

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 08 juillet 2024

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, du soja génétiquement
modifié DBN8002 développé pour être tolérant au glufosinate-ammonium et
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° GMFF-2022-11530)**

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 à 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 publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 12 octobre 2023 par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) 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, du soja génétiquement modifié DBN8002 développé pour être tolérant au glufosinate-ammonium et 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° GMFF-2022-11530) ».

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 – *European Food Safety Authority* (Efsa) – est chargée de procéder à l'évaluation des dossiers concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux génétiquement modifiés et de rendre un avis à la Commission européenne. L'Efsa permet cependant aux États-membres de faire connaître leurs observations sur les dossiers initiaux. Dans ce cadre, la DGAI a sollicité l'Anses pour participer à cette consultation

par l'Efsa dans un délai de 90 jours et pour émettre un avis sur ce dossier initial, vis-à-vis des exigences de la réglementation applicable sur ce dossier.

Le Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013 s'applique pour ce dossier.

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 (Janvier 2024) ».

L'expertise collective a initialement été prise en charge par le GT « Biotechnologie ». Depuis le 1^{er} février 2024, le GT PGM rattaché au CES « Biotechnologies » prend en charge l'évaluation des risques sanitaires et environnementaux liés à des demandes d'autorisation de plantes génétiquement modifiées (PGM). Le mandat du GT « Biotechnologie » ayant pris fin le 31 janvier 2024, l'expertise collective de cette saisine a été poursuivie par le GT PGM, sur la base des précédents travaux.

L'expertise collective a été réalisée par le GT « Biotechnologie » réuni les 22 novembre et 20 décembre 2023 et par le GT PGM réuni le 11 avril 2024, sur la base de rapports initiaux rédigés par sept rapporteurs. Elle a été conduite en se basant sur les documents guides de l'Efsa et du panel GMO de l'Efsa ainsi que sur les éléments complémentaires jugés nécessaires par les experts des GT « Biotechnologie » et GT PGM.

Les commentaires du GT « Biotechnologie » sur le dossier initial ont été validés lors de la réunion du 20 décembre 2023 et transmis à la DGAI le 8 janvier 2024 (voir annexe), afin de permettre aux autorités françaises de participer à la consultation des États-membres organisée par l'Efsa.

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 publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT PGM

Le soja est une plante protéagineuse annuelle appartenant à la famille des Fabacées. Il est essentiellement cultivé dans les régions chaudes à semi-tropicales. En 2022, les dix premiers pays producteurs de soja étaient le Brésil, les USA, l'Argentine, la Chine, l'Inde, le Canada, la Russie, le Paraguay, la Bolivie et l'Ukraine qui représentaient environ 97 % de la production mondiale. La production mondiale était d'environ 349 millions de tonnes sur une surface récoltée de 134 millions d'hectares (FAOStat¹). En 2019, 74 % du soja cultivé dans le monde était génétiquement modifié (selon le rapport de l'ISAAA²).

La graine de soja est composée (en pourcentage de matière sèche) d'environ 40 % de protéines et 20 % d'huile. Les produits destinés à l'alimentation animale sont la graine après traitement à la chaleur, l'huile ou le tourteau délipidé et toasté. Les produits dérivés du soja destinés à l'alimentation humaine sont la farine, les protéines (isolats et concentrats), l'huile, la margarine et les lécithines (émulsifiants utilisés dans de nombreux produits alimentaires).

¹ <http://www.fao.org/faostat/en/#home>

² International service for the acquisition of agri-biotech applications

D'autres composés du soja comme les isoflavones et les tocophérols sont utilisés dans les compléments alimentaires. La graine de soja contient aussi des protéines identifiées comme allergènes, ainsi que des substances anti-nutritionnelles comme des facteurs antitrypsiques, des lectines, l'acide phytique et des carbohydrates de faible poids moléculaire (stachyose et raffinose).

Le soja DBN8002 est issu d'une variété de l'espèce *Glycine max* qui a été génétiquement modifiée afin d'introduire dans son génome les cassettes d'expression portant les gènes *vip3Aa* et *pat*, codant respectivement :

- une protéine insecticide Vip3Aa, qui confère à la plante une résistance à certains lépidoptères ravageurs du soja,
- une protéine phosphinothricine N-acétyltransférase (PAT) qui confère à la plante une tolérance à la substance herbicide glufosinate-ammonium.

Ce dossier correspond à une première demande d'autorisation de mise sur le marché au titre du Règlement (CE) n°1829/2003, pour l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale du soja DBN8002. Il ne concerne pas sa mise en culture.

Il convient de rappeler que, comme toutes les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine et les aliments destinés à l'alimentation animale dans l'Union européenne (UE), le soja DBN8002 et ses produits dérivés seraient entre autres, soumis à une limite maximale pour les résidus (LMR) de produits phytopharmaceutiques afin de protéger la santé humaine et animale (Règlement (CE) n°396/2005).

1. Identification et caractérisation des dangers

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

En 2023, dans l'Union européenne, le soja était essentiellement cultivé en Italie, Serbie, France, Roumanie et Autriche (Eurostat³, 2023). La culture du soja dans l'hémisphère nord se fait à partir du printemps puisqu'une température du sol supérieure à 10 °C est nécessaire à la germination de ses graines. Les plantes se développent ensuite rapidement avec des températures entre 25 et 35 °C. Un cycle de culture du soja dure entre 100 et 160 jours.

Le pétitionnaire présente les caractéristiques de survie du soja et de ses graines dans l'environnement. Il indique que si des repousses avaient lieu dans l'Union européenne, elles seraient très probablement détruites par le gel durant l'automne ou l'hiver suivant (OCDE, 2000).

Le GT PGM note qu'une étude menée au Canada, dans l'état du Manitoba (climat continental à hivers froids), rapporte la présence de repousses de soja au printemps dans des parcelles cultivées. Ces repousses seraient issues des graines contenues dans les gousses qui restent attachées à la base des plantes ou tombent au sol après la récolte (Barteaux et Lamb, 2022).

Considérant les conclusions de l'étude de Barteaux et Lamb (2022), le GT PGM demande au pétitionnaire de prendre en compte la résistance des graines de soja face au froid, en hiver dans des conditions climatiques tempérées et continentales, comme une étape

³ [Database - Eurostat \(europa.eu\)](https://eurostat.ec.europa.eu/)

clé pour l'établissement et la propagation de plantes férales de soja génétiquement modifié (GM) sur le continent européen.

Les caractéristiques relatives à la dispersion des graines et du pollen du soja, à la pollinisation et au risque de flux de gènes de plante à plante sont précisées dans le chapitre relatif à l'évaluation des risques pour l'environnement (section 5.3.1) de cet avis.

1.2 Caractérisation moléculaire

1.2.1 Informations concernant la modification génétique

Le soja DBN8002 est issu d'une variété de l'espèce *Glycine max* qui a été génétiquement modifiée afin d'introduire dans son génome les cassettes d'expression portant les gènes :

- *vip3Aa*, issu de la bactérie *Bacillus thuringiensis*. Ce gène est un variant du gène bactérien natif (*vip3Aa1*), codant la toxine Vip3Aa, un insecticide ciblant certains lépidoptères. Ce gène a été optimisé pour l'expression en système végétal. La protéine Vip3Aa s'associe en tétramères capables de créer des pores au niveau de l'épithélium intestinal des insectes cibles entraînant des perturbations létales.
- *pat*, issu de la bactérie *Streptomyces viridochromogenes*. Ce gène a été optimisé pour l'expression en système végétal, codant la phosphinothricine N-acétyltransférase (protéine PAT), et conférant à la plante une tolérance au glufosinate-ammonium.

Le GT PGM considère que l'appellation générique Vip3Aa utilisée pour la protéine mutée présente dans le soja DBN8002 porte à confusion. **Le GT PGM demande que le pétitionnaire identifie spécifiquement (nouveau référencement) la protéine insecticide nouvellement exprimée dans le soja DBN8002 afin de la différencier des autres protéines Vip3Aa répertoriées dans les bases de données bioinformatiques.**

La transformation génétique à l'origine du soja DBN8002 a été réalisée avec le soja récepteur de la variété Jack et par la méthode médiée par *Agrobacterium tumefaciens*. Des hypocotyles sectionnés de soja ont été co-cultivés avec la souche d'*Agrobacterium tumefaciens* contenant le vecteur portant l'ADN-T. Après une étape d'embryogénèse indirecte *in vitro* en présence de céphalosporine (élimination des *A. tumefaciens* résiduelles) et sur milieu sélectif avec du glufosinate-ammonium, des embryons somatiques de soja génétiquement modifié ont été sélectionnés pour régénérer des plantules entières.

1.2.2 Informations concernant la plante génétiquement modifiée

Le pétitionnaire présente l'arbre de sélection de la lignée de soja DBN8002 depuis le soja parental Jack. Après transformation de la lignée parentale Jack avec le transgène, les plantes obtenues sont autofécondées à chaque nouvelle génération. Le pétitionnaire indique que les plantes des générations T3, T5, T6 et T7 sont utilisées pour les tests de Southern blot et l'analyse de ségrégation.

Le GT PGM note qu'à l'exception des études de Southern blot et de ségrégation, le pétitionnaire n'indique pas quelles sont les générations utilisées pour les analyses moléculaires et la production en champ. Le pétitionnaire ne précise pas l'objectif du croisement de la génération T4 avec la variété SY026, ni l'utilisation de la génération F2 issue de cet hybride.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de préciser pour chaque analyse quelle lignée de soja est utilisée afin de s'assurer de son fond génétique.

Des analyses par Southern blot indiquent une insertion unique de l'ADN-T (contenant les cassettes d'expression des gènes *vip3Aa* et *pat*) dans le génome du soja DBN8002 à la troisième génération d'autofécondation. L'insertion est stable sur plusieurs générations (T3, T5 et T7) et l'analyse de ségrégation a confirmé les prédictions mendéliennes de transfert de caractères correspondant à une insertion unique de l'ADN-T. De plus, l'héritabilité phénotypique des caractères a été validée sur plusieurs générations (T3, T5 et T6). Des analyses complémentaires de Southern blot concluent à l'absence d'insertion non désirée de séquences plasmidiques en dehors de l'ADN-T dans le génome du soja DBN8002.

La séquence de l'ADN-T insérée et ses régions flanquantes dans le génome du soja DBN8002 ont été caractérisées par séquençage d'amplicons produits par PCR. Les séquences des régions flanquantes en 5' et en 3' de l'insert ont été comparées avec le génome du soja de référence Williams 82 accessible dans la base de données « SoyBase » de l'USDA-ARS Soybean Genetics and Genomics Database. Ces comparaisons avec le génome de référence Williams 82 révèlent une délétion de 6 pb d'ADN génomique au site d'insertion de l'ADN-T et l'absence d'interruption de gènes endogènes codant des protéines. Ces comparaisons de séquence devraient être réalisées avec la séquence du témoin isogénique Jack.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir la comparaison de la séquence du site d'insertion de l'ADN-T dans le soja DBN8002 avec la séquence génomique de la variété isogénique Jack.

Les analyses bio-informatiques des cadres ouverts de lecture (ORF) potentiels au niveau des jonctions et au niveau de l'insert dans le soja DBN8002 ont porté sur les six cadres de lecture possibles. Des analyses *in silico* ont été effectuées dans des bases de données actualisées en 2022 à la recherche d'identité avec des allergènes (FARRP Allergen Protein Database, AllergenOnline version 21 et COMPARE, version janvier 2022) et des toxines (banque ToxDB développée avec NCBI RefSeq Prot Database, DNA DataBank of Japan's amino acid database et UniProtKB, version 2021). Deux ORF sont identifiés avec la banque ToxDB. L'un est localisé au niveau de la séquence du gène *vip3Aa* et montre qu'elle est homologue avec la protéine insecticide Vip3Aa. L'autre est localisé au niveau de la séquence du gène *pat*. Il montre une similitude de séquence avec des séquences correspondant au domaine N-acétyltransférase d'une protéine de la famille des GNAT (GCN 5-related N-acetyltransferases). Cette similitude est cohérente puisque la protéine PAT est une N-acétyltransférase. Les similitudes identifiées correspondent donc aux protéines exogènes d'intérêt. Les analyses des autres ORF ne révèlent pas d'identité biologiquement significative totale, globale ou locale préoccupante.

Le pétitionnaire présente les teneurs en protéines Vip3Aa et PAT quantifiées par des tests ELISA, dans différents tissus (feuilles, racines, fourrage et graines) prélevés à différents stades de développement des plantes en 2020 et dans le pollen en 2022. En 2020 et 2022, les sojas DBN8002 ont été cultivés sur trois sites en Chine, avec ou sans traitement par la préparation herbicide d'intérêt (glufosinate-ammonium).

Les teneurs en protéines Vip3Aa et PAT sont quantifiables dans tous les tissus analysés du soja DBN8002 (traité ou non avec du glufosinate-ammonium). Les teneurs moyennes les plus élevées sont mesurées d'une part, pour le soja DBN8002 sans traitement au glufosinate-ammonium, dans les feuilles au stade R2 pour la protéine Vip3Aa ($12,75 \pm 2,53 \mu\text{g/g}$ de

matière sèche), et dans les feuilles au stade V5 pour la protéine PAT ($105,07 \pm 6,69 \mu\text{g/g}$ de matière sèche). D'autre part, les teneurs moyennes les plus élevées sont mesurées dans le pollen du soja DBN8002 ayant reçu un traitement au glufosinate-ammonium, $6,44 \pm 0,57 \mu\text{g/g}$ de matière sèche pour la protéine Vip3Aa et $20,51 \pm 1,96 \mu\text{g/g}$ de matière sèche pour la protéine PAT.

Les graines et le fourrage du soja sont à l'origine des produits consommés en alimentation humaine et animale. Les concentrations des protéines Vip3Aa et PAT dans le fourrage (stade R6) et dans les graines (stade R8) issus du soja DBN8002, traité et non traité par le glufosinate-ammonium, figurent dans le Tableau 1.

Tableau 1. Teneurs en protéines exogènes Vip3Aa et PAT mesurées par des tests ELISA dans les graines et le fourrage de soja DBN8002 cultivé en Chine, traité ou non traité par le glufosinate-ammonium.

Valeurs exprimées en $\mu\text{g/g}$ de matière sèche \pm écart-type pour une efficacité d'extraction minimale de 91 % pour les deux protéines. Les données entre parenthèses représentent la gamme de valeurs (minimum - maximum). Pour chaque condition, 20 g de fourrage sont utilisés et 50 graines de soja.

	Condition	Vip3Aa ($\mu\text{g/g}$)	PAT ($\mu\text{g/g}$)
Fourrage (R6)	Soja DBN8002 traité	$3,01 \pm 0,88$ (1,14 - 4,93)	$34,56 \pm 11,58$ (14,71 - 59,50)
	Soja DBN8002 non traité	$2,42 \pm 0,78$ (1,05 - 4,01)	$32,45 \pm 12,15$ (12,97 - 52,45)
Graines (R8)	Soja DBN8002 traité	$0,57 \pm 0,09$ (0,39 - 0,77)	$18,08 \pm 5,48$ (9,96 - 30,08)
	Soja DBN8002 non traité	$0,59 \pm 0,09$ (0,40 - 0,82)	$18,90 \pm 3,96$ (10,62 - 26,55)

L'ensemble des mesures sur les plantes de ces deux essais au champ ne met pas en évidence un effet du traitement au glufosinate-ammonium sur le niveau d'expression des protéines Vip3Aa et PAT.

1.2.4 Conclusions de la caractérisation moléculaire

Le GT PGM considère que la caractérisation moléculaire du soja DBN8002 est suffisante au regard des documents guides de l'Efsa (Efsa, 2011a) dans le cadre de cette demande d'autorisation de mise sur le marché. Le GT PGM note cependant que les lignées de soja utilisées pour chaque analyse ne sont pas indiquées, et souhaiterait que ces informations soient précisées dans le dossier. De plus, une comparaison des séquences de la région génomique au niveau du site d'insertion de l'ADN-T du soja DBN8002 avec son témoin isogénique Jack serait plus appropriée.

1.3 Évaluation comparative

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

Les analyses phénotypiques et agronomiques et les analyses de composition ont été réalisées sur le soja DBN8002, son comparateur isogénique non transgénique Jack et six variétés commerciales non transgéniques utilisées comme témoins. Les graines de soja DBN8002 et Jack utilisées pour les essais au champ ont été récoltées sur le même site d'essai en 2019.

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

En 2020, le soja DBN8002, le comparateur isogénique Jack et les variétés commerciales (trois variétés par site) ont été cultivés sur huit sites chinois. Ces huit sites expérimentaux sont indiqués par le pétitionnaire comme représentatifs de la production de soja en Chine. Chaque modalité (variété témoin, variétés commerciales et soja génétiquement modifiée DBN8002 traité ou non avec du glufosinate-ammonium) a été répétée quatre fois sur chaque site selon un plan d'expérience en blocs randomisés. Aucun traitement avec une préparation herbicide n'a été appliqué à la variété Jack ou aux variétés commerciales.

Le plan expérimental correspond aux recommandations de l'Efsa (Efsa, 2011b; Efsa, 2015a). Les analyses ont été réalisées avec les échantillons récoltés sur les huit sites d'essais.

Le GT considère que les conditions d'échantillonnage et l'identification des données fournies sont insuffisamment précises et décrites. Les caractéristiques agronomiques, phénotypiques et de composition ont fait l'objet d'une analyse statistique mais, en l'absence de description du modèle statistique utilisé et de la fourniture des codes de programmes, il n'est pas possible d'expertiser l'analyse statistique réalisée (Efsa, 2010a).

1.3.3 Sélection du matériel et des composés pour analyse

Le pétitionnaire démontre que la capacité de germination des graines de soja DBN8002 est équivalente à celle du comparateur isogénique Jack.

L'analyse de composition a été réalisée sur la graine mature et sur le fourrage de soja. Sur l'ensemble des composés analysés de la graine, huit minéraux (magnésium, potassium, fer, sodium, sélénium, manganèse, cuivre et zinc) et cinq vitamines (acide folique, vitamine A, bêta-carotène, niacine et vitamine B6) sont manquants par rapport à la liste des minéraux et vitamines décrite pour le soja dans le document consensus de l'OCDE.

Cependant, les composés analysés correspondent à ceux recommandés dans les listes des nutriments et des paramètres de composition suggérés dans les matrices de soja pour l'alimentation humaine et animale du document de l'OCDE (OCDE, 2012).

1.3.4 Analyse comparative de la composition

Cinquante-sept paramètres dont les allergènes ont été mesurés pour la graine et sept pour le fourrage. Le pétitionnaire estime avoir démontré une équivalence entre la composition du soja DBN8002 et celle des variétés de soja commerciales.

En l'absence des informations sur l'analyse statistique réalisée, le GT PGM ne peut se prononcer sur l'analyse de composition du soja DBN8002.

1.3.5 Analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques

Les caractéristiques agronomiques et phénotypiques des plantes de soja sont mesurées par le pétitionnaire sur treize traits quantitatifs. Le pétitionnaire estime avoir démontré que le soja DBN8002 est équivalent aux variétés commerciales de référence pour les caractéristiques agronomiques et phénotypiques.

En l'absence des informations sur l'analyse statistique réalisée, le GT PGM ne peut se prononcer sur l'analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques du soja DBN8002.

1.3.6 Effets de la transformation

Le pétitionnaire estime que les produits issus du soja DBN8002 ne devraient pas être différents de ceux issus de sojas conventionnels et ne présente aucune analyse des produits transformés.

1.3.7 Conclusions de l'évaluation comparative

En raison de l'absence de la description du modèle statistique et des codes des programmes utilisés, le GT PGM ne peut conclure sur l'évaluation comparative du soja DBN8002.

1.4 Toxicologie

1.4.1 Analyse des protéines nouvellement exprimées

Le soja DBN8002 exprime deux protéines exogènes : Vip3Aa et PAT.

Les données relatives à la sécurité toxicologique des bactéries sources, les recherches bioinformatiques d'identités de séquences entre les protéines Vip3Aa et PAT et des séquences d'allergènes et de toxines connus, la dégradabilité de ces protéines par les enzymes digestives, la thermosensibilité de ces protéines et les teneurs de ces protéines nouvellement exprimées dans les graines et dans le fourrage ainsi que l'analyse faite par le GT PGM de ces données sont détaillées dans les sections sur la caractérisation moléculaire de la plante génétiquement modifiée (section 1.2.2) et sur l'allergénicité (section 1.5).

La recherche des identités de séquences des protéines Vip3Aa et PAT présentes dans le soja DBN8002 avec les toxines de la banque ToxDB (version 2021) a été réalisée par le pétitionnaire et est résumée en section 1.2.2.

Le GT PGM constate que les identités de séquence observées avec des protéines toxiques référencées dans la base de données ToxDB correspondent seulement aux protéines exogènes d'intérêt Vip3Aa et PAT.

Pour se prévaloir d'un historique d'utilisation sûre pour la protéine Vip3Aa exprimée dans le soja DBN8002, le pétitionnaire cite l'autorisation de l'Union européenne (décision d'exécution (UE) 2016/1685) et l'avis de l'Efsa (2015b) pour l'importation, la transformation ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale du maïs Bt11 x MIR162 x MIR604 x GA21 qui exprime six protéines exogènes différentes dont la protéine Vip3Aa20. La protéine Vip3Aa20 est exprimée dans le maïs génétiquement modifié MIR162.

Le pétitionnaire cite également un article sur une étude de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours chez le rat avec une préparation contenant des bactéries génétiquement modifiées exprimant la protéine VIP83 (Peng *et al.*, 2007).

Dans son avis sur la demande d'autorisation de mise sur le marché du maïs MIR162 (Efsa, 2012), l'Efsa a réfuté l'utilisation de l'étude de toxicité présentée par Peng *et al.* pour documenter la sécurité toxicologique de la protéine Vip3Aa20 du maïs MIR162 pour trois raisons : « *With respect to this study performed by Peng et al. (2007), the Efsa GMO Panel noted that (1) the study was performed with a bacterial preparation (BMB696B) containing a Vip3Aa protein that was not identical to the one expressed in maize MIR162; (2) the concentration of the Vip3Aa protein in the bacterial preparation used for the 28-day toxicity study was unknown; and (3) no comprehensive histopathological examination as recommended in OECD Guideline 407 including tissues of the intestinal tracts of the tested animals was performed.* ».

Pour les mêmes raisons que celles avancées par l'Efsa (2012), le GT PGM considère que l'étude de Peng *et al.* (2007) ne peut pas être retenue comme argument de sécurité toxicologique de la protéine Vip3Aa chez le soja DBN8002.

Sans information sur l'homologie de séquences des différentes protéines Vip, Vip3Aa1 de *Bacillus thuringiensis*, Vip3Aa20 présente dans le maïs MIR162 et Vip3Aa présente dans le soja DBN8002, le GT PGM ne peut pas retenir les données de sécurité sanitaire correspondantes et ne peut pas considérer un historique d'utilisation sûre pour la protéine Vip3Aa présente dans le soja DBN8002.

Pour documenter la sécurité toxicologique de la protéine Vip3Aa, le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir une étude de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours chez le rongeur (OCDE, 2008) avec la protéine Vip3Aa exprimée par le soja DBN8002, si cette protéine est différente de la protéine Vip3Aa20 présente dans le maïs MIR162.

La protéine PAT présente dans le soja DBN8002 est équivalente à d'autres protéines PAT exprimées par des plantes génétiquement modifiées ayant fait l'objet d'une évaluation dans le cadre de demandes d'autorisation de mise sur le marché, dont le pétitionnaire fournit une liste non-exhaustive. Le pétitionnaire renvoie aux évaluations réalisées par l'Efsa sur ces plantes et cite la référence Hérouet *et al.* (2005) pour documenter la sécurité de la protéine PAT.

Le GT PGM souhaiterait que les principaux résultats toxicologiques sur la protéine PAT soient présentés par le pétitionnaire dans le dossier pour argumenter l'historique d'utilisation sûre.

Le pétitionnaire n'apporte aucune argumentation sur les interactions protéiques potentielles entre Vip3Aa et PAT.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir une justification permettant d'évaluer les interactions potentielles entre les protéines Vip3Aa et PAT.

1.4.2 Analyse des nouveaux constituants autres que les protéines

Le pétitionnaire ne fournit pas d'information sur la présence éventuelle de nouveaux constituants en dehors des protéines Vip3Aa et PAT dans le soja DBN8002.

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 des aliments pour animaux dérivés du soja DBN8002.

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

Une étude de toxicité orale à dose répétée pendant 90 jours sur le rat a été menée en 2022 selon un protocole s'appuyant sur la ligne directrice OCDE 408 (OCDE, 2018) et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).

Six groupes de 16 rats mâles et 16 rats femelles, de la souche Sprague-Dawley, ont été nourris avec des régimes alimentaires contenant :

- 20 % de farine de graines non déshuilée issue de soja de la variété génétiquement modifiée DBN8002 ;
- 10 % de farine de graines non déshuilée issue de soja de la variété génétiquement modifiée DBN8002 complété avec 10 % issue de soja de la variété isogénique Jack ;
- 20 % de farine de graines non déshuilée issue de soja de la variété isogénique Jack ;
- 20 % de farine de graines non déshuilée issues de trois sojas commerciaux non génétiquement modifiés.

Le GT PGM ne peut pas se prononcer sur la sécurité sanitaire du soja DBN8002 en raison de l'absence :

- d'information relative au traitement du soja DBN8002 par la substance herbicide d'intérêt, le glufosinate-ammonium, ce qui est une exigence du Règlement d'exécution (UE) n° 503/2013,
- des certificats d'analyse des lots de graines de soja et des aliments distribués aux rats. Cette absence ne permet pas d'identifier les contaminants et les substances anti-nutritionnelles (isoflavones) présents et de vérifier l'équivalence nutritionnelle des différents régimes distribués,
- des données historiques du centre investigateur, comme demandées par la ligne directrice OCDE (OCDE, 2018),
- d'un calcul de puissance et de détails sur l'analyse statistique conduite. Le pétitionnaire devrait détailler les tests statistiques effectués, en précisant si une correction des p -valeurs a été effectuée pour prendre en compte la multiplicité des tests. En effet, cette correction influe grandement sur la puissance des tests.

À ces éléments s'ajoute le faible nombre de rats par groupe et par régime (16 rats par sexe) alors que l'Anses préconise un nombre de 20 mâles et 20 femelles par groupe (Anses, 2011).

Les données sériques indiquent une augmentation significative du taux de créatinine chez les rats mâles et femelles ayant consommé un régime contenant 10 à 20 % de soja DBN8002, par rapport aux rats nourris avec le régime témoin. Pour les mâles, on observe également une augmentation de la teneur en sodium, du rapport albumine sur globuline, et des taux de HDL et LDL.

Les rats mâles et femelles ayant consommé le régime contenant 20 % de soja DBN8002, ont une teneur en hormone thyroïdienne T3 significativement plus élevée que celle du lot témoin. De plus, ces rats mâles présentent également une augmentation significative de la masse absolue de la somme de la glande thyroïde et des parathyroïdes, en masse absolue et en masse relative par rapport au poids de l'animal, ou par rapport au poids du cerveau.

Le GT PGM demande au pétitionnaire d'apporter des arguments pour écarter le risque d'effets délétères au niveau du rein et du système thyroïdien.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir les informations complémentaires (précisées ci-dessus) relatives à l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours présentée dans le dossier. En l'absence de ces informations complémentaires, le GT PGM ne peut conclure sur la sécurité sanitaire liée à la consommation du soja DBN8002.

1.4.5 Conclusions de l'évaluation toxicologique

L'évaluation des éléments présentés sur la sécurité de la protéine PAT ne met pas en évidence d'informations conduisant à suspecter un effet toxique sur la santé humaine et animale de cette protéine mais le GT PGM n'est pas en mesure de se prononcer sur la sécurité sanitaire de la protéine Vip3Aa sans étude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours chez le rongeur.

Le GT PGM ne peut pas se prononcer sur la sécurité sanitaire liée à la consommation du soja DBN8002 pour l'alimentation humaine et animale sans la fourniture des informations complémentaires décrites ci-dessus.

1.5 Allergénicité

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

Le potentiel allergénique des protéines nouvellement exprimées dans le soja DBN8002, Vip3Aa et PAT, a été évalué selon les quatre critères d'évaluation de l'allergénicité recommandés par l'Efsa (Efsa, 2017), à savoir :

- l'innocuité de la source des protéines exprimées dans la plante génétiquement modifiée (*Bacillus thuringiensis* pour Vip3Aa et *Streptomyces viridochromogenes* pour PAT),
- l'absence d'identités de séquences entre les protéines Vip3Aa et PAT avec des allergènes connus lorsque la recherche est effectuée avec l'algorithme FASTA et des fenêtres glissantes de 80 et de 8 résidus,
- la dégradation *in vitro* des protéines Vip3Aa et PAT par la pepsine et la pancréatine,
- la faible teneur en protéines Vip3Aa et PAT exprimées dans les graines de soja DBN8002.

La recherche des identités totales, globales (> 35 % sur une fenêtre glissante de 80 acides aminés) et locales (100 % d'identités sur une fenêtre glissante de 8 acides aminés), de séquences entre les protéines Vip3Aa et PAT exprimées dans le soja DBN8002 et des allergènes connus a été réalisée par le pétitionnaire avec l'algorithme FASTA (version 21) de la banque FARRP (AllergenOnline), sans résultat positif.

La recherche actualisée par le GT PGM avec la version 22 de l'algorithme FASTA de la banque FARRP (AllergenOnline) et Compare (2023) montre également l'absence de résultat positif pour les protéines Vip3Aa et PAT.

La recherche de peptides immunotoxiques potentiels (« non IgE-mediated adverse immune reactions to foods ») ne met pas en évidence d'identité de séquence avec les peptides identifiés expérimentalement comme épitopes restreints capables de s'ancrer dans la corbeille du CMH-II des groupes HLA-DQ2 et HLA-DQ8 et de déclencher une réponse immunotoxique chez les sujets atteints de maladie coéliquaue.

En complément des analyses *in silico* avec différentes bases de données, des études ont été réalisées avec les protéines Vip3Aa et PAT produites dans deux souches génétiquement modifiées d'*Escherichia coli*. Les équivalences biochimiques entre les protéines Vip3Aa et PAT issues d'*E. coli* GM et celles purifiées de feuilles issues du soja DBN8002 ont été démontrées.

En plus des caractéristiques biochimiques, l'équivalence fonctionnelle des deux protéines a été recherchée :

- l'activité insecticide de la protéine Vip3Aa, isolée de feuilles de soja DBN8002 ou purifiée d'une culture d'*E. coli* GM, a été déterminée à différentes concentrations dans l'alimentation des larves de *Spodoptera frugiperda*. Ainsi, la CL50⁴ a été fixée à 5,354 µg/g d'aliment pour la Vip3Aa produite dans *E. coli* GM et à 3,383 µg/g pour la Vip3Aa isolée du soja DBN8002, soit une efficacité 1,6 fois plus élevée pour celle du soja,
- l'équivalence fonctionnelle de l'activité enzymatique de la protéine PAT isolée de feuilles de soja DBN8002 ou purifiée d'une culture d'*E. coli* GM a été démontrée *in vitro* pour la métabolisation du glufosinate-ammonium.

L'équivalence des protéines Vip3Aa et PAT issues d'*E. coli* GM ou purifiées de feuilles de soja DBN8002 a donc été montrée par le pétitionnaire.

D'une part, le pétitionnaire a réalisé des études de dégradation *in vitro* par la pepsine et la pancréatine avec les protéines Vip3Aa et PAT synthétisées par les *E. coli* GM. Les résultats obtenus indiquent que les protéines Vip3Aa et PAT sont rapidement dégradées dans ces conditions. D'autre part, les protéines PAT et Vip3Aa apparaissent comme thermostables dans les analyses fournies par le pétitionnaire. La protéine Vip3Aa perd cependant son immunoréactivité après 30 min dès 55 °C, mais celle de la protéine PAT n'a pas été mesurée.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir un test d'immunoréactivité de la protéine PAT pour évaluer sa dénaturation en fonction de la température.

De plus, étant donné la teneur suffisamment élevée en protéine PAT synthétisée dans les feuilles du soja DBN8002 et les faibles quantités nécessaires pour la réalisation des tests de dégradation *in vitro* et de résistance à la chaleur, le GT PGM demande que la protéine PAT extraite de la plante génétiquement modifiée soit utilisée pour la réalisation de ces tests, conformément aux recommandations de l'Efsa (Efsa, 2017).

⁴ CL50 ou concentration létale médiane

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

Le soja et ses produits dérivés sont inscrits dans la liste des allergènes à étiquetage obligatoire (Règlement (UE) n°1169/2011). De nombreux allergènes ont été identifiés dans les graines de soja et certains d'entre eux sont des allergènes majeurs (allergènes pour lesquels des IgE spécifiques sont présentes chez plus de la moitié des patients allergiques au soja). Dans le cas où la plante est elle-même un allergène reconnu, le Règlement d'exécution (UE) n°503/2013 recommande de procéder à une analyse du répertoire des allergènes de la plante génétiquement modifiée et de son comparateur isogénique. L'objectif est de détecter une éventuelle modification de l'expression du ou des allergènes endogènes induite par l'introduction du ou des transgène(s) dans la plante génétiquement modifiée.

Le dosage par LC-MS/MS des principaux allergènes présents dans les graines de soja a été inclus dans l'analyse comparative du soja DBN8002 effectuée par le pétitionnaire : il s'agit des allergènes Glycine, Gly m1 (protéine hydrophobe de la graine HSP), Gly m3 (profiline), Gly m4 (protéine PR-10 Bet v 1-like), Gly m5 (vicilline, 7S globuline), Gly m7 (protéine biotinylée spécifique de la graine, SSBP), Gly m8 (albumine 2S), inhibiteur I de Kunitz et inhibiteur III de Kunitz, Gly m Bd28K et Gly m Bd30K. La teneur de ces allergènes est quantifiée dans les graines de soja DBN8002, qu'il soit traité ou non avec du glufosinate-ammonium. Les échantillons sont issus du même dispositif expérimental et les analyses statistiques ont été réalisées de la même manière que pour l'évaluation comparative.

En absence des informations sur l'analyse statistique réalisée pour l'analyse comparative de la composition (section 1.3.4), le GT PGM ne peut pas se prononcer sur l'équivalence de composition pour les allergènes endogènes entre le soja DBN8002 et des variétés de soja non transgéniques. Le GT PGM ne peut donc pas se prononcer sur l'allergénicité potentielle du soja DBN8002.

1.5.3 Adjuvantité

Les résultats disponibles ne laissent pas supposer que les deux protéines nouvellement exprimées dans le soja DBN8002, Vip3Aa et PAT, puissent développer des propriétés adjuvantes.

1.5.4 Conclusions de l'évaluation de l'allergénicité

Sur la base des données fournies par le pétitionnaire, les protéines Vip3Aa et PAT satisfont globalement aux critères d'évaluation de l'allergénicité proposés par l'Efsa et leur potentiel allergénique semble non préoccupant. Néanmoins, le GT PGM note que l'absence de test de l'immunoréactivité de la protéine PAT ne permet pas d'identifier la dénaturation de la protéine en fonction de la température.

De plus, le GT PGM ne peut pas se prononcer sur l'allergénicité potentielle du soja DBN8002 en l'absence d'une validation de l'équivalence de composition pour les allergènes endogènes entre le soja DBN8002 et des variétés de soja non transgéniques.

1.6 Évaluation nutritionnelle

Le pétitionnaire n'a pas réalisé d'évaluation nutritionnelle estimant avoir démontré l'équivalence de composition entre le soja DBN8002 et des variétés de soja non transgéniques.

Le GT PGM ne peut pas se prononcer sur la nécessité d'une évaluation nutritionnelle en absence de la démonstration d'équivalence de la composition entre le soja DBN8002 et les variétés de soja non transgéniques (section 1.3.4).

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

Les concentrations moyennes en protéines nouvellement exprimées Vip3Aa et PAT dans la graine et le fourrage du soja DBN8002 proviennent des données de l'étude au champ conduite en 2020 et pour le pollen, de l'étude au champ conduite en 2022 (cf. 1.2.2).

L'estimation de la consommation journalière des protéines Vip3Aa et PAT par l'animal se base sur les données de l'OCDE (OCDE, 2013) relatives à la consommation de soja par les animaux d'élevage, les teneurs moyennes en protéines Vip3Aa et PAT dans les graines et le fourrage de soja DBN8002 et un scénario du pire cas (tout le soja consommé est considéré comme étant du soja DBN8002 et les protéines Vip3Aa et PAT sont intégralement conservées y compris lors de la fabrication des tourteaux).

Les teneurs moyennes en protéines Vip3Aa et PAT dans le soja DBN8002 traité avec du glufosinate-ammonium sont respectivement de 3,01 µg/g et 34,56 µg/g de masse sèche dans les graines et de 0,57 µg/g et 18,08 µg/g de masse sèche dans le fourrage. Les protéines de la graine se retrouvant dans les tourteaux après séparation de l'huile, le pétitionnaire utilise un facteur multiplicatif de 1,33 pour calculer l'apport en protéines Vip3Aa et PAT par la consommation de tourteau.

En utilisant les données de l'OCDE (OCDE, 2013) et ce scénario du pire cas, le pétitionnaire estime que les apports journaliers les plus élevés sont obtenus :

- pour les animaux monogastriques consommant des tourteaux de soja, chez les dindes avec 0,024 mg/kg p.c./jour de protéine Vip3Aa et 0,773 mg/kg p.c./jour de protéine PAT ;
- pour les animaux ruminants consommant des tourteaux et du fourrage de soja, chez les agneaux avec 0,034 mg/kg p.c./jour de protéine Vip3Aa et 0,549 mg/kg p.c./jour de protéine PAT.

L'étude de l'exposition alimentaire aiguë et chronique chez l'Homme aux protéines Vip3Aa et PAT via la consommation de denrées provenant de soja DBN8002 est réalisée selon les recommandations de l'Efsa, en utilisant le fichier mis à disposition pour réaliser les calculs des expositions alimentaires (Efsa, 2019⁵; version février 2021).

Des hypothèses conservatives sont formulées par le pétitionnaire :

- tout le soja consommé est du soja DBN8002,
- les procédés de transformation des denrées n'impactent pas les concentrations en protéines exogènes Vip3Aa et PAT qui restent identiques à celles présentes dans les graines ou le pollen de soja DBN8002.

⁵ <https://www.Efsa.europa.eu/en/applications/gmo/tools>

Les teneurs moyennes en protéines Vip3Aa et PAT dans le soja DBN8002 traité avec du glufosinate-ammonium sont respectivement de 0,51 µg/g et 16,28 µg/g de masse fraîche dans les graines et de 6,05 µg/g et 19,28 µg/g de masse fraîche dans le pollen. Les consommations de compléments à base de pollen, de protéines ou d'acides aminés et les consommations de protéines et ingrédients protéinés destinés aux sportifs ont été prises en compte uniquement pour les forts consommateurs. La consommation d'huile issue du soja DBN8002 n'a pas été prise en compte dans l'exposition alimentaire. Ce choix s'explique en raison de la teneur en protéines négligeable de ce produit.

Le pétitionnaire indique que :

- pour les forts consommateurs, l'exposition alimentaire aiguë estimée la plus élevée aux protéines Vip3Aa et PAT résulte de la consommation de soja DBN8002 en Autriche par les adultes, avec respectivement des estimations de consommation de 9,347 et 298,369 µg /kg p.c./jour. Les boissons à base de soja sont les denrées contributrices majeures.
- pour les moyennes de consommation, l'exposition alimentaire aiguë estimée la plus élevée aux protéines Vip3Aa et PAT résulte de la consommation de soja DBN8002 en Roumanie par les végétariens, avec respectivement des estimations de consommation de 0,091 et de 2,896 µg/kg p.c./jour ;
- pour les forts consommateurs, l'exposition alimentaire chronique estimée la plus élevée aux protéines Vip3Aa et PAT résulte de la consommation de soja DBN8002 en Autriche par les adultes, avec respectivement des estimations de consommation de 5,978 et 189,478 µg/kg p.c./jour. Les boissons à base de soja sont les denrées contributrices majeures.
- pour les moyennes de consommation, l'exposition alimentaire chronique estimée la plus élevée aux protéines Vip3Aa et PAT résulte de la consommation de soja DBN8002 en Belgique par les jeunes enfants (12 à 35 mois), avec respectivement des estimations de consommation de 0,077 et de 2,446 µg/kg p.c./jour.

Le GT PGM considère que l'exposition alimentaire humaine et animale au soja DBN8002 ne soulève pas de préoccupation sanitaire particulière quant à l'utilisation de ce soja en alimentation animale ou humaine.

3. Caractérisation des risques

Le pétitionnaire indique qu'il n'identifie pas de risques pour la santé animale ou humaine.

Les commentaires du GT PGM concernant l'évaluation des risques pour la santé animale ou humaine sont formulés dans les chapitres 1 et 2 qui précèdent.

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

Considérant l'absence de risque identifié pour la santé animale ou humaine, le pétitionnaire ne propose pas de plan de surveillance de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux provenant du soja DBN8002, consécutivement à sa mise sur le marché.

5. Évaluation des risques pour l'environnement (ERE)

5.1 Introduction

La présente demande concerne l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale du soja DBN8002. La culture de ce soja dans l'Union européenne est exclue de cette demande.

5.2 Approche globale de l'ERE

Les résultats de l'évaluation moléculaire, de l'évaluation comparative de la composition et des caractères agronomiques et phénotypiques ainsi que l'étude de la germination n'ont pas montré de différence biologique autre que les traits recherchés de tolérance à la substance herbicide glufosinate-ammonium et de résistance à certains lépidoptères. Les dangers considérés dans le cadre de l'évaluation des risques environnementaux sont donc liés à l'expression des protéines Vip3Aa et PAT.

S'agissant d'une demande d'AMM d'importation sans demande de culture, l'exposition de l'environnement de l'Union européenne selon le guide de l'Efsa (Efsa, 2010b) peut résulter :

- d'une dispersion accidentelle de graines importées,
- d'une exposition aux fèces d'animaux ayant consommé le soja DBN8002,
- d'une exposition aux produits dérivés du soja DBN8002.

5.3 Domaines spécifiques de risques

5.3.1 Persistance et caractère envahissant y compris le « flux de gènes » de plante à plante

Le soja cultivé, *Glycine max* (L.) Merr., a été domestiqué à partir de l'espèce sauvage *Glycine soja* Sieb. et Zucc. présente en Asie orientale. Le soja cultivé a la capacité de s'hybrider avec le soja sauvage annuel (*Glycine soja*), ce qui produit des hybrides fertiles. De manière plus rare, il peut également s'hybrider avec des espèces sauvages pérennes appartenant au genre *Glycine*. En l'état actuel des connaissances, aucune des espèces sauvages apparentées au soja n'est présente en Union européenne.

Une plante de soja peut produire jusqu'à 400 gousses, pouvant chacune contenir jusqu'à cinq graines. Les gousses et les graines de soja n'ont pas de mécanisme facilitant leur dispersion sur de longues distances, de manière naturelle ou *via* les animaux (OCDE, 2000). Leur dispersion reste toutefois possible par les activités humaines. En conséquence, des populations de repousses peuvent être observées au sein des parcelles agricoles tandis que le soja est peu susceptible de former des populations férales en dehors des milieux cultivés. En 2020, le pétitionnaire a effectué en Chine une simulation de dispersion accidentelle de graines de soja DBN8002 et de celles de son comparateur isogénique Jack. Les données apportées par cette expérimentation visant à évaluer la persistance et le caractère envahissant ne montrent pas de différence entre le soja DBN8002 et son témoin Jack.

Le pétitionnaire se réfère ensuite aux conditions climatiques moyennes actuelles des régions de l'Union européenne pour évaluer le risque de survivance des graines, d'établissement et de persistance de plantes férales du soja DBN8002 dans l'environnement. L'évolution vers des conditions climatiques plus favorables pour le soja sous l'effet du changement climatique n'a pas été prise en compte. De plus, l'Union européenne comprend des régions ultrapériphériques situées en zones tropicales, qui sont plus propices à la persistance du soja. C'est le cas pour certains des départements et régions d'outre-mer du territoire français.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de considérer les caractéristiques environnementales liées au changement climatique plus favorables à la persistance du soja, ainsi que celles spécifiques aux régions situées en zones tropicales, dans l'évaluation des risques environnementaux et dans le plan de surveillance.

Pour qu'une dispersion du transgène par flux de gène d'une plante se produise, les conditions suivantes devraient être réunies :

- dispersion accidentelle des graines ;
- germination et établissement de plantes capables de se reproduire ;
- présence à proximité d'autres plantes de soja ayant une floraison synchrones.

Le GT PGM rappelle que :

- le soja est majoritairement autogame (taux d'allogamie < 1 % ; Caviness, 1966) ;
- les distances de dispersion du pollen de soja sont faibles, ce qui limite le risque de flux de gènes de plante à plante. Le taux de pollinisation croisée est de moins de 10 % entre plantes adjacentes et décroît fortement dans les premiers mètres : la distance maximale rapportée de dispersion du pollen est de 13 mètres (Kim *et al.*, 2020) ;
- le soja n'est pas une plante connue comme attractive pour les pollinisateurs ;
- la dispersion du pollen de soja est limitée par la cléistogamie⁶ ;
- il n'existe pas, à ce jour, d'espèces sauvages apparentées au soja sur le continent européen.

Le GT PGM rappelle que l'usage de la substance herbicide glufosinate-ammonium n'est plus autorisé dans l'Union européenne (Commission Européenne, 2020). La présence du gène *pat* n'est donc pas susceptible de conférer un avantage sélectif à une plante tolérante à cette substance.

Sur le continent européen, et dans les conditions climatiques actuelles, le GT PGM estime que le risque de flux de gènes de plante à plante est négligeable et non préoccupant pour le soja DBN8002.

5.3.2 Transfert de gènes de la plante à des micro-organismes

Concernant le risque de transfert de gènes de la PGM à des micro-organismes, le pétitionnaire fournit des études bio-informatiques montrant l'absence d'alignement significatif (> 190 nucléotides sur une fenêtre de 200 nucléotides) entre l'ADN inséré chez le soja et des séquences d'ADN de génomes bactériens et d'archaebactéries (base de données NCBI-novembre 2022) qui pourrait conduire à une recombinaison homologue avec ces micro-organismes de l'environnement.

Les organismes donneurs des deux transgènes du soja DBN8002, *B. thuringiensis* et *S. viridochromogenes*, sont présents dans les sols. Il est donc probable que les communautés bactériennes au sein de ces systèmes soient déjà fréquemment exposées à des gènes bactériens *vip3Aa* et *pat*.

Le GT PGM estime que le risque de transfert de gènes du soja DBN8002 vers les micro-organismes est négligeable et non préoccupant.

⁶ Les anthères restent à l'intérieur des fleurs durant la reproduction.

5.3.3. Interactions de la plante génétiquement modifiée avec les organismes cibles

Le pétitionnaire indique cinq espèces connues pour être sensibles à la protéine Vip3Aa : *Agrotis ipsilon*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera exigua*, *Heliiothis virescens* et *Helicoverpa zea* (Lee *et al.*, 2006 ; Chakroun *et al.*, 2012 et 2016).

Le pétitionnaire a réalisé une étude de toxicité de la protéine Vip3Aa sur un lépidoptère cible (cf 1.5.1). De jeunes larves de *Spodoptera frugiperda* ont été nourries avec des aliments enrichis en Vip3Aa produite par une bactérie *E. coli* GM ou purifiée à partir de feuilles de soja DBN8002. Cette étude de toxicité permet de fixer une CL50 à 3,38 µg de Vip3Aa/g d'aliment pour le régime contenant de la Vip3Aa extraite de feuilles du soja DBN8002. La CL50 de Vip3Aa sur des larves de *S. frugiperda* est élevée par rapport aux concentrations de protéine Vip3Aa mesurées dans les feuilles de soja DBN8002 à différents stades de croissance (entre 1,87 et 2,55 µg/g de matière fraîche).

Le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir les éléments démontrant que l'ingestion du soja DBN8002 est bien létale pour les larves d'insectes cibles (test de toxicité à partir de feuilles) ou de préciser les quantités de matières fraîches ingérées par les larves. En effet, l'ingestion de quantité de protéine insecticide Vip3Aa inférieure à la concentration létale par des insectes cibles pourrait entraîner l'apparition à moyen ou court terme de résistance à cette molécule insecticide.

Le GT PGM estime que la liste des espèces ciblées par la protéine Vip3Aa fournie par le pétitionnaire est non exhaustive et insuffisante : *Agrotis ipsilon*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera exigua*, *Heliiothis virescens* et *Helicoverpa zea*. Le GT PGM demande au pétitionnaire de fournir une liste de toutes les espèces cibles (Efsa, 2010b), notamment pour l'Union européenne, ainsi que leur affinité pour le soja.

Le GT PGM remarque d'ailleurs qu'afin de vérifier la stabilité du phénotype de résistance à des lépidoptères, le pétitionnaire a infesté des plantes de soja DBN8002 et de la variété témoin Jack sur trois générations avec des larves de *Spodoptera exigua* Hübner et *Spodoptera litura* Fabricius. L'espèce *Spodoptera litura*, non présente dans la liste fournie, fréquemment observée sur le soja, est sensible à la protéine Vip3Aa (Milne *et al.*, 2008).

Le GT PGM demande au pétitionnaire de compléter la liste des espèces ciblées par la protéine insecticide Vip3Aa, conformément aux recommandations de l'Efsa (2010b).

Le pétitionnaire ne se réfère qu'à une importation du soja DBN8002 dans les régions de l'Union européenne de climat tempéré. Le GT PGM note que *Spodoptera frugiperda* est un organisme cible présent à Mayotte et à La Réunion. Le développement d'une résistance à la protéine Vip3Aa chez ce lépidoptère pourrait théoriquement avoir des conséquences sur les stratégies de lutte contre cette espèce à long terme dans les régions ultrapériphériques de l'Union européenne.

Le GT PGM demande au pétitionnaire de prendre en compte dans son analyse de risque l'Union européenne et ses régions ultrapériphériques et d'évaluer les conséquences potentielles du développement d'une résistance des insectes à la protéine insecticide Vip3Aa, en considérant toutes les espèces cibles et leurs aires de répartition.

5.3.4 Interactions de la plante génétiquement modifiée avec les organismes non cibles

Le pétitionnaire prend en compte les trois scénarios d'exposition non intentionnelle recommandés par l'Efsa (Efsa, 2010b), vis-à-vis des organismes non cibles, à savoir (i) un déversement accidentel de graines viables, (ii) une exposition via les fèces d'animaux nourris avec le soja DBN8002, et (iii) une exposition par le biais de matière organique végétale importée ou issue de l'utilisation du soja DBN8002.

Le pétitionnaire indique que la toxicité de la protéine Vip3Aa a été testée sur certains organismes non cibles sans effets nocifs observables, en se référant aux données de la publication du CERA⁷ (CERA, 2012).

Le GT PGM demande au pétitionnaire de synthétiser tous les éléments bibliographiques concernant les risques liés à l'exposition des organismes non cibles à la protéine insecticide Vip3Aa.

6. Plan de surveillance des effets sur l'environnement consécutive à la mise sur le marché

Les risques d'effets indésirables potentiels sur la santé humaine et animale ou l'environnement étant négligeables dans le contexte des utilisations prévues du soja DBN8002, le pétitionnaire estime qu'il n'est pas nécessaire de procéder à une surveillance spécifique.

Le GT PGM considère que le plan de surveillance générale des effets sur l'environnement présenté est conforme aux recommandations de l'Efsa (Efsa, 2011c).

Le GT PGM rappelle que les procédures visant à limiter les pertes et déversement de graines mentionnées dans le plan de surveillance générale des effets sur l'environnement devront être respectées par l'ensemble des opérateurs manipulant la marchandise.

Dans le cas d'évènements de dispersion accidentelle de graines de soja DBN8002 importées, le GT PGM estime que des mesures de gestion doivent viser à limiter tout risque de formation de repousses de soja génétiquement modifié dans l'environnement.

7. Informations complémentaires sur l'innocuité de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifiés

Le pétitionnaire a procédé à une analyse de la littérature sur la période 2012-2022, ainsi qu'une recherche en avril 2023 sur 12 sites internet d'organisations impliquées sur les risques présentés par les plantes génétiquement modifiées. La question formulée était la suivante : *“Does either DBN8002 soybean and derived food/feed products, or the intended trait(s), lepidoptera resistance and glufosinate-ammonium tolerance, have adverse effects on human and animal health and the environment?”*.

Suite à la recherche dans les bases de données, 90 publications ont été identifiées. Aucune de ces publications n'a été retenue par les « reviewers » selon ces critères de sélection.

Le GT PGM demande au pétitionnaire que les critères de sélection appliqués pour l'analyse de la littérature scientifique soient moins restrictifs et que les articles concernant la protéine insecticide Vip3Aa, y compris non associée à la protéine PAT,

⁷ Center for Environmental Risk Assessment

ainsi que son expression dans d'autres plantes génétiquement modifiées que le soja DBN8002, soient retenus pour être analysés.

Conclusions du groupe de travail PGM

Ce dossier correspond à une première demande d'autorisation de mise sur le marché pour l'importation, la transformation et l'alimentation humaine et animale du soja DBN8002. Il ne concerne pas sa mise en culture.

Considérant notamment, sur le volet sanitaire :

- l'absence de description du modèle statistique utilisé et de la fourniture des codes de programmes pour l'analyse des données issues des essais au champ ce qui ne permet pas d'évaluer l'analyse comparative et l'allergénicité potentielle du soja DBN8002 ;
- l'absence d'une étude de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours chez le rongeur réalisée avec la protéine Vip3Aa synthétisée par le soja DBN8002 ;
- le manque d'informations concernant l'étude de toxicité orale à doses répétées pendant 90 jours chez les rats avec des aliments contenant du soja DBN8002 (conditions de l'étude, données historiques du centre investigateur, calcul de puissance et résultats des analyses statistiques) ;

Et sur le volet environnemental :

- l'absence de prise en compte des caractéristiques environnementales liées au changement climatique plus favorables à la persistance du soja ou aux conditions particulières des régions situées en zones tropicales pour l'évaluation du risque de survivance des graines, d'établissement et de persistance de plantes férales du soja DBN8002 ;
- l'absence de démonstration que la quantité de Vip3Aa synthétisée par le soja DBN8002 soit suffisante pour tuer l'ensemble des larves d'insectes cibles par ingestion de plantes de soja DBN8002 ;
- l'absence d'une liste exhaustive des espèces cibles de la protéine insecticide Vip3Aa et d'évaluation des conséquences potentielles du développement d'une résistance à la protéine insecticide Vip3Aa par toutes les espèces cibles, en prenant en compte leurs aires de répartition dans l'Union européenne et ses régions ultrapériphériques,

le GT PGM ne peut pas se prononcer sur la sécurité sanitaire et environnementale du soja DBN8002.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) endosse les conclusions du GT PGM, qui considère qu'en l'absence de certaines données déterminantes, il ne peut se prononcer sur les risques sanitaires et environnementaux relatifs à l'importation, la transformation et l'utilisation en alimentation humaine et animale du soja DBN8002.

Considérant que des études ou données complémentaires pourraient être versées au dossier par le pétitionnaire à la demande de l'Efsa, le présent avis ne préjuge pas de conclusions finales qui pourraient être rendues ultérieurement par l'Anses au vu d'un dossier complété.



Pr. Benoît VALLET

MOTS-CLÉS

OGM, PGM, soja DBN8002, résistance, insectes, lépidoptères, Vip3Aa, tolérance, herbicides, glufosinate-ammonium, PAT.

GMO, GMP, soybean DBN8002, resistance, insects, lepidoptera, Vip3Aa, tolerance, herbicides, glufosinate-ammonium, PAT.

BIBLIOGRAPHIE

Anses, 2011. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. 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. Maisons-Alfort : Anses, 8 p.

Barteaux, E.N., Lamb, E.G., 2022. Elk (*Cervus elaphus*) grazing reduces volunteer soybean density. *Canadian Journal of Plant Science* 102, 465–467.

Caviness C.E., 1966. Estimates of natural cross-pollination in jackson soybeans in Arkansas. *Crop Science*, 6, 211-212.

CERA (Center for Environmental Risk Assessment), 2012. A Review of the Environmental Safety of Vip3Aa (Jul 2012) | BCH-VLR-SCBD-103864 | Biosafety Virtual Library Resources | Biosafety Clearing-House. ILSI Research Foundation, Washington DC, USA.

Chakroun, M., Bel, Y., Caccia, S., Abdelkefi-Mesrati, L., Escriche, B., Ferré, J., 2012. Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* and *S. exigua* to *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa insecticidal protein. *Journal of Invertebrate Pathology* 110, 334–339.

Chakroun M., Banyuls N., Walsh T., Downes S., James B., Ferré J., 2016. Characterisation of the resistance to Vip3Aa in *Helicoverpa armigera* from Australia and the role of midgut processing and receptor binding. *Scientific Reports* 6, 24311.

Commission Européenne, 2020. Règlement délégué (UE) 2020/1068 de la Commission du 15 mai 2020 modifiant les annexes I et V du règlement (UE) no 649/2012 du Parlement européen et du Conseil concernant les exportations et importations de produits chimiques dangereux. *OJ L 234*, 21.7.2020, 1–7.

Décision d'exécution (UE) 2016/1685 de la Commission du 16 septembre 2016 autorisant la mise sur le marché de produits contenant du maïs génétiquement modifié Bt11 × MIR162 × MIR604 × GA21, consistant en ce maïs ou produits à partir de celui-ci et les maïs génétiquement modifiés combinant deux ou trois des événements Bt11, MIR162, MIR604 et GA21, et abrogeant les décisions 2010/426/UE, 2011/892/UE, 2011/893/UE et 2011/894/UE [notifiée sous le numéro C(2016) 5746] – JOUE-L 254/22 du 20.9.2016, pp. 22-28.

Efsa (European Food Safety Authority), 2010a. Efsa Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Scientific opinion on Statistical considerations for the safety evaluation of GMOs. *Efsa Journal*, 8, 1250, 59 pp.

Efsa (European Food Safety Authority), 2010b. Efsa Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. *Efsa Journal*, 8, 1879, 111 pp.

Efsa (European Food Safety Authority), 2011a. Efsa Panel on Genetically Modified Organisms (GMO); Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. *Efsa Journal*, 9, 2150, 37 pp.

Efsa (European Food Safety Authority), 2011b. Efsa Panel on Genetically Modified Organisms (GMO); Guidance document on Selection of Comparators for the Risk Assessment of GM Plants. *Efsa Journal*, 9, 2149, 20 pp.

Efsa (European Food Safety Authority), 2011c. Efsa Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Scientific Opinion on guidance on the Post-Market Environmental Monitoring (PMEM) of genetically modified plants. *Efsa Journal*, 9, 2316, 40 pp.

Efsa (European Food Safety Authority), 2012. Efsa Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Scientific Opinion on application (Efsa GMO-DE-2010-82) for the placing on the market of insect resistant genetically modified maize MIR162 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Syngenta. *Efsa Journal*, 10, 2756, 27 pp.

Efsa (European Food Safety Authority), 2015a. Efsa Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Guidance on the agronomic and phenotypic characterisation of genetically modified plants. *Efsa Journal*, 13, 4128, 44 pp.

Efsa (European Food Safety Authority), 2015b. Efsa Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Scientific Opinion on an application by Syngenta (Efsa-GMO-DE-2009-66) for placing on the market of herbicide tolerant and insect resistant maize Bt11 × MIR162 × MIR604 × GA21 and subcombinations independently of their origin for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003. *Efsa Journal*, 13, 4297, 34 pp.

Efsa (European Food Safety Authority), 2017. Efsa Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) Guidance on allergenicity assessment of genetically modified plants. *Efsa Journal*, 15, 4862, 49 pp.

Efsa (European Food Safety Authority), 2019. Gomez Ruiz JA, Bresson J-L, Frenzel Tand Paoletti C, 2019. Statement on the human dietary exposure assessment to newly expressed proteins in GM foods. *Efsa Journal*, 17, 5802, 18 pp.

Eurostat, 2020, online. Crop production in EU standard humidity. Available at <https://ec.europa.eu/eurostat/data/database>

Hérouet, C., Esdaile, D.J., Mallyon, B.A., Debruyne, E., Schulz, A., Currier, T., Hendrickx, K., van der Klis, R.-J., Rouan, D., 2005. Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 41, 134–149.

ISAAA, 2019. Global status of commercialized biotech/GM crops in 2019: Biotech crops drive socio-economic development and sustainable environment in the new frontier. *ISAAA brief N° 55*. ISAAA:Ithaca, NY.

Kim D. Y., Eom M. S., Kim H. J., Ko E. M., Park I-S, Park J-H, Park K. W., Nam K-H, Oh S. D., Kim J. K., Seo J. S., Kim C-G., 2020. Gene flow from transgenic soybean, developed to obtain recombinant proteins for use in the skin care industry, to non-transgenic soybean. *Applied Biological Chemistry* 63 :65.

Lee, M.K., Miles, P., Chen, J.-S., 2006. Brush border membrane binding properties of *Bacillus thuringiensis* Vip3A toxin to *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* midguts. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 339, 1043–1047.

Milne, R., Liu, Y., Gauthier, D., Frankenhuyzen, K. van, 2008. Purification of Vip3Aa from *Bacillus thuringiensis* HD-1 and its contribution to toxicity of HD-1 to spruce budworm (*Choristoneura fumiferana*) and gypsy moth (*Lymantria dispar*) (Lepidoptera). *Journal of Invertebrate Pathology* 99, 166–172.

NF X50-110:2024 Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2000. Consensus document on the biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean). ENV/JM/MONO(2000)9,10.

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2008. Essai n° 407 : Toxicité orale à des doses répétées - pendant 28 jours sur les rongeurs. Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE.

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2012. Revised consensus document on compositional considerations for new varieties of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]: Key food and feed nutrients, anti-nutrients, toxicants and allergens.

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2013. Guidance document on residues in livestock. Series on pesticides No. 73.

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2018. Essai n° 408: Toxicité orale à doses répétées - rongeurs: 90 jours, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE.

Peng, D., Chen, S., Ruan, L., Li, L., Yu, Z., Sun, M., 2007. Safety assessment of transgenic *Bacillus thuringiensis* with VIP insecticidal protein gene by feeding studies. *Food and Chemical Toxicology* 45, 1179–1185.

Règlement (CE) n° 1829/2003 du Parlement Européen et du Conseil du 22 septembre 2003 concernant les denrées alimentaires et les aliments pour animaux génétiquement modifiés. *JO L 268* du 18.10.2003, pp. 1-23.

Règlement (CE) n°396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil. *JO L 70* du 16.3. 2005, pp. 1-16.

Règlement (UE) n° 1169/2011 du Parlement Européen et du Conseil du 25 octobre 2011 concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires, modifiant les règlements (CE) n° 1924/2006 et (CE) n° 1925/2006 du Parlement européen et du Conseil et abrogeant la directive 87/250/CEE de la Commission, la directive 90/496/CEE du Conseil, la directive 1999/10/CE de la Commission, la directive 2000/13/CE du Parlement européen et du Conseil, les directives 2002/67/CE et 2008/5/CE de la Commission et le règlement (CE) n° 608/2004 de la Commission. *JO L 304* du 22.11.2011, pp. 1-60.

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. *JO L 157* du 8.6.2013, pp. 1-48.

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2024). Avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché, au titre du Règlement (CE) n°1829/2003 du soja génétiquement modifié DBN8002 développé pour être tolérant au glufosinate-ammonium et 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° GMFF-2022-11530). Maisons-Alfort : Anses, 31 p.



Annexe

Commentaires de l'Anses à destination de la DGAL pour transmission à l'EFSA

concernant la demande d'avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché au titre du Règlement (CE) n°1829/2003, du soja génétiquement modifié DBN8002 développé pour être tolérant au glufosinate-ammonium et 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° GMFF-2022-11530

1. Identification et caractérisation des dangers

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

Le pétitionnaire présente les caractéristiques de survie du soja et de ses graines dans l'environnement. Il indique que si des repousses avaient lieu, elles seraient très probablement détruites par le gel durant l'automne ou l'hiver suivant.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses remarque que la tolérance des graines est peu documentée dans la littérature scientifique. Il relève toutefois qu'une étude menée au Canada, dans l'état du Manitoba (climat continental à hivers froids), rapporte la présence de repousses de soja au printemps dans des parcelles cultivées. Ces repousses seraient issues des graines contenues dans les gousses qui restent attachées à la base des plantes ou tombent au sol après la récolte (Barteaux et Lamb, 2022).

Considérant les conclusions de l'étude de Barteaux et Lamb (2022), le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de prendre en compte la résistance des graines au froid, en hiver dans des conditions climatiques tempérées et continentales, comme une étape clé pour l'établissement et la propagation de plantes férales de soja génétiquement modifié (GM) sur le continent européen.

1.2. Caractérisation moléculaire

1.2.1. Informations concernant la modification génétique

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

1.2.2. Informations concernant la plante génétiquement modifiée

Le pétitionnaire présente un arbre de sélection du soja DBN8002. Après transformation de la lignée parentale Jack avec le transgène, les plantes obtenues sont autofécondées à chaque nouvelle génération. Le pétitionnaire indique que les plantes des générations T3, T5 et T7 sont utilisées pour les tests de Southern Blot et d'analyse de ségrégation.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses note qu'à l'exception des études de Southern Blot et d'analyse de ségrégation, le pétitionnaire n'indique pas quelle génération est utilisée dans les analyses moléculaires et de production. Le pétitionnaire ne précise pas l'objectif du croisement de la génération T4 avec la variété SY026, ni l'utilisation de la génération F2 issue de cet hybride.

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2022-11530
Saisine n° 2023-SA-0182

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de préciser pour chaque analyse quelle lignée de soja est utilisée.

Les séquences des régions flanquantes en 5' et en 3' de l'insert (respectivement 992 pb et 1268 pb) pour le soja DBN8002 ont été comparées avec le génome du soja Williams 82 présent dans la base de données « SoyBase de l'USDA-ARS Soybean Genetics and Genomics Database ». Ces comparaisons de séquences permettent de localiser une insertion unique de l'ADN-T dans le soja DBN8002 et de mettre en évidence une délétion de 6 pb par rapport au soja Williams 82.

Le GT « Biotechnologie » demande au pétitionnaire de fournir la comparaison de la séquence du soja DBN8002 avec celle de la variété isogénique Jack.

1.2.4. Conclusions de la caractérisation moléculaire

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses renvoie aux conclusions des sections du §1.2 concernant la caractérisation moléculaire.

1.3. Analyse comparative

1.3.1 Choix et description des matériels testés y compris l'arbre de sélection de la lignée GM, conditions de production des graines, tests de germination des graines, information sur les variétés de référence

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

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

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses considère que les conditions d'échantillonnage (modalités, nombre de répétitions...) et l'identification des données (identification de l'échantillon utilisé...) fournies dans le dossier sont insuffisamment précises et décrites. Les caractéristiques agronomiques, phénotypiques et de composition ont fait l'objet d'une analyse statistique.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de fournir les codes de programmes et la description du modèle statistique utilisé pour l'analyse statistique réalisée.

1.3.3 Sélection du matériel et des composés pour analyse

Le pétitionnaire a réalisé une analyse de composition sur la graine entière et sur le fourrage de soja. Huit minéraux (magnésium, potassium, fer, sodium, sélénium, manganèse, cuivre et zinc) et cinq vitamines (acide folique, vitamine A, bêta-carotène, niacine et vitamine B6) sont manquants dans l'analyse de la composition de la graine par rapport aux recommandations émises dans le document consensus de l'OCDE (2012).

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de compléter l'analyse de la composition de la graine selon les recommandations du document OCDE (2012).

1.3.4 Analyse comparative de la composition

En l'absence des informations sur l'analyse statistique réalisée et compte tenu des manques et imprécisions présents dans le dossier, le GT « Biotechnologie » de l'Anses ne se prononce pas sur l'analyse de composition du soja DBN8002.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de compléter l'analyse de la composition de la graine selon les recommandations du document OCDE (2012) et de fournir les informations complémentaires sur l'analyse statistique réalisée.

1.3.5 Analyse comparative des caractéristiques agronomiques et phénotypiques

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de fournir les informations sur l'analyse statistique réalisée.

II.1.3.6. Effets de la transformation

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

II.1.3.7. Conclusions de l'évaluation comparative

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses renvoie aux conclusions des sections du §1.3 concernant l'analyse comparative.

1.4. Toxicologie

1.4.1. Analyse des protéines nouvellement exprimées

Le pétitionnaire montre que les protéines PAT et Vip3Aa sont peu dégradées par un traitement thermique. Toutefois, la protéine Vip3Aa perd son immunoréactivité après 30 min à 55 °C mais l'immunoréactivité de PAT n'a pas été recherchée. Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire d'évaluer la thermosensibilité de la protéine PAT.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de fournir un test d'immunoréactivité de la protéine PAT pour démontrer sa thermosensibilité.

Le pétitionnaire cite l'autorisation européenne du maïs Bt11 x MIR162 x MIR604 x GA21 pour se prévaloir d'un historique d'utilisation sûre d'une protéine proche de VIP3Aa et ainsi documenter la sécurité sanitaire de la protéine Vip3Aa mutée présente dans le soja DBN8002. Il ne fournit donc pas d'étude de toxicité pendant 28 jours chez le rongeur avec cette protéine Vip3Aa.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses considère que le pétitionnaire ne peut pas utiliser comme argument l'historique d'utilisation sûre de la protéine Vip3Aa sans information sur l'identité de séquence entre les Vip3Aa présentes dans le soja DBN8002 et dans le maïs MIR162.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de fournir une étude de toxicité par gavage pendant 28 jours chez le rongeur avec la protéine Vip3Aa exprimée par le soja DBN8002, si cette protéine est différente de celle présente dans le maïs MIR162.

De plus, le pétitionnaire n'apporte aucune indication sur les interactions protéiques potentielles entre Vip3Aa et PAT.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de fournir une justification permettant d'évaluer les interactions potentielles des deux protéines nouvellement exprimées.

1.4.2. à 1.4.3.

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour ces sections n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

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

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses ne peut pas se prononcer sur la sécurité sanitaire du soja DBN8002 en raison de l'absence :

- d'information sur le traitement ou non du soja DBN8002 avec la substance herbicide d'intérêt, le glufosinate-ammonium,
- des certificats d'analyse des lots de graines de soja et des aliments distribués aux rats ce qui ne permet pas d'identifier les contaminants et les substances antinutritionnelles (isoflavones) présents et de vérifier l'équivalence nutritionnelle des différents régimes distribués,
- des données historiques du centre investigateur,
- de détails sur l'analyse statistique conduite. En particulier le pétitionnaire devrait détailler les tests statistiques effectués, en précisant si une correction des p-valeurs a été effectuée pour prendre en compte la multiplicité des tests. En effet, cette correction influe grandement sur la puissance des tests.

A ces éléments s'ajoute le faible nombre de rats par groupe et par régime (16 rats par sexe) alors que l'Anses préconise un nombre de 20 mâles et 20 femelles par groupe (Anses, 2011).

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire les informations complémentaires (précisées ci-dessus) permettant de se prononcer quant à la sécurité sanitaire pour l'Homme et l'animal, liée à la consommation alimentaire du soja DBN8002 sur la base de l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours présentée dans le dossier.

1.4.5. Conclusion de l'évaluation toxicologique

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses renvoie aux conclusions des sections du §1.4 concernant l'évaluation toxicologique.

1.5. Évaluation de l'allergénicité

Comme indiqué dans les sections du §1.3 concernant l'analyse comparative, le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de fournir les informations sur l'analyse statistique réalisée, afin d'évaluer l'équivalence de composition pour les allergènes endogènes entre le soja DBN8002 et des variétés de soja conventionnelles.

1.6. Évaluation nutritionnelle

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

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

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

3. Caractérisation des risques

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

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

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

5. Évaluation des risques pour l'environnement (ERE)

5.1 et 5.2.

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

5.3. Domaines spécifiques de risque

5.3.1. Persistance et caractère envahissant y compris le « flux de gènes » de plante à plante

Le pétitionnaire se réfère aux conditions climatiques moyennes actuelles des régions de l'Union européenne pour évaluer le risque de survivance des graines, d'établissement et de persistance de plantes férales du soja DBN8002 dans l'environnement. L'évolution vers des conditions climatiques plus favorables sous l'effet du changement climatique est possible et doit être prise en compte. De plus, l'Union européenne comprend également des régions ultrapériphériques situées en zones tropicales plus propices à la persistance du soja. C'est le cas pour certains des départements et régions d'outre-mer du territoire français.

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2022-11530
Saisine n° 2023-SA-0182

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de considérer les caractéristiques environnementales liées au changement climatique et celles spécifiques aux régions situées en zones tropicales, dans l'évaluation des risques et dans les plans de surveillance des dossiers de mise sur le marché, dans l'Union européenne, de graines issues de plantes génétiquement modifiées.

5.3.2. Transfert de gènes de plante à micro-organisme

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

5.3.3. Interactions de la plante génétiquement modifiée avec les organismes cibles

Le pétitionnaire indique cinq espèces connues pour être sensibles à la protéine Vip3Aa : *Agrotis ipsilon*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera exigua*, *Heliothis virescens* et *Helicoverpa zea* (Chakroun *et al.*, 2016 ; Lee *et al.*, 2006).

Le pétitionnaire a réalisé une étude de toxicité sur de jeunes larves de *Spodoptera frugiperda* nourries avec des aliments enrichis en Vip3Aa produite par *E. coli* ou purifiée de feuilles de soja DBN8002. Cette étude de toxicité permet de fixer une LC50¹ à 3,383 µg de Vip3Aa/g d'aliment pour le régime contenant de la Vip3Aa extraite de feuilles du soja DBN8002. La LC50 de Vip3Aa sur des larves de *Spodoptera frugiperda* est élevée par rapport à la concentration de la protéine Vip3Aa mesurée dans les feuilles de soja DBN8002 à différents stades de croissance (entre 1,87 et 2,55 µg/g de matière fraîche).

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de déterminer la dose létale de plantes de soja DBN8002 par ingestion pour des larves d'insectes cibles afin de vérifier que la quantité de Vip3Aa synthétisée par le soja DBN8002 est suffisante pour tuer l'ensemble des larves. En effet, l'ingestion de quantité de protéine insecticide Vip3Aa inférieure à la dose létale par des insectes cibles pourrait entraîner l'apparition à moyen ou court terme de résistance à cette toxine insecticide.

Afin de vérifier la stabilité du phénotype de résistance à des lépidoptères, le pétitionnaire a infesté des plantes de soja DBN8002 et de la variété témoin Jack sur trois générations avec des larves de *Spodoptera exigua* Hübner et *Spodoptera litura* Fabricius. Seuls des résultats visuels sont présentés.

Le pétitionnaire doit fournir la liste de toutes les espèces cibles, notamment pour l'Europe, selon les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2010a), ainsi que leur affinité pour le soja.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de compléter la liste des espèces ciblées par la protéine Vip3Aa selon les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2010a).

De plus, le pétitionnaire ne se réfère qu'à une importation dans les régions de l'Union européenne de climat tempéré.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses note que *Spodoptera frugiperda* est un organisme cible présent à Mayotte et à La Réunion. Le développement d'une résistance à la protéine Vip3Aa chez ce lépidoptère pourrait théoriquement avoir des conséquences sur les stratégies de lutte contre cette espèce à long terme dans les régions ultrapériphériques de l'Union européenne.

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de prendre en compte dans son analyse l'Union européenne et les régions ultrapériphériques de l'Union européenne et d'évaluer les conséquences potentielles du développement d'une résistance des espèces cibles à la protéine insecticide Vip3Aa, en considérant toutes les espèces cibles et leurs aires de répartition.

5.3.4. Interactions de la plante génétiquement modifiée avec les organismes non-cibles

Le pétitionnaire prend en compte les trois scénarios d'exposition non intentionnelle recommandés par l'EFSA (EFSA, 2010), à savoir (i) un déversement accidentel de graines viables, (ii) une exposition via les fèces d'animaux nourris avec le soja DBN8002, et (iii) une exposition par le biais de matière organique végétale importée ou dérivée de l'utilisation du soja DBN8002.

¹ Concentration Létale à 50 % (LC50)

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire de synthétiser tous les éléments bibliographiques concernant les risques de l'exposition directe à la protéine insecticide Vip3Aa pour les organismes non cibles.

5.3.5 à 5.3.7.

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour ces sections n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

5.3.8. Évaluation globale du risque et conclusions

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses renvoie aux conclusions des sections du §5.3 concernant l'évaluation du risque environnemental.

6. Plan de surveillance des effets sur l'environnement

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

7. Informations complémentaires sur l'innocuité de la denrée alimentaire ou de l'aliment pour animaux génétiquement modifiés

7.1. Études publiées dans la littérature scientifique

Le pétitionnaire a procédé à une analyse de la littérature sur la période 2012-2022, ainsi qu'une recherche en avril 2023 sur 12 sites internet d'organisations impliquées sur les risques présentés par les PGM. La question formulée est la suivante : *"Does either DBN8002 soybean and derived food/feed products, or the intended trait(s), lepidoptera resistance and glufosinate-ammonium tolerance, have adverse effects on human and animal health and the environment?"*. Suite à la recherche dans les bases de données, 90 publications ont été identifiées. Aucune de ces publications n'a été retenue par les « reviewers ».

Le GT « Biotechnologie » de l'Anses demande au pétitionnaire que les critères de sélection appliqués pour l'analyse de la littérature soient moins restrictifs et que les articles concernant la protéine insecticide Vip3Aa, y compris non associée à la protéine PAT, ainsi que son expression dans d'autres plantes génétiquement modifiées que le soja DBN8002, soient retenus pour analyse.

7.2. Autres informations complémentaires

Les informations mises à disposition dans le dossier initial du pétitionnaire pour cette section n'appellent pas de commentaire de la part du GT « Biotechnologie » de l'Anses.

Références

Anses. 2011. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. 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. Maisons-Alfort : Anses, 8 p.

Barteaux, E. N. et Lamb E. G. 2022. Elk (*Cervus elaphus*) grazing reduces volunteer soybean density. *Canadian Journal of Plant Science* 102 (2): 465-67.

Chakroun M., Banyuls N., Walsh T., Downes S., James B. et Ferré J. 2016. Characterization of the resistance to Vip3Aa in *Helicoverpa armigera* from Australia and the role of midgut processing and receptor binding. *Scientific Reports* 6, 24311; doi:10.1038/srep24311

EFSA (European Food Safety Authority). 2010. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. *EFSA Journal*, 8, 1879, 111 pp.

Commentaires de l'Anses sur le dossier GMFF-2022-11530
Saisine n° 2023-SA-0182

Lee M. K., Miles P., Chen J-S. 2006. Brush border membrane binding properties of *Bacillus thuringiensis* Vip3A toxin to *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* midguts. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 339: 1043–1047.

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques). 2012. Revised consensus document on compositional considerations for new varieties of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]: Key food and feed nutrients, anti-nutrients, toxicants and allergens.