoin.

En conclusion, les résultats de cette étude permettent de considérer qu'il n'existe pas de différence majeure de composition entre les graines de sojas FG72 et de sojas témoins.

L'analyse de composition de la graine a été complétée par des données sur la plante entière (fourrage) et des produits de transformation de la graine soit les gousses, les tourteaux, les tourteaux toastés, l'isolat de protéine, l'huile brute, l'huile raffinée et la lécithine. Les produits sont issus des graines provenant des plantes FG72 traitées (glyphosate et isoxaflutole) et Jack non traitées cultivées en 2008. Les compositions concernent les paramètres proximaux, les isoflavones, les facteurs antinutritionnels, les acides aminés des tourteaux et les acides gras de l'huile. Aucune analyse statistique n'a été réalisée, cependant l'analyse des données

⁴ Statistical considerations for GMOs safety EFSA Journal 2010; 8(1):1250
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1250.pdf>

de composition ne fait pas apparaître de différences majeures suivant l'origine génétique des graines dont sont issus les produits.

(7.4) Analyse comparative des caractéristiques agronomiques

Les caractères agronomiques et phénotypiques des sojas FG72 ont été comparés à ceux de plantes témoins (Jack). Les plantes sont issues des essais 2008 et 2009 précédemment décrits. Le rendement de germination des graines de la variété FG72 traitée ou non par les herbicides est plus faible que celui de la variété Jack sur les données de 2008. De plus, des différences morphologiques au cours du développement en défaveur de FG72 sont observées. Au cours de la saison 2009, aucune différence sur la levée des graines n'est relevée mais plusieurs paramètres agronomiques des plantes paraissent moins favorables pour FG72 que pour Jack. Ceci était particulièrement vrai pour le rendement global en grains inférieur pour FG72 que pour Jack.

Aucune différence n'est observée sur les autres paramètres comme la sensibilité aux pestes.

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

Les sojas FG72 seront utilisés et transformés comme tout autre soja conventionnel. Les étapes de transformation de la graine sont décrites pour chaque produit.

(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 2mEPSPS et HPPD W336, nouvellement présentes dans les sojas FG72.

Le pétitionnaire s'est référé à des données de consommation européenne de 2003 jugées par le CES comme non appropriées (légumes secs et huile uniquement) et non actualisées.

Le CES considérant la valeur de 39,6 g/personne/jour selon une estimation de la consommation de la population européenne (WHO Cluster F diet) a refait le calcul d'exposition qui conduit à 9,504 mg/personne/j pour la protéine 2mEPSPS et à 0,0519 mg/personne/jour pour la protéine HPPD W336.

Une estimation de l'exposition des animaux (porcs et poulets) nourris par des dérivés de ce soja est également présentée et conduit à une exposition faible.

(7.8) Toxicologie

L'évaluation du potentiel toxique de la protéine 2mEPSPS est basée sur les éléments suivants :

- le maïs (*Zea mays*) organisme donneur de la protéine sauvage EPSPS est un produit dont la consommation est considérée comme sûre ;
- la séquence de la protéine mutée 2mEPSPS est la même que celle exprimée dans d'autres plantes génétiquement modifiées, qui après évaluation sont considérées comme sûres pour la consommation ;
- la protéine modifiée 2mEPSPS présente la même séquence d'acides aminés que la protéine sauvage purifiée, à l'exception de deux substitutions ; elle présente les mêmes propriétés biochimiques, mis à part l'insensibilité au glyphosate ; elle n'est pas glycosylée ;
- la protéine 2mEPSPS⁵ est totalement inactivée quand est elle exposée à une température de 60°C pendant 10 min ; elle est rapidement dégradée en milieu simulant le fluide gastrique (30 secondes à pH 1,2 et pepsine) et en milieu simulant le fluide intestinale (quelques secondes et pancréatine à pH 7,5) ;
- des analyses *in silico* récentes indiquent que la protéine 2mEPSPS ne présente aucune homologie de séquence avec des protéines toxiques ou des allergènes connus pour l'homme ou l'animal ;
- la protéine⁵ n'induit pas de mortalité chez la souris (5 femelles traitées et 5 non traitées) après une administration unique de 2000 mg / kg par voie orale (gavage).

⁵ Les protéines 2mEPSPS ou HPPDW336 utilisée pour cette étude ont été produites par *E. coli*. Il a été démontré qu'elles avaient les mêmes caractéristiques biochimiques (poids moléculaire, immunoréactivité, séquence peptides N-terminale et internes) que les protéines présentes dans les sojas FG72.

L'évaluation du potentiel toxique de la protéine HPPD W336 est basée sur les éléments suivants :

- les protéines HPPD sont ubiquitaires dans la nature. La protéine issue de *P. fluorescens* présente 20 à 30% d'homologie avec les protéines HPPD de plantes et de mammifères, sachant que seuls 27 acides aminés sur 350 sont conservés entre les protéines HPPD.
- l'organisme source *P. fluorescens* est présent dans l'environnement (sol, eau et nourriture) et a un historique d'utilisation sûre.
- la protéine⁵ est inactivée quand elle est exposée à une température de 60°C pendant 2 min 30s. Elle est rapidement dégradée en milieu simulant le fluide gastrique (90% de la protéine en moins de 30 secondes à pH 1,2 et pepsine) et en milieu simulant le fluide intestinale (quelques secondes et pancréatine à pH 7,5) ;
- des analyses *in silico* récentes indiquent que la protéine HPPD W336 ne présente aucune homologie de séquence avec des protéines toxiques ou des allergènes connus ;
- une étude de *toxicité* aiguë chez la souris après administration unique de protéine HPPD W336⁵ à la dose de 2000 mg / kg par voie orale (gavage) ; aucune mortalité, aucun signe clinique, ni modification du poids des animaux et des organes ne sont observés dans cette étude ;
- une étude de toxicité réitérée chez la souris pendant 28 jours par administration orale de la protéine HPPD W336⁵ à la dose de 1000 mg / kg / jour a été réalisée. Aucune mortalité, ni signe clinique, ni modification du poids des animaux, des organes et des paramètres sanguins, ni modifications microscopiques n'ont été observés.

Le pétitionnaire n'a calculé de marges de sécurité pour aucune des deux protéines. Concernant la protéine 2mEPSPS, elle est présente dans d'autres plantes transgéniques (maïs GA21, cotonnier GHB614), et a déjà été évaluée favorablement. Concernant la protéine HPPD, le calcul a été réalisé par le CES en considérant l'estimation de la consommation humaine la plus haute (de 39,6 g/personne/jour). La marge ainsi calculée est élevée (1 million).

(7.8.4) Étude de toxicité sub-chronique

Une étude pour évaluer la toxicité potentielle des tourteaux de soja a été réalisée sur des groupes de 10 rats Wistar par type de traitement et par sexe. Le protocole comprend 4 groupes recevant chacun pendant 90 jours une alimentation contenant des tourteaux de soja incorporés à raison de 5 ou 15%. Les différents taux et types de sojas incorporés dans les régimes sont 15% de soja contrôle Jack, 15% de soja FG72 ; 5% de soja FG72 complété par 10% de soja contrôle, 15% de soja provenant d'une lignée commerciale.

L'analyse statistique consiste en des tests d'égalité des moyennes entre les groupes (contrôle versus transgénique 5 et 15% et contrôle versus lignée commerciale) par ANOVA ou tests non paramétriques. Deux seuils (1 et 5%) de probabilité d'erreur de 1^{ère} espèce sont appliqués. Les données atypiques et les mesures répétées dans le temps ne sont pas traitées spécifiquement. En particulier les modèles mixtes auraient dû être appliqués pour tenir compte de corrélations entre les mesures.

Aucun effet relié au type de régime (contenant du soja FG72) n'a pu être mis en évidence sur les paramètres biologiques observés (survie, signe clinique, consommation de nourriture, poids, neurotoxicité, hématologie, biochimie, analyses urinaires, observation macro et microscopique des organes).

Les résultats de cette étude ne révèlent donc pas d'effet toxique lié à la consommation de tourteaux de soja FG72.

A noter que le matériel testé doit être aussi proche que possible du produit final tel que consommé (EFSA Journal 2011: 9(12): 2438), ainsi le matériel végétal testé aurait dû être traité par les herbicides glyphosate et IFT. De plus, il est souligné que cette étude ne

documente pas la sécurité de l'huile issue du soja FG72 destinée à l'alimentation humaine. Enfin, la mise en œuvre d'un faible nombre d'animaux (10 rats de chaque sexe par groupe), augmente le risque d'avoir une puissance insuffisante pour les tests statistiques.

(7.9) Allergénicité

L'évaluation de la potentialité allergénique de la protéine 2mEPSPS et HPPD W336 considère les données suivantes :

- absence de risque allergique des organismes source *Zea mays* et *P. Fluorescens* ;
- absence d'homologie de séquence avec des allergènes connus, soutenue par des analyses *in silico* réalisée en 2011 avec la base de données FARRP ;
- hydrolyse rapide en milieu simulant le fluide gastrique et intestinal ;
- absence de glycosylation.

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 vingt sérums de patients allergiques à des extraits protéiques de soja FG72 ou de soja témoin (Jack). 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.

(7.10) Evaluation nutritionnelle

Une étude d'alimentarité a été réalisée chez des poulets de façon à comparer les caractéristiques nutritionnelles du tourteau de soja FG72 avec le témoin Jack.

Le protocole met en œuvre trois groupes de 140 poulets correspondant à 3 traitements différents : la variété FG72, la variété témoin et 1 variété commerciale. 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 20% de tourteau toasté de soja pour les trois phases.

L'analyse de composition chimique des tourteaux et des régimes a été réalisée. Les principaux composés et anti-nutriments, à l'exception des isoflavones, ont été mesurés. La présence de *Clostridium perfringens* et de *Salmonelle* a été également recherchée. La présence des transgènes à partir des produits issus de la variété FG72 a été vérifiée. Les 9 lots d'aliments correspondant aux 3 périodes d'élevage et aux 3 variétés de soja avaient des compositions semblables.

Les animaux ont été observés deux fois par jour, pour évaluer leur état de santé et pour mesurer les paramètres de croissance (consommation d'aliment, le gain de poids et le rapport consommation/gain de poids). Après 42 jours, 21 poulets par traitement et par sexe ont été sacrifiés, les paramètres suivants ont été mesurés : poids des carcasses, poids des muscles (poitrine, cuisse, patte et aile) et poids des dépôts de graisses abdominales.

L'analyse statistique des résultats a consisté à comparer le groupe nourris à base de soja FG72 au groupe nourri à base de soja Jack et le groupe nourri à base de soja Jack au groupe nourri à base de soja commercial. Aucune différence entre les groupes n'est observée sur la mortalité des poulets.

Au regard des résultats de paramètres de croissance et de carcasses, il apparaît que les animaux nourris avec la variété FG72 ne présente pas de différence avec les animaux témoins nourris avec les deux variétés de référence (Jack et commerciale).

De même les tourteaux de soja utilisés dans l'étude auraient dû provenir de soja traité aux herbicides.

Conclusion du CES Biotechnologie

L'analyse des résultats moléculaires présentés permet de caractériser l'événement de transformation intégré dans le génome des sojas FG72 qui correspond à l'insertion de deux copies stables et en un seul locus du fragment d'ADN linéaire de transformation. Le site d'intégration et les régions flanquant l'insert ont été caractérisés et montrent que simultanément à l'insertion, il s'est produit une translocation. Cette translocation a modifié l'environnement d'un gène endogène potentiel présentant des homologies avec les cystéine-protéases. Le pétitionnaire n'a pas vérifié si le gène s'exprime ou non dans les sojas FG72. Le CES estime que l'expression de ce gène, si elle a lieu, aurait des conséquences sur le fonctionnement cellulaire, ce qui n'est pas observé sur la plante FG72. Par ailleurs, les effets néfastes potentiels sur la sécurité sanitaire liée à la consommation, sont évalués par l'étude de toxicité sub-chronique par administration répétée de la plante entière.

L'analyse comparée de composition chimique montre que celle des graines de soja FG72 n'est pas différente de celle des graines de soja témoin et des variétés commerciales. Cette analyse a été complétée par l'analyse des principaux produits issus de la transformation de la graine.

L'analyse des résultats de l'étude d'alimentarité chez le poulet durant 42 jours à partir des tourteaux issus de sojas FG72, permet de conclure que ces tourteaux ne présentent pas de propriétés nutritionnelles différentes de celles des tourteaux de soja témoin. Toutefois, les tourteaux de soja utilisés auraient dû provenir de soja traité aux herbicides.

Concernant l'évaluation du potentiel toxique, les données fournies permettent d'évaluer la sécurité des protéines nouvellement présentes dans les sojas génétiquement modifiés FG72. Une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours avec l'aliment entier ne met pas en évidence de toxicité liée à la consommation de tourteaux de soja portant l'événement FG72. Il aurait été toutefois préférable que le matériel végétal testé provienne de sojas traités par les herbicides.

En conclusion et au regard des données fournies, le CES biotechnologie n'a mis en évidence aucun élément permettant d'établir que la sécurité sanitaire liée à la consommation du soja portant l'événement de transformation FG72 est moindre que celle du soja témoin conventionnel.

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 Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie » et souligne néanmoins que cet avis a été rendu sur la base du dossier initial disponible dans les délais prévus. Sachant qu'à la demande de l'EFSA d'éventuelles études ou données complémentaires pourraient être versées au dossier, cet avis ne préjuge pas des conclusions qui pourraient être rendues ultérieurement sur l'ensemble des éléments du dossier.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

OGM, soja FG72, tolérance au glyphosate, tolérance IFT.