

Maisons-Alfort, le 7 novembre 2011

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

sur des données complémentaires relatives à la demande d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié 356043, tolérant au glyphosate et aux herbicides inhibant l'acétolactate synthétase pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de graines et de produits dérivés, 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. 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 offre, cependant, la possibilité aux Etats-membres de faire connaître leurs observations sur le dossier initial. Dans ce cadre, le dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié 356043, tolérant au glyphosate et aux herbicides inhibant l'acétolactate synthétase pour l'importation et l'utilisation en alimentation humaine et animale de graines et de produits dérivés, au titre du Règlement (CE) n°1829/2003 a été évalué par l'Anses fin 2007 (dossier n°EFSA-GMO-UK-2007-43).

Dans son avis du 21 décembre 2007, l'Agence indiquait qu'elle n'était pas en mesure de se prononcer sur la sécurité sanitaire de cet OGM au motif qu'il n'était pas possible de conclure à l'équivalence en substance. En effet, une augmentation de la teneur en certains acides gras et en acides aminés acétylés était observée dans le soja portant l'événement 356043 par rapport au soja témoin. Par ailleurs, aucune étude de toxicité sub-chronique de 90 jours n'était fournie dans le dossier initial, cette étude aurait permis d'évaluer les conséquences éventuelles de ces modifications de la composition chimique des graines de soja.

Après la période de consultation des Etats membres de 3 mois, l'EFSA a réalisé sa propre évaluation et a demandé au pétitionnaire des compléments d'informations sur le dossier. Sur la base des données du dossier initial et des informations complémentaires fournies, l'EFSA a publié le 26 juillet 2011, un avis dans lequel elle conclut que le soja génétiquement modifié 356043 est aussi sûr que le soja conventionnel.

Parmi les éléments complémentaires apportés, certains concernent l'évaluation des conséquences sur la santé humaine et animale des teneurs augmentées dans les sojas 356043 pour certains acides gras et acides aminés acétylés. De plus, une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours réalisée chez le rat par administration via l'alimentation de tourteaux de soja 356043 a été fournie.

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a donc été saisie le jeudi 4 août 2011 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes, d'une demande d'avis sur les données complémentaires relatives à la demande d'autorisation de mise sur le marché du soja génétiquement modifié MON87701, résistant à des insectes, pour l'importation et la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de cet OGM au titre du Règlement (CE) n° 1829/2003.

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 réalisée par le Comité d'experts spécialisé "Biotechnologie", réuni les 15 septembre et 20 octobre 2011. L'évaluation du dossier se base sur les lignes directrices de l'EFSA¹ et sur les éléments complémentaires jugés nécessaires pour l'expertise.

3. ANALYSE ET CONCLUSION DU CES

I Information générale

Le soja 356043 a été génétiquement modifié pour exprimer la protéine GAT4601 et la protéine GM-HRA.

GAT4601 est une glyphosate acétyltransférase (GAT) qui métabolise le glyphosate en un dérivé N-acétylé non phytotoxique, conférant ainsi la tolérance à l'herbicide.

GM-HRA est une acétolactate synthétase (ALS) codée par un gène naturellement présent dans le soja qui a été modifié de façon à ce que des herbicides² de la famille des sulfonilurées, imidazolinones, triazolopyrimidines, pyrimidinylthio- (ou oxy-) benzoates et sulfonilaminocarbonyltriazolinones n'inhibent plus l'activité de l'enzyme ALS.

II Extrait de l'avis 2007-SA-0347 du 21 décembre 2007 (correspondant aux commentaires transmis à l'EFSA)

(7) **Informations relatives aux effets toxiques, allergiques, et autres effets délétères pour la santé humaine et animale**

(7.1-3) **Analyse de composition chimique**

Une analyse de composition chimique a été réalisée à partir d'échantillons de graines de soja 356043 traité ou non traité au glyphosate, au chlorimuron et/ou thifensulfuron, cultivé sur 6 sites en Amérique du Nord en 2005 et en Amérique du Sud (3 répétitions par site), et comparée à celle d'échantillons du soja témoin isogénique (cultivar "Jack").

L'analyse statistique (analyse de variance) des différents paramètres montre notamment que :

¹ Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants, The EFSA Journal 2011; 9(5): 2150.

Guidance document of the scientific panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plant, The EFSA Journal 2006; 99, 1-100.

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

- les teneurs des principaux **acides gras** sont équivalentes entre soja témoin et soja 356043 traité. Toutefois, on observe des teneurs significativement plus élevées d'acide heptadécanoïque (C17 :0) et d'acide heptadécénoïque (C17 :1) dans la graine de soja 356043 traitée ou non traitée par les herbicides que dans le soja témoin. Cette différence est observée sur les 6 sites en Amérique du Nord et sur les 6 sites en Amérique du Sud. La teneur en acide heptadécanoïque est multipliée par 3 et celle en acide heptadécénoïque est multipliée par 2,8 et ces teneurs sont très supérieures au taux maximum mesuré dans les graines de soja des variétés commerciales ;
- les teneurs N-acétyl glutamate (NAG) et N-acétyl aspartate (NAA) dans les graines de soja sont significativement plus élevées dans le soja 356043 que dans le soja témoin en raison de la présence de la protéine GAT4601. Le traitement avec les herbicides n'a pas d'influence sur les concentrations de NAG et de NAA dans les graines de soja 356043. De plus, les niveaux de NAG et NAA ne modifient pas la concentration en acides aminés libres. Cependant, le niveau de NAA est nettement plus élevé que celui mesuré pour tous les autres acides aminés acétylés (94-390 µg/g) ;

Plusieurs études chez le rat, l'homme et le porc montrent que les acides aminés acétylés subissent par voie métabolique une déacétylation et donc qu'ils peuvent être utilisés comme substitut aux acides aminés. Mais aucune information n'est disponible en ce qui concerne la déacétylation potentielle du NAG et NAA ni sur les éventuelles conséquences d'une forte concentration en acide aspartique sur le métabolisme ou la physiologie humaine ou animale.

En conséquence, l'Afssa estime que l'ensemble de ces données de composition ne permet pas de conclure à une équivalence en substance entre le soja 356043 et son témoin notamment en raison d'une augmentation significative de la teneur en acides gras heptadécanoïque et heptadécénoïque et des teneurs très importantes en acides aminés acétylés N- acétyl glutamate (NAG) et N-acétyl aspartate (NAA) dues à la présence du transgène *gat460*.

(7.6) **Effet du procédé de traitement**

Les teneurs en N-acétyl glyphosate mesurées dans la graine varient respectivement de 0,3 mg/kg pour le soja 356043 non traité à 2,98 mg/kg pour soja 356043 traité par le glyphosate. Les teneurs en acide amino méthyl phosphonique (AMPA) varient de non détectées pour le soja 356043 non traité à 0,04 mg/kg pour soja 356043 traité par le glyphosate, mais aucune mesure n'a été réalisée dans les produits dérivés destinés à l'alimentation humaine ou animale.

(7.8.4) **Etude la toxicité subchronique**

Aucune étude de toxicité subchronique de 90 jours chez le rat avec l'aliment n'a été réalisée. Compte tenu des différences entre la composition chimique du soja 356043 et du témoin isogénique, il conviendrait de disposer d'une telle étude pour évaluer les conséquences des modifications de composition observées notamment l'augmentation des teneurs en N- acétyl glutamate (NAG) et N- acétyl aspartate (NAA) dans le soja 356043.

Conclusion

L'Afssa considère qu'il n'est pas possible de conclure à une équivalence en substance entre le soja 356043 et son témoin compte tenu d'une augmentation significative de la teneur en acides gras heptadécanoïque et heptadécénoïque et des teneurs très importantes en acides aminés acétylés N- acétyl glutamate (NAG) et N-acétyl aspartate (NAA) dues à la présence du transgène *gat4601*.

En conséquence, l'Afssa estime qu'elle ne peut pas se prononcer sur la sécurité sanitaire des produits dérivés des variétés de soja portant l'événement de transformation 356043 pour l'alimentation humaine et animale.

III Analyses des informations complémentaires apportées par le pétitionnaire

Les informations complémentaires versées au dossier initial depuis l'expertise de l'Anses en 2007 répondent aux questions posées par l'EFSA et couvrent différents domaines scientifiques de l'expertise. Seules les informations liées aux remarques formulées par le CES en 2007 ont été examinées. Ces informations concernent :

1. Augmentation de la teneur en acides gras (C17:0, C17:1 et C17:2) et conséquence en évaluation du risque,
2. Augmentation de la teneur en certains acides aminés acétylés (NAA et NAG) et conséquence en évaluation du risque,
3. Evaluation de la plante entière par une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours.

1 Augmentation des teneurs en acides gras (C17:0, C17:1 et C17:2).

Il est à noter que les acides gras concernés par cette augmentation sont des acides gras mineurs. Même lorsque leur concentration est augmentée (dans les graines de soja 356043), ils représentent chacun moins de 0.5% des acides gras totaux.

Connexion mécanistique entre la présence de la protéine GM-HRA et la voie métabolique des acides gras C17.

Considérant les différences statistiquement significatives entre le soja GM et le témoin observées sur les teneurs en acide heptadécanoïque, heptadécénoïque et heptadécadiénoïque, le pétitionnaire émet des hypothèses pouvant relier d'un point de vue mécanistique la présence de l'enzyme GM-HRA avec le métabolisme des acides gras de façon à expliquer l'augmentation de la concentration en acides gras à chaîne impair C17.

Calcul d'exposition en Europe en prenant en compte l'effet des procédés et le pire scenario

Le pétitionnaire a calculé l'exposition du consommateur aux acides gras C17:0 et C17:1 C17:2 via la consommation d'huile extraite du soja 356043 par rapport à une consommation d'huile extraite de soja conventionnel. Les données de consommation d'huile prise en compte pour ce calcul sont celles de la FAOSTAT databases (FAO STAT 2006). La production annuelle et les données d'importation entre 1961 et 2005 ont aussi été considérées ainsi qu'une estimation de la part de soja utilisée pour produire de l'huile. Le calcul a été réalisé pour 23 pays européens. La consommation du pays le plus consommateur (Pays-Bas) a été retenue. A partir de cette consommation journalière, l'exposition aux acides gras C17:0 et C17:1 a été déduite selon 3 scénarii possibles (0% d'huile GM, 45% d'huile GM, 100% d'huile GM).

L'exposition la plus forte (100% d'huile de soja 306043 par un consommateur hollandais), correspond à une consommation journalière additionnelle variant de 52 à 84 mg selon l'acide gras concerné. Cette quantité est équivalente à la consommation d'autres produits courant de l'alimentation tel que 22g de beurre, 33g de porc, 40 g de fromage, 33 g de bœuf).

2 Augmentation des acides aminés acétylés (NAA et NAG).

Etude de l'activité de l'enzyme GAT4601

Comme vu précédemment, les teneurs en N-acétyl aspartate et N-acétyl glutamate sont très fortement augmentées dans les graines de soja 356043 par rapport au soja témoin. Ce fait résulte de l'expression de l'acétyl transférase GAT4601.

A la demande de l'EFSA, le pétitionnaire a apporté des études sur l'activité enzymatique de la protéine GAT4601 (activité en fonction du pH et de la température, spécificité de substrats et produits de réaction potentiels). Ainsi, les caractéristiques enzymatiques de GAT4601 ont été testées sur son substrat le glyphosate et sur 5 acides aminés (glutamate, aspartate, sérine, thréonine, glycine). Les résultats montrent une activité faible sur glutamate et aspartate et une absence d'activité sur les 3 autres acides aminés. Ceci est confirmé par les résultats d'analyse comparative de composition chimique qui montre que les teneurs en sérine, thréonine et glycine acétylés sont augmentées dans les grains de soja 356043, mais restent faibles et entrent dans l'intervalle de tolérance défini par les variétés commerciales.

L'activité enzymatique de GAT4601 sur d'autres substrats (20 molécules ayant des propriétés phytosanitaires et sur 11 antibiotiques) est nulle.

Analyse des teneurs en acides aminés libres

Le pétitionnaire complète son étude par une analyse statistique de la comparaison des teneurs en acides aminés libres dans les graines de sojas 356043 et témoins. Les résultats montrent que les teneurs en acides aminés libres sont inchangées entre les graines de soja 356043 et son témoin.

Evaluation de la sécurité du NAA et NAG

Les acides aminés acétylés subissent par voie métabolique une déacétylation et peuvent être utilisés comme substitut aux acides aminés. Ceci a été montré pour la glutamine, la méthionine, la phénylalanine et le tryptophane. Le pétitionnaire apporte des informations montrant la déacétylation potentielle du NAA permettant d'affirmer que le NAA est biologiquement utilisable. Ainsi, si le NAA peut être utilisé comme source d'acide aspartique, la quantité de cet acide aminé libre sera augmentée (de 2,7 fois). Cependant, la consommation d'aliment contenant des teneurs équivalentes en acide aspartique et glutamique ne présente pas de risque connu.

Par ailleurs, une revue bibliographique a été réalisée et des études ont été transmises par le pétitionnaire de façon à évaluer la toxicité potentielle du NAA et NAG (Harper *et al.*, 2009 ; Delaney *et al.*, 2008 et Karaman *et al.*, 2009³).

Ces données portent sur :

- la toxicité par administration unique orale de NAA ou de NAG chez le rat SD (absence d'effet à 2000 mg/kg pour les 2 produits et létalité à 5000 mg/kg pour NAA),
- une NOAEL variant de 852,3 mg/kg/j à 890,1 mg/kg/j chez le rat SD mâle et femelle respectivement après 28 jours de traitement per os pour le NAA et entre 914.2 mg/kg/j et 1006.6 mg/kg/j pour le NAG,
- une étude par administration orale pendant 90 jours chez le rat SD avec le NAA, la NOEL étant estimée à 229.5 et 253.2 mg/kg respectivement chez les mâles et femelles,
- une étude sur la fonction de reproduction et le développement sur 2 générations avec le NAA aux doses de 100, 250 et 500 mg/kg/j,
- des études de génotoxicité *in vitro* et *in vivo* pour NAA et NAG.

Aucun effet délétère particulier n'est mis en évidence dans ces études.

Calcul d'exposition au NAA et NAG en prenant en compte l'effet des procédés

A la demande de l'EFSA, le pétitionnaire a calculé l'exposition du consommateur aux NAA et NAG en prenant en compte les produits transformés de la graine de soja (tourteaux délipidés, isolat de protéines, lait de soja, huile). Deux études sont présentées, l'une utilisant un modèle d'exposition américains (DEEM-FCID) et l'autre utilisant les clusters régionaux du programme GEMS Food de l'OMS. L'EFSA a complété cette analyse en calculant l'exposition pour les forts consommateurs de soja dans les pays européens.

En conclusion, le CES approuve le calcul réalisé par l'EFSA, qui conduit à des doses journalières estimées bien inférieures à la NOAEL calculée à partir des études de toxicité sub-chronique par administration du NAA et du NAG. Ainsi, la marge de sécurité obtenue est de 592 pour le NAA et de 239 pour le NAG.

Par ailleurs, le pétitionnaire a mesuré la concentration en NAA et en NAG dans plus de 50 produits alimentaires montrant leur présence dans tous ces produits.

Étude de toxicité sub-chronique

Le pétitionnaire fournit le rapport d'une étude de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat pour évaluer la toxicité potentielle des sojas portant l'événement de transformation 356043. Cette étude a fait l'objet d'une publication (Appenzeller *et al.*, 2008)⁴.

Des groupes de 12 rats SD de chaque sexe ont reçu un régime contenant 20% de tourteau délipidé et 1.5% de graines de soja décortiquées, traité ou non par le glyphosate, le chlorimuron et le

³ Harper MS, Amanda Shen Z, Barnett JF Jr, Krstanovic L, Myhre A, Delaney B. N-acetyl-glutamic acid: evaluation of acute and 28-day repeated dose oral toxicity and genotoxicity. *Food Chem Toxicol.* 2009 47(11):2723-9.

Delaney B, Zhang J, Carlson G, Schmidt J, Stagg B, Comstock B, Babb A, Finlay C, Cressman RF, Ladics G, Cogburn A, Siehl D, Bardina L, Sampson H, Han Y. A gene-shuffled glyphosate acetyltransferase protein from *Bacillus licheniformis* (GAT4601) shows no evidence of allergenicity or toxicity. *Toxicol Sci.* 2007 102(2):425-32.

Karaman S, Barnett J Jr, Sykes GP, Delaney B. Subchronic oral toxicity assessment of N-acetyl-L-aspartic acid in rats. *Food Chem Toxicol.* 2011 49(1):155-65.

⁴ Appenzeller LM, Munley SM, Hoban D, Sykes GP, Malley LA, Delaney B. Subchronic feeding study of grain from herbicide-tolerant maize DP-Ø9814Ø-6 in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol.* 2009 47(9):2269-80.

thifensulfuron. Le groupe témoin a reçu l'équivalent en soja conventionnel (Jack). Trois groupes supplémentaires ont reçu des variétés commerciales.

Les teneurs en NAA et en NAG ont été mesurées dans les régimes des rats utilisés dans l'expérience. Ces mesures confirment une augmentation de la teneur en NAA et NAG dans le régime contenant le soja 356043.

En plus des analyses des paramètres biologiques habituels, le protocole inclut notamment des études neurocomportementales.

L'analyse statistique consiste à comparer les résultats obtenus dans le groupe nourri avec du soja 356043 (traité, non traité par les herbicides) versus le groupe nourri avec du soja contrôle.

En dehors de quelques différences significatives limitées à un seul sexe et un seul groupe et non corrélées entre elles, aucune différence significative permettant de conclure à une toxicité des sojas n'est observée dans cette étude.

Toutefois, il est souligné 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.

CONCLUSION DU CES

Considérant les réserves formulées par le CES dans son avis du 21 décembre 2007 et relatif à la sécurité sanitaire des sojas portant l'événement de transformation 356043 ;

Considérant les compléments d'information apportés par le pétitionnaire, suite aux questions posées par l'EFSA qui incluaient les interrogations de l'Anses, qui répondent de façon satisfaisante à ces interrogations ;

Considérant les autres éléments du dossier évalués en 2007 (avis du 21 décembre 2007) ;

Le CES estime que la consommation des sojas portant l'événement de transformation 356043 et de ses produits dérivés est aussi sûre que la consommation des sojas témoins conventionnels.

4. CONCLUSIONS 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 ».

Au regard des données fournies, l'Agence n'a mis en évidence aucun élément permettant d'établir que la sécurité sanitaire liée à la consommation du soja portant l'événement de transformation 306043 est moindre que celle du soja témoin conventionnel.

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

OGM, soja 306043, tolérance glyphosate, tolérance inhibiteur ALS, GAT4601, GM-HRA.