

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 15 avril 2015

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 relatif aux denrées et aux aliments pour animaux génétiquement modifiés, du soja génétiquement modifié MON87751, développé pour être résistant à certains lépidoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-NL-2014-121)

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 29 janvier 2015 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'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003 relatif aux denrées et aux aliments pour animaux génétiquement modifiés, du soja génétiquement modifié MON87751, développé pour être résistant à certains lépidoptères, pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM (dossier n° EFSA-GMO-NL-2014-121).

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 États membres de faire connaître leurs observations sur les dossiers initiaux. C'est dans ce cadre que la DGCCRF a sollicité l'avis de l'Anses.

Le Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013¹ s'applique pour ce dossier.

¹ Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013 de la Commission du 3 avril 2013 relatif aux demandes d'autorisation de denrées alimentaires et d'aliments pour animaux génétiquement modifiés introduites en application du règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement européen et du Conseil et modifiant les règlements de la Commission (CE) n° 641/2004 et (CE) n° 1981/2006

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 19 mars 2015. 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

Les sections, telles que définies dans le formulaire de commentaires de l'EFSA, sont reprises ci-dessous.

PARTIE I - INFORMATIONS GÉNÉRALES

Le soja est une culture des zones chaudes à semi-tropicales. Les principaux pays producteurs sont les USA, l'Argentine, le Brésil, l'Inde et la Chine, qui représentent plus de 90 % de la production mondiale. En 2013, la production européenne de soja était de 1.222.727 tonnes pour une surface récoltée de 467.054 hectares (FAOSTAT⁴). Au niveau mondial, 79 % du soja cultivé était génétiquement modifié en 2013⁵.

La graine de soja renferme environ 40 % de protéines et 20 % d'huile en pourcentage de la matière sèche. 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 : farine, protéines (isolats et concentrats), huile, margarine, lécithines (émulsifiants utilisés dans de nombreux produits alimentaires). L'emploi du soja augmente dans une large gamme de produits alimentaires. Cependant, la graine de soja contient des facteurs antinutritionnels (acide phytique qui séquestre le phosphore, facteurs antitrypsiques qui perturbent la digestibilité des protéines chez les animaux monogastriques et chez l'Homme, lectines qui ont une activité hémagglutinante) et de nombreuses protéines naturellement allergènes.

Les sojas MON87751 ont été génétiquement modifiés afin d'introduire dans leur génome les gènes *cry1A.105* and *cry2Ab2*, qui leur confèrent la résistance à certains lépidoptères. Ce dossier correspond à une première demande d'autorisation de mise sur le marché pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de ces sojas. Il ne concerne pas leur mise en culture.

PARTIE II - INFORMATIONS SCIENTIFIQUES

II.1. Identification et caractérisation des dangers

II.1.1. Informations concernant les plantes réceptrices ou (le cas échéant) parentales

La transformation génétique a été réalisée sur la variété conventionnelle A3555.

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.

⁴ <http://faostat.fao.org/>

⁵ James C (2013). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2013. *ISAAA Brief* No. 46. ISAAA: Ithaca, NY.

II.1.2. Caractérisation moléculaire

II.1.2.1. Informations concernant la modification génétique

La transformation génétique a été réalisée sur des méristèmes d'embryons de graines germées avec la souche AB30 d'*Agrobacterium tumefaciens*. Le vecteur binaire PV-GMIR13196 utilisé pour la transformation possède 2 ADN-T avec chacun leurs bordures droite et gauche. L'ADN-T I contient les gènes *cry1A.105* et *cry2Ab2* qui confèrent à la plante la résistance à certains lépidoptères. L'ADN-T II porte les gènes *splA* et *aadA* permettant la sélection des cellules transformées.

Les plantes initiales transformées (R_0) ont été autofécondées et les plantes de la génération R_1 ne contenant que l'ADN-T I à l'état homozygote ont été sélectionnées. Ensuite, différentes générations d'autofécondation (R_2 à R_8) ont été produites, ainsi que des générations F_1 à F_4 issues du croisement de la R_3 avec une lignée de soja conventionnelle. Ces plantes ont été sélectionnées sur la présence d'une copie unique de l'ADN-T I à l'état homozygote pour les générations R_1 à R_8 et d'une copie unique de l'ADN-T I à l'état hémizygote pour les générations F_1 à F_4 .

L'ADN-T I inséré dans le soja MON87751 contient les cassettes d'expression des gènes *cry1A.105* et *cry2Ab2*, dont les caractéristiques sont les suivantes :

1) le gène *cry1A.105* est un gène chimérique qui comprend de 5' en 3' :

- les domaines I et II du gène *cry1Ab* de *Bacillus thuringiensis*,
- le domaine III du gène *cry1F* de *Bacillus thuringiensis*,
- la partie C-terminale du gène *cry1Ac* de *Bacillus thuringiensis*.

Ce gène est placé sous le contrôle du promoteur et de la séquence leader du gène *ats1A* d'*Arabidopsis thaliana* et de la séquence 3' d'un gène de *Medicago truncatula*. Il code une protéine (Cry1A.105) de 1.181 acides aminés.

2) le gène *cry2Ab2* de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* est placé sous le contrôle du promoteur, des séquences leader et d'un intron du gène de l'actine 2 d'*Arabidopsis thaliana* d'une part et de la séquence 3' d'un gène d'*Oryza sativa* d'autre part. Il code une protéine (Cry2Ab2) de 619 acides aminés.

3) chacune des cassettes d'expression des gènes *cry1A.105* et *cry2Ab2* comporte également une séquence d'adressage des protéines au chloroplaste.

II.1.2.2. Informations concernant la plante génétiquement modifiée

Le soja MON87751 a été génétiquement modifié afin d'introduire dans son génome les gènes *cry1A.105* et *cry2Ab2* qui confèrent à la plante la résistance à certains lépidoptères.

L'analyse moléculaire du soja MON87751 a été réalisée à l'aide d'une combinaison de techniques : Next Generation Sequencing et analyse des séquences de jonction (NGS/JSA) entre l'ADN-T et l'ADN génomique de la plante d'une part et séquençage de l'insert et des régions flanquantes en 5' et en 3' de l'insert d'autre part. Ces séquences ont été alignées avec celles de la variété A3555.

Les résultats montrent :

- une insertion unique de l'ADN-T I contenant une copie intacte de chacune des deux cassettes,
- l'insertion d'une base et la délétion de 7 bases au niveau du site d'insertion,
- la délétion de 16 bases dans la région flanquante en 5' de l'insert,
- l'absence de l'ADN-T II,
- l'absence de séquences issues du vecteur plasmidique.

Les analyses bioinformatiques ne mettent pas en évidence d'ORF putative présentant des homologues avec une toxine ou un allergène connu. La modification génétique ne semble pas avoir interrompu un gène du soja.

La quantité de protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 produite dans les graines et le fourrage du soja MON87751 a été analysée par des tests ELISA réalisés sur des tissus de plantes issues de 5 essais au champ réalisés aux USA en 2012. Les concentrations moyennes de protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 sont respectivement de 2,1 ($\pm 0,46$) et 3,6 ($\pm 0,71$) $\mu\text{g/g}$ de matière fraîche dans les graines et de 62 (± 21) et 3,9 ($\pm 0,6$) $\mu\text{g/g}$ de matière fraîche dans le fourrage.

L'analyse moléculaire (NGS/JSA) et l'analyse de ségrégation réalisées sur les plantes des générations R₁ à R₇ montrent que l'insertion est stable.

II.1.2.4. Conclusions de la caractérisation moléculaire

Les éléments présentés dans le dossier relatifs à la caractérisation moléculaire du soja génétiquement modifié MON87751 ne soulèvent pas de questions particulières liées à la consommation de ce soja. En revanche, il serait souhaitable d'avoir des précisions sur l'objectif poursuivi avec l'utilisation du gène chimérique *cry1A.105* et sur les insectes ciblés par les gènes *cry1A.105* et *cry2Ab2*.

II.1.3. Evaluation comparative

II.1.3.1. Choix de l'équivalent non transgénique et des comparateurs supplémentaires

Le soja MON87751 (générations R₇ (fourrage) et R₈ (graines) pour l'analyse de composition et génération R₇ pour l'analyse des caractéristiques agronomiques et phénotypiques) est comparé avec la variété témoin A3555 et 19 variétés commerciales choisies pour représenter la variabilité génétique, phénotypique, agronomique et de composition chimique des variétés de soja cultivées aux USA.

II.1.3.2. Dispositif expérimental et analyse statistique des données issues des essais au champ pour l'analyse comparative

Pour l'analyse de composition chimique des graines et du fourrage et l'analyse des caractéristiques agronomiques et phénotypiques, le soja MON87751 et la variété témoin A3555 ont été cultivés aux USA sur 8 sites en 2012, de même que les 19 variétés commerciales (4 variétés par site). Ces sites, localisés dans des zones de culture du soja, présentent un large panel de sols, de climats et de pratiques agronomiques. Chaque modalité (variété témoin, variétés commerciales et variété génétiquement modifiée) 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).

Les caractéristiques agronomiques, phénotypiques et de composition sont comparées à l'aide d'analyses de variance en regroupant les résultats de tous les sites expérimentaux. Le soja MON87751 est comparé à la variété témoin A3555 par des tests de différence et aux variétés commerciales par des tests d'équivalence. Une ANOVA est réalisée avec un modèle linéaire mixte incluant :

- un effet fixe "génotype" (indiquant s'il s'agit du soja MON87751, de la variété témoin ou des variétés commerciales),
- des effets aléatoires : "site", "bloc dans le site" et "variété commerciale".

Les erreurs de type 1 retenues par le pétitionnaire sont de 10 % pour les tests de différence et de 5 % pour les tests d'équivalence. Le modèle statistique utilisé, qui inclut un effet fixe "génotype" et un effet aléatoire "variété commerciale", correspond à celui proposé par l'EFSA (2011).

II.1.3.3. Sélection du matériel et des composés pour analyse

L'analyse de composition a été réalisée selon le document consensus de l'OCDE (2012)⁶. Le soja MON87751 est comparé avec la variété témoin A3555 et les 19 variétés commerciales, pour lesquelles il aurait été souhaitable d'avoir des informations sur leur représentativité de l'ensemble des variétés cultivées. Les analyses portent sur la graine crue et le fourrage. Aucune donnée n'est fournie sur les produits dérivés du soja MON87751.

II.1.3.4. Analyse comparative de la composition

Les mesures de 52 composés (45 pour les graines et 7 pour le fourrage) parmi les 66 analysés sont utilisables pour les analyses statistiques. Les résultats des tests statistiques ont été interprétés selon l'approche décrite par l'EFSA (2010)⁷, en classant les variables en 4 catégories (I à IV) selon les résultats du test d'équivalence et 7 types (1 à 7) après combinaison avec les résultats des tests de différence. L'analyse combinée de l'ensemble des sites d'expérimentation de 2012 montre que le soja MON87751 (graines et fourrage) est équivalent aux variétés commerciales.

II.1.3.5. Analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques

Les caractéristiques agronomiques et phénotypiques ont été évaluées sur 9 paramètres. Le soja MON87751 ne se différencie pas du témoin et des variétés commerciales. Il existe une différence sur deux paramètres, mais pour chacun d'eux, la valeur moyenne mesurée sur le soja MON87751 reste dans la plage de variation des valeurs mesurées sur les variétés commerciales.

II.1.3.6. Effets de la transformation

Le pétitionnaire affirme que les produits issus du soja MON87751 ne devraient pas être différents de ceux issus de soja conventionnel mais ne présente aucune analyse des produits transformés.

II.1.3.7. Conclusions de l'évaluation comparative

La caractérisation phénotypique et agronomique et l'analyse de composition du soja MON87751 ne met pas en évidence de différence significative entre ce soja et les variétés conventionnelles pour les graines et le fourrage. Aucune analyse n'a été réalisée sur les produits issus du soja MON87751.

II.1.4. Toxicologie

II.1.4.1. Analyse des protéines nouvellement exprimées

Les protéines Cry sont des delta-endotoxines qui ne sont activées que dans l'environnement alcalin de l'intestin des insectes, où elles se lient à des récepteurs spécifiques de l'épithélium intestinal, conduisant à la formation de pores et à la lyse cellulaire. L'absence de toxicité pour les mammifères s'explique par leur dégradation dans le milieu acide stomacal et l'absence de récepteurs.

A partir de données issues d'un programme général de toxicité sur des protéines Cry, similaire à celui exigé pour les pesticides d'origine chimique, l'EPA a publié de nombreuses exemptions pour différents types de protéines Cry, dont Cry1A.105⁸ et Cry2Ab2^{9,10}. La sécurité des protéines

⁶ OECD. Revised consensus document on compositional considerations for new varieties of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]: key food and feed nutrients, antinutrients, toxicants and allergens. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds No. 25. Organization of Economic Cooperation and Development (OECD), Paris (France), 2012.

⁷ Statistical considerations for the safety evaluation of GMOs, The EFSA Journal 2010; 8(1):1250.

⁸ US EPA, 2006. Cry1A.105 protein and the genetic material necessary for its production in corn in or on all corn commodities; temporary exemption from the requirement of a tolerance.

⁹ US EPA, 2004. *Bacillus thuringiensis* Cry2Ab2; amended exemption from requirement of a tolerance. Federal Register.

¹⁰ US EPA, 2006. *Bacillus thuringiensis* Cry2Ab2 protein and the genetic material necessary for its production in corn in or on all corn commodities; temporary exemption from the requirement of a tolerance.

Cry1A.105 et Cry2Ab2 a par ailleurs été commentée dans le cadre de plusieurs avis de l'EFSA^{11,12,13,14,15}). L'OCDE a également publié un avis sur la sécurité de ces protéines Cry¹⁶.

Le pétitionnaire indique que les protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 du soja MON87751 présentent respectivement 99 % et 97 % d'identité globale de séquence avec les protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 du maïs MON89034, qui a été précédemment évalué par l'EFSA¹⁷ et autorisé pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale en application du Règlement (CE) n° 1829/2003 depuis le 30 octobre 2009¹⁸. Une analyse de toxicité aiguë des protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 du maïs MON89034 chez les mammifères a été réalisée et aucun effet toxique n'a été observé aux doses étudiées (2072 et 2198 mg/kg de poids corporel pour Cry1A.105 et Cry2Ab2, respectivement). En ce qui concerne les interactions potentielles entre ces deux protéines, le pétitionnaire renvoie à l'évaluation du maïs MON89034.

La caractérisation physicochimique et fonctionnelle des protéines Cry du soja MON87751 montre qu'elles ne diffèrent pas de celles qui ont été produites dans *E. Coli* pour réaliser les analyses de toxicité et les tests utilisés dans le cadre de l'évaluation de l'allergénicité. La faible résistance de ces protéines à la température et à la digestion enzymatique suggère que leur potentiel toxique est très faible. Par ailleurs, les analyses bioinformatiques ne montrent aucune homologie entre les protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 et des toxines connues.

II.1.4.2. Analyse des nouveaux constituants autres que les protéines

Le pétitionnaire ne fournit pas d'information sur la présence de nouveaux constituants.

II.1.4.3. Informations sur les constituants naturels de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux

Aucune analyse n'a été réalisée sur des denrées alimentaires ou aliments pour animaux dérivés du soja MON87751.

¹¹ EFSA, 2008. Application (Reference EFSA-GMO-NL-2007-37) for the placing on the market of the insect-resistant genetically modified maize MON 89034, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto.

¹² EFSA, 2009. Scientific Opinion on application (EFSA-GMO-NL-2007-38) for placing on the market of insect resistant and/or herbicide tolerant genetically modified maize MON 89034 × NK603 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto.

¹³ EFSA, 2010. Scientific Opinion on application (EFSA-GMO-CZ-2008-62) for the placing on the market of insect resistant and herbicide tolerant genetically modified maize MON 89034 × 1507 × MON 88017 × 59122 and all sub-combinations of the individual events as present in its segregating progeny, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Dow AgroSciences and Monsanto.

¹⁴ EFSA, 2010. Scientific Opinion on application (EFSA-GMO-NL-2007-39) for the placing on the market of insect resistant and herbicide tolerant genetically modified maize MON89034 × MON88017 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto.

¹⁵ EFSA, 2010. Scientific Opinion on an application (EFSA-GMO-NL-2009-65) for the placing on the market of insect resistant and herbicide tolerant genetically modified maize MON 89034 × 1507 × NK603 and all subcombinations of the individual events as present in its segregating progeny, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Dow AgroSciences and Monsanto.

¹⁶ OCDE, 2007. Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis*.

¹⁷ EFSA, 2008. Application (Reference EFSA-GMO-NL-2007-37) for the placing on the market of the insect-resistant genetically modified maize MON 89034, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto.

¹⁸ Décision 2009/813/CE de la Commission du 30 octobre 2009 autorisant la mise sur le marché de produits contenant du maïs génétiquement modifié MON89034 (MON-89034-3), consistant en ce maïs ou produits à partir de celui-ci, en application du règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement européen et du Conseil (JO L 289 du 5.11.2009, p. 21).

II.1.4.4. Analyse de l'aliment (denrée alimentaire ou aliment pour animaux) génétiquement modifié entier

L'étude a été réalisée en 2013, selon un protocole s'appuyant sur la ligne directrice OCDE 408¹⁹ et en conformité avec les B.P.L.

Les tourteaux de soja préalablement toastés et délipidés entrant dans les régimes alimentaires ont été incorporés à la dose de 30 % uniquement. Les contrôles réalisés sur ces tourteaux ont notamment porté sur les métaux lourds, les aflatoxines et les pesticides. L'aliment standard (PMI Certified Rodent LabDiet #5002) contient habituellement 15 % de tourteau de soja. Un régime à 30 % a donc nécessité l'ajustement des autres constituants.

Deux groupes de 16 rats mâles et 16 rats femelles, lignée Sprague Dawley, ont été nourris avec des régimes alimentaires contenant respectivement 30 % de la variété témoin A3555 et 30 % de la variété génétiquement modifiée MON87751. Le nombre d'animaux (16 rats/groupe/sexe) a été déterminé sur la base d'une étude prospective de la puissance statistique réalisée pour chaque sexe avec les données de 6 études antérieures menées de 2005 à 2008 dans le même centre investigateur. Il correspond aux recommandations de l'Anses (2011)²⁰ et de l'EFSA (2011)²¹ en la matière. L'étude a été réalisée en considérant la cage comme l'unité expérimentale.

Les animaux (2 par cage et par sexe) ont été observés une à deux fois par jour pour la létalité et les signes cliniques généraux, et de façon hebdomadaire pour le poids corporel, la consommation alimentaire et un examen physique détaillé. Un test visant à rechercher des effets neurotoxiques a été pratiqué en fin d'étude chez tous les animaux (test FOB et activité locomotrice exploratoire). Un examen ophtalmologique a été pratiqué avant traitement et en fin d'étude. Les examens hématologiques, biochimiques sanguins et urinaires ont été pratiqués en fin de traitement, avant la nécropsie au cours de laquelle certains organes ont été pesés et certains tissus examinés au microscope, conformément à la ligne directrice OCDE 408.

Le pétitionnaire a réalisé des tests d'égalité des moyennes entre groupes avec des ANOVA. L'erreur de type 1 a été fixée à 5 %. Les analyses ont été réalisées séparément pour les mâles et les femelles. Des modèles mixtes prenant en compte les corrélations entre mesures répétées dans le temps sur un même animal (poids et consommation) ont été utilisés. Les données brutes et les programmes sous format électronique ne sont pas fournis.

Les différences significatives observées ne sont pas biologiquement pertinentes comparativement aux valeurs avant traitement ou en regard des données historiques issues du même centre investigateur, pour des études menées dans des conditions similaires (hébergement par paire et régime contenant 30 % de soja conventionnel). Dans ces conditions, et en l'absence de signes lésionnels macro- ou microscopiques, ces différences ne permettent pas de conclure à un effet toxique.

II.1.4.5. Conclusions de l'évaluation toxicologique

L'évaluation de la sécurité des protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 exprimées dans le soja MON87751 ne met pas en évidence d'éléments permettant de conclure que ces protéines ont un

¹⁹ OCDE (1998). Guideline for testing of chemicals N°408. Repeated dose 90-day oral toxicity study in rodents. Paris, France.

²⁰ Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (2011). Recommandations pour la mise en œuvre de l'analyse statistique des données issues des études de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché d'OGM. Avis de l'ANSES, rapport d'expertise collective, 95 pages.

²¹ EFSA guidance on conducting repeated-dose 90-day oral toxicity study in rodents on whole food/feed. The EFSA Journal 2011; 9(12):2438.

effet toxique sur la santé humaine et animale. L'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat, réalisée avec des tourteaux de soja toastés et déshuilés, ne met pas en évidence d'effets ayant une signification biologique. Elle documente essentiellement le risque lié à la consommation de protéines pour l'alimentation animale ou humaine. L'huile ne contient pas les protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2, mais l'étude ne peut pas documenter le risque lié à sa consommation, compte tenu de la faible quantité d'huile présente dans les tourteaux utilisés.

II.1.5. Allergénicité

II.1.5.1. Évaluation de l'allergénicité de la (des) protéine(s) nouvellement exprimée(s)

Le potentiel allergénique des protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 a été évalué selon les critères de l'EFSA (2011) :

- 1) absence d'allergénicité connue de la source des protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2, *Bacillus thuringiensis*.
- 2) absence d'homologies de séquence entre les deux protéines, Cry1A.105 et Cry2Ab2, et les allergènes avérés et les protéines du gluten (gliadines, gluténines) d'une banque de séquences, lorsque la recherche est effectuée avec l'algorithme FASTA et des fenêtres glissantes de 80 et 8 résidus.
- 3) dégradation rapide des deux protéines en milieu digestif simulé (tests de résistance à la pepsine et de digestibilité *in vitro*).
- 4) le criblage de l'allergénicité des protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 à l'aide de sérums spécifiques provenant d'individus allergiques n'a pas été réalisé : obtenir de tels sérums paraît difficile, car des allergies à l'organisme source (*B. thuringiensis*) n'ont pas encore été identifiées et les protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 ne présentent pas d'homologies de séquence avec des allergènes connus pour lesquels des sérums spécifiques existent.

Les analyses bioinformatiques ne montrent aucune homologie entre les deux protéines, Cry1A.105 et Cry2Ab2, et les adjuvants classiques comme les lectines ou les toxines bactériennes, et le caractère adjuvant de ces protéines n'a jamais été rapporté. La faible teneur en Cry1A.105 et Cry2Ab2 du soja MON87751, la sensibilité de ces protéines aux protéases digestives et leur thermosensibilité 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, qui ne contient pratiquement aucune trace de protéines, ne constitue pas une source d'exposition aux protéines Cry1A.105 ou Cry2Ab2.

L'ensemble de ces résultats suggère que le potentiel allergénique des protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 exprimées dans le soja MON87751 est extrêmement faible.

II.1.5.2. Évaluation de l'allergénicité de la plante génétiquement modifiée entière

Le soja est inscrit dans les allergènes à étiquetage obligatoire (directive de l'EFSA). Les allergies alimentaires au soja (allergènes cachés) et produits dérivés (« lait de soja », tofu, etc.) sont assez fréquentes et parfois graves. 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 de la plante génétiquement modifiée et de son comparateur à l'aide de sérums de patients allergiques. L'objectif est de déceler une éventuelle modification de l'allergénicité induite par l'introduction du ou des transgène(s) (augmentation de la synthèse de certains allergènes par exemple). Ce type d'expériences a été réalisé par le pétitionnaire, selon deux approches :

- 1) dosages ELISA sur des extraits du soja génétiquement modifié MON87751, du soja témoin A3555 et de 16 variétés de soja conventionnelles à l'aide de sérums d'individus allergiques

contenant des IgE spécifiques : les résultats montrent que les sojas MON87751 et A3555 ont une capacité de fixation des IgE spécifiques comparable à celles des sojas conventionnels.

2) comparaison des teneurs en allergènes des sojas MON87751 et A3555 par SDS-PAGE 1D et 2D suivies d'analyses par spectrométrie de masse (pour confirmer l'identité des allergènes) et d'une quantification des bandes (1D) et des spots (2D) : aucune différence significative entre le soja MON87751 et le témoin A3555 n'a été mise en évidence.

L'ensemble de ces résultats indiquent que l'introduction des gènes *cry1A.105* and *cry2Ab2* dans le génome du soja MON87751 ne modifie pas sensiblement l'allergénicité de ses graines par rapport à l'allergénicité naturelle des graines de soja.

II.1.5.3. Conclusions de l'évaluation de l'allergénicité

Sur la base des éléments fournis dans le dossier, le potentiel allergénique des protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 exprimées dans le soja MON87751 paraît extrêmement faible. Ces protéines ne partagent aucune homologie de séquence avec des protéines à propriétés adjuvantes (toxines) et des propriétés adjuvantes n'ont jamais été rapportées pour ces protéines. Leur expression dans le soja MON87751 ne modifie apparemment pas l'allergénicité des graines de ce soja par rapport à celle des graines de sojas conventionnels. Enfin, l'huile, préparée à chaud, blanchie et désodorisée, ne renferme pratiquement aucune trace de protéines.

II.1.6. Evaluation nutritionnelle

Le pétitionnaire n'a pas réalisé d'évaluation nutritionnelle, estimant avoir démontré l'équivalence de composition entre le soja MON87751 et les variétés conventionnelles.

II.2 Évaluation de l'exposition - Prévission de la quantité consommée ou de l'étendue de l'utilisation

Le pétitionnaire présente une estimation de la consommation journalière des protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 présentes dans le soja MON87751. Il se base sur les consommations actuelles de soja en Europe par les différentes productions animales et la teneur maximale de ces protéines dans la graine de soja et considère que tout le soja consommé serait représenté par cette variété. Chez le poulet, la consommation journalière maximale estimée des protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 serait respectivement de 0,0009 % et 0,0014 % de leur ingéré protéique total. Des valeurs du même ordre sont obtenues chez le porc et la vache laitière.

Le pétitionnaire présente une estimation de la consommation maximale de soja MON87751 par l'Homme en se basant sur le programme GEMS/Food 2014 de l'OMS, en considérant que cette variété est la seule représentée et en utilisant les teneurs en protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 mesurées dans la graine entière du soja MON87751. Chez les enfants de moins de 6 ans, la consommation maximale estimée serait de 11,7 et 20,0 µg/kg/j de Cry1A.105 et Cry2Ab2, respectivement. Pour la population générale, la consommation maximale estimée serait de 6,4 et 10,9 µg/kg/j de Cry1A.105 et Cry2Ab2, respectivement.

II.3 Caractérisation des risques

Le pétitionnaire présente également un calcul des marges de sécurité pour la population générale et les enfants de moins de 6 ans. Le GT considère que la démarche utilisée par le pétitionnaire n'est pas adaptée, car elle s'appuie sur une étude de toxicité aiguë par administration unique.

Le pétitionnaire fonde sa caractérisation des risques sur les données relatives aux protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2. Cette approche ne prend pas en compte les résultats de l'étude de toxicité par administration répétée des tourteaux de graines du soja MON87751 pendant 90 jours chez le rat.

II.4 Surveillance de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifié(e) consécutive à sa mise sur le marché

Le pétitionnaire n'a pas proposé de plan de surveillance de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifié(e) consécutive à sa mise sur le marché.

Conclusions du Groupe de travail « Biotechnologie »

Les éléments présentés dans le dossier relatifs à la caractérisation moléculaire du soja génétiquement modifié MON87751 ne soulèvent pas de questions particulières liées à la consommation de ce soja. Sur la base des éléments fournis dans le dossier, le potentiel allergénique des produits dérivés du soja MON87751 paraît extrêmement faible.

La caractérisation phénotypique et agronomique et l'analyse de composition du soja MON87751 ne met pas en évidence de différence significative entre ce soja et les variétés conventionnelles pour les graines et le fourrage. Par conséquent, l'évaluation nutritionnelle de ce soja n'est pas nécessaire.

L'évaluation de la sécurité des protéines Cry1A.105 et Cry2Ab2 exprimées dans le soja MON87751 ne met pas en évidence d'éléments permettant de conclure que ces protéines ont un effet toxique sur la santé humaine et animale. L'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat, réalisée avec des tourteaux de soja toastés et déshuilés, ne met pas en évidence d'effets ayant une signification biologique. Compte tenu du fait que le tourteau ne contient qu'une très faible quantité d'huile, l'étude ne peut pas documenter le risque lié à sa consommation.

L'ensemble de ces éléments ne permet pas d'identifier un risque sanitaire lié à la consommation de graines et de produits dérivés du soja MON87751.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

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

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

OGM, Soja MON87751, Cry1A.105, Cry2Ab2, résistance aux lépidoptères