



AVIS
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail
relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement
modifié MON 87708, développé pour être tolérant à certains herbicides, pour
l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et
animale de cet OGM au titre du règlement (CE) N°1829/2003.

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 vendredi 20 mai 2011 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié MON 87708, développé pour être tolérant à certains herbicides pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM au titre du règlement (CE) n°1829/2003 (dossier EFSA SE-2010-88).

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. L'analyse du CES suit les sections, telles que définies dans le formulaire de commentaires de l'EFSA.

3. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisé "Biotechnologie", réuni le 11 juillet 2011.

4. ANALYSE DU CES

(A) Information générale

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

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

La demande est une première demande d'autorisation de mise sur le marché pour l'alimentation humaine et animale du soja génétiquement modifié MON 87708 et de ses produits dérivés. Elle ne concerne pas sa mise en culture.

MON 87708 contient le gène codant l'enzyme DMO (dicamba O-déméthylase), une mono-oxygénase provenant de la bactérie *Stenotrophomonas maltophilia* (*S.maltophilia*) qui déméthyle la molécule de l'herbicide dicamba pour former le 3,6 DCSA (3,6-dichloro salicylique acide) et le formaldéhyde. L'enzyme rend ainsi le soja résistant à cet herbicide. Il conviendrait donc également d'évaluer dans le cadre du règlement (CE) N°1107/2009, le métabolisme de ces herbicides quand ils sont appliqués au soja MON 87708.

Le dicamba est un herbicide sélectif systémique de la famille des acides benzoïques, qui agit par analogie avec les auxines végétales. Le DCSA est un des métabolites du dicamba chez les végétaux. L'intérêt de la modification génétique est de permettre une lutte plus facile contre les adventices du soja.

(C) Informations relatives à la modification génétique

(1) Le soja MON 87708 résulte de la transformation de méristème de soja conventionnel de la lignée A3525 par *Agrobacterium tumefaciens* à l'aide d'un plasmide portant deux ADN-T : le premier, désigné ADN-T I, contient une cassette d'expression du gène *dmo* et le second ADN-T II contient une cassette d'expression du gène *cp4 epsps*.

Au cours de la transformation, les 2 ADN-T sont insérés simultanément dans le génome de soja. La résistance au glyphosate apportée par l'ADN-T II ne sert qu'à sélectionner les plantes transformées. Par des méthodes conventionnelles d'auto-fécondation et de croisement, les plantes ne comportant que l'ADN-TI ont été sélectionnées pour conduire au soja MON 87708 tolérant au dicamba et ne portant aucun marqueur de sélection.

(2) L'ADN-TI contenant la cassette d'expression du gène *dmo* est composée de :

- la bordure droite de l'ADN-T ;
- le promoteur du FLt (*Full-Lenght transcript*) du virus de la cacahuète PC1SV (*Peanut Chlorotic Streak Caulimovirus*) ;
- la région 5' non codante du virus de tabac TEV (Tobacco Etch Virus) ;
- la séquence codant le peptide signal et les 24 premiers acides aminés de la petite sous-unité de la ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase-oxygénase ou RuBisCO du Pois (*pisum sativum*) qui permet l'adressage de la protéine DMO dans les chloroplastes ;
- la séquence codante *dmo* provenant de la bactérie *Stenotrophomonas maltophilia* ;

- la région 3' non traduite du gène *RbcS2* (codant la petite sous-unité de la RuBisCO du Pois) ;
- la bordure gauche de l'ADN-T.

La séquence codante de la dicamba O-déméthylase de *Stenotrophomonas maltophilia* intégrée dans l'événement MON 87708 présente une alanine supplémentaire en position 2 et une substitution du tryptophane en cystéine en position 112. Un peptide de 84 acides aminés (AA) a été fusionné en phase à l'extrémité N-terminale du gène *dmo*. Ce peptide est constitué (1) d'une séquence d'adressage au chloroplaste (57 AA), (2) des 24 premiers AA de la petite sous-unité de la RuBisCO du Pois (dont la fonction serait de stabiliser *in planta* l'expression de la DMO) et (3) de 3 AA de liaison.

(D) Informations relatives à la plante génétiquement modifiée

- (1)** La séquence de localisation aux chloroplastes ou CTP (*Chloroplast Transit Peptide*) est clivée au moment de l'adressage, ce qui conduit à la formation d'une protéine de 367 acides aminés (cette forme est dénommée DMO+27). Cependant, une forme protéique de 339 acides aminés est également produite. Cette forme correspond à l'élimination du CTP, des 27 acides aminés suivant et de la méthionine (elle est dénommée DMO).

Le soja génétiquement modifié MON 87708 produit donc deux formes de la protéine DMO qui coexistent (MON 87708 DMO et MON 87708 DMO+27). Considérant que la forme active de l'enzyme est constituée de 3 monomères de DMO, il est fait l'hypothèse que dans le soja MON 87708, le trimère se forme à partir de MON 87708 DMO, de MON 87708 DMO+27 ou d'une combinaison des 2. Aucune expérience ne vient soutenir cette hypothèse et la genèse de la forme MON 87708 DMO n'est pas explicitée dans le dossier du pétitionnaire.

Les différences de séquence en acides aminés de la DMO de soja MON 87708 (alanine en position 2 et cytosine en position 112) par rapport à la DMO sauvage sont localisées en dehors du site catalytique de l'enzyme.

- (2)** Des analyses par Southern blot de l'ADN génomique, extrait de feuilles de soja MON 87708 ont été réalisées afin de caractériser l'insertion. Le témoin utilisé est l'ADN génomique extrait de la lignée A3525. Les résultats fournis dans le dossier indiquent que l'événement MON 87708 contient une copie de l'ADN-T I intégrée en un seul locus. Aucune séquence de l'ADN-T II et du squelette du plasmide de transformation n'a été détectée.

La séquence de l'insert et des régions 5' et 3' adjacentes a été déterminée par PCR et séquençage. Le soja MON 87708 comporte un insert de 3003 pb. Les séquences bornant l'insert ont été déterminées : 1048 pb en 5' et 1271 pb en 3'. Le locus d'intégration présente par rapport à la séquence génomique de soja sauvage, en 5' une insertion de 128 pb et en 3' une délétion de 899 pb et une insertion de 35 pb.

Les résultats des analyses bioinformatiques des séquences du site d'insertion indiquent que l'insertion de l'ADN-T dans le MON 87708 ne s'est pas produite au sein ou à proximité immédiate d'un gène.

L'expression de protéines de fusion potentielles est étudiée par analyse bioinformatique basée sur la recherche d'ORF (Open Reading Frame ou phase ouverte de lecture) dans les régions de jonction entre l'insert et le génome de soja. Les séquences de jonction 5' et 3' ont été traduites dans les 6 phases de lecture entre 2 codons STOP. Les polypeptides ainsi définis d'une longueur au moins égale à 8 acides aminés ont été comparés aux bases de données de séquence¹ (version 2011). Aucun des polypeptides retenus pour ces analyses ne présente d'homologie avec un allergène, une toxine ou une protéine biologiquement active connus.

La séquence de l'insert de MON 87708 a été traduite dans les 6 phases de lecture et la recherche d'alignement avec les bases de données¹ mises à jour en 2011 ne révèle aucune similitude avec un allergène, une toxine ou une protéine biologiquement active (à l'exception des séquences de DMO et RuBisCO).

¹ Bases de données publiques répertoriant les allergènes, toxines et protéines connues AD_2011, TOX_2011 et PRT_2011.

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

La cassette *dmo* insérée dans MON 87708 conduit à la production de 2 formes polypeptidiques. La présence et l'identité de ces polypeptides ont été confirmées par Western blot en utilisant un anticorps spécifique de DMO, par séquençage des 15 premiers acides aminés de l'extrémité N-terminale et par analyse en spectrométrie de masse des peptides produits après digestion trypsique. La masse moléculaire apparente de MON 87708 DMO et MON 87708 DMO+27 a été estimée, respectivement à 39,8 et 42 kDa. Aucun des 2 produits n'est glycosylé. L'analyse par Western blot d'extrait protéique de plante montre la présence des 2 bandes, en quantité similaire. Les deux formes de la protéine DMO coexistent donc dans le soja MON 87708 toutefois on ne connaît pas leur localisation intracellulaire.

Les concentrations de la protéine DMO ont été évaluées par ELISA avec un anticorps qui reconnaît les deux formes de la protéine.

Les échantillons de plantes provenaient de l'essai décrit au point 7.1-3 (8 sites aux USA en 2009). Les parties des plantes examinées sont : les feuilles à 4 stades du développement, les racines, le fourrage et les graines matures. Les résultats sont résumés dans le tableau 1. La concentration dans les graines est de 40+/-11 µg/g de poids sec avec comme valeurs extrêmes 21 et 65.

Tableau 1 : Teneurs en DMO en µg/g de poids sec des principaux tissus de soja MON 87708.

	Teneur moyenne en DMO en µg/g de poids sec (SD)[Gamme]
Feuille stade 4	53 (11) [25-120]
Racines	5,3 (3,8) [1,3-21]
Fourrage	32 (9,4) [15-54]
Graines	40 (11) [21-65]

(5) Informations relatives à la stabilité génétique de l'insert et à la stabilité phénotypique de la plante

Une analyse par Southern blot de l'ADN de MON 87708 a été réalisée sur 5 générations d'autofécondation (désigné par R et suivi du nombre d'autofécondation). Les ADN issus des générations R2, R4, R5 et R6 présentent le même profil d'hybridation que celui de l'ADN R3. Les résultats de cette analyse montrent que l'insertion de l'ADN dans le MON 87708 est stable sur les 5 générations testées.

Un croisement est réalisé entre la génération R4 de MON 87708 et une variété non transgénique, produisant ainsi une plante F1. Trois générations F2, F3 et F4 sont obtenues par autofécondation et sont testées pour la présence de la cassette d'expression *dmo* par analyse moléculaire. L'analyse de la ségrégation de la cassette *dmo* est conforme au type mendélien indiquant que cette séquence est présente en 1 site unique ayant eu lieu dans le génome nucléaire de MON 87708.

(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

Dans l'étude présentée, les sojas ont été cultivés sur 8 sites répartis dans différents Etats des Etats-Unis au cours de l'année 2009, selon un plan d'expérience en blocs randomisés avec 4 blocs par site. La variété MON 87708 traitée ou non traitée par le dicamba a été comparée à la variété A3525 dont elle est issue. Les mesures ont également été effectuées sur 14 variétés commerciales cultivées conjointement à la lignée MON 87708 et à son

comparateur à raison de 3 de ces variétés par site. Les choix des nutriments et des substances anti-nutritionnelles sont ceux recommandés par l'OCDE².

L'analyse de composition des échantillons a porté :

- pour la plante entière (fourrage), sur sept paramètres proximaux (protéines totales, hydrates de carbones totaux, fibres ADF et NDF, humidité, cendres et lipides) ;
- pour la graine, sur les 7 paramètres proximaux précédents, 18 acides aminés, 8 acides gras (C8-C22), la vitamine E, 5 facteurs antinutritionnels (lectine, acide phytique, inhibiteur de trypsine, raffinose et stachyose) et 3 isoflavones (daïdzéine, génistéine et glycitéine).

Les valeurs en dessous de la LOQ (14 dans les graines) n'ont pas été prises en compte dans l'analyse. Deux types d'analyse de variance basés sur des modèles mixtes ont été réalisés successivement pour le soja génétiquement modifié (GM) non traité et pour le soja GM traité avec l'herbicide site par site et tous sites confondus. Ces ANOVA ont pour objectif d'identifier les différences de composition entre la plante GM et le comparateur. Lorsque l'ANOVA « tous sites confondus » révèle une différence significative (erreur de type 1 de 5%), la moyenne mesurée sur la plante GM est comparée à un intervalle de tolérance contenant 99% des valeurs issues de variétés commerciales (avec une confiance de 95%). Les résultats des substances qui présentent une différence significative avec l'ANOVA « tous sites confondus », sont examinés sur chacun des 8 sites.

L'approche suivie par le pétitionnaire ne tient pas compte de l'incertitude associée à l'estimation des compositions moyennes de la variété GM ne permettant pas de réaliser un test d'équivalence selon les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2010³).

Des différences de concentration de certains composés ont été observés entre les sojas MON 87708 et A3525. Ces différences sont de faible amplitude et sont comprises dans l'intervalle de tolérance établi à partir des variétés commerciales. Elles ne sont pas observées sur plusieurs sites pour les mêmes substances.

Des différences significatives sont observées entre la variété GM et témoin pour quelques facteurs antinutritionnels (stachyose, acide phytique et inhibiteurs tryptiques). En particulier, les valeurs des activités d'inhibiteurs tryptiques sont augmentés (de 10 à 30%) dans la plante GM par rapport au témoin et les gammes de valeurs sortent des intervalles de tolérance établis à partir des variétés commerciales à la fois pour l'analyse de la combinaison des 8 sites, pour deux sites individuels non traités et pour un site traité.

Pour de tels résultats, il serait pertinent de démontrer l'équivalence par un test statistique tel que proposé par l'EFSA. En cas de non équivalence, les différences observées devraient être discutées.

Par ailleurs, aucun effet du traitement par le dicamba n'est observé sur les résultats.

(7.4) Analyse comparative des caractéristiques agronomiques

Les caractères agronomiques et phénotypiques des sojas MON 87708 ont été comparés à ceux de plantes témoins (lignée A3525) à partir de l'essai précédemment décrit. Les propriétés agronomiques, sauf une (le poids moyen de 100 grains), de la variété MON 87708 traité ou non traité par le dicamba n'étaient, pour l'ensemble des sites, pas différentes de celles des contrôles. Par ailleurs, aucun impact de la variété MON 87708 sur les arthropodes dans l'ensemble des sites n'a été détecté. Aucune différence n'est observée sur la sensibilité vis-à-vis des maladies et sur les 8 stress abiotiques testés.

Les caractéristiques agronomiques de la variété MON 87708 ne sont pas significativement différentes de la variété de référence A3525.

² Consensus document on compositional considerations for new varieties of soybean : Key food and feed nutrients and anti-nutrients, ENV/JM/MONO(2001)15, 30 November 2001.
<http://www.oecd.org/dataoecd/15/60/46815135.pdf>

³ Statistical considerations for GMOs safety EFSA Journal 2010; 8(1):1250
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1250.pdf>

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

Les étapes de transformation de la graine sont décrites ainsi que les produits destinés à l'alimentation humaine et animale en résultant.

L'effet des traitements technologiques de la graine notamment l'effet de la chaleur conduit à la destruction de certains facteurs antinutritionnels.

Aucune donnée quantitative de la teneur en protéine DMO dans les produits de transformation du soja n'est fournie. Toutefois, un facteur de correction est appliqué afin de tenir compte de l'enrichissement protéique après transformation de la graine pour calculer l'exposition de l'homme et de l'animal à la protéine DMO à partir de la quantité de protéine mesurée dans les graines.

(7.7) Utilisation et consommation prévue

Le principal produit alimentaire pour l'homme à base de soja est l'huile, il ne contient plus de protéine. La présence de la protéine dans notre alimentation sera donc essentiellement liée à d'autres produits dérivés.

L'estimation de l'exposition repose sur le programme GEMS de l'OMS (Global Environment Monitoring System de l'Organisation mondiale de la santé). Selon ce programme, la consommation régulière la plus élevée de produits dérivés du soja atteint 3,03 g/kg poids corporel p.c./ jour chez l'adulte et 5,55 g/kg p.c./ jour chez l'enfant de moins de 6 ans. Cette estimation est maximaliste, car elle considère que tout le soja consommé est du soja MON 87708.

La teneur en protéine DMO dans la graine a été estimée à 36 µg/kg de matière fraîche (MF). Après application du facteur de correction de 1,35 pour tenir compte de l'enrichissement protéique suite à la transformation de la graine, la concentration dans les produits dérivés est en moyenne de 48,6 µg/kg MF.

(7.8) Toxicologie

L'évaluation du potentiel toxique de la protéine DMO est basée sur les données suivantes :

- La protéine extraite (forme DMO et DMO+27) du soja MON 87708 a été caractérisée par différentes analyses moléculaires : poids moléculaire par électrophorèse (SDS/PAGE), profil en immunoblot, séquences N-terminale, séquences des peptides internes après digestion trypsique, activité enzymatique (mesure de la production de DCSA), état de glycosylation. Ces analyses confirment la structure et l'activité (spécifique vis-à-vis du dicamba) de l'enzyme produite par les sojas MON 87708.
- L'organisme donneur, *Stenotrophomonas maltophilia* est répandu dans l'environnement, associé à la rhizosphère. Sa présence a été occasionnellement mise en évidence dans des denrées prêtes à être consommées. La bactérie a été également isolée sur des personnes en bonne santé, et ne serait pathogène que dans des circonstances particulières.
- La protéine DMO est proche d'autres oxygénases de type Riesk, présentes dans l'alimentation de l'homme et des animaux.
- Une analyse *in silico* indique que la protéine DMO ne présente aucune homologie de séquence avec des protéines toxiques connues répertoriées dans les banques de données actualisées .
- Un essai de toxicité par administration unique de la protéine extraite du soja a été réalisé chez la souris albinos CD-1. Aucune anomalie clinique, baisse de croissance ou de consommation alimentaire, lésion macro ou microscopique n'ont été relevée après 14 jours d'observation quotidienne. Cette étude permet de conclure qu'à la dose de 140 mg/kg poids corporel, aucun effet néfaste n'est observé chez l'animal. Toutefois pour cette étude, le choix de la dose mise en œuvre aurait du être justifié.

Considérant les données de consommation et d'exposition précédemment décrites et la dose maximale administrée dans cette étude, un coefficient de sécurité après une consommation ponctuelle a été calculé. Celui-ci (de l'ordre de 500 chez l'enfant et 1000 chez l'adulte) est considéré comme suffisant pour les experts. La teneur en protéines est exprimée en poids

frais alors que les données de consommation de soja le sont en poids sec. Un calcul de la teneur en poids sec conduit à des marges légèrement inférieures.

(7.8.4) Étude de toxicité sub-chronique

Une étude pour évaluer la toxicité potentielle sub-chronique des tourteaux de soja a été réalisée, selon la ligne directrice 408 OCDE, sur des groupes de 12 rats Sprague Dawley par type de traitement et par sexe. Le protocole comprend 8 groupes recevant chacun pendant 90 jours une alimentation contenant des tourteaux de soja incorporés à raison de 15 ou 30%.

Les sojas testés sont le soja MON 87708, le soja A 3525 (comparateur) et deux lignées commerciales. Les rats ayant reçu le soja MON87708 ont été comparés à ceux ayant reçu le soja témoin.

Des examens cliniques ont été conduits durant l'essai. Des échantillons de sang et d'urine ont été prélevés au moment du sacrifice (semaine 13).

L'analyse statistique des résultats des paramètres hématologiques et biochimiques repose sur des tests de différence paramétriques entre traitements. Seules les comparaisons entre les lots test MON 87708 et témoin A3525 ont été réalisées. La procédure exacte, en particulier le modèle statistique utilisé, n'est pas précisée.

Aucune mortalité n'a été observée. Aucune différence significative n'a été relevée dans la croissance pondérale, la consommation alimentaire et les observations cliniques.

Parmi les paramètres biochimiques et hématologiques, quelques différences statistiquement significatives isolées et sans signification biologique sont observées. Les résultats des 4 groupes de références (animaux nourris avec les lignées commerciales) n'ont pas été intégrés dans l'analyse statistique, leur examen montre des valeurs moyennes proches de celles des groupes test et témoin. Les résultats de cette étude ne révèlent donc pas d'effet toxique lié à la consommation de soja MON 87708.

Toutefois, considérant que le matériel testé doit être aussi proche que possible du produit final tel que consommé, il est souhaitable que les sojas testés soient traités au dicamba. Cette information n'est pas précisée. De plus, il est souligné que cette étude ne documente pas la sécurité de l'huile issue du soja MON 87708 destinée à l'alimentation humaine et que la mise en œuvre d'un faible nombre d'animaux (12 rats de chaque sexe par groupe), augmente le risque d'avoir une puissance insuffisante pour les tests statistiques.

(7.9) Evaluation nutritionnelle

Une étude d'alimentarité a été réalisée chez des poulets de façon à comparer les caractéristiques nutritionnelles du soja MON 87708 avec le témoin A3525.

Le protocole met en œuvre 800 poulets (400 mâles et 400 femelles, 10 répétitions par traitement, 8 traitements) nourris pendant 42 jours avec deux régimes [correspondant aux périodes de démarrage (0-21 jours), de croissance/finition (21-42 jours) à base de tourteaux de soja génétiquement modifiés (incorporés à hauteur de 32 et 30%, respectivement) en comparaison avec des poulets nourris dans les mêmes conditions avec du soja témoin A3525 ou 6 variétés commerciales de soja.

L'analyse de composition chimique entre le soja génétiquement modifié MON 87708 et le soja témoin de l'aliment a été réalisée. Les principaux contaminants chimiques et anti-nutriments ont été recherchés.

Les observations ont porté sur 6 paramètres zootechniques, 7 données de carcasse, 3 paramètres sur la composition de 2 muscles des animaux découpés. Le taux de mortalité est enregistré pour la période 0-7 jours et 7-42 jours.

L'analyse statistique des résultats des paramètres mesurés dans l'étude ne met pas en évidence de différence due aux traitements entre les animaux nourris avec les sojas MON 87708 génétiquement modifiés et les sojas témoins A3525 ou les variétés commerciales testées.

(7.10) Allergénicité

L'évaluation de la potentialité allergène de la protéine DMO du MON 87708 s'est appuyée sur les critères suivants :

- L'absence d'allergénicité liée à *Stenotrophomonas maltophilia* ;
La bactérie est une bactérie répandue dans l'environnement et n'est pas connue pour être allergène chez l'Homme.
- L'absence d'homologie avec des protéines allergènes connues ;
Une comparaison de la protéine DMO avec les allergènes connus a été faite à l'aide du programme FASTA, en recherchant le pourcentage d'identité sur un fragment d'au moins 80 acides aminés. Aucune séquence n'atteint ou ne dépasse le seuil de 35%.
La recherche des séquences de 8 acides aminés identiques s'est révélée négative.
- Digestion enzymatique *in vitro* en présence de fluides digestifs
Un essai a été réalisé en milieu gastrique simulé renfermant de la pepsine et en milieu intestinal simulé contenant de la pancréatine. La protéine DMO du MON 87708 est totalement dégradée en moins de 30 secondes dans le fluide gastrique, et à plus de 95 % en moins de 5 minutes dans le fluide intestinal.

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

Considérant que le soja est l'un des 8 aliments responsables à eux seuls de 90% des allergies alimentaires, la modification potentielle de l'expression des autres substances allergènes dans la plante génétiquement modifiée a été évaluée.

Des immuno-essais ont donc été réalisés avec les sérums de 13 patients allergiques au soja et de 5 sujets non-allergiques. Les résultats des tests ELISA sont comparables pour le soja 87708 et les 17 variétés de soja conventionnelles testées, ce qui confirme que la transformation génétique n'a pas modifié les caractéristiques allergènes de la plante.

Ces essais ont été complétés par une analyse par Western blot sur le sérum de 20 sujets allergiques au soja. L'examen des plaques d'immunoélectrophorèse ne montre pas de différences entre les extraits de soja 87708 et les sojas conventionnels.

5. CONCLUSION DU CES

Au regard des résultats moléculaires présentés, l'événement de transformation intégré dans le génome des sojas MON87705 correspond à l'insertion d'une copie stable en un seul locus de la cassette d'expression du gène *dmo*. Le site d'intégration et les régions flanquant l'insert ont été caractérisés et leur analyse ne soulève pas de question de sécurité sanitaire concernant ces sojas.

Le soja MON 87708 exprime le produit attendu ainsi qu'une forme tronquée de la séquence fusionnée de RuBisCO. Le CES considère que des éléments permettant de mieux comprendre la genèse de cette deuxième forme auraient dû être apportées. De même, la stratégie de construction basée sur l'introduction de deux ADN-T et sur l'élimination du caractère de résistance au glyphosate n'est pas expliquée.

L'analyse comparée de composition chimique des graines et du fourrage de soja montre que la composition chimique des sojas MON 87708 n'est pas différente de celle du soja témoin et des variétés commerciales pour la plupart des composés analysés. Cependant, les résultats obtenus avec les activités d'inhibiteurs trypsiques auraient dû inciter le pétitionnaire à démontrer l'équivalence par des tests statistiques appropriés. En cas de non équivalence, les différences observées devraient être discutées.

L'analyse des résultats de l'étude d'alimentarité chez le poulet durant 42 jours à partir des tourteaux de sojas MON 87708 permet de conclure que ces tourteaux ne présentent pas de propriétés nutritionnelles différentes de celles des tourteaux de soja témoin.

L'analyse des résultats de l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours ne révèle pas d'effet toxique lié à la consommation de tourteaux de sojas MON 87708, cependant étant donné la nature de la modification génétique, il paraît indispensable de tester dans cette étude des sojas traités par le dicamba. Or cette information n'a pas été précisée. De plus, il est fait remarquer que cette étude ne documente pas la sécurité de l'huile destinée à la consommation.

En l'absence de ces éléments, le CES estime qu'il ne peut se prononcer sur la sécurité sanitaire des sojas MON87708 et de leurs produits dérivés.

6. CONCLUSION DE L'AGENCE

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

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

OGM, soja MON 87708, tolérance au dicamba, gène *dmo*.