



AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
DES ALIMENTS

Maisons-Alfort, le 3 mars 2010

## AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments  
relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché du soja  
génétiquement modifié MON87701xMON89788 tolérant à un herbicide et résistant à  
des insectes, pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale  
de cet OGM, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003**

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

### 1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 16 décembre 2009 par la Direction générale de concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis sur un dossier d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié MON87701xMON89788, tolérant à un herbicide et résistant à des insectes, pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de grains et de ses produits dérivés, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003 (dossier n°EFSA-NL-2009-73).

### 2. CONTEXTE

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 décidé de permettre 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'Afssa.

### 3. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective été réalisée par le Comité d'expert spécialisé "Biotechnologie", réuni le 18 février 2010.

### 4. ARGUMENTAIRE

L'argumentaire suit les sections des lignes directrices de l'EFSA relatives aux demandes d'autorisation de mise sur le marché d'OGM pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale, au titre du règlement (CE) n° 1829/2003.

#### (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*) se retrouvent mélangées à la récolte du soja.

27-31, avenue  
du Général Leclerc  
94701

Maisons-Alfort cedex  
Tel 01 49 77 13 50  
Fax 01 49 77 26 13  
www.afssa.fr

REPUBLIQUE  
FRANÇAISE

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. Il existe peu d'herbicides spécifiques sans effet sur les légumineuses.

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.

Cette demande d'autorisation de mise sur le marché concerne le soja (et produits dérivés) portant les événements de transformation MON87701 et MON89788 ; elle ne concerne pas sa mise en culture.

Le soja MON87701xMON89788 est issu du croisement conventionnel de deux lignées transgéniques : MON87701 et MON89788.

Les sojas portant l'événement de transformation MON89788 ont déjà été évalués par l'Afssa en 2007 et ont fait l'objet d'un avis (avis du 6 août 2007, 2007-SA-0187). L'avis concluait que la caractérisation moléculaire était bien établie ainsi que l'équivalence de composition et de valeur nutritionnelle du soja MON89788 par rapport au soja témoin A3244. Il considérait que le seul résumé de l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat, en l'absence des données expérimentales détaillées, ne permettait pas de se prononcer sur la sécurité sanitaire des produits dérivés du soja MON 89788.

Les données ont été fournies à l'EFSA et les sojas MON89788 ont reçu un avis favorable le 2 juillet 2008 (EFSA J., 2008, 758, 1-23) et sont autorisés sur le marché européen depuis le 4 décembre 2008 pour l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale (décision 2008/933/EC).

Le soja MON87701 n'a fait l'objet d'aucune évaluation européenne jusqu'à présent. L'avis ne reprend pas l'évaluation de l'événement de transformation MON89788 (cf. avis 2007-SA-0187), il porte plus spécifiquement sur l'évaluation des données des sojas MON87701 et celles des sojas MON87701xMON89788.

Les sojas MON87701xMON89788 expriment les protéines CRY1Ac et CP4 EPSPS qui confèrent respectivement à la plante la résistance à certains lépidoptères (*Anticarsia gemmatilis*, *Pseudoplusia includens*, *Epinotia aporema* ou *Rachiplusia nu*) et la tolérance au glyphosate. Les espèces de lépidoptères citées ne sont présentes que sur le continent américain.

(C) **Informations relatives à la modification génétique**

**Soja MON87701**

- (1) Le soja MON87701 a été obtenu par transformation de tissus méristématiques du cultivar A5547 à l'aide d'une souche d'*Agrobacterium tumefaciens*. Cette technique de transformation permet d'introduire directement le gène dans le germe de la lignée élite. Le vecteur (15,5kb) est composé de deux ADN-T, l'un contenant une cassette d'expression du gène *cry1Ac* et l'autre une cassette d'expression du gène *cp4 epsps*. Le premier événement issu de la transformation contenait donc deux insertions dans des *loci* distincts et indépendants. Le gène *cp4 epsps* a été utilisé comme marqueur de transformation, puis l'insert contenant *cp4epsps* a été éliminé par ségrégation. Au final, le soja MON87701 est issu de plusieurs cycles d'auto-pollinisation et ne contient qu'un seul insert comprenant la cassette d'expression du gène *cry1Ac*.
- (2) **La cassette d'expression du gène *cry1Ac* comprend** : la bordure droite de l'ADN-T, le promoteur et la partie 5' transcrite non traduite du gène de la rubisco (sous unité 1 A) d'*Arabidopsis thaliana*, la séquence codant le peptide de transit vers les chloroplastes de la rubisco (sous unité 1 A) d'*Arabidopsis thaliana*, le gène codant la protéine CRY1Ac de

*Bacillus thuringiensis* (recodé pour une expression compatible avec l'usage des codons chez les plantes), la région 3' du gène *sphas1* de soja codant la  $\beta$ -conglycinine une protéine de stockage de la graine, comprenant 35 nucléotides de la séquence codante (extrémité C-terminale) ainsi qu'un codon stop et une séquence de polyadénylation, la bordure gauche de l'ADN-T.

La protéine CRY1Ac, exprimée dans les sojas MON87701, présente plus de 99% d'identité de séquence en acide aminé avec la protéine de *Bacillus thuringiensis*. Elle possède à son extrémité N-terminale, 4 acides aminés supplémentaires issus du peptide de transit. Ces acides aminés ne modifient pas l'activité insecticide de la protéine.

#### **Soja MON89788**

Cf. avis Afssa 2007-SA-0187 du 6 août 2007.

#### **Soja MON89788xMON87701**

Le soja MON87701xMON89788 a été obtenu par un croisement conventionnel des lignées MON87701 et MON89788. Aucune méthode de transformation génétique n'a été utilisée et le soja issu du croisement ne contient pas d'autres modifications génétiques que celles contenues dans les deux parents. La plante comportant l'événement de transformation initial a subi deux rétrocroisements successifs avec la lignée MON87701 suivi de quatre cycles d'autofécondation. Le soja MON87701xMON89788 possède un fond génétique proche de la lignée A5547 qui est la lignée ayant été utilisée pour la création de MON87701.

#### **(D) Informations relatives à la plante génétiquement modifiée MON87701**

Des hybridations de type Southern ont été effectuées sur l'ADN du soja MON87701 en utilisant des sondes couvrant pratiquement l'intégralité du vecteur de transformation et permettant de détecter la présence des deux ADN-T ainsi que des régions du vecteur en dehors des ADN-T. L'analyse des résultats montre que le soja MON87701 contient une copie de l'ADN-T comprenant la cassette d'expression CRY1Ac et ne contient aucun autre fragment d'ADN issu du vecteur.

- (2) L'analyse de la structure de l'insert et des régions en bordure a été réalisée par PCR et par séquençage en comparant les résultats avec la lignée non transgénique A5547. Cette analyse confirme une insertion unique de 6426 pb comprenant la cassette d'expression intacte de CRY1Ac. Le séquençage des régions génomiques flanquant l'insert (2kb de chaque côté) a mis en évidence des microdélétions en 5' et 3' de l'insertion. Le résultat de l'alignement de ces séquences avec les séquences de base de données montre qu'il s'agit bien d'une séquence génomique de soja qui ne correspond pas à une séquence codante connue. L'insertion ne semble pas s'être produite dans un gène endogène de soja.

Afin de s'assurer qu'aucune nouvelle séquence n'a été créée par l'insertion, une étude bioinformatique complète a été réalisée pour rechercher la présence d'ORF (open reading frame) putatives entre deux codons stop dans les 6 cadres de lecture au niveau des régions de bordures de l'insert. Cinq séquences de plus de 8 acides aminés ont été mises en évidence. La comparaison des séquences peptidiques de ces 10 ORF avec les séquences contenues dans les bases de données ne montre pas d'homologie avec des toxines, des allergènes ou des peptides ayant une activité biologique connue<sup>1</sup>.

#### **Soja MON89788**

Les analyses du site d'insertion et des régions bordant l'insert dans les sojas portant l'événement MON89788 ont été décrites dans l'avis 2007-SA-0187, elles ont été complétées et réactualisées dans le présent dossier. Les résultats montrent que d'une part, l'insertion s'est faite en dehors d'une région codante de soja et que d'autre part, les

<sup>1</sup> Banques de données : TOX\_2009 est un sous groupe de la base de données PRT-2009 AD\_2009 (1384 entrées) est une banque regroupant les séquences d'allergènes, de gliadines et de gluténine.

séquences protéiques chimériques correspondant aux 9 ORF entre 2 codons stop ne présentent pas d'homologie avec des toxines, des allergènes ou peptides ayant une activité biologique.

#### **Soja MON87701xMON89788**

Le soja MON87701xMON89788 possède la somme des caractères apportés par les modifications génétiques des deux parents, il exprime la protéine CRY1Ac dérivée de *Bacillus thuringiensis* sous espèce *kurstaki* et la protéine CP4 EPSPS d'*Agrobacterium tumefaciens*.

Des hybridations de type Southern ont été effectuées sur l'ADN du soja MON87701xMON89788 et l'analyse des résultats montre que le soja MON87701xMON89788 possède les deux inserts présents chez chacun des parents. Les inserts et les régions flanquant l'insert n'ont pas été séquencés chez le double transformant, il est très peu probable que les inserts de soja MON87701xMON89788 soient différents de ceux des lignées parentales.

#### (3) **Informations relatives aux produits d'expression des transgènes**

Les produits d'expression du transgène ont été analysés dans les sojas MON89788 (avis 2007-SA-0187) dans les sojas MON87701 et dans les sojas MON87701xMON89788.

#### **Niveau d'accumulation de CRY1Ac dans les sojas MON87701**

Les niveaux d'accumulation de la protéine CRY1Ac ont été mesurés au cours du développement et dans plusieurs tissus du soja MON87701 par la méthode ELISA à partir d'essais réalisés sur deux lieux différents (US et Argentine) pendant deux saisons 2007 et 2008.

Les niveaux moyens d'accumulation de CRY1Ac sont reportés dans le tableau 1 dans les feuilles au stade 4. Par ailleurs, on note que le niveau moyen le plus élevé est observé dans les feuilles au stade 1 des échantillons provenant de l'essai Argentin (450 µg/g poids sec).

**Tableau 1** : Teneurs en CRY1Ac des principaux tissus en Argentine et aux USA exprimées en µg/g de poids sec.

	Teneurs moyennes en CRY1Ac en µg/g de poids sec (gamme)	
	Etats-Unis 2007	Argentine 2007-2008
Feuille stade 4	340 (78-960)	180 (78-250)
Fourrage	29 (8,2-95)	70 (10-50)
Graine	4,7 (3,4-5,7)	5,1 (3,9-6,7)
Racine	< LDD	< LDD

#### **Niveau d'accumulation de CRY1Ac et CP4EPSPS dans les sojas MON87701xMON89788.**

Les niveaux d'accumulation des protéines ont été mesurés au cours du développement et dans plusieurs tissus du soja MON87701xMON89788 par la méthode ELISA à partir d'essais réalisés en Argentine sur 5 sites une seule saison (2007-2008). Les témoins MON87701, MON89788 et soja A5547 correspondant à la lignée dans laquelle est introgressé les deux événements de transformation ont été cultivés et analysés simultanément. Les niveaux moyens d'accumulation de CRY1Ac et CP4EPSPS sont reportés dans le tableau 2. Par ailleurs, pour CRY1Ac, la teneur moyenne la plus élevée est mesurée dans les feuilles au stade 1 (450 µg/g de poids sec) dans le simple et le double transformant. Pour CP4EPSPS, la teneur moyenne la plus élevée est mesurée dans les sojas MON87701xMON89788 dans les feuilles au stade 1 (650 µg/g de poids sec). Les teneurs en protéines CP4EPSPS sont comparables aux niveaux qui avaient été mesurés dans les sojas MON89788 en 2004-2005 (avis 2007-SA-0187).

**Tableau 2** : Teneurs en CRY1Ac et CP4EPSPS des principaux tissus des sojas cultivés en Argentine en 2007-2008 exprimées en µg/g de poids sec.

	Teneurs moyennes en CRY1Ac en µg/g de poids sec (gamme)		Teneurs moyennes en CP4EPSPS en µg/g de poids sec (gamme)	
	MON87701	MON87701xMON89788	MON87701	MON87701xMON89788
Feuille stade 4	180 (78-250)	350 (230-640)	430(300-580)	460 (350-670)
Fourrage	70 (10-150)	81 (20-220)	120(63-170)	120 (63-170)
Graine	5,1 (3,9-6,7)	7,9 (4,5-12)	160 (74-300)	160 (63-170)
Racine	< LDD	< LDD	43(18-73)	52 (38-71)

**(5) Informations relatives à la stabilité génétique de l'insert et à la stabilité phénotypique de la plante****Soja MON87701**

Après la transformation initiale, le soja MON87701 a subi neuf cycles d'autofécondation. Les résultats d'expérience d'hybridation par Southern indiquent que le transgène est stable dans le génome des sojas MON87701 de la 4ème à la 9ème génération (R4 à R9). Les analyses de ségrégation (autofécondations et croisement des programmes de sélections) sont conformes aux lois de la génétique mendélienne confirmant que l'insertion est unique et s'est faite au niveau du génome nucléaire.

**Soja MON89788**

Cf. avis Afssa du 6 août 2007, 2007-SA-0187

**Soja MON87701xMON89788**

La caractérisation moléculaire de ces sojas a montré que les deux inserts sont présents et possèdent les mêmes caractéristiques que les inserts des lignées parentales.

**(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****Soja MON89788**

Une analyse de composition chimique a été présentée dans le dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché des sojas MON89788. L'analyse de l'ensemble des données de composition avait permis de conclure à l'équivalence en substance des graines (et de l'huile) entre le soja MON 89788 et le soja témoin A3244.

**Soja MON87701 et Soja MON87701xMON89788**

Quatre études de composition chimique sont présentées dans le dossier, deux concernent la comparaison du soja MON87701 et son témoin A5547 et deux la comparaison du soja MON87701xMON89788 et de son témoin A5547 (lignées dans laquelle les deux événements sont introgressés). Pour chaque comparaison, une étude porte sur des échantillons cultivés en champs en Argentine (8 sites dans trois régions différentes) saison 2007-2008 et l'autre sur des échantillons cultivés aux Etats-Unis (5 sites) en 2007.

Dans les 2 essais (Argentine et US), toutes les variétés transgéniques et contrôles ainsi que 20 variétés commerciales conventionnelles ont été cultivées conjointement. Le soja MON87701XMON89788 a été traité par le glyphosate tandis que les autres sojas (MON87701, témoin et commerciales de référence) ont été traités avec des herbicides conventionnels.

L'analyse de composition des échantillons a porté:

- pour la plante entière, 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, 14 acides gras (12 pour les échantillons issus de l'essai Argentin), la vitamine E, 5 facteurs

antinutritionnels ou toxiques (lectine, acide phytique, inhibiteur de trypsine, raffinose et stachyose) et 3 isoflavones (daïdzéine, génistéine et glycitéine).

#### **Résultats de la comparaison MON87701 et de son témoin**

L'analyse statistique des résultats, tous sites combinés, met en évidence 15 analytes parmi les 55 mesurés pour lesquels il existe une différence statistique entre le soja MON87701 et le soja de référence. Dans tous les cas, l'amplitude de la différence est faible et les valeurs moyennes entrent dans l'intervalle de confiance de la population des variétés de référence. L'ensemble des données permet de conclure que les sojas MON87701 ne présentent pas de différence en substance avec la variété de référence A5547 et les variétés commercialisées.

#### **Résultats de la comparaison MON87701xMON89788 et de son témoin.**

L'analyse statistique des résultats de composition de la plante entière met en évidence une différence entre le soja MON87701xMON89788 et le soja de référence pour le contenu en protéines. Les valeurs observées sont comprises dans l'intervalle de celles des variétés de soja commercialisées.

Parmi les 55 (essai US) et 53 (essai Argentin) paramètres mesurés dans les grains, quelques uns présentent des différences statistiques entre le soja transgénique et la plante de référence, tous sites combinés. Les écarts de valeurs sont compris à l'intervalle de celles des variétés commercialisées.

Dans deux sites aux Etats-Unis, l'activité lectine est respectivement 2 et 5 fois supérieure chez les sojas transgéniques que chez les sojas témoin en restant toutefois inférieure à la valeur haute des variétés commercialisées. Notons que certaines valeurs concernant la concentration d'acides gras sont à des niveaux trop bas pour que la comparaison statistique soit valable.

L'ensemble des données permet de conclure que les sojas MON87701XMON89788 ne sont pas différents en composition à la variété de référence A5547 et aux variétés commercialisées. Cette conclusion est en accord avec le fait que les deux parents du double transformant sont eux-mêmes équivalents en substance à leurs variétés de référence.

#### **(7.4) Analyse comparative des caractéristiques agronomiques**

Les caractères agronomiques et phénotypiques des sojas MON87701xMON89788 cultivés sur 8 sites en Argentine répartis dans 3 régions pendant la saison 2007-2008 ont été comparés à ceux de plantes témoins (lignée A5547). Vingt variétés commerciales ont été cultivées conjointement afin de déterminer une gamme de valeurs de référence. Quelques différences significatives ont été identifiées mais les valeurs sont dans l'intervalle des valeurs connues pour le soja. L'analyse des résultats montre qu'il n'y a pas de différences entre les plantes de soja génétiquement modifiées et les plantes témoins.

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

Les différentes 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.

Des données issues du dosage des protéines CRY1Ac et CP4EPSPS dans les produits de transformation du soja permettraient un calcul d'exposition plus précis que l'estimation réalisée à partir des teneurs mesurées dans la graine.

#### **(7.7) Utilisation et consommation prévue**

Les sojas MON 87701 x MON 89788 sont destinés à la même utilisation que les sojas non transgéniques pour tous modes de consommation chez l'homme et l'animal.

Une évaluation quantitative permettant d'estimer la consommation de produits alimentaires contenant du soja dans les grandes zones européennes considérant que la totalité du soja consommé est du soja génétiquement modifié MON 87701 x MON 89788 a été présentée.

**(7.8) Toxicologie****Sécurité des organismes donneurs et des protéines exprimées**

La sécurité sanitaire de l'organisme donneur et de la protéine exprimée dans le soja portant l'événement de transformation MON89788 a été évaluée lors de l'examen de la demande de mise sur le marché des sojas MON89788.

L'actualisation de l'interrogation des bases de données (TOX\_2009) contenant les toxines ou les allergènes connus est présentée dans le présent dossier. Cette analyse réalisée en 2009 a permis de vérifier que la séquence de CP4EPSPS ne partage aucune homologie avec les protéines de la base de données.

La sécurité des sojas MON87701 (organisme donneur et produit d'expression du transgène) est basée sur les éléments suivants :

- l'organisme donneurs du gène *cry1Ac* est *Bacillus thuringiensis* une bactérie largement répandue dans l'environnement de l'homme et des animaux et n'est pas connus pour avoir des effets délétères pour la santé ;
- la protéine CRY1Ac présente une forte analogie de séquence avec les protéines de la même famille qui sont très répandues dans de nombreux micro-organismes ;
- une analyse *in silico* réalisée indique que la protéine CRY1Ac ne présente aucune homologie de séquence avec des protéines toxiques connues répertoriées dans les banques de données actualisées ;
- une protéine CRY1Ac, exprimée et isolée d'une souche d'*E. coli*, et démontrée comme équivalente<sup>2</sup> de celle exprimée dans les sojas, n'induit pas de mortalité chez la souris à la dose maximale de 1290 mg / kg administrée par voie orale (gavage).

Les sojas MON87701xMON89788 expriment simultanément les protéines CRY1Ac et CP4EPSPS qui ont des fonctions différentes sans interférence suspectée.

**(7.8.4) Étude de toxicité sub-chronique**

Aucune étude de toxicologie expérimentale d'une durée de 90 jours par voie orale chez le rat n'est fournie. Une telle étude permet d'évaluer la sécurité de l'ensemble des constituants de la graine de soja génétiquement modifié portant soit l'événement de transformation MON87701 soit les deux événements MON 87701 et MON 89788.

Une étude de ce type avait été présentée dans le dossier relatif à la demande d'autorisation du soja génétiquement modifié MON 89788. Cette étude n'avait pas permis à l'Afssa de conclure sur la sécurité des sojas portant l'événement MON89788 en l'absence des données brutes.

Toutefois les données ont été fournies à l'EFSA qui a estimé dans son avis du 2 juillet 2008 que cette étude permettait de conclure que les sojas MON89788 étaient aussi sûrs que la variété de référence A3244 (EFSA J., 2008, 758, 1-23).

**(7.9) Allergénicité****Evaluation de l'allergénicité de l'événement MON87701**

L'évaluation de l'allergénicité potentielle repose sur un faisceau d'éléments qui ont été analysés lors de l'examen du dossier de mise sur le marché des sojas portant l'événement MON89788. Cette analyse avait permis de conclure que l'existence d'un caractère allergène accrue pour ce soja ne pouvait être suspectée.

La recherche de similarité entre la protéine CP4EPSPS et les protéines et peptides allergènes répertoriés dans la base de données « AD\_2009<sup>1</sup> » a été actualisée en 2009 et est présenté dans le présent dossier. Aucune homologie n'a été identifiée.

**Evaluation de l'allergénicité de l'événement MON87701**

<sup>2</sup> L'équivalence entre la protéine CRY1Ac produite à partir d'*E. coli* et celle exprimée dans les sojas est démontrée : identité entre les protéines (migration en SDS-PAGE, Western blot, masse de fragments tryptiques, séquence N-terminale, composition en acides aminés), état de glycosylation et activité biologique insecticide.

Le pétitionnaire démontre l'absence d'allergénicité de la protéine CRY1Ac en s'appuyant sur les données suivantes :

- ✓ Absence de risque allergique de l'organisme source,
- ✓ Absence d'homologie de séquence avec des allergènes connus, soutenue par une étude bioinformatique récente (2009)
- ✓ Hydrolyse rapide en milieux gastriques et intestinaux. Ces travaux récents (2008) démontrent que la protéine CRY1Ac est rapidement hydrolysée, moins de 30 secondes, en milieu gastrique simulé. Cependant, un peptide d'environ 4 kDa est résistant à la dégradation. Cette analyse a été complétée par une étude de digestibilité en milieu intestinal simulé et les résultats obtenus démontrent que dans ces conditions expérimentales, la protéine CRY1Ac, y compris le peptide résiduel de 4kDa, est totalement dégradée en 1 minute.
- ✓ Absence de glycosylation de CRY1Ac

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.

En complément à ces résultats, une expérience effectuée sur les sérums de 13 patients reconnus allergiques au soja et de 5 patients non allergiques n'a pas montré plus d'allergie prévisible avec le soja MON 88701 qu'avec le soja témoin A5547. La même expérience a été réalisée avec le soja MON89788 et a conduit à la même conclusion.

#### **(7.10) Evaluation nutritionnelle**

Deux études d'alimentarité ont été réalisées chez des poulets de façon à comparer les caractéristiques nutritionnelles du soja MON87701 avec le témoin A5547 et du soja MON87701xMON89788 avec le témoin A5547.

Les protocoles des 2 études sont identiques et mettent en œuvre 900 poulets (450 mâles et 450 femelles, 10 répétitions par traitement) nourris pendant 42 jours avec deux régimes [correspondant aux périodes de démarrage (0-21 jours), de croissance et de finition 21-42 jours] à base de tourteau de soja génétiquement modifié (à 33 et 30 %) en comparaison avec des poulets nourris dans les mêmes conditions avec du soja témoin A5547 ou 6 variétés commerciales de soja.

L'analyse de composition chimique entre le soja génétiquement modifié (MON87701 ou MON87701xMON89788) et le soja témoin de l'aliment a été réalisée et les résultats confirment les analyses de composition (cf. 7.1), permettant de conclure à l'équivalence de composition chimique entre les différentes rations utilisées dans les études.

Les observations ont porté sur 8 paramètres zootechniques, 13 données de carcasse, 6 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.

Pour l'expérience réalisée à partir des sojas MON87701, le taux de mortalité moyen est de 2,6% et 1,3% respectivement pour les deux périodes. Les taux observés sont de 5% dans le groupe recevant le soja transgénique MON87701 pour les deux périodes et de 4,17% pour une variété commerciale pendant la première période.

Pour l'expérience réalisée à partir des sojas MON87701xMON89788, les taux moyens de mortalité enregistrés sont de 2,3 et 0,6% respectivement pour les deux périodes. Le taux de mortalité du groupe ayant reçu le soja transgénique était respectivement de 2.5% et 0%.

Le taux de mortalité de 5% est donc plus élevé dans le groupe ayant reçu les sojas MON87701. Cependant, cette valeur reste dans l'intervalle du taux de mortalité observé dans les groupes de poulets dans ces conditions expérimentales. De plus, ce taux n'est pas observé dans l'étude réalisée à partir des sojas comportant les deux événements de transformation. Il n'est donc pas considéré comme lié au traitement.

Après analyse statistique, les résultats des deux études montrent qu'on observe :

- un effet sexe significatif sur quelques paramètres de performance (performances pondérales, données de découpe et de composition des muscles), ce qui caractérise une bonne conduite de l'expérimentation ;



- aucune différence due aux traitements entre les animaux nourris avec les sojas MON87701 et MON87701xMON89788 génétiquement modifiés et les sojas témoins A5547 ou les variétés commerciales testées pour ce qui concerne les performances pondérales, la consommation d'aliment, l'efficacité alimentaire, le taux de survie des oiseaux.

Basé sur l'analyse de ces résultats, il est possible de conclure à une absence de différence nutritionnelle du tourteau de soja MON 88701 avec son témoin A5547 et du soja MON87701xMON89788 avec le témoin A5547 non génétiquement modifié.

## 5. CONCLUSION

Le soja MON87701xMON89788 a été obtenu par croisement conventionnel des sojas parentaux contenant les événements de transformation MON89788 et MON87701. Le premier événement a déjà été évalué par l'Afssa et par l'EFSA. Ces sojas sont autorisés depuis le 4 décembre 2008 pour l'importation et la transformation dans l'Union Européenne. L'événement MON87701 est quant à lui nouveau et décrit pour la première fois dans la présente application.

L'Afssa a donc procédé à son évaluation du risque au même titre que les sojas MON87701x MON89788.

Les éléments présentés dans le dossier permettent de caractériser l'événement de transformation MON87701 d'un point de vue moléculaire. Ils permettent également de montrer que ces sojas ne présentent pas une composition chimique et des propriétés nutritionnelles différentes de leurs témoins.

Cependant, l'évaluation du risque toxicologique de ces sojas n'est pas complète. Afin que l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments puisse se prononcer sur la sécurité sanitaire des sojas MON87701xMON89788, le dossier devra être complété par une étude de 90 jours chez le rat avec les sojas MON87701xMON89788 ou les sojas MON87701 et la détermination d'une marge de sécurité.

Des données issues du dosage des protéines CRY1Ac et CP4EPSPS dans les produits de transformation du soja permettraient un calcul d'exposition plus précis.

**Le directeur général**

**Marc MORTUREUX**

## MOTS-CLES

**Mots clés** : OGM combiné, soja MON87701, soja MON89788, résistance à des lépidoptères, tolérance au glyphosate, CRY1Ac, CP4EPSPS.