



Rapport final des tables rondes sur l'évaluation des risques des OGM

Résumé

Une série de tables rondes entre les acteurs de la société civile et les offices en charge des évaluations de risques des OGM a été organisée. L'organisation de ces tables rondes fait suite aux contestations de l'association StopOGM et SAG de l'autorisation du maïs TC1507 comme aliment pour animaux auprès de l'office fédéral de l'agriculture. Une première table ronde a eu lieu le 2 juillet 2015, une seconde le 2 mai 2016 et les parties sont convenues de la rédaction d'un rapport résumant et enrichissant si possible les discussions. Ce rapport résume les débats des deux tables rondes et traite des aspects suivants : analyses comparatives, analyses toxicologiques et d'allergénicité. Nous résumons ici le statut actuel des procédures et l'état des connaissances sur ces sujets. Un état des lieux des limites et des problèmes existant a été dressé et des recommandations ont été édictées avec pour objectif principal d'affirmer la volonté de chaque partie de viser l'excellence scientifique dans l'ensemble des processus d'analyse des risques. Ce rapport est rédigé à titre consultatif et on gardera bien à l'esprit que **le processus d'évaluation des risques est un outil d'aide à la décision, non pas un outil de décision.**

L'OFAG a coordonné une première version de ce rapport et propose le protocole suivant : à l'image de ce qui se fait dans les différentes commissions extra-parlementaires, nous proposons que StopOGM/SAG introduise un paragraphe de commentaire entre les différents paragraphes rédigés par l'OFAG de façon visible. De cette manière, les opinions divergentes seront facilement visibles et la lecture en sera facilitée.

Recommandations

Pour conclure cette phase de dialogue entre les associations StopOGM et SAG ainsi que l'office fédéral de l'agriculture, nous reportons ici des recommandations afin d'améliorer les standards de qualité des évaluations des risques des OGM.

- **Renforcer la transparence par l'accès aux données**

La publication des données des dossiers qui ne sont pas directement du ressort de la propriété agronomique de l'OGM devrait être facilitée. En particulier, les données des tests toxicologiques sur les animaux n'ont peu ou pas de rapport direct avec un éventuel secret industriel (souvent lié aux propriétés même du transgène). Leur publication et leur mise en forme de façon facilement utilisable et interprétable, permettrait éventuellement des expertises indépendantes, un débat plus ouvert et restaurerait la confiance entre les différentes parties prenantes.

- **Développer et établir des standards de qualité pour les dossiers qui se conforment à l'état de la science.**

Généralement, un effort de recherche reste à entreprendre par les évaluateurs afin de mieux intégrer les techniques les plus récentes (« omics ») dans les processus d'évaluation des risques des produits de biotechnologie. Sans risquer d'accumuler un excès de données inutiles, il s'agit là de mettre en place des standards et des bases de données publiques qui permettront une analyse robuste (et basée sur des données de haute qualité et reproductibles) de la composition des plantes analysées.

- **Valoriser une vision claire et scientifique des interprétations**

Nous avons au cours des tables rondes et de la rédaction de ce rapport mis en évidence un certain nombre de faiblesses et de problèmes dans les procédés d'analyse des risques des OGM. L'important pour les autorités en charge sera de clairement formuler et énoncer -à partir des données disponibles- les points ou ces faiblesses ou des incertitudes résident. Il conviendra d'exprimer clairement les limites de l'évaluation menée dans la déclaration de sécurité ou d'innocuité. De cette façon, l'évaluation des risques permettra d'instruire efficacement la décision.

Table des matières

1. Contexte
2. Cadre légal
 - 2.1 Loi sur le génie génétique
 - 2.2 Autorisations d'importations d'OGM en Suisse pour l'alimentation animale
 - 2.3 Transparence et accès aux données
3. Analyse des protocoles d'évaluation des risques
 - 3.1 Description de l'évènement
 - 3.1.1 Description moléculaire
 - 3.1.2 Caractéristiques agronomiques
 - 3.2 Analyse comparative et équivalence en substance
 - 3.2.1 Design expérimental 1. Limite de l'analyse métabolique
 - 3.2.2 Design expérimental 2. Choix des contrôles
 - 3.2.3 Design expérimental 3. Analyse statistique
 - 3.2.4 Interprétations des résultats et analyse des risques
 - 3.2.5 Recommandations générales pour améliorer/remplacer l'analyse compositionnelle
 - 3.3 Analyses toxicologiques
 - 3.3.1 Tests de toxicité sub-chronique
 - 3.3.2 De la fonction des tests sur animaux dans l'évaluation des risques
 - 3.4 Tests d'allergénicité
 - 3.4.1 Organisme d'origine
 - 3.4.2 Analyse bioinformatique
 - 3.4.3 Tests de digestion *in vitro*
 - 3.4.4 Tests *in vivo*
4. Sécurité des OGM IR (Bt) en tant que fourrage
 - 4.1 Mode d'action et diversité des toxines Bt
 - 4.2 Toxicité des toxines Bt
 - 4.3 Allergénicité des toxines Bt
5. Recommandations et conclusions
 - 5.1 Indépendance, transparence et accès aux données
 - 5.2 Limites technologiques et statistiques
 - 5.3 Perspectives sur l'évaluation des risques
6. Références

1. Contexte de rédaction du rapport

Une série de tables rondes autour des protocoles d'évaluation des risques des PGM a été organisée suite à la demande des associations StopOGM et SAG. L'organisation de ces tables rondes fait suite aux contestations de l'association StopOGM et SAG auprès des offices fédéraux en charge de l'autorisation du maïs TC1507 comme aliment pour animaux. Une première table ronde a eu lieu le 2 juillet 2015 et les parties sont convenues de la rédaction d'un rapport résumant et étendant ci-possible les discussions. Ces échanges ont donné cours à une discussion entre les offices fédéraux et un certain nombre d'experts commissionnés par les associations ainsi que des représentants de ces associations. Le rapport présenté ici est un document de travail tiré de ces discussions qui résume les échanges entre les parties présentes à valeur consultative. On se concentrera ici sur l'évaluation des risques mais pas sur leur gestion et leur communication.

2. Cadre légal

2.1. Loi sur le génie génétique

Les OGM sont réglementés en Suisse de manière composite sous quatre formes distinctes par des textes législatifs différents. Les OGM relevant du domaine de la médecine sont légiférés par la loi sur les produits thérapeutiques (LPTh, BBI 2013 3287) et la loi sur l'analyse génétique humaine (LAGH, AS 2007 635). Dans le domaine de la recherche, deux ordonnances légifèrent l'expérimentation en milieux confinés (OUC, 814.912) et en plein champs (ODE, 814.911). En ce qui concerne les utilisations agricoles, deux ordonnances régulent respectivement l'importation des denrées alimentaires contenant des traces involontaires d'OGM (ODAIGM, RS 817.022.51 et 817.022.21) et l'importation d'aliments pour animaux contenant des OGM (OSALA, RS 916.307). Enfin, en ce qui concerne l'utilisation et la dissémination des organismes génétiquement modifiés en Suisse sont réglementées par la loi sur le génie génétique (LGG, 814.91) et l'ordonnance sur l'utilisation d'organismes dans l'environnement (ODE, 814.911). Leur but est de protéger l'être humain, les animaux et l'environnement (Art 1, LGG), ce qui réfère également à l'article 16 de la Constitution. A ce jour, la culture et la dissémination de plantes génétiquement modifiées est interdite en Suisse par moratoire qui expire fin 2021.

2.2. Autorisations d'importations d'OGM en Suisse pour l'alimentation animale

A ce jour, un certain nombre d'OGM sont autorisés comme aliments pour animaux sous des formes et des limites variables, conformément à l'OSALA. L'autorisation de mise sur le marché est effectuée après une évaluation des risques sanitaires de chaque évènement aussi bien

aux Etats-Unis, en Europe ou en Suisse. On notera qu'en Suisse, les dossiers d'évaluation des risques se contentent en règle générale de reprendre les analyses de l'EFSA, les offices fédéraux ne disposant bien évidemment pas des moyens mis à la disposition des agences sanitaires européennes. Les dossiers pétitionnaires analysés sont toutefois les mêmes.

Quatre OGM sont autorisés à l'importation pour servir comme aliments pour animaux sous toutes leurs formes: le soja tolérant au glyphosate 40-3-2, et les maïs Bt11, MON810 et TC1507. Les événements déjà autorisés en Europe (63 variétés de soja, betterave, maïs et colza, novembre 2015) suivant l'article 62, OSALA sont autorisés sous forme transformée. Des contaminations fortuites d'OGM non homologués peuvent être également autorisées si les événements détectés sont homologués au Canada et aux USA dans la limite de 0.5% par événement (RS 916.307) (article 68, OSALA).

En ce qui concerne les aliments (consommation humaine), suivant les dispositions de l'ordonnance sur les denrées alimentaires génétiquement modifiées (ODAIGM, RS817.022.51) quatre maïs PGM sont tolérés à hauteur de 0.5% dans les denrées alimentaires : maïs NK603, GA21, 1507 et 59122.

2.3. *Transparence et accès aux données*

Un des problèmes rapportés par les associations et autres acteurs de la société civile lors de la première table ronde (juillet 2015) est l'accès aux données brutes des dossiers pétitionnaires. L'accès du public aux dossiers et information est réglementé par l'Article 18 (LGG) et l'article 54 et 55 (ODE). De manière plus générale, les demandes d'autorisation portant sur la dissémination d'OGM sont accompagnées d'une mise à l'enquête publique pendant 30 jours (Art 12a, LGG).

Plus particulièrement, la publication des données des tests toxicologiques des OGM effectués sur les animaux a été évoquée lors de la table ronde. L'argument étant que l'accès à ces données peut difficilement être justifié comme relevant du secret industriel, dès lors qu'elles ne concernent pas ni les propriétés agronomiques ni biologiques de l'évènement testé, mais bien les données biologiques issues des animaux utilisés pendant ces expériences.

Il reste à donc à déterminer quelles sont les données qui sont dignes de protection suivant l'Art. 55 de l'ODE et les modalités de la transmission de ces données. En effet, si l'accès reste limité à 30 jours et seulement au sein des offices par des acteurs reconnus de la société civile, une expertise exhaustive est probablement difficile. Une analyse juridique précise sur ce point serait nécessaire pour déterminer quelle seraient les possibilités en la matière en Suisse. A noter que les résultats récents des tests sur animaux des différents consortia financés publiquement ont mis en place des mécanismes d'accès libres aux données générées lors de ces

tests (GRACE, G-Twyst, OGM90+). L'accès aux données et la transparence dans les processus expérimentaux lors des tests impliquant des OGM est un élément fondamental en vue d'assurer un débat sain et constructif basé sur des faits.

3. Analyse des protocoles d'évaluation des risques

A la suite des tables-rondes, de nombreux commentaires et remarques ont été faites sur différentes étapes de l'évaluation des risques. Nous essayerons ici d'en résumer l'essentiel. On s'attachera ici à montrer ce que l'expertise scientifique peut apporter et ses limites dans le cadre des débats entre les différentes instances impliquées dans le processus législatif et exécutif. L'OFAG se place ici comme pourvoyeur d'expertise et centre de compétence de la Confédération.

Dans cette section, nous reprenons et commentons successivement chacune des sections de l'analyse des risques des OGM, basée sur les standards de l'EFSA : description de l'évènement, analyse comparative, analyses toxicologiques, tests d'allergénicité.

3.1. Description de l'évènement

3.1.1 Description moléculaire

La description moléculaire des événements transgéniques permet une description exhaustive de la lignée ou de l'évènement concerné. Dans le cas (à ce jour encore majoritaire) d'un seul et unique évènement de transformation, cette section décrit : la construction (plasmide) utilisée lors de la transformation, le processus de transformation utilisé, le lieu de l'insertion et le nombre de transgène(s) insérés dans le génome de la plante hôte et l'expression de(s) protéine(s) transgéniques. Nous discutons ici brièvement des sections et de leur contenu.

- Description du vecteur et méthode de transformation.

De multiples méthodes de transformation sont répertoriées dans la littérature et sont plus ou moins efficaces d'une espèce à l'autre. Les plantes peuvent être transformées à l'aide d'un plasmide bactérien, d'un vecteur viral ou par bombardement biolistique. Certaines méthodes comme la biolistique sont connues pour être très efficaces mais peuvent amener à certaines recombinaisons aléatoires d'ADN autour du site d'insertion, comme c'est le cas pour le maïs NK603 (EFSA, 2003). La transformation par *Agrobacterium* peut s'effectuer par dipping floral, transformation de protoplastes, d'hypocotyles ou par infiltration. Toutes ces méthodes mènent à une ou des insertions aléatoires du transgène dans le génome, d'où l'impossibilité de déterminer au préalable dans quelle portion du génome l'insertion aura lieu. Cela nécessite dès lors l'identification des régions bordantes de l'insertion. Le problème du lieu d'insertion est en passe d'être résolu grâce à la généralisation de l'utilisation de nucléases spécifiques (type

CRISPR ou TALEN) où l'insertion est spécifique à une portion précise du génome (mais peut être associée à d'autres problèmes de spécificité que l'on ne traitera pas ici).

La régénération des plantes transgéniques et l'usage généralisé des cultures *in vitro* à cet effet est assez mal étudié dans la littérature scientifique. L'apparition de variations génétiques directement liées à la transgénèse (particulièrement les variations somaclonales) mériterait probablement plus d'attention (COGEM, 2015).

- *Lieu de l'insertion et stabilité*

Le nombre de copies insérées du transgène et leur stabilité sont évalués par Southern-Blot puis par le contrôle de l'héritabilité mendélienne du trait inséré lors des générations qui suivent la transformation (back-crossing). L'insertion éventuelle de fragments du vecteur est aussi vérifiée. Le lieu exact de l'insertion dans le génome peut être déterminé par RACE-PCR. Le séquençage des séquences en amont (5') et en aval (3') de l'insertion permet de déterminer si la transformation n'a pas interféré avec des séquences codantes existantes. On note ici que la prédiction du lieu d'insertion ne permet de déterminer seulement partiellement l'effet du transgène en termes de changement de transcription ou de régulation du génome. De multiples exemples d'insertions dans les séquences non-codantes modifient l'expression de certains gènes.

- *Détermination du niveau d'expression du transgène*

Après son insertion, un transgène est fonctionnel que s'il est exprimé, c'est-à-dire transcrit en ARN puis traduit sous forme de protéine (sauf dans les cas d'un ARN non-codant). L'expression du transgène peut être évaluée au niveau de son ARN par RT-PCR quantitative (qRT-PCR) ou par des approches transcriptomiques à haut débit (RNAseq), puis au niveau des protéines exprimées par ELISA, Western Blot ou méthodes de protéomique. L'analyse de l'expression dans les différents organes de la plante est effectuée et la protéine exprimée peut être quantifiée. Dans le cas de plantes produisant des molécules actives (insecticide dans le cas du cry/Bt ou une enzyme comme l'ESPS dans le cas de la tolérance au glyphosate) la quantité de protéine par gramme de matière végétale permet d'extrapoler leur efficacité (et toxicité) éventuelle. L'absence de protocoles de quantifications standards, en particulier pour la détection des toxines cry par des méthodes immunologiques ont été rapportés entre différents laboratoires (Szekacs et al., 2012, voir section sur les toxines Cry).

En conclusion, la description moléculaire de l'évènement transgénique, même si elle a peu évolué depuis l'apparition des OGM, reste une étape indispensable à l'analyse des risques. Avec la multiplication des lignées présentant de multiples insertions (stacks) (Parisi et al. 2016) et le croisement de lignées OGM dans de multiples hybrides, la caractérisation moléculaire de chaque lignée s'avère plus difficile. Des données additionnelles seraient nécessaires afin de déterminer si la caractérisation de la lignée initiale est suffisante en termes d'évaluation des

risques. Avec les récents progrès de la génomique, on peut espérer pouvoir permettre le re-séquençage du génome de chaque lignée pour un prix relativement modéré (« genotyping by sequencing »). L'analyse génétique globale remplacera à terme les données montrant le nombre et le lieu d'insertion (Southern Blot et séquençage de type Sanger). Cette méthode aura aussi l'avantage d'avoir une vue quasi-exhaustive du matériel génétique de la lignée transformée et d'identifier d'éventuelles modifications secondaires (« off-target »).

3.1.2 Caractéristiques agronomiques

Les caractéristiques agronomiques des lignées génétiquement modifiées sont évaluées pendant les essais en plein champs effectués lors l'analyse comparative (voir section 3.2). Les paramètres classiquement mesurés sont : grains, rendement, germination (précaucité), population à la récolte, morphologie, sensibilité à la verse, sensibilité aux stress biotiques et abiotiques). Il est intéressant de noter que les nouvelles caractéristiques phénotypiques apportées par le transgène (pour la plupart résistance aux herbicides et/ou production d'insecticide) ne sont que peu discutées dans les dossiers pétitionnaires. La variation d'expression du transgène suivant les conditions de cultures a été rapportée à de multiples reprises (exemples : Zhou et al. 2011; Trtikova et al. 2015, EFSA, 2012).

La variation de l'expression d'un gène en réponse aux changements d'environnement est un des principes clés de la biologie évolutive moderne. Il reste donc à déterminer systématiquement des seuils minimaux et maximaux de production de la protéine transgénique qui soient spécifiques à chaque évènement, de façon à informer les modes de cultures et les variations d'itinéraires techniques (mais aussi l'analyse toxicologique) de manière pertinente. Il est important de noter que l'usage de données « historiques » bien que toléré par l'EFSA ne saurait remplacer un design expérimental robuste et un cadre analytique statistiquement fondé. En résumé, une attention toute particulière à l'influence des conditions de culture devrait être prise en compte pendant l'analyse du risque, ce qui légitimerait la production de données issues de multiples sources indépendantes d'essais en plein champs.

3.2. Analyse comparative et équivalence en substance

L'analyse comparative, ou équivalence en substance est effectuée afin de montrer que les OGM et leur lignée de référence isogénique ou quasi-isogénique sont identiques en « substances ». Leurs métabolites sont en tous points similaires lors de leur culture en plein champs (hormis le(s) trait(s) intégré(s)) et l'étendue de leur variabilité comprise dans les variations que l'on pourrait attendre naturellement. Le but étant d'identifier d'éventuelles modifications métaboliques qui rendraient la plante ou ses dérivés impropres à la consommation (OCDE, 1993). Ce type d'étude se base sur le postulat que les espèces hôtes qui ont subi les modifications génétiques ont été utilisées sans problèmes depuis un certain temps (« history of safe use »,

dont la définition exacte reste floue) et que l'on peut les considérer comme sûres (EFSA, 2011). La méthode est basée sur les exigences de la directive 1829/2003, traduites en Suisse par l'ODE. Historiquement, l'utilisation de l'équivalence en substance comme base de l'analyse des risques des OGM a été sujette très tôt à de nombreuses critiques (Millstone et al. 1999, Kuiper et al. 2003, EKAH, 2003). On tâchera ici d'identifier les raisons de ces critiques et de comprendre les limites objectives des conclusions que l'on peut tirer de ces analyses comparatives dans un contexte d'évaluation des risques.

Les limites de cette analyse sont principalement liées 1) à la faiblesse statistique des dossiers soumis, 2) à la faiblesse de certains dossiers quant au design même des tests, 3) à la surinterprétation des conclusions issues de ces tests. Le problème central étant de discriminer variations naturelles ou induites par la transgénèse de façon indiscutable. Dans cette section, on fera un état des lieux de ces problèmes et on verra les mesures suggérées par différents groupes d'experts consultés à ce sujet (EFSA, 2011, EKAH, 2003).

Il est important de noter que bon nombre des dossiers pétitionnaires ont été rédigés avant l'effort de l'EFSA d'homogénéiser les données et les procédures d'analyse (EFSA, 2011).

3.2.1 Design expérimental 1 : Limites de l'analyse métabolique

Le choix des métabolites analysés (targeted metabolomics) est souvent limité à moins d'une centaine, alors que les données issues d'analyses métabolomiques récentes suggèrent que plusieurs milliers de composés s'accumulent dans les plantes. Le nombre et l'étendue des métabolites analysés varient suivant les dossiers sans standard commun et comprennent la plupart des composés directement liés aux propriétés nutritives, notamment : vitamines, acides aminés, acides gras, et anti-aliments, composés bioactifs (lectine, phytate, raffinose, stachyose, inhibiteur de trypsine et isoflavones). On remarque par ailleurs qu'aucune recherche de métabolite nouveau n'est effectuée, alors que beaucoup de transgènes utilisés sont des enzymes avec des activités biologiques non spécifiques (Linster et al., 2013). Par exemple, l'expression d'acétylases (*bar*, *pat*), oxydoreductases (glyphosate oxidoreductase, *gox*) ou synthases (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, *esps*). La spécificité des enzymes utilisées, c'est à dire leur capacité à modifier d'autres substrats que ceux décrits (activités secondaires) est un champ d'investigation négligé dans l'analyse du risque des produits biotech. Dès lors le manque d'exhaustivité de l'analyse comparative doit être pris en compte lors de son interprétation.

3.2.2 Design expérimental 2 : choix du contrôle

L'analyse comparative se base sur du matériel récolté lors de tests en plein champs. Une attention particulière sera portée ici sur le design de ces tests.

Trois facteurs clés dans le design expérimental d'essais en plein champs sont décidés au préalable: le nombre de **réplica**, le nombre de **site** et le nombre de variétés commerciales

utilisées comme contrôle. La détermination au préalable de la puissance statistique de l'analyse est nécessaire (1) et se fait en fonction de l'amplitude des changements attendus (Perry et al. 2003). Des critères méthodologiques précis liées aux essais en plein champs ont été publiés et validés pour l'évaluation de produits phytosanitaires et sont applicables dans le cas des OGM (décrit par l'organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes, EPPO). Le nombre de réplica nécessaire peut être déterminé par le calcul du degré de liberté (EFSA, 2011). L'EFSA recommande l'utilisation d'au moins trois variétés commerciale par essai comme contrôle pour chaque site expérimental, avec un minimum de 8 sites, préférablement sur plusieurs saisons (EFSA, 2011). Dans le cas particulier d'OGM incluant des intrants particuliers (par exemple tolérance à un herbicide), la culture avec et sans traitement doit être également testée en respectant un design expérimental approprié (randomisation).

Le but de l'expérience étant de pouvoir détecter le moindre changement anormal de composition lié aux nouvelles propriétés introduites par le transgène. La difficulté étant de pouvoir distinguer les variations naturelles des variations induites, d'où l'application particulière nécessaire au design expérimental. La comparaison avec des données « historiques » tirées de la littérature sans justification précise est peu informative et considérée généralement comme impropre (2).

(1). Remarque StopOGM : Les tests de puissance font défaut dans les dossiers d'autorisation. Les données sont de ce fait difficilement interprétables, Un test de puissance permet de déterminer l'échantillonnage nécessaire pour être en mesure de détecter l'effet recherché. *On ne peut interpréter un test négatif sans savoir si ce test est ou non en mesure de détecter l'effet recherché. De tels tests, sans calculs de puissance, sont non informatifs et ne peuvent qu'induire une fausse idée de sécurité. À noter qu'aucun dossier de demande d'autorisation de dissémination d'OGM jusqu'à présent ne produit de calcul de puissance.*

(2) StopOGM : *Certaines autorisations comportent une référence à ces données historiques et les utilisent pour affirmer la non significativité biologique d'une différence.*

3.2.3 Design expérimental 3 : analyse statistique

Il est possible d'évaluer *a priori* les intervalles de confiance et les limites d'équivalence (*proof of equivalence*) avant la réalisation de l'essai en plein champs. Cependant, l'EFSA recommande de pouvoir profiter des dossiers précédents et d'accéder aux données afin de pouvoir mettre en place des limites précises. Une fois ces limites fixées, des tests de différence et d'équivalence doivent être réalisés (en optimisant la puissance statistique).

Le design de l'essai doit être suffisamment robuste pour pouvoir permettre d'appliquer des tests d'équivalence et de différences, qui combinés pourront alors permettre d'établir un lien à la modification génétique introduite. Dans le cas où l'on observerait des différences significatives, des tests toxicologiques peuvent être menés *a posteriori*. Les tests d'équivalences étant

plus difficilement réalisables que les tests de différence (nécessité d'avoir beaucoup de réplica pour avoir une puissance statistique représentative), en leur absence, on se contentera de limiter la portée des conclusions de l'analyse comparative sur la toxicité éventuelle de l'OGM (et d'appliquer le principe de précaution). L'EFSA stipule que « **the absence of significant results is not a proof for equivalence of the GMO and the comparator** » (EFSA, 2011).⁽³⁾

Une attention toute particulière sera apportée au choix du modèle statistique utilisé pour l'analyse. Par exemple, le faible nombre de réplicas rend impropre l'usage de tests comme l'ANOVA. De façon générale plus de détails devraient être fournis sur le design et la justification des choix *a priori* d'outils statistiques (par exemple analyses multivariées) lors de l'analyse ainsi que l'accès aux données et aux scripts pour qu'une vérification indépendante soit possible. L'accès aux données des essais en plein champs peut se révéler être un problème pour la compagnie s'ils font apparaître des données liées aux paramètres agronomiques (rendement, sensibilité aux pathogènes...). Une justification et analyse au cas par cas seraient nécessaires afin de déterminer le degré possible de publication des données.

(2.2) *StopOGM*. Il est impossible de déclarer l'équivalence en substance sans réaliser de test d'équivalence. Or ces derniers font défaut dans les dossiers des pétitionnaires. Il s'ensuit que la déclaration d'équivalence en substance n'est pas appuyée par des données. Ceci mériterait clarification dans les rapport d'autorisation.

3.2.4 Interprétations des résultats et conséquences pour l'évaluation des risques

Les seuils de variations entre les lignées OGM et les lignées sauvages sont généralement fixées de manière relativement arbitraires (*i.e.* détermination de la « biological relevance », EFSA 2011). L'EFSA fixe un seuil de $\pm 20\%$ de variations acceptables sans que cela soit justifié à notre connaissance, par des données expérimentales. Plusieurs travaux rapportent une équivalence en substance malgré la détection de plusieurs différences significatives dans les résultats (Oberdoerfer et al. 2005, par exemple). Les erreurs possibles induites par les comparaisons multiples doivent être prises en compte et corrigées par un calcul des FDR (false discovery rate) communément utilisées par exemple en génomique. Les résultats des tests et la manière de les interpréter est précisément décrite dans les guidelines de l'EFSA (EFSA, 2011).

Le développement des nouvelles générations de méthodes de détection (untargeted metabolomics) couplées au développement de bases de données robustes et accessibles publiquement permettra d'améliorer qualitativement ces tests (Kuiper et al., 2003, Heineman et al., 2011). Il sera probablement plus facile de démontrer l'étendue des implications physiologiques des modifications génétiques au cas par cas. Par exemple, on notera que les lignées tolérantes au glyphosate (molécule breveté initialement comme agent chélateur) ont un besoin d'apport en manganèse pour assurer un rendement optimal (Gordon, 2007). Cette déficience

liée à l'insertion d'un transgène et/ou aux propriétés de l'herbicide a vraisemblablement des conséquences sur le métabolisme primaire de la plante peu évoquée lors d'analyses comparatives (et ce probablement lié également au fait que très peu de dossiers contenaient des données issues de plantes traitées avec l'herbicide). En attendant de meilleurs standards technologiques et statistiques, on se gardera de sur-interpréter les résultats de l'analyse comparative. Certains rapports suggèrent même de supprimer cette analyse des analyses de risques (Hoekenga et al. 2013).

Pour conclure, l'analyse comparative ne permet de donner qu'une évaluation partielle et qualitative des changements potentiels du métabolisme de la plante transgénique. Ces données sont indicatives et non exhaustives. Elles n'apportent qu'un nombre limité d'éléments pour une évaluation des risques optimale. L'analyse de la composition gagnerait en pertinence si elle se concentrait sur les propriétés intrinsèques de l'OGM (culture avec l'herbicide quand on étudie une plante tolérante aux herbicides, par exemple, mais plus généralement plantes cultivées avec un itinéraire technique identique à celui que l'agriculteur utiliserait). Dans la pratique, les offices en charge veilleront à ne pas sur-interpréter les données de l'analyse comparative dans le cadre du processus d'évaluation des risques. Il est important de noter que les données issues de l'analyse comparative ne font pas partie des données requises pour instruire les dossiers d'évaluation de risques des OGM en Suisse (3).

(3) StopOGM :

Il conviendrait de lister ce que comprend la surinterprétation (=déclaration d'équivalence en substance sur la base de tests de différence, utilisation des conclusions de tests statistiques sans puissance statistique, etc.).

Sur quelles bases les autorités déclarent-elles l'équivalence en substance ? Cette dernière est mentionnée dans plusieurs dossiers d'autorisation.

3.2.5 Recommandations générales pour améliorer/remplacer l'analyse comparative

Dans cette section on décrit la possibilité d'amélioration substantive de l'analyse comparative à l'aide de nouvelles techniques à haut-débit : génomique, transcriptomique, protéomique et métabolomique (Tableau 1). On décrira succinctement dans quel cadre ces méthodes peuvent être utiles à l'analyse de risques des OGM, particulièrement avec le développement de nouvelles techniques de sélection végétale et les nouveaux challenges liés à leur détection.

Tableau 1. Méthodes à hauts débits qui peuvent être utiles pour une analyse comparative de nouvelle génération. Maturité : maturité de la technique par rapport à l'exhaustivité des composés possiblement détectables et la robustesse de l'analyse. Application au RA : état de l'application de ces méthodes dans le cadre de l'évaluation des risques (risk assessment).

Méthodes	Objets détectés	Maturité	Application au RA
Génomique	Organisation des génomes	+++	++ (*)
Transcriptomique	Mesure de l'expression des gènes	++	+
Protéomique	Mesure de la quantité de protéines	+	+
Métabolomique	Quantification de molécules issues du métabolisme	++	+++

(*) L'étude au niveau du génome reste à ce jour l'étape indispensable à toute traçabilité des OGM, mais elle ne peut qu'informer indirectement le RA.

- (Re-)séquençage du génome (génomique)

La multiplication des projets de séquençage de génome et la baisse relative de leurs coûts rend possible le re-séquençage des génomes de chaque évènement. Les génomes des principales espèces utilisées en agriculture comme OGM (maïs, soja, riz et coton) ont vu leur génome publié les dernières années ainsi que beaucoup d'autres (tabac, pomme de terre, betterave, tomate, pommier...). Le séquençage permet d'obtenir plusieurs informations : la présence d'une cassette transgénique, la position de son insertion dans le génome, d'éventuelles informations sur les modifications du génome lors de la régénération de la plante (variations somaclonales). De plus, si la lignée parente isogénique est accessible, il est possible mais techniquement plus difficile de détecter des polymorphismes qui pourraient être issus de nouvelles techniques des sélections végétale, type ODM ou CRISPr. Dans ce cas précis, une connaissance *a priori* de la mutation s'avère quasiment nécessaire afin de distinguer la mutation du « bruit » de séquençage.

- Profilage de l'expression des gènes (transcriptomique)

L'analyse de l'expression des gènes à un moment précis dans un tissu précis a connu un développement exponentiel avec l'apparition des techniques de séquençage à haut débit (RNASeq) utilisant diverses technologies (Illumina, 454-pyrosequencing, PacBio, Oxford nanopores...). Ces techniques permettent de quantifier l'ensemble des gènes exprimés indépendamment de leur organisme d'origine. On se limitera ici à aborder les avantages et les limites que peuvent amener les données de transcriptomique, indépendamment des techniques utilisées ou de la multiplicité des protocoles existants. Plusieurs études utilisent la transcriptomique en combinaison avec d'autres méthodes pour caractériser des évènements de transgénèse. Par exemple, le transcriptome (l'ensemble des ARN exprimés) du maïs Bt MON810

a été comparé à différentes variétés sauvages dans différentes conditions de culture (Coll et al. 2010), sur du riz transgénique (Montero et al. 2011), ou sur l'orge (Kogel et al. 2010). Le point commun de ces études est d'établir des « listes de gènes » et de comparer le nombre absolu de gènes dont l'expression a été modifiée de manière statistiquement significative lors de l'expérience décrite. Le nombre absolu de gènes dont l'expression est n'est pas nécessairement proportionnel à l'effet ou de la toxicité éventuelle induite. De même, une étude sur le riz (Batista et al. 2008) montre que les changements induits par une transgénèse étaient plus importants dans le cas d'une lignée produite après traitement par des radiations que par transgénèse classique.

Il semble donc que malgré une utilisation grandissante des méthodes d'analyse transcriptomique et des progrès de la génomique, des protocoles précis adaptés à la variation de transcriptome qui permettraient d'informer de façon pertinente l'évaluation des risques soient manquants. Ceci reste valable tant pour l'analyse des événements transgéniques que pour les analyses toxicologiques (voir recommandations du programme GRACE). Utiliser les données issues d'analyse transcriptomique pour conclure que l'introduction d'un gène produit moins d'effet que des translocations génétiques majeures associées à la mutagenèse ou à la sélection traditionnelle semble un résultat relativement trivial. Dès lors et utilisant la même argumentation, on peut aussi se demander si une analyse pertinente des risques ne devrait pas aussi se concentrer sur les variétés obtenues par sélection conventionnelle et les produits qui en dérivent ? On recense par exemple environ 3200 variétés végétales obtenues par mutagenèse traditionnelles qui n'ont pas été soumis à de tels contrôles (FAO, Mutant variety database). A ce stade, et en tenant compte des limites technologiques (séquençage fragmentaire, précision des alignements et cadre statistique flou), on se contentera donc de considérer la transcriptomique comme un élément de dépistage au sein d'une gamme de tests à haut-débits.

- Profilage de l'expression des protéines (protéomique)

Le niveau d'accumulation des protéines peut être déterminé par différentes méthodes rassemblées sous le terme général de « protéomique » : électrophorèse 2D, MALDI-TOF MS, LC-ESI-IT... La protéomique est probablement la moins sensible des méthodes décrites ici malgré l'uniformité relative des composés détectés (des chaînes d'acides aminés). Au moins huit espèces de plantes GM ont été analysées par protéomique (le pois, le maïs, le riz, la patate, le tabac, la tomate et le blé mais aucune donnée publiée sur soja, coton ni colza, voir la revue récente (Gong and Wang 2013). Une large proportion du protéome (l'ensemble des protéines) n'est que peu ou pas détectée par les techniques actuelles. Cependant, certains rapports ont mis en évidence la présence potentielle de peptides inconnus liés soit à la présence d'un transgène soit à son processus d'intégration (biolistique), comme c'est le cas dans le maïs MON810 (Zolla et al. 2008). Dans cette étude mais également dans d'autres travaux

(Corpillo et al. 2004), aucune trace d'expression du transgène n'a été détectée (CRY1Ab ou NPTII). Ce résultat suggère que ces techniques ne donnent que des résultats bien en dessous de la limite de détection (LOD) nécessaire à toute conclusion pouvant être jugée comme suffisamment sûre en termes d'évaluation des risques. On note également que la plupart des modifications post-traductionnelles (phosphorylation, glycosylation, etc...) ne sont pas prises en compte dans la plupart des analyses protéomiques. Il a été montré que l'expression ectopique d'une protéine peut mener à un changement de ces modifications (Prescott et al. 2005; Lee et al. 2013) qui peut avoir comme conséquences un changement d'immunogénicité (voir section allergénicité). De la même façon que pour la transcriptomique, l'argument réclamant que les différences induites par le(s) transgène(s) sont moins importantes que celles induites par l'environnement ou les différences entre les cultivars ne renseigne en rien l'analyse des risques.

Pour conclure, l'utilisation ou l'extrapolation de conclusions issues de données protéomiques n'est pas la piste privilégiée dans l'immédiat pour améliorer les analyses comparatives.

- Profilage du métabolisme (« untargeted metabolomics »)

Les récentes avancées dans les domaines de la chromatographie liquide à ultra-haute pression (UPLC-MS/MS) ainsi que résonance magnétique nucléaire (RMN) permettent d'identifier plusieurs centaines de métabolites de tailles variables plus ou moins polaires, pour une revue voir (Simó et al. 2014). L'objectif est ici d'aller au-delà des recommandations de l'OCDE limitées à une liste précise de toxines, micronutriments et macronutriments pour détecter le maximum de molécules identifiables possibles. Comme pour les autres analyses, de nombreuses études comparatives entre GM et lignées sauvages mettent en évidence la relative faible influence des transgènes sur les activités cellulaires (par exemple, (Baker et al. 2006; Kim et al. 2009; Chang et al. 2012). Comme pour les autres niveaux de détection, ceci tient au fait que les gènes introduits sont des enzymes aux activités relativement spécifiques et n'interférant que très peu avec les activités cellulaires existantes (Hoekenga et al. 2013).

Une analyse exhaustive et bien menée du métabolome de la plante ou de ses produits permettra de mettre en évidence la présence éventuelle de résidus de pesticide issus de différents itinéraires techniques. Par exemple, l'analyse de composition de soja résistant au glyphosate a montré la présence de traces de l'herbicide et de ses catabolites (AMPA) comparé à du soja cultivé de manière conventionnelle (avec un seul spray d'herbicide précoce) ce qui montre l'importance de prendre en compte ces paramètres (Bøhn et al. 2014). On peut imaginer qu'une analyse similaire puisse être appliquée de manière systématique à d'autres résidus de pesticides. Une étude récente du maïs NK603 combinant analyses du protéome et du métabolisme a mis en évidence un certain nombre de différences, particulièrement au niveau du métabolisme de la lysine et des glutathions (Mesnage et al., 2016). Les auteurs discutent de l'implication de leurs observations vis-à-vis du concept d'équivalence en substance.

L'analyse métabolomique non-ciblée, si elle est correctement standardisée et normalisée, est la plus performante des trois technologies ici décrites même si un grand effort en terme d'exhaustivité et d'accès aux données reste nécessaire (Doerr, 2017). Elle répond aux attentes de l'analyse du risque en décrivant et quantifiant les composés de manière quasi-exhaustive pour chaque espèce et chaque évènement. De plus, cette analyse est relativement peu coûteuse et permettrait de centrer l'analyse des risques du point de vue du produit, ce qui s'avère plus sûr, dès lors que les modifications génomiques deviennent de moins en moins facilement détectables.

- Synthèse sur l'apport de la « omic » dans l'analyse du risque

Nous avons ici décrit le « state-of-the-art » des techniques à haut débit d'analyse des matériaux biologiques et leurs éventuelles applications dans le cadre de l'identification des risques lié aux produits de la transgénèse. Bien qu'une littérature relativement abondante utilise ces techniques à des fins de recherche et développement (analyse de l'effet des croisements, de l'introggression, des conditions de culture), l'utilisation de ces techniques dans l'analyse des risques reste primitive (Simó et al. 2014). La génération la plus récente d'OGM ne se contentant plus de gènes dont l'expression modifie le mode de culture, mais sont associés à la qualité nutritive (*i.e* changement relative de composition) rendra l'analyse comparative encore plus complexe (Ricroch et al. 2011). La métabolomique reste la seule méthode pouvant permettre une description la plus exhaustive possible des OGM avec un minimum d'artefact. La combinaison de plusieurs de ces méthodes a été suggérée dans le cadre de l'analyse des aliments (la « foodomics », (García-Cañas et al. 2012). La combinaison de ces techniques, bien qu'au stade embryonnaire permettrait sans doute d'aider à la caractérisation et à l'interprétation des phénotypes observés (Srivastava et al. 2013). La démocratisation des techniques à haut débit décrites ici rendrait les coûts des analyses décrites marginaux comparés à d'éventuels essais de toxicologie sur animaux (sans compter les problèmes éthiques liés à l'expérimentation animale). Il reste néanmoins un effort très important à fournir afin de déterminer des standards de qualité et de reproductibilité suffisant pour ne pas décrédibiliser l'ensemble du processus et poursuivre l'effort initié par l'EFSA durant la dernière décennie (EFSA, 2011, AHTEG final report of CDB, 2010). En d'autres termes, un effort de normalisation tel qu'il est commun dans des industries comme celle du médicament serait sans doute un bon exemple d'inspiration.

Une analyse compositionnelle la plus exhaustive possible permettrait 1) de rendre cette étape pertinente par rapport à la détection de risque éventuels non anticipés 2) de limiter le recours éventuel à des tests animaux le tout répondant à des standards internationalement reconnus et transparents, sans compromettre pour autant la sécurité des consommateurs ou de l'environnement.

3.3. Analyses toxicologiques

3.3.1. Tests de toxicité sub-chronique

- Contexte historique des tests d'animaux chez les OGM

Les tests toxicologiques sur les animaux (souvent rats ou souris) sont l'étape suivante de l'évaluation des risques. Elle est censée permettre d'établir la toxicité éventuelle d'un OGM. Des doses compatibles avec un régime équilibré (par exemple jusqu'à un maximum de 33% de maïs pour un rat) sont administrées et une comparaison est faite entre groupes nourris avec l'OGM ou l'équivalent conventionnel. De nombreux paramètres sont alors mesurés (métabolisme, développement des organes, immunité, fonctions endocrines. Dans les années 2000, malgré l'absence d'obligation légale stricte, beaucoup de pétitionnaires ont effectué ce type de test, principalement sur le maïs (Brake et al. 2004; Hammond et al. 2004; MacKenzie et al. 2007; Malley et al. 2007), la pomme de terre (Fares and El-Sayed 1998; Ewen & Putzai, 1999, Momma et al. 2000; El Sanhoty et al. 2004; Juśkiewicz et al. 2005; Rhee et al. 2005), le soja (Vecchio et al.; Brake and Evenson 2004; Malatesta et al. 2005, Tudisco et al., 2015), le riz (Momma et al. 2000; Poulsen et al. 2007a; Schrøder et al. 2007; Poulsen et al. 2007b) et la tomate (Noteborn et al. 1995; Chen et al. 2003; Rein et al. 2006).

Le débat a tout d'abord porté sur la longueur de ces tests : dès 90 jours, les pétitionnaires trouvaient des perturbations du métabolisme des animaux consommant des maïs OGM produisant (Hammond et al., 2006) ou tolérant (Hammond et al. 2004) des pesticides, qu'ils jugeaient non pertinentes. De nouveaux calculs statistiques et de nouvelles interprétations sur les mêmes données arrivèrent à des conclusions inverses (Séralini et al. 2007; Séralini et al. 2009). Ce débat reste à ce jour encore ouvert.

Deux cas de tests sur des animaux nourris avec des OGM ont conduit à de très importantes réponses médiatiques : le cas de la pomme de terre exprimant de lectines par le Prof. Putzai (Ewen and Pusztai 1999) et le cas plus récent de l'étude de toxicité la plus longue (2 ans) jamais réalisée avec des analyses de sang détaillées pour un OGM, du maïs NK603 tolérant à l'herbicide glyphosate (Séralini et al. 2012; republiée dans Séralini et al. 2014) (4). Les autorités sanitaires européennes alertées (5) ont rendu obligatoire les tests toxicologiques de 90 jours sur les rats dans le processus d'évaluation des risques (Europa Lex 503/2013::11). Cette mesure ne s'appliquant pas aux OGM déjà autorisés et sur le marché. On peut cependant regretter une relative incertitude quant aux protocoles à appliquer (particulièrement la durée nécessaire pour couvrir les toxicités chroniques ou multigénérationnelles), ainsi que la portée des conclusions rendues possibles par ces tests. L'analyse se base sur les recommandations de l'EFSA datant de 2008 (EFSA, 2008). De nouvelles règles plus précises auraient dû être mises à jour fin 2015. On espère que ces recommandations suivront probablement les recommandations des programmes européens en cours (voir encadré GRACE).

(4) StopOGM : *Toutes les critiques ont été démenties par les auteurs et les pressions des lobbys expliquées* (Séralini et al. 2012; Séralini et al. 2014).

(5) StopOGM : *Ce n'est pas à cause du scandale médiatique que l'EFSA a revu ses lignes directrices, mais parce que Séralini et al. ont avancé un certain nombre de données scientifiques. Ne pas confondre le rôle de l'EFSA qui ne réagit pas aux médias (ou ne devrait pas) et des instances politiques de Bruxelles qui elles y réagissent.*

Le programme **GRACE** (GMO Risk Assessment and Communication of Evidence). Ce programme a été financé par l'UE à hauteur de 6 millions d'euros entre 2012 et 2015 pour faire une évaluation du risque du maïs MON810 (le seul OGM cultivé en Europe à ce jour). Plusieurs essais sur des animaux ont été effectués, dont un test sur un an, qui n'ont pas pu mettre en évidence de toxicité de ce maïs OGM malgré les changements significatifs de certains paramètres physiologiques. La recommandation principale de ce programme est de ne plus utiliser les tests des animaux sans hypothèse préalable et d'ajouter à la description des lignées des données issues de « omics ». Un accent tout particulier a été mis tout au long du projet sur l'échange avec les stakeholders (plusieurs meetings tout au long du projet) et l'accès aux données rendues publiques pour éventuelle contre-expertise (ce qui ne préjuge pas de la qualité des données). Cet effort de transparence, inédit dans le débat sur les OGM, est louable et pourra peut-être à terme permettre de faire avancer le débat. De nombreuses critiques du projet principalement par l'ONG allemande TestBiotech des premiers résultats publiés sur les tests à 90 jours ont été formulées, notamment dans l'interprétation des données (Zeljenková et al. 2014) ainsi que l'indépendance relative de certains responsables du projet vis-à-vis des industries dont les produits ont été testés. Plusieurs autres projets publics sont en cours dont les conclusions seront aussi liées à ce sujet : G-Twyst et OGM90+. (6) Le programme G-Twyst a mené un programme de recherche similaire sur le maïs NK603 en profitant de l'expérience de GRACE. Globalement, sur un large éventail d'expérience allant jusqu'à deux ans et plus de 1200 animaux utilisés, aucun effet significatif n'a pu être clairement observé. Les résultats sont en cours de publication.

(6) StopOGM : *A noter que le programme GRACE sur-interprète les résultats issus d'un seul OGM étudié en le généralisant à tous les OGM.*

- Lignes directrices existantes

Les tests toxicologiques sur les rongeurs se basent sur les recommandations « GLP » (good laboratory practices) n° 408 et 452 de l'OCDE sur les tests de produits chimiques (OCDE, 1995, 2009) reprises par l'EFSA (EFSA, 2008) et sont sujettes à de régulières mises à jour. La portée de ces tests est vérifiée d'après la toxicité connue de la substance (no/low observed

effect level, NOEL/LOEL) et le taux d'accumulation dans les aliments. De nombreux points précis du protocole sont sujets à débats depuis plusieurs années:

- Le modèle animal et l'espèce utilisée : Rats/souris, Wistar-Han ou Sprague-Dawley
- Nombre de réplicas par conditions
- Nombre de dose d'OGM (1,2 ou 3)
- La durée des tests à effectuer (1/3/12 ou 24 mois)
- L'étendue de l'analyse histopathologique, immunologique et hormonale
- Quantification des résidus d'herbicides/adjuvants/autres toxiques

- Problèmes de design expérimental et statistiques

On se concentrera ici plus précisément sur les raisons pour lesquelles il est extrêmement difficile de donner un avis scientifique tranché sur l'apport des tests à 90 jours dans le cadre de l'évaluation des risques des OGM. Et ce en dehors des questions de conflits d'intérêts multiples tant au niveau du choix d'experts menant les études que des journaux publiant les résultats. Pour illustrer notre propos, on se concentrera sur deux exemples : le cas du maïs NK603 et celui du maïs TC1507.

OGM et controverse médiatique. Alors que la première publication des résultats sur le maïs NK603 est passée relativement inaperçue (25 citations entre 2006 et 2012, Hammond et al. 2004), la seconde a eu un retentissement médiatique très important (95 citations de la première version (Séralini et al. 2012). L'étude a été tout d'abord vigoureusement critiquée, puis rétractée, puis republiée sous une forme révisée deux ans plus tard dans un autre journal (Environmental Sciences Europe). Cet exemple illustre la difficulté de mener un débat contradictoire (7) sur ce sujet (on parle de « re-science », Fagan et al. 2015) qui serait facilitée par la transparence sur les résultats réglementaires ayant permis l'autorisation des OGM et des pesticides qui leurs sont associés comme le Roundup (pour le NK 603), alors que les données contradictoires sont accessibles en ligne. On notera que les multiples débats qui ont eu lieu ont largement dépassé le débat scientifique et l'échange d'idées visant à l'excellence scientifique (résumé dans Loening 2015). Les études concernant les OGM ont un historique de débats extrêmes bien résumé par Waltz (Waltz 2009). Deux exemples célèbres sont le cas du papillon monarque (Losey et al. 1999) et celui des contaminations du maïs mexicain (Quist and Chapela 2001). Dans le cas du papillon monarque, au-delà de la controverse, la communauté scientifique a réagi et produit un certain nombre de données de qualité confirmant et détaillant la toxicité du maïs Bt pour le monarque et l'importance de l'exposition dans l'évaluation des risques (Wraight et al. 2000; Stanley-Horn et al. 2001; Zangerl et al. 2001). Il reste à espérer que la controverse autour du NK603 permettra d'aboutir également à une amélioration des standards d'évaluation des risques et à plus de transparence.

(7) StopOGM

L'étude a été rétractée suite à l'arrivée au comité éditorial de FTC d'un employé de Monsanto. L'étude a été retirée sur la base d'un nouveau critère établi spécialement pour l'étude Séralini, à savoir la nature non concluante des données. Sur la base de ce critère, il serait possible de rétracter la majorité des études publiées puisque qu'aucune étude scientifique n'est concluante et la science dans son essence ne l'est pas non plus. L'ancien employé de Monsanto est depuis lors reparti du comité éditorial. Toutes les autres études publiées dans FTC démontrant la soi-disant innocuité sont aussi de nature non concluante et auraient donc dû être retirées. Cela n'a évidemment pas été le cas. La rétraction de la publication suite au changement du comité éditorial illustre parfaitement la pénétration du capital privé jusqu'au cœur du système de validation scientifique (peer-review) et de par ce fait la mise en péril de la publication de données « dérangeantes » qui pourrait nourrir le débat contradictoire.

Ce n'est donc pas que le débat contradictoire n'existe plus, c'est qu'on supprime les données qui le nourrisse et on décrédibilise les scientifiques qui produisent de tels résultats.

○ Le maïs NK603

Le maïs NK603 est un maïs tolérant au glyphosate (exprimant la CP4-ESPS) de la firme Monsanto autorisé à l'importation comme fourrage en Europe et en Suisse (seulement comme produit dérivé). Une série de tests pendant 90 jours ont été tout d'abord effectués par le pétitionnaire (Hammond et al. 2004) puis partiellement répétés avec un protocole plus précis (avec ou sans glyphosate) pendant 24 mois et publié dans le même journal (Séralini et al. 2012; Séralini et al. 2014).

Les points faibles des deux études et les améliorations à apporter en termes de design et d'analyse statistique ont été largement commentés ailleurs (EFSA, 2012, Lavielle, 2013).

- Variété des rats choisie et conséquence sur le phénotype observé

Les deux études NK603 utilisent des rats de type Sprague-Dawley, selon les recommandations de l'OCDE. Des travaux supplémentaires, en particulier ce qui concerne la carcinogénicité du glyphosate sont nécessaires (hors du propos dans ce rapport, voir rapports EFSA et IARC, 2015). On veillera à ce que les objectifs de l'étude soient clairement définis et que les conclusions définissent les limites de l'étude : étude de toxicité aiguë/sous-chronique/chronique, de carcinogénicité, sur un aliment ou sur un herbicide, effets synergiques ?

- Nombre d'animaux utilisés.

Les deux études utilisent les données issues de 10 rats par conditions par sexe, nombre justifié par les guidelines de n°408 de l'OCDE (OCDE, 1995). Le nombre d'animal a utilisé est cependant intrinsèquement lié à la taille de l'effet observable. Par exemple, si le risque de développer une tumeur est de 10% pour une période donnée, afin de mesurer une augmentation de ce risque de 10%, il faudra 135 animaux, une augmentation de 20%, 41 animaux et 30%, 24 animaux (HCB, 2012). Dans aucune des études le plan d'analyse statistique n'est présenté et le choix des résultats présenté semble être *a posteriori* (8).

(8) StopOGM *tout dépend de la baseline, qui était fausse.*

- Durée de l'étude

La principale différence importante entre les études de Hammond et celles de Seralini est la durée du traitement : 3 vs. 24 mois. Les mêmes précautions en termes d'interprétations des résultats seront nécessaires que précédemment évoquées (but de l'expérience préalablement établi et choix objectif des données présentées). Au regard des données disponibles d'après les projets GRACE, G-Twyst et OGM90+ (9), il sera probablement plus facile de tirer des conclusions quant à la toxicité des deux OGM testés. *A minima*, ces projets apporteront de nouveaux standards permettant d'améliorer les guidelines actuelles qui sont effectivement généralement mal adaptées et/ou utilisées ainsi que la mise à disposition des données brutes.

(9) StopOGM. *Pas du tout – manque de paramètres d'études, pas de pesticide mesuré*

- Contrôle des contaminations alimentaires éventuelles

Une étude récente (Mesnage et al., 2015) a mis en évidence la contamination de certains lots d'aliments pour animaux utilisés de façon régulière avec des OGM, mais aussi différents xénobiotiques (pesticides, métaux lourds...). Ces aliments étant utilisés dans de nombreuses études comme contrôle négatif, ces contaminations rendent les résultats très difficiles à interpréter. Toutes les études récentes (Seralini 2012, GRACE et G-Twyst) ont instauré des contrôles très stricts des aliments utilisés pendant les expériences (toxines, métaux lourds, pesticides, autres OGM...).

- o Le maïs TC1507

Le maïs TC1507 produit par les firmes Dow et Pioneer exprime deux protéines : la toxine insecticide CryF et un gène code une enzyme qui permet une tolérance à l'herbicide glufosinate (acetyl-transférase, *pat*). En 2010, on recensait plus de 150 hybrides obtenus à partir de TC1507. Les produits issus de cet événement sont autorisés comme aliment et fourrage en Europe et seulement comme fourrage en Suisse.

- Essais toxicologiques sur les animaux

Comme pour la plupart des événements transgéniques de cette génération, des tests de 90 jours ont été effectués (MacKenzie et al. 2007; Baktavachalam et al. 2015). Ce test suit les recommandations de l'ODCE et utilise 12 animaux par conditions et du maïs qui n'a pas été traité au glufosinate (10). Des variations significatives spécifiquement sur les eosinophiles dans la population de femelle nourrie avec l'OGM ont pu être détectées, mais ces résultats n'ont pas donné suite à d'autres expériences complémentaires (MacKenzie et al. 2007, EFSA, 2004). Une nouvelle analyse statistique de ces résultats par la Haute Ecole Spécialisée bernoise a appliqué un test d'équivalence au même jeu de donnée (Hauser, 2014). Les résultats de cette analyse montrent que 1) l'utilisation de données issues d'analyses différentes rend la « baseline » floue : plus de la moitié des rats de contrôles sont en dehors de l'intervalle de confiance, 2) le trop faible nombre d'animaux comparé à la taille minimale de l'effet potentiellement observable ne permet pas de conclure sur la toxicité de l'OGM (trop faible puissance statistique) (11). Il a été calculé que pour atteindre une probabilité de 80% de détection d'un effet de l'OGM, pas moins de 27 animaux par conditions aurait été nécessaires. Dès lors on peut raisonnablement conclure que les données des tests de rats à 90 jours utilisés afin de tester la toxicité sub-chronique du maïs 1507 sont insuffisantes pour s'assurer de leur innocuité.

D'autres tests sur des animaux (toxicité et/ou nutrition) nourris avec le TC1507 ont été réalisés: sur des poulets (McNaughton et al. 2007; Scheideler et al. 2008), des vaches laitières (Faust et al. 2007) et des porcs (Stein et al. 2009). Aucune de ces études ne montre d'effet significatif sur les paramètres agronomiques testés (12). En l'absence de lignes directrices sur les animaux de rente, il est difficile de juger si les protocoles (nombre d'animaux, durée des tests, concentration des OGM utilisés) sont plus conclusifs que chez les rats. Tout au plus pourra-t-on conclure à l'absence de toxicité aiguë du TC1507.

(10) StopOGM. *Ce qui le rend invalide par rapport à un produit commercialisé qui a probablement été cultivé avec un itinéraire technique intégrant l'herbicide.*

(11) StopOGM. *Ici il convient d'expliquer et de préciser que l'absence de conclusion sur la toxicité n'implique pas l'innocuité ; en effet le test qui est destiné à refuser une H0 d'absence d'effet du groupe OGM (test de différence) ne peut pas détecter la différence si elle existe. Ensuite même si aucune différence statistiquement significative n'est détectée (si on ne peut pas rejeter hypothèse nulle) cela ne permet pas d'affirmer que les 2 groupes sont identiques car peut-être qu'avec une puissance statistique supérieure une différence aurait pu être observée. Comme le dit l'EFSA, « une absence de preuve, n'est pas une preuve d'absence ». Ceci est primordial pour la déclaration d'innocuité ou de sécurité qui peut être lue dans les dossiers d'autorisations. Aucune de ces affirmations ne repose sur des résultats. Sur la base des données présentées, c'est de la pure spéculation. Le régulateur devrait selon nous se garder de déclarer comme sûr un produit pour lequel aucun résultat ne permet d'établir la sécurité (dans le cadre des expériences menées et non dans l'absolu bien sûr)*

(12) *StopOGM. . L'évaluation du risque sanitaire se base sur l'analyse d'autres critères que ceux agronomiques comme par exemple des analyses de sang.*

- Recommandations statistiques : une standardisation nécessaire

Les tests de toxicité sub-chroniques sur les rongeurs sont un des éléments les plus critiqués et polémiques de l'analyse des risques des OGM (Séralini et al. 2011). Pour preuve, plusieurs recommandations assez exhaustives en termes de standard statistiques ont été régulièrement publiées (ANSES, 2011, EFSA 2008) avec pour objectif d'améliorer et d'uniformiser les standards expérimentaux. Il est important de noter, bien que cela n'excuse pas la faiblesse de la plupart des tests à 90 jours, qu'il est très délicat de mettre en place un dispositif expérimental adapté ne sachant pas quelle magnitude de changements sont attendus *a priori*. Un certain nombre de recommandations restent cependant valides :

- Calcul préalable du nombre d'animaux par conditions (calcul de la puissance statistique)
- Plus généralement, un plan d'analyse statistique doit être précisé. De manière générale les tests visant à montrer une différence (comparaison de moyennes) sont nettement moins conservateurs que des tests d'équivalence. En effet, un test de différence effectué sur un nombre d'échantillon trop petit ne sera jamais significatif. Dès lors il est important d'avoir une base expérimentale solide dès l'analyse compositionnelle (voir section précédente) si l'on veut pouvoir utiliser ces résultats afin de déduire s'il est nécessaire de sacrifier des animaux ou non. Une autre approche serait, comme a été préconisé par l'EFSA (13), l'utilisation systématique des tests à 90 jours. Cependant, si là encore, le design expérimental reste faible, on peut douter de la qualité des conclusions.
- L'analyse des résultats doit être exhaustive, effectuée de façon transparente et ne pas écarter artificiellement certaines données (ANSES, 2011, Lavielle, 2013). De la même manière, on respectera les principes de base des analyses toxicologiques en prenant en compte d'éventuelles données atypiques, mais aussi en retenant des variations/tendances existantes pas forcément significatives.
- L'analyse toxicologique doit être accompagnée d'analyses anatomo-pathologiques lorsque c'est nécessaire, afin de compléter le diagnostic. (14)

(13) *StopOGM.* A noter que les OGM sont destinés à être consommés sur le long terme. Des tests à 90 jours sont dès lors insuffisants pour évaluer la toxicité chronique potentielle d'un OGM. Il faudrait donc s'abstenir de déclarer comme sûr sur le long terme des OGM qui n'ont subi aucun test qui permet de l'affirmer

(14) *StopOGM.*

Ces analyses anatomo-pathologiques sont très importantes, or les lames ne sont pas lues par les experts chargés de l'évaluation des risques (EFSA notamment) mais seulement

par les scientifiques en charge de l'étude chez le pétitionnaire. Même dans les cas controversés, l'expertise anatomo-pathologique n'a consisté qu'à demander l'avis d'un spécialiste basé SUR LE COMPTE-RENDU DU PÉTITIONNAIRE et non sur les lames !

Il faudrait par la même vérifier que dans l'expertise courante, le compte-rendu du pétitionnaire soit analysé par un anatomo-pathologiste et non par des toxicologues. Ainsi, le HCB (Haut Conseil des Biotechnologies) français ne comporte aucun anatomo-pathologiste dans ses rangs (voir si l'ANSES, l'EFSA etc. en comprennent).

On note que la quasi-totalité des OGM commercialisés et testés expriment une variante de la toxine Bt et/ou sont tolérants au glyphosate et/ou glufosinate (Fernandez-Cornejo et al. 2014). Dès lors, il est logique de penser que l'itinéraire technique utilisé pour leur culture diffère et de fait rend leur évaluation sanitaire indispensable. Par exemple, il a été rapporté que le taux d'aflatoxines était globalement plus bas chez le maïs Bt (Meissle et al. 2011) (15). Ces changements ne sont que très peu pris en compte dans la discussion sur l'analyse et la gestion des risques et devraient être plus sérieusement pris en considération. En effet, le taux de résidus de pesticides sur ces cultures OGM diffère très probablement de celui de leur équivalent conventionnel. Pour éviter des amalgames entre toxicité éventuellement associée à la transgénèse *sensu stricto* et la toxicité due au changement de traitement fait à la culture, des expériences avec un design mieux adapté seraient nécessaires incluant des contrôles adaptés et des données adéquates. Par exemple la comparaison des taux de résidus de pesticide ou d'autres toxiques (comme les adjuvants des pesticides) (Mesnage et al. 2015; Defarge et al. 2016) et effectué lors du programme GRACE (16) semble un point nécessaire à la discussion des résultats. La difficulté d'appréhender les effets d'une substance complexe (l'aliment contenant éventuellement des nouveaux métabolites, des pesticides et leurs adjuvants) sur des systèmes non moins complexes (les animaux) exige d'être prise en compte mais pourrait être expliquée rationnellement par un design expérimental adapté. A l'heure d'une forte demande sociétale visant à réduire les tests effectués sur les animaux (interpellation Chevalley 14.3683), la pertinence de tels modèles de façon systématique pour chaque dossier d'analyse du risque pourrait être remise en cause. Le développement de modèles alternatifs à base de systèmes cellulaires par exemple permettrait de limiter le recours systématique aux animaux, sans pour autant nécessairement réduire la puissance de ces tests (17).

(15) StopOGM. *Mais le taux d'aflatoxines est davantage lié aux conditions de stockage que de culture*

(16) StopOGM. *Voir remarques dans l'encadré GRACE project.*

(17) StopOGM. Mais on n'a rien pour remplacer le vivant en analyse de toxicité chronique. Et il pourrait être dommageable pour l'éthique animale et humaine de ne pas réaliser des analyses de sang préventives sur les premiers animaux qui mangeraient ces OGM avant d'en donner inconsidérément à des milliards d'animaux.

- Toxicité multigénérationnelle

Dans ces lignes directrices sur les essais à 90 jours, l'EFSA reconnaît déjà qu'ils ne sont pas conçus pour détecter des effets faibles (subtoxicité), chroniques, et en particulier des effets sur la reproduction et le développement (EFSA, 2008). Ce type de réponse induite par la présence d'un composé a priori faiblement toxique à court terme (type perturbateur endocrinien par exemple) est d'autant plus difficile à interpréter qu'elle peut mener à des réactions qui ne sont pas nécessairement dépendantes de la dose ingérée (Séralini et al. 2011). Une revue répertorie douze études multigénérationnelle utilisant comme aliment du maïs, pomme de terre, soja et triticales pour nourrir souris, rats, chèvres, moutons, poulets et même cailles (Snell et al. 2012). Toute une gamme de protocoles et de paramètres ont pu être mesurés (poids, système immunitaire, histopathologie...) à différents moments (jusqu'à cinq générations testées). Quatre des douze expériences notent des différences significatives dans certains des paramètres mesurés (Trabalza-Marinucci et al. 2008; Kiliç and Akay 2008; Krzyżowska et al. 2010; Tudisco et al. 2010).

Deux principales recommandations peuvent être faites : 1) la nécessité d'instaurer des protocoles précis et harmonisés pour chaque modèle expérimental, en allant au-delà de ce que recommande initialement l'OCDE dans ces guidelines No 408 (OCDE, 1995). 2) la collaboration des pétitionnaires (majoritairement des firmes privées) avec les scientifiques afin de donner accès aux données brutes dans un format exploitable, aux matériaux adéquats, typiquement les lignées de références. Globalement, il est évident que la toxicologie des OGM gagnerait à utiliser plus de transparence et de collaborations afin de la hisser aux standards les meilleurs de la science contemporaine. La question des effets à plus ou moins long termes (toxicité rénale ou hépatique, carcinogéniques et perturbations endocriniennes) nécessiterait d'autres dispositifs expérimentaux adaptés afin de répondre de la manière la plus exhaustive à ces questions. Il n'en demeure pas moins que l'extrapolation des résultats issus des expériences utilisant des modèles (particulièrement des rongeurs) est une source de contentieux récurrente et ce depuis plus de quatre décennies (Jasanoff, 1994).

- Autres modèles animaux

Un certain nombre d'espèces ont été utilisées pour tester la toxicité éventuelle des OGM, particulièrement les animaux de rente. Ces études sont en effet importantes étant donné que la très large majorité des OGM produits dans le monde (et exclusivement en Europe) est consommée par des animaux. Ces études incluent volaille, cochons, ruminants. Là encore, un

certain nombre d'étude ont fait polémique, comme l'expérience effectuée sur des cochons avec du soja tolérant au glyphosate (Carman et al., 2013) ou l'étude (dont l'équipe a rétracté récemment plusieurs publications) sur les chevreaux nourris avec le même soja (Tudisco et al. 2015). Une base de données publique rassemblant la majorité des données existantes sur ce sujet a été générée dans le cadre du projet européen MARLON (www.marlon-project.eu). On peut espérer que cet effort de transparence aidera à faire avancer le débat.

3.3.2. De la fonction des tests sur des animaux dans l'évaluation des risques

Les tests toxicologiques à 90 jours présentent un certains nombres de limitations techniques que l'on a énoncées précédemment. Au-delà de ces limitations techniquement surmontables par de meilleures pratiques de laboratoires, restent un certain nombre de problèmes à résoudre et de points à préciser. On remarque que les tests à 90 jours ne sont légalement pas obligatoires en Suisse. Le suivi des programmes publics tels que GRACE a mis en évidence qu'un test exhaustif n'est probablement pas réalisable pour les 60+ PGM et stacks autorisés en Europe (à raison de 5-6 m€ par programme qui dure 3 ans). Si une étude systématique, au cas par cas, n'est pas effectuée, le risque est de vouloir extrapoler des données toxicologiques issues d'évènements précis à d'autres évènements.

3.4. Test d'allergénicité

Les tests d'allergénicité se divisent en trois parties : 1) analyse de l'historique d'allergénicité de l'organisme d'origine, 2) analyse bioinformatique des séquences intégrées au génome et des épitopes potentiellement exprimés, 3) test de digestion *in vitro* de la/des protéines produites *in vitro* et test de réactivité sur sérum (skin pricks). Des tests *in vivo* sont recommandés par l'EFSA en cas de suspicion d'allergénicité (EFSA. 2008) mais ne le sont pas par la FAO (pour des raisons éthiques). La différence fondamentale entre les tests de toxicologie et les tests d'allergénicité est l'impossibilité de fixer *a priori* des seuils minimaux. Les allergies alimentaires sont un problème de santé publique majeur, avec 2-3% des adultes et 6-8% des enfants qui présentent des allergies, et certaines des espèces végétales communément utilisée sous forme génétiquement modifiée, comme le soja, sont à l'état sauvage déjà considérées comme des allergènes alimentaires (Hoffmann-Sommergruber, 2012).

Quelques exemples connus de transformation génétique ont mené à la production d'un allergène ou à un changement d'immunoréactivité : la bêta-amylase dans le pois, le maïs Starlink et les protéines PR (pathogen-related). Dans les sections suivantes, on décrit des exemples et détermine quelles conclusions en tirer dans le cadre d'analyse du risque allergénique.

3.4.1. Organisme d'origine

Suivant l'espèce utilisée, les propriétés allergènes sont différentes, cette étape de description semble aussi nécessaire qu'informatrice.

3.4.2. Analyse bioinformatique

L'analyse bioinformatique consiste à transcrire et traduire *in silico* l'ensemble des nouveaux éléments génétiques insérés dans le génome de l'OGM. Les séquences d'acides aminés ainsi obtenues (souvent entre 6 et 8 acides aminés) sont comparées à différentes bases de données d'allergènes connus. Ces méthodes génèrent une importante proportion de faux-positifs (Stadler and Stadler 2003). De la même manière que pour l'analyse comparative, cette analyse est nécessaire mais pas suffisante pour s'assurer de l'identification d'un nouvel allergène potentiel. De plus, il est important de noter que l'étendue de ces bases de données est en perpétuelle évolution, rendant difficile la comparaison des résultats dans le temps. De même, la prise en compte des structures secondaires et tertiaires formées par un ou plusieurs acides aminés est très difficilement réalisable *in silico* sans plus de données expérimentales, ce qui limite le processus de prédiction (Willison et al. 2013; Bernard et al. 2015). De plus des modifications post-traductionnelles propres à chaque espèce pourraient probablement changer l'immuno-réactivité des protéines exprimées, comme cela a d'abord été suggéré par Prescott et collègues (Prescott et al. 2005), puis démenti plus tard (Lee et al. 2013). (18)

(18) StopOGM. *Il est impossible de prédire un épitope (allergénique ou non) à partir d'une structure primaire (séquence d'ADN). D'autre part, les résultats varient non seulement en fonction des bases de données utilisées, mais aussi des algorithmes utilisés, ce qui permet au pétitionnaire de choisir celui qui l'arrange. Une normalisation des bases et des algorithmes est nécessaire, mais elle ne doit pas être conduite par les industriels (notamment par l'ILSI). L'analyse bio-informatique a donc une valeur limitée (d'alerte) si elle est positive et est sans portée informative si elle est négative.*

3.4.3. Tests de digestion *in vitro*

Enfin, la stabilité des protéines sous l'action de fluides gastriques (pepsine) est censée informer sur la stabilité des protéines lors de la digestion (19). Là encore, des limites expérimentales évidentes existent, par exemple une mauvaise reproduction des conditions *in vivo* (pH utilisé différent du pH stomacal). Ce test part du postulat qu'un allergène est caractérisé par sa stabilité pendant la digestion et/ou sur la faible exposition à la protéine lors du processus de digestion. Le cas du maïs Starlink produisant la toxine Cry9C a montré une stabilité anormalement haute pour cette protéine et a été suspecté de causer des réactions allergiques chez au moins 51 personnes et qui mena au retrait de la lignée du marché (Bernstein et al. 2002, Kuiper et al., 2003).

(19) StopOGM. *Non seulement le pH utilisé in vitro est beaucoup plus bas que celui du contenu gastrique durant la digestion, mais le taux de pepsine utilisé dans le test d'Astwood (celui présenté dans les dossiers de demandes d'autorisation) est 3,000 fois le taux physiologique moyen et les phospholipides présents physiologiquement sont absents du test in vitro. Jean-Michel Wal, par ailleurs expert du groupe OGM de l'EFSA, a montré que dans des conditions un peu plus physiologiques, bien que toujours in vitro et sans matrice alimentaire, Cry1Ab n'était pas dégradée, ceci en totale contradiction avec les résultats présentés par Monsanto et validés par l'EFSA (Guimaraes et al. 2010). Il existe bien des cas où la protéine étudiée résiste au test et est allergénique, mais il y a à peu près autant de cas contraires et on ne peut parler de corrélation entre les résultats et la pathologie. Il est pertinent de souligner le fait que ce test à la pepsine a été mis au point, publié et incorporé au Codex alimentarius par l'industrie et ce, à son usage.*

3.4.4 Tests *in vivo*

Les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2008) tentent de limiter l'utilisation de tests sur les rongeurs en cas de présomption d'allergénicité. L'extrapolation des résultats de données de rongeur sur l'homme reste mal documenté et sujet à de vifs débats (Leist and Hartung 2013). Par exemple, dans le cas de l'alpha-amylase inhibitor 1 du haricot exprimé dans le pois, l'allergénicité du pois sauvage (donc sans lien avec le transgène) n'est que difficilement transposable à l'homme (Lee et al. 2013).

Comme c'était le cas pour l'analyse comparative ou toxicologique, on peut se limiter à critiquer les limites des techniques et les protocoles utilisés. L'interdiction, la signalisation ou autre est une décision politique et n'est pas du ressort de l'évaluation des risques. A partir de cette évaluation et d'autres éléments, il appartient au politique de prendre les mesures qui lui semblent appropriées. Pour le gluten, par exemple, c'est l'obligation d'étiquetage.

Le caractère individuel et complexe de la réponse immunitaire allergique ne permet pas d'éliminer toute chance de réponse allergique, mais cette problématique est probablement généralisable à tout nouvel aliment, sans que ce soit fondamentalement lié à son origine transgénique. On peut aussi remarquer que certains OGM ont été développés dans le but d'être hypoallergénique, souvent par suppression ou diminution de l'expression du gène codant pour la protéine allergène : pomme exprimant moins de protéine Mal d 1 (Gilissen et al. 2005), soja exprimant moins de Gly m 30 (Herman et al. 2003), tomate antisense pour la profiline (Lee et al., 2006) ou arachide RNAi pour la protéine Ara h 2 (Dodo et al. 2008). On peut imaginer que la mise sur le marché de tels produits et la démonstration d'une réduction significative de leur allergénicité puisse être très difficile et nécessite des protocoles d'évaluation spécifiques.

4. Sécurité des OGM IR (Bt) en tant que fourrage

Avec la tolérance à l'herbicide, la production de toxine insecticide de type cry/Bt sont les traits les plus répandus dans les OGM de première génération et composent le 99% des OGM commercialisés. L'unique maïs transgénique autorisé à la culture en Europe, le maïs MON810 contient le gène codant pour la protéine cry1Ab. Dès lors, la connaissance des modes d'action de ce type d'insecticide ainsi que la toxicité éventuelle de ces protéines et leur allergénicité éventuelle sont des points critiques de l'analyse des risques (20).

On n'abordera pas dans ce rapport les conséquences environnementales ou agrosystémiques du déploiement de telles variétés, le sujet pouvant en soi faire l'objet d'un rapport entier. On se concentrera ici à la sécurité des plantes exprimant les toxines Bt en tant que fourrage.

(20) *StopOGM. La sécurité des OGM IR pour les animaux devant être affouragé n'est pas prouvée dans les dossiers.*

4.1. Mode d'action et diversité des toxines Bt

Les protéines Cry, de la famille de δ -endotoxines, sont produites par la bactérie gram négative *Bacillus thuringiensis* (Bt). Ces protéines sont utilisées depuis les années 1930 comme insecticide en spray dans agriculture biologique puis ont été intégrée dans une large proportion des OGM commercialisés depuis les années 1990. De multiples espèces transgéniques commercialisées produisent les toxines cry (maïs, papaïe, colza, soja, coton, pomme de terre, squash, aubergine, tomate, voir Tableau 3). Les protéines cry rassemblent un ensemble de variantes classées suivant leur mode de stockage (cytosolique ou cristallin) et distribué en 4 sous-groupes suivant leur mode d'action (Bravo et al. 2011).

Nomenclature des toxines Cry. Les toxines cry sont réparties en 70 groupes représentant plus de 700 protéines. Le premier chiffre correspond à une similarité des séquences d'acides aminés d'au minimum 45% (Cry1, Cry2...). La deuxième lettre capitale correspond à une similarité comprise entre 45 et 78% (Cr1A, Cry1B...), puis la troisième lettre minuscule à une similarité comprise entre 78 et 95% (Cry1Aa, CryaAb...). Pour un aperçu de la nomenclature, voir <http://www.btnomenclature.info/>

La diversité des toxines cry a permis de sélectionner toute une palette de toxines présentant différentes cibles. L'exemple de « pyramidage » le plus emblématique étant celui du maïs Smartstax qui exprime six toxines différentes (Cry1A.105, Cry3Bb1, Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry2Ab2 et Cry1Fa2) ainsi que des gènes de tolérances aux herbicides. L'accumulation de plusieurs toxines a pour objectif d'augmenter la durabilité de la résistance de l'espèce transgénique (*i.e.* réduire la probabilité d'apparition de résistances dans les populations cibles d'insectes). L'utilisation de plusieurs toxines simultanément a été jusqu'à présent adressé dans

les dossiers d'analyse du risque comme « la somme de plusieurs parties » et aucune nouvelle évaluation supplémentaire n'est nécessaire pour les OGM qui empilent des protéines Bt déjà évaluées. A notre connaissance, aucune recherche sur les effets synergétiques éventuels de la combinaison de multiples toxines cry n'a été effectuée ou rendue publique. L'évaluation de la quantité totale de toxine produite par les variétés Smartstax devrait également faire l'objet d'une étude attentive. D'autre part, on peut souligner que la nomenclature uniforme des toxines cry reflète mal une diversité très importante parmi ces protéines: par exemple, dans le cas du maïs Smartstax, les toxines Cry1A.105 et cry3B1 ne présentent que 12 et 19% d'homologies avec la toxine Cry2Ab2 respectivement (alignement des protéines avec EMBOSS http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle/ et séquences téléchargées depuis NCBI). De manière générale, on retrouve 3 domaines conservés dans les protéines cry qui peuvent être agencés de manière différente suivant la toxine concernée et faire varier leur toxicité (Bravo 1997; Pardo-López et al. 2009).

Malgré leur usage répandu et la description de la structure de certaines des toxines cry par cristallographie, le mécanisme d'action cytotoxique de ces toxines reste toujours controversé (voir récemment Caccia et al., 2016, PNAS). La protoxine inactive est solubilisée par le pH alcalin dans le tract intestinal des insectes cibles. La toxine (famille des δ -endotoxines) ainsi activée (entre 55-65 KDa) va interagir avec un récepteur spécifique qui provoque à terme des lésions dans tract digestif de l'insecte causant sa mort par septicémie (Pardo-López et al. 2013). L'absence de modèle standard de mécanisme d'action rend difficile la compréhension de la spécificité de chacune des toxines cry pour un groupe particulier d'insecte cible. Brièvement, au moins deux modèles sont proposés : le modèle séquentiel, qui implique l'interaction de la toxine avec des peptidases, des cadhérines et des phosphatases et qui mène la formation d'un pore, et le modèle de signalisation où la mort cellulaire n'est plus simplement due à un choc osmotique mais également le fruit d'une réponse cellulaire coordonnée menant à l'ouverture de canaux Mg^{2+} (de Almeida Melo et al., 2014). La bonne compréhension du modèle d'action est nécessaire à un déploiement le plus spécifique et adapté possible aux insectes ciblés. Un des points importants de l'analyse des risques des toxines cry est l'absence de distinction faite entre les tests effectués sur la protoxine et la toxine. Dès lors que les deux formes se retrouvent dans l'environnement, les tests d'évaluation de la toxicité et de l'exposition devraient idéalement être effectués de manière systématique pour la protoxine et la toxine (21).

(21) StopOGM. Les PGM produisent une ou plusieurs toxines activées qui ne nécessitent plus d'activation (digestion partielle) de la part des insectes ciblés et qui sont produites de manière constitutive (durant la vie entière) dans toutes les parties de la plante. Il s'ensuit que 1) l'exposition des agrosystèmes et des organismes aux protéines Bt est augmentée et l'exposition est variable en fonction du temps, de l'espace et de l'organisme. Ceci pourrait avoir comme conséquence que 1) d'autres insectes que ceux ciblés pourraient être impactés et que 2) des

organismes autres que des insectes (oiseaux, mammifères) pourraient être impactés sur le long terme (toxicité sub-chronique et chronique). Les protoxines bactériennes sont dégradées rapidement par les UV (2-3 jours). Ceci n'est pas le cas pour les toxines Bt produites par les PGM puisqu'elles se situent à l'intérieur de la plante. Il s'ensuit que la durée d'exposition des organismes et des agrosystèmes est constante beaucoup plus longue que lors d'une application de biocide à base de formulation bactérienne Bt.

Tableau 3. Toxines cry produites par les lignées OGM commercialisées. Etat de 2014.

D'après Rubio-Infante et al., 2015 et <http://www.btnomenclature.info/>

Protein Cry	Compagnie		Produit
Eggplant (<i>Solanum melongena</i>)			
Cry1Ac	Maharashtra Seed (MAHYCO)	Hybrid Company	BARI Bt Begun-1, -2, -3 and -4
Potato (<i>Solanum tuberosum</i> L)			
Cry3A	Centre Russian Academy of Sciences	Bioengineering, Sciences	Lugovskoi plus, Elizaveta plus, Atlantic NewLeaf™ potato, Atlantic NewLeaf™ potato, Atlantic NewLeaf™ potato
Cry3A	Monsanto Company		New Leaf™ Russet Burbank potato, Hi-Lite NewLeaf™ Y potato, Shepody NewLeaf™ Y potato, Superior NewLeaf™ potato
Rice (<i>Oryza sativa</i> L)			
CryAc, Cry1Ab	Huazhong University (China)	Agricultural	BT Shanyou 63
CryAc, Cry1Ab	Huazhong University (China)	Agricultural	Huahui-1
Soybean (<i>Glycine max</i> L)			
Cry1Ac	Monsanto Company		Intacta™ Roundup Ready™ 2 Pro
Tomato (<i>L. esculentum</i>)			
Cry1Ac	Monsanto Company		---
Maize (<i>Zea mays</i> L)			
eCry3.1Ab	Syngenta		Agrisure® Duracade™
eCry3.1Ab,mCry3A,	Syngenta		Agrisure® Duracade™ 5122
Cry1Ab, Cry1Fa2			Agrisure® Duracade™ 5222
			Agrisure™ GT/CB/LL
Cry1Ab	Syngenta		Bt10, Agrisure™ CB/LL, Agrisure® Viptera™ 3110, NaturGard Knock-Out™, Maximizer™
Cry34Ab1,Cry35Ab1,	Syngenta		Agrisure® 3122
mCry3A, Cry1Ab, Cry1Fa2			
Cry1Ab (truncated)	Syngenta		Agrisure® Viptera™ 2100
mCry3A, Cry1Ab,	Syngenta		Agrisure® Viptera™ 3111, Agrisure® Viptera™ 4, Agrisure® Viptera™ 3100, Agrisure™ CB/LL/RW, Agrisure™

		3000GT, Agrisure™ RW, Agrisure™ GT/RW
Cry1Ab, Cry1Fa2	Syngenta	Agrisure™ Viptera 3220
Cry9C	Bayer CropScience	Starlink™ Maize*
Cry34Ab1 Cry35Ab1	Dow AgroSciences LLC and DuPont	Herculex™ RW
Cry34Ab1, Cry35Ab1,	DuPont (Pioneer Hi-Bred International Inc.)	Herculex™ RW Roundup Ready™ 2
Cry34Ab1, Cry1Ab, mcry3A	DuPont	Optimum™ Intrasect Xtreme
Cry1Fa2, Cry34Ab1, Cry35Ab1	Dow AgroSciences LLC and DuPont	Herculex XTRA™ RR
Cry1Fa2, mCry3A		Optimum™ TRIssect
Cry1Fa2	Dow AgroSciences LLC and DuPont	Herculex™ I RR
Cry1Ab	Monsanto Company	Roundup Ready™ YieldGard™ maize, YieldGard™, MaizeGard™, YieldGard™ VT Triple, YieldGard™ CB + RR, Liberty Link™ Yieldgard™ Maize
Cry1Ac	Monsanto Company	Bt Xtra™ Maize
Cry1Ab	Renissen LLC (Netherlands) and Monsanto Company	Mavera™ YieldGard™** Maize
Cry3Bb1	Monsanto Company	YieldGard™ RootwormRW, MaxGard™
Cry3Bb1, Cry1Ab	Monsanto Company	YieldGard™ Plus YieldGard™ Plus with RR
Cry3Bb1	Monsanto Company	YieldGard™ VT™ Rootworm™ RR2, YieldGard™ RW + RR
Cry2Ab2, Cry1A.105	Monsanto Company	YieldGard™ VT Pro™
Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry3Bb1	Monsanto Company	Genuity® VT Triple Pro™
Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1A.105, Cry3Bb1, Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry2Ab2, Cry1Fa2	Monsanto Company Monsanto Company	Genuity® VT Double Pro™ Genuity® SmartStax™
Cry2Ab2, Cry1Fa2, cry1A.105,	Monsanto Company	Power Core™
Cry1Fa2,	Monsanto Company	Herculex™ I, Herculex™ CB

*retiré du marché.

4.2. Méthodes de détection

Dans les dossiers d'évaluation des risques des lignées transgéniques, la quantité de protéine par poids de matière végétale est déterminée afin de pouvoir relier le degré d'expression de la protéine transgénique à un degré d'exposition des organismes et de l'environnement. On note que sur ce point, les directives de l'OCDE, pourtant relativement élaborée quant à l'évaluation de la toxicité, restent très vagues et à notre connaissance, aucune méthode standardisée de quantification des protéines cry n'est publiée à ce jour. L'usage courant des tests immunologiques de type ELISA s'avère être d'une grande variabilité entre les laboratoires (Szekacs et al., 2012). On note que des méthodes quantitatives (chromatographie couplée à la spectrométrie de masse, UPLC-MS/MS) très précises et peu onéreuses existent et devraient être systématiquement utilisées, comme dans d'autres domaines de la toxicologie (lutte anti-dopage par exemple). (22)

La variabilité de l'expression des transgènes suivant les lignées mais également suivant les conditions de culture et le fond génétique de la variété transformée devrait également être prise en compte de façon à obtenir une vision la plus compréhensive possible pour le régulateur (Trtitkova et al., 2015).

(22) Stop OGM. En l'absence de protocoles clairs et publiés, force est de constater que les concentrations décrites dans les dossiers sont uniquement informatives et qu'il est impossible de connaître exactement à quelles concentrations les écosystèmes, mais aussi les animaux et les êtres humains sont véritablement exposés. Dès lors un calcul de l'exposition est impossible et donc une évaluation du risque (toxicité x exposition) est impossible à mener dans ces conditions.

Les dossiers d'autorisation ne font jamais état de ces insuffisances. Il s'agirait d'être honnête et de communiquer la limite des analyses et d'informer le consommateur et les citoyens.

4.3. Toxicité des toxines Bt pour les mammifères

La littérature scientifique sur la toxicité des toxines cry regroupe plusieurs objets qu'il est important de distinguer : toxicité des bactéries, spores, protoxines, toxines et résidus végétaux produisant ces toxines. Chacun de ces éléments devrait être testé suivant l'usage voulu et le degré d'exposition. Pour une revue compréhensive récente, voir Rubio-Infante et al., 2015. Au-delà de la toxicité potentielle de certaines toxines cry, on peut déplorer le manque de donnée quant à la persistance ou la stabilité des éventuels résidus de toxines cry dans la chaîne alimentaire et/ou pendant le processus de transformation en aliment (23). En d'autres termes, quand bien même la faible toxicité ou allergénicité de certaines protéines de la famille des cry est étudiée, il n'en demeure pas moins que les degrés d'expositions des animaux ou des humains restent peu documentés.

(23) StopOGM. Des protéines Bt ont été trouvées dans le sang de femmes enceintes au Canada, ce qui implique que la protéine Bt peut passer la barrière placentaire (Aris & Leblanc,

2011). *Une exposition à long terme pourrait engendrer des pathologies. Il est dès lors important d'évaluer la toxicité chronique de ces toxines.*

4.3.1 Toxicité aiguë, chronique et sub-chronique

La faible toxicité relative des protéines pour les mammifères est généralement admise et repose sur trois critères : absence de toxicité aiguë chez les animaux, digestibilité des toxines et absence d'accumulation dans les tissus adipeux (Rubio-Infante and Moreno-Fierros, 2015). La méthode de détermination du niveau de toxicité par l'US-EPA (Environment Protection Agency) se fait suivant une approche par étape. La première étape collecte les données de 1) « history of safe use », 2) analyses bioinformatiques (section 3.4.2), 3) mode d'action, 4) digestibilité (section 3.4.3), 5) stabilité, 6) exposition. Chacun de ces points est soumis à critique et leur interprétation peut parfois se révéler problématique (29). Suivant les résultats de ce premier niveau d'analyse, les autorités compétentes, décident d'enclencher ou non une deuxième série de tests : tests de toxicologie aiguë (1-5 grammes de toxine par kg pendant 14 jours, par exemple) et toxicologie chronique.

(24) Stop OGM. Les tests sont réalisés avec la protoxine bactérienne activée à la trypsine. Ce n'est pas la toxine active fabriquée par la plante transgénique. Ce n'est donc pas le produit commercialisé qui est évalué. A notre connaissance aucun test de toxicité chronique n'a jamais été réalisé ni demandé par les autorités pour les protéines Bt. Ceci est un biais important de l'évaluation des risques.

Les tests de toxicité aiguë pour les toxines cry chez les mammifères ont permis de déterminer une dose létale (Hernandez et al. 1998), mais à des doses largement supérieures à ce qui est attendu dans l'environnement. Plusieurs rapports cependant pointent de possibles effets aussi bien des toxines utilisées sous forme directe d'insecticide que de produits de plantes transgéniques (voir Rubio-Infante & Moreno-Fierros, 2015 et tableau 4). Un des facteurs rendant potentiellement difficile l'interprétation de ces données est l'utilisation de formulations commerciales, ajoutant /mélangeant les potentielles toxicités des agents actifs (ici toxine cry) et des agents surfactants.

Les bactéries *B. thuringiensis* sont généralement considérées comme sûres, et hormis quelques rapports isolés d'infection chez des patients immunodéprimés, cette espèce n'est généralement pas censée avoir d'effet sur la santé humaine (Rubio-Infante & Moreno-Fierros, 2015).

Tableau 4. Listes des divers effets de *Bacillus thuringiensis* chez les mammifères. Extrait de Rubio-Infante and Moreno-Fierros, 2015.

Product/ Bt species	Mode of exposure	Effects	Reference
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	Populations were exposed to Bt spray.	Hundreds of people complained of allergic reactions. Exposed farm workers also exhibited increased antibody levels.	(Green <i>et al.</i> , 1990)
Contaminated water/ Undetermined	Opportunistic infection	Infection in burns of immunosuppressed patients.	(Helgason <i>et al.</i> , 2000)
<i>B. thuringiensis</i> serovar <i>konkukian</i>	Opportunistic infection	Leg abscesses of French immunosuppressed soldiers wounded by a land mine blast	(Hernandez <i>et al.</i> , 1998)
XenTari [®] / <i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i>	Orally	Kidney, liver, and lung lesions and reduced fertility were observed in rats.	(Lemos <i>et al.</i> , 2013)
<i>B. thuringiensis</i> <i>kurstaki</i> and <i>B. thuringiensis</i> <i>israelensis</i>	Seven human cell lines were exposed	Bti/Btk products generated nonspecific cytotoxicities involving loss of bioreduction, and rounding, blebbing and detachment of cells.	(Tayabali and Seligy, 2000)
Roundup Ready corn	Rats were fed for 13 week with 11% or 33% corn	Slight increases in weight were observed.	(Hammond <i>et al.</i> , 2004)
Bt corn	Rats fed with Bt corn	Changes in creatinine, total protein and globulin levels were reported.	(Kilic and Akay, 2008)
Bt corn MON 810, MON 863 (modified Cry1Ab in MON 810, modified Cry3Bb1 in MON 863)	Rats fed with corn	The toxic effects were primarily associated with the kidney and liver as well as in the heart, adrenal glands, spleen and haematopoietic system.	(de Vendomois <i>et al.</i> , 2009)
Cry1Ab (<10 ng/ml)	Rumen cells of cows	The authors noted that Cry1Ab caused a four-fold increase in the conductance of potassium.	(Stumpff <i>et al.</i> , 2007)
Cry1Ab and Cry1Ac Bt toxins (10 ppb to 100 ppm)	Human embryonic kidney cell line 293 was exposed	Cry1Ab caused cell death from 100 ppm (0.1 mg/mL) compared to Cry1Ac, which has not effect on this cell line.	(Mesnage <i>et al.</i> , 2013b)
Cry1Ab toxin	Bovine hepatocytes were exposed.	The authors concluded that Cry1Ab has slight acute toxicity.	(Shimada <i>et al.</i> , 2006)

Dans les plantes transgéniques exprimant les toxines cry, les tests de toxicités aiguës n'ont montré aucun effet chez les mammifères testés, au moins pour les protéines cry1, cry2 et cry 3 (Sjoblad *et al.*, 1992), même si la question de la digestibilité des protéines et de la portée réelle des tests utilisés reste entière (voir section 3.4.3, (Guimaraes *et al.* 2010). Les questions de l'évaluation de l'exposition (quantité de protéine réellement présente dans les produits consommés) restent ouvertes. Dans les boues issues des élevages bovins, on retrouve la toxine Cry1Ab de façon relativement persistante (demi-vie de 25 semaines), ce qui pose également la question de l'exposition environnementale aux toxines cry et leurs effets de façon plus générale (Gruber *et al.* 2011). Aucune donnée sur d'éventuelles modifications (glycosylations ou autres) des toxines cry *in planta* n'ont pu être trouvée dans la littérature.

4.4. Allergénicité des toxines Bt

(voir section 3)

Des données contradictoires ont aussi été produites en ce qui concerne l'allergénicité des protéines cry/Bt testées. Aucune réaction allergique chez l'homme n'a clairement été établie (voir revue dans le cadre du NFP59 par Hoffmann-Sommergruber, 2012). Aucune réaction à la toxine cry1Ab ou production d'IgE n'a été observée sur le sérum de patients allergiques au maïs (Batista et al. 2005). Un certain nombre de rapports ne montrent aucun effet de la toxine Cry1Ab sur les souris (Reiner et al. 2014) ou les rats (Kroghsbo et al. 2008) alors que d'autres montrent certains dérèglements immunitaires, comme chez le saumon (Sagstad et al. 2007). En l'état actuel des connaissances, il est relativement difficile de conclure sur le potentiel allergénique des toxines cry, l'extrapolation de données issues de nombreux modèles vers l'humain ainsi que la multiplication du nombre de variantes de cry dans les variétés d'OGM modernes rendant cette tâche de plus en plus difficile. On note également que la quantité de toxine cry synthétisée dépend de l'évènement concerné et de son mode de culture (Trtitkova et al., 2015). Une surveillance après autorisation des produits commercialisés (post-market monitoring) serait un moyen complémentaire de détecter un éventuel problème. Fondamentalement, ces dispositions ne sont pas différentes de n'importe quelle autre nouvel aliment intégré à la chaîne alimentaire : une approche au cas par cas est requise. (25)

(25) Stop OGM. Une liste de publication montrant des signes de toxicité à moyen terme des protéines Bt est revue dans Rubio-Infante & Moreno-Fierros, 2015.

Pour résumer la problématique des toxines cry, deux points sont à retenir pour améliorer les procédés d'analyse des risques (hors risque environnemental) :

- Une analyse au cas par cas de chacune des formes (protoxines, toxines, produits commercialisés ou bactéries) et variantes (grande diversité) de ces toxines est nécessaire. Leur effet combiné entre elles et avec les résidus d'herbicides devrait être également investigué plus en détail. La faible voire l'absence de toxicité aiguë des toxines cry testées pour les mammifères semblent établie, leur éventuelle propriété allergénique peuvent cependant s'avérer problématique.
- Les données disponibles sur l'exposition des animaux ou des humains à ces toxines restent rares et peu fiables.

(25) StopOGM. Des points essentiels restent à adresser quant à l'impact des toxines Bt sur les agrosystèmes (Hilbeck and Otto, 2015) :

- *La non toxicité sub-chronique et chronique des toxines Bt restent à démontrer*
- *La toxicité peut être aussi influencée par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques. Cela renforce l'idée que ces plantes doivent être testées en condition réelle. Une simple analyse et étude sur la protoxine bactérienne purifiée ne suffit pas.*

- *Peu de toxines ont été testées chez plus de 1 ou 2 ordres d'insectes (coléoptères, lépidoptères, etc.) Environ 40% des protéines testées montrent une activité croisée. La spécificité du produit est à démontrer afin de diminuer les impacts non désirés sur l'environnement.*
- *La recherche s'est focalisée sur les ravageurs herbivores ; peu de données existent sur la présence ou non de récepteurs à la toxine dans l'intestin des autres insectes.*
- *Le concept du «quick-kill» (ingestion qui entraîne la mort) est basé sur une notion d'efficacité qui est motivée économiquement. Dans un contexte d'évaluation du risque environnemental, un tel concept est insuffisant et s'abstrait du principe de précaution.*
- *Celui du «slow kill» est plus adapté et inclut les impacts sub-létaux (poids, temps de développement, changement du comportement, etc.) qui peuvent avoir des effets écologiques encore plus sévères que le quick –kill pour les écosystèmes aquatiques et terrestres*

5. Recommandations et conclusions

5.1 Indépendance, transparence et accès aux données

La critique principale que l'on peut formuler sur l'ensemble de la littérature liée à l'analyse des risques réside dans le fait que ces analyses ont été effectuées dans un contexte légal parfois ambigu et changeant. En effet, les pétitionnaires sont tenus de fournir les données de toxicité, le contribuable n'étant logiquement pas censé payer pour s'assurer que le produit d'une compagnie privée soit ou ne soit pas commercialisable. Dès lors, vu la complexité des essais et des procédures que l'on a décrites, on peut se demander 1) si l'ensemble des compétences requises sont présentes dans les entreprises pétitionnaires afin de réaliser suivant les meilleurs standards possibles ces tests, 2) s'il est de l'intérêt des entreprises d'activement contribuer à la transparence des procédés d'analyse de risque et de se conformer à l'éthique requise à un tel procédé étant logiquement en situation de conflit d'intérêts (pour d'autres exemples, voir le rapport EEA, 2013), 3) si la barrière réglementaire limitant la mise sur le marché des OGM n'agit pas comme élément indirect de régulation du marché (monopolistique), éliminant de fait les plus petites structures (26 et 27).

(26) StopOGM. On propose un modèle où les pétitionnaires payeraient les analyses effectuées par des laboratoires publics. Mais tout cela est inutile si on ne commence pas par exiger la transparence sur les analyses individuelles (sanguines, histologiques...) effectuées au cours des tests réglementaires déjà réalisés. A noter aussi que ce n'est pas que l'évaluation qui coûte cher. Tout le processus coûte cher et de facto peu de petites structures se lanceraient là-dedans ... Selon l'industrie une variété GM coûte 130-150 millions de dollars ; l'évaluation coûte environ 10-15 millions (NAS report, 2016)....

(27) StopOGM. Questions ouvertes supplémentaires : est-ce que données qui vise l'évaluation sanitaire et qui ne contiennent pas de données sensibles sur les caractéristiques d'un produit doivent bénéficier de la confidentialité ? 5) est-ce que des données qui concernent la santé de centaines de millions de consommateurs doivent bénéficier de la confidentialité et ne pas être accessibles pour des recherches indépendantes ? 6) est-ce que le matériel de base (les semences transgéniques) servant de matériel de base aux études indépendante ne devraient-elles pas être rendues accessible ?

Le problème de la transparence des dossiers et l'accès aux données est une des clés principales visant à résoudre le problème de confiance envers la biotechnologie, ou plus précisément de confiance en l'expertise des OGM. Obtenir des réponses claires et objectives quant aux différentes interrogations qui les entourent reste un objectif clé des administrations en charge. Les cas du bisphénol A (BPA) dans les plastiques est un exemple concret du manque de transparence dans les processus d'évaluation des risques qui ont mené à retarder l'interdiction du BPA considéré aujourd'hui unanimement comme un perturbateur endocrinien (EEA report 2013, vom Saal and Hughes 2005). Un modèle de recherche publique mutualisée et financée par les requérants qui consulterait tout au long du processus l'ensemble des parties prenantes pourrait contribuer à améliorer les standards dans ce champ d'étude et peut être prévenir d'éventuels nouveaux scandales sanitaires. Cependant, les précautions en termes d'assurance et de responsabilité civile prises par les producteurs d'OGM ne semblent pas indiquer de changement en ce sens (Goldberg, 2015).

Les tests sur les animaux sont *a priori* sans liens avec les propriétés intrinsèques (et protégées) des plantes OGM. On peut dès lors penser pouvoir publier ces données et de fait rendre possible les contrôles indépendants (28).

(28) StopOGM. Encore faudra-t-il les financer ; cela ne sert à rien de dupliquer les analyses ; il faut que les tests soient indépendants dès le départ avec un fond (la même quantité d'argent qu'il dépense actuellement) mis à disposition par les industriels pour qu'ils soient testés dans des labos indépendants ; ces industriels ne doivent pas avoir d'autorité sur les résultats (manipulation ou publication).

5.2 Limites technologiques et statistiques

Notre étude de l'analyse comparative (ou équivalence en substance) a souligné de nets manquements aux standards actuels de la science et une révision en profondeur des protocoles s'avère nécessaire: normalisation et répétabilité sont nécessaires. On retiendra également qu'au-delà de cette analyse à laquelle on pourrait ajouter des données issues de techniques à haut débit, c'est surtout en termes d'interprétations des résultats que les efforts doivent se concentrer. Si les analyses, telles qu'elles ont été menées jusqu'à aujourd'hui, peuvent détecter des modifications majeures dans les OGM, et si elles sont correctement conduites, elles ne peuvent être en aucun cas exhaustives et les données produites ne sont pas nécessairement représentatives de la sûreté intrinsèque de l'évènement testé (« as safe as »). On touche là une des limites entre science fondamentale et réglementaire : il est excessivement difficile de prévoir des risques que l'on ne connaît pas, et la capacité d'objectivisation de la science a ses propres limites.

5.3 Perspectives sur l'évaluation des risques

En résumé, un des problèmes majeurs pour les autorités compétentes (ici, les autorités suisses), sera de déterminer dans quelle mesure une lignée OGM particulière est sûre quand d'autres ne le sont pas. Depuis bientôt 30 ans que des OGM sont produits, il semble très difficile de réaliser une évaluation exhaustive des risques suivant les standards présentés ici. On note également que plusieurs centaines d'évènements ont été autorisés (dont quelques dizaines représentent environ 10% de la surface agricole mondiale en 2010). Il faut donc prendre en compte les données existantes et construire un cadre réglementaire crédible et transparent. Il s'agit d'abord de promouvoir de meilleures lignes directrices pour la recherche dans ce domaine et de faire évoluer les standards qualitativement. Le problème de l'obsolescence ou de l'insuffisance objective d'un certain nombre d'étude devra être résolu, soit par de nouvelles analyses soit par leur rétraction.

Même si toutes les études de risques étaient méthodologiquement correctes, il sera difficile de conclure définitivement quant à la sécurité sanitaire des OGM ou d'éventuelles conséquences en termes de santé publique. Il s'agit bien là encore de transparence, et les autorités en charge se doivent d'annoncer clairement le point où la science atteint ses limites, et de formuler précisément et rigoureusement les conclusions que ces études permettent de faire. L'interprétation des données de l'analyse du risque peut permettre tout au plus de dresser une évaluation de l'état des connaissances et de leurs limites, qui à leur tour permettront d'informer la décision politique. Le processus d'évaluation des risques est un outil d'aide à la décision, non pas un outil de décision.

(29) StopOGM. Pour nous, les autorisations devraient être révisées à la lumière des conclusions de ce rapport. Les OGM autorisés à la consommation humaine doivent, a minima, faire l'objet d'une annonce claire des limites de l'évaluation dans les documents d'autorisations. Actuellement ce n'est pas le cas. Les designs expérimentaux ainsi que les analyses effectuées ne sont pas adaptés à fournir les données nécessaires permettant d'établir la sécurité déclarée dans les autorisations délivrées. Les OGM autorisés sont considérés comme sûrs par l'administration suisse, qui base sa déclaration de sécurité sur l'analyse scientifique. Hors celle-ci ne permet pas d'arriver à ces conclusions.

Les OGM autorisés à la consommation humaine devraient être revus et ces OGM interdits tant que les pétitionnaires ne fournissent pas des études avec les plus hauts standards scientifiques qui permettent de conclure à la sécurité de leur produit sur le moyen et long terme.

6. Références

- Ad hoc technical group on risk assessment and risk management under the Cartagena protocol on biosafety. (2010) Final report. COP of the Convention of biological diversity.
- ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du travail) (2011). Recommandations pour la mise en œuvre de l'analyse statistique des données issues des études de toxicité sub-chroniques de 90 jours chez le rat dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché d'OGM. Rapport d'expertise collective.
- Aris A, Leblanc S (2011). Maternal and fetal exposure to pesticides associated to genetically modified foods in Eastern Townships of Quebec, Canada. *Reproductive Toxicology*, 31(4):528-533 and subsequent comments to the editors
- Baker JM, Hawkins ND, Ward JL, et al (2006) A metabolomic study of substantial equivalence of field-grown genetically modified wheat. *Plant Biotechnol J* 4:381–392. doi: 10.1111/j.1467-7652.2006.00197.x
- Baktavachalam GB, Delaney B, Fisher TL, et al (2015) Transgenic maize event TC1507: Global status of food, feed, and environmental safety. *GM Crops Food* 6:80–102. doi: 10.1080/21645698.2015.1054093
- Batista R, Nunes B, Carmo M, et al (2005) Lack of detectable allergenicity of transgenic maize and soya samples. *J Allergy Clin Immunol* 116:403–10. doi: 10.1016/j.jaci.2005.04.014
- Batista R, Saibo N, Lourenço T, Oliveira MM (2008) Microarray analyses reveal that plant mutagenesis may induce more transcriptomic changes than transgene insertion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:3640–5. doi: 10.1073/pnas.0707881105
- Bernard H, Guillon B, Drumare M-F, et al (2015) Allergenicity of peanut component Ara h 2:

- Contribution of conformational versus linear hydroxyproline-containing epitopes. *J Allergy Clin Immunol* 135:1267–1274.e8. doi: 10.1016/j.jaci.2014.10.025
- Bernstein JA, Bernstein IL, Bucchini L, et al (2002) Clinical and Laboratory Investigation of Allergy to Genetically Modified Foods. *Environ Health Perspect* 111:1114–1121. doi: 10.1289/ehp.5811
- Bøhn T, Cuhra M, Traavik T, et al (2014) Compositional differences in soybeans on the market: Glyphosate accumulates in Roundup Ready GM soybeans. *Food Chem* 153:207–215. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.054
- Brake DG, Evenson DP (2004) A generational study of glyphosate-tolerant soybeans on mouse fetal, postnatal, pubertal and adult testicular development. *Food Chem Toxicol* 42:29–36.
- Brake DG, Thaler R, Evenson DP (2004) Evaluation of Bt (*Bacillus thuringiensis*) corn on mouse testicular development by dual parameter flow cytometry. *J Agric Food Chem* 52:2097–102. doi: 10.1021/jf0347362
- Bravo A (1997) Phylogenetic relationships of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin family proteins and their functional domains. *J Bacteriol* 179:2793–801.
- Bravo A, Likitvivatanavong S, Gill SS, Soberón M (2011) *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochem Mol Biol* 41:423–31. doi: 10.1016/j.ibmb.2011.02.006
- Carman JA, Vlieger HR, Ver Steeg L, et al. (2013). A long-term toxicology study on pigs fed with a combined GM soy and GM maize diet. *Journal of Organic Systems*. 8:1
- Chang Y, Zhao C, Zhu Z, et al (2012) Metabolic profiling based on LC/MS to evaluate unintended effects of transgenic rice with cry1Ac and sck genes. *Plant Mol Biol* 78:477–487. doi: 10.1007/s11103-012-9876-3
- Chen Z-L, Gu H, Li Y, et al (2003) Safety assessment for genetically modified sweet pepper and tomato. *Toxicology* 188:297–307. doi: 10.1016/S0300-483X(03)00111-2
- COGEM. Schouten et al., (2015) GM plants compared to the baseline: a whole genome sequencing approach.
- Coll A, Nadal A, Collado R, et al (2010) Natural variation explains most transcriptomic changes among maize plants of MON810 and comparable non-GM varieties subjected to two N-fertilization farming practices. *Plant Mol Biol* 73:349–362. doi: 10.1007/s11103-010-9624-5
- Corpillo D, Gardini G, Vaira AM, et al (2004) Proteomics as a tool to improve investigation of substantial equivalence in genetically modified organisms: the case of a virus-resistant tomato. *Proteomics* 4:193–200. doi: 10.1002/pmic.200300540
- Defarge N, Takács E, Lozano V, et al (2016) Co-Formulants in Glyphosate-Based Herbicides Disrupt Aromatase Activity in Human Cells below Toxic Levels. *Int J Environ Res Public Health* 13:264. doi: 10.3390/ijerph13030264

- Doerr A. (2017) Global metabolomics. *Nature Methods*. 14(1):37
- Dodo HW, Konan KN, Chen FC, et al (2008) Alleviating peanut allergy using genetic engineering: the silencing of the immunodominant allergen Ara h 2 leads to its significant reduction and a decrease in peanut allergenicity. *Plant Biotechnol J* 6:135–45. doi: 10.1111/j.1467-7652.2007.00292.x
- EEA (European Environment Agency) report 2013/1. Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation.
- EFSA (2003). Opinion of the Scientific Panel... GM maize NK603, for which a request for placing on the market was submitted under the Novel food Regulation EC258/97 by Monsanto. 9:1-14
- EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on GMO on a request from the Commission to the notification for the placing on the market of insect-tolerant GM maize TC1507 for import, feed and industrial processing and cultivation under Part C of Directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred/Mycogens seeds. 181:1-33
- EFSA (2008). Safety and nutritional assessment of GM plants and derived food and feed: The role of animal feeding trials. *Food and Chemical Toxicology* 46 S2-S70
- EFSA (2011). EFSA guidance on conducting repeated-dose 90-day oral toxicity study in rodents on whole food/feed. *EFSA J*. 2011. 9(12):2438
- EFSA (2012). Overall opinion of the EFSA in accordance with Article 6 of EC1829/2003 on application ... produced from or containing ingredients produced from maize MON810, according to Article 31c of regulation EC1829/2003 from Monsanto. Report EFSA EN-370
- EKAH (2003). Bedeutung der Substanziellen Äquivalenz für die Beurteilung von gentechnisch veränderten Lebens- und Futtermitteln.
- El Sanhoty R, El-Rahman AAA, Bögl KW (2004) Quality and safety evaluation of genetically modified potatoes spunta with Cry V gene: compositional analysis, determination of some toxins, antinutrients compounds and feeding study in rats. *Nahrung* 48:13–8. doi: 10.1002/food.200300310
- Ewen SW, Pusztai A (1999) Effect of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine. *Lancet* 354:1353–1354. doi: 10.1016/S0140-6736(98)05860-7
- Fagan J, Traavik T, Bøhn T (2015) The Seralini affair: degeneration of Science to Re-Science? *Environ Sci Eur* 27:19. doi: 10.1186/s12302-015-0049-2
- FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations). Mutant Variety Database. <http://mvd.iaea.org>
- Fares NH, El-Sayed AK (1998) Fine structural changes in the ileum of mice fed on delta-endotoxin-treated potatoes and transgenic potatoes. *Nat Toxins* 6:219–33.
- Faust M, Smith B, Rice D, et al (2007) Performance of lactating dairy cows fed silage and

- grain from a maize hybrid with the cry1F trait versus its nonbiotech counterpart. *J Dairy Sci* 90:5706–13. doi: 10.3168/jds.2007-0480
- Fernandez-Cornejo J, Wechsler S, Livingston M, Mitchell L (2014) Genetically engineered crops in the United States.
- García-Cañas V, Simó C, Herrero M, et al (2012) Present and future challenges in food analysis: foodomics. *Anal Chem* 84:10150–9. doi: 10.1021/ac301680q
- Gil-Humanes J, Piston F, Gimenez MJ et al (2012) The introgression of RNAi silencing of gamma-gliadins into commercial lines of bread wheat changes the mixing and technological properties of the dough. *Plos One* 7:e45937
- Gilissen LJWJ, Bolhaar STHP, Matos CI, et al (2005) Silencing the major apple allergen Mal d 1 by using the RNA interference approach. *J Allergy Clin Immunol* 115:364–9. doi: 10.1016/j.jaci.2004.10.014
- Goldberg P (2015) Cartagena protocol on Biosafety's supplementary agreement on liability and coexistence. GMCC-15 Conference presentation. Amsterdam
- Gong CY, Wang T (2013) Proteomic evaluation of genetically modified crops: current status and challenges. *Front Plant Sci*. doi: 10.3389/fpls.2013.00041
- Gordon B (2007) Manganese nutrition of glyphosate-resistant and conventional soybeans. *Better Crops*, 91 :4 12-13
- Gruber H, Paul V, Guertler P, et al (2011) Fate of Cry1Ab protein in agricultural systems under slurry management of cows fed genetically modified maize (*Zea mays* L.) MON810: a quantitative assessment. *J Agric Food Chem* 59:7135–44. doi: 10.1021/jf200854n
- Guimaraes V, Drumare M-F, Lereclus D, et al (2010) In vitro digestion of Cry1Ab proteins and analysis of the impact on their immunoreactivity. *J Agric Food Chem* 58:3222–31. doi: 10.1021/jf903189j
- Hammond B, Dudek R, Lemen J, Nemeth M (2004) Results of a 13 week safety assurance study with rats fed grain from glyphosate tolerant corn. *Food Chem Toxicol* 42:1003–1014. doi: 10.1016/j.fct.2004.02.013
- Hauser A. (2014) Statistische Analyse von Hersteller-daten zum transgenen Mais TC1507. Auftrag des BLW. Berner Fachhochschule
- HCB, Comité scientifique du Haut Conseil des Biotechnologies Analyse statistique de Seralini et al., 2012.
- Heinemann JA, Kurenbach B, Quist D (2011) Molecular profiling - a toll for addressing emerging gaps in the comparative risk assessment of GMOs. *Environment International* 37:1285-1293
- Herman EM, Helm RM, Jung R, Kinney AJ (2003) Genetic modification removes an immunodominant allergen from soybean. *Plant Physiol* 132:36–43. doi: 10.1104/pp.103.021865

- Hernandez E, Ramisse F, Ducoureau JP, et al (1998) *Bacillus thuringiensis* subsp. konkukian (serotype H34) superinfection: case report and experimental evidence of pathogenicity in immunosuppressed mice. *J Clin Microbiol* 36:2138–9.
- Hilbeck A, Otto M (2015) Specificity and Combinatorial Effects of *Bacillus Thuringiensis* Cry Toxins in the Context of GMO Environmental Risk Assessment. *Front. Environ. Sci.* 3:71
- Hoekenga OA, Srinivasan J, Barry G, Bartholomaeus A (2013) Compositional analysis of genetically modified (GM) crops: key issues and future needs. *J Agric Food Chem* 61:8248–53. doi: 10.1021/jf401141r
- Hoffmann-Sommergruber K, Dorsch-Häsler K (2012) Medical issues related to genetically modified plants of relevance to Switzerland. PNR 59 report
- IARC monography summary.(2015) Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The Lancet Oncology.* 16:5 (490-491)
- Jasanoff (1994). *The Fifth Branch.* Harvard University Press
- Juśkiewicz J, Zduńczyk Z, Fornal J (2005) Nutritional properties of tubers of conventionally bred and transgenic lines of potato resistant to necrotic strain of Potato virus Y (PVYN). *Acta Biochim Pol* 52:725–9.
- Kiliç A, Akay MT (2008) A three generation study with genetically modified Bt corn in rats: Biochemical and histopathological investigation. *Food Chem Toxicol* 46:1164–70. doi: 10.1016/j.fct.2007.11.016
- Kim HS, Kim SW, Park YS, et al (2009) Metabolic profiles of genetically modified potatoes using a combination of metabolite fingerprinting and multivariate analysis. *Biotechnol Bioprocess Eng* 14:738–747. doi: 10.1007/s12257-009-0168-y
- Kogel K-H, Voll LM, Schäfer P, et al (2010) Transcriptome and metabolome profiling of field-grown transgenic barley lack induced differences but show cultivar-specific variances. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:6198–203. doi: 10.1073/pnas.1001945107
- Krogsho S, Madsen C, Poulsen M, et al (2008) Immunotoxicological studies of genetically modified rice expressing PHA-E lectin or Bt toxin in Wistar rats. *Toxicology* 245:24–34. doi: 10.1016/j.tox.2007.12.005
- Krzyżowska M, Wincenciak M, Winnicka A, et al (2010) The effect of multigenerational diet containing genetically modified triticale on immune system in mice. *Pol J Vet Sci* 13:423–30.
- Kuiper HA, Kok EJ, Engel K-H (2003) Exploitation of molecular profiling techniques for GM food safety assessment. *Curr Opin Biotechnol* 14:238–243. doi: 10.1016/S0958-1669(03)00021-1
- Lavielle M (2013) Rôle et limites de la statistique dans l'évaluation des risques sanitaires liés aux OGM. *Statistiques et sociétés.* 1:1 11-16
- Lee R-Y, Reiner D, Dekan G, et al (2013) Genetically Modified α -Amylase Inhibitor Peas Are

- Not Specifically Allergenic in Mice. *PLoS One* 8:e52972. doi: 10.1371/journal.pone.0052972
- Leist M, Hartung T (2013) Inflammatory findings on species extrapolations: humans are definitely no 70-kg mice. *Arch Toxicol* 87:563–7. doi: 10.1007/s00204-013-1038-0
- Linster CL, Van Schaffingen E, Hnason AD (2013) Metabolite damage and its repair or pre-emption. *Nature chemical biology* 9:72-80
- Loening UE (2015) A challenge to scientific integrity: a critique of the critics of the GMO rat study conducted by Gilles-Eric Séralini et al. (2012). *Environ Sci Eur* 27:13. doi: 10.1186/s12302-015-0048-3
- Losey JE, Rayor LS, Carter ME (1999) Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399:214. doi: 10.1038/20338
- MacKenzie SA, Lamb I, Schmidt J, et al (2007) Thirteen week feeding study with transgenic maize grain containing event DAS-Ø15Ø7-1 in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 45:551–62. doi: 10.1016/j.fct.2006.09.016
- Malatesta M, Baldelli B, Battistelli S, et al (2005) Aging affects the distribution of the circadian CLOCK protein in rat hepatocytes. *Microsc Res Tech* 68:45–50. doi: 10.1002/jemt.20221
- Malley LA, Everds NE, Reynolds J, et al (2007) Subchronic feeding study of DAS-59122-7 maize grain in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 45:1277–92. doi: 10.1016/j.fct.2007.01.013
- McNaughton J, Roberts M, Smith B, et al (2007) Comparison of Broiler Performance When Fed Diets Containing Event DP-356O43 5 (Optimum GAT), Nontransgenic Near-Isoiline Control, or Commercial Reference Soybean Meal, Hulls, and Oil. *Poult Sci* 86:2569–2581. doi: 10.3382/ps.2007-00140
- Meier MS, Trtikova M, Suter M, et al (2013) Simulating evolutionary responses of an introgressed insect resistance trait for ecological effect assessment of transgene flow: a model for supporting informed decision-making in environmental risk assessment. *Ecol Evol* 3:416–423. doi: 10.1002/ece3.463
- Meissle M, Romeis J, Bigler F (2011) Bt maize and integrated pest management - a European perspective. *Pest Manag. Sci.* 67:1049–1058.
- Mesnager R, Defarge N, Rocque L-M, et al (2015) Laboratory Rodent Diets Contain Toxic Levels of Environmental Contaminants: Implications for Regulatory Tests. *PLoS One* 10:e0128429. doi: 10.1371/journal.pone.0128429
- Mesnager R, Agapito-Tenfen S, Vilperte V, Renney G, Ward M, Seralini GE, Nodari RO, Antoniou MN (2016) An integrated multi-omics analysis of the NK603 reveals metabolite disturbances caused by the transformation process. *Sci Reports* 6:37855
- Millstone E, Brunner E, Mayer S (1999) Beyond “substantial equivalence”. *Nature* 401:525–6. doi: 10.1038/44006

- Momma K, Hashimoto W, Yoon HJ, et al (2000) Safety assessment of rice genetically modified with soybean glycinin by feeding studies on rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 64:1881–6.
- Montero M, Coll A, Nadal A, et al (2011) Only half the transcriptomic differences between resistant genetically modified and conventional rice are associated with the transgene. *Plant Biotechnol J* 9:693–702. doi: 10.1111/j.1467-7652.2010.00572.x
- National Academy of Sciences of the USA Report. (2016) Genetically Engineered Crops: Experiences and Prospects
- Noteborn HPJM, Bienenmann-Ploum ME, van den Berg JHJ, et al (1995) Safety Assessment of the *Bacillus thuringiensis* Insecticidal Crystal Protein CRYIA(b) Expressed in Transgenic Tomatoes. pp 134–147
- Oberdoerfer RB, Shillito RD, de Beuckeleer M, Mitten DH (2005) Rice (*Oryza sativa* L.) containing the bar gene is compositionally equivalent to the nontransgenic counterpart. *J Agric Food Chem* 53:1457–65. doi: 10.1021/jf0486500
- OCDE (1993). Safety evaluation of foods derived by modern biotechnology: concepts and principles. Paris: OCDE.
- OCDE (1995). OCDE guidelines n°408 for testing of chemicals. OECD Publishing. Paris, France. 1995
- OCDE (2009). OECD guidelines n°452 for testing of chemicals: chronic toxicity studies. Adopted 7 September 2009. OECD Publishing. Paris, France. 2009
- Pardo-López L, Muñoz-Garay C, Porta H, et al (2009) Strategies to improve the insecticidal activity of Cry toxins from *Bacillus thuringiensis*. *Peptides* 30:589–95. doi: 10.1016/j.peptides.2008.07.027
- Pardo-López L, Soberón M, Bravo A (2013) *Bacillus thuringiensis* insecticidal three-domain Cry toxins: mode of action, insect resistance and consequences for crop protection. *FEMS Microbiol Rev* 37:3–22. doi: 10.1111/j.1574-6976.2012.00341.x
- Parisi C, Tillie P, Rodríguez-Cerezo E (2016) The global pipeline of GM crops out to 2020. *Nat Biotechnol* 34:31–36. doi: 10.1038/nbt.3449
- Perry JN, Rothery P, Clark SJ, et al (2003) Design, analysis and statistical power of the Farm-Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *J Appl Ecol* 40:17–31. doi: 10.1046/j.1365-2664.2003.00786.x
- Poulsen M, Kroghsbo S, Schrøder M, et al (2007a) A 90-day safety study in Wistar rats fed genetically modified rice expressing snowdrop lectin *Galanthus nivalis* (GNA). *Food Chem Toxicol* 45:350–63. doi: 10.1016/j.fct.2006.09.002
- Poulsen M, Schrøder M, Wilcks A, et al (2007b) Safety testing of GM-rice expressing PHA-E lectin using a new animal test design. *Food Chem Toxicol* 45:364–77. doi: 10.1016/j.fct.2006.09.003
- Prescott VE, Campbell PM, Moore A, et al (2005) Transgenic Expression of Bean α -Amylase

- Inhibitor in Peas Results in Altered Structure and Immunogenicity. *J Agric Food Chem* 53:9023–9030. doi: 10.1021/jf050594v
- Quist D, Chapela IH (2001) Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature* 414:541–543. doi: 10.1038/35107068
- Rein D, Schijlen E, Kooistra T, et al (2006) Transgenic flavonoid tomato intake reduces C-reactive protein in human C-reactive protein transgenic mice more than wild-type tomato. *J Nutr* 136:2331–7.
- Reiner D, Lee R-Y, Dekan G, Epstein MM (2014) No Adjuvant Effect of *Bacillus thuringiensis*-Maize on Allergic Responses in Mice. *PLoS One* 9:e103979. doi: 10.1371/journal.pone.0103979
- Rhee GS, Cho DH, Won YH, et al (2005) Multigeneration reproductive and developmental toxicity study of bar gene inserted into genetically modified potato on rats. *J Toxicol Environ Health A* 68:2263–76. doi: 10.1080/15287390500182446
- Ricroch AE, Berge JB, Kuntz M (2011) Evaluation of Genetically Engineered Crops Using Transcriptomic, Proteomic, and Metabolomic Profiling Techniques. *PLANT Physiol* 155:1752–1761. doi: 10.1104/pp.111.173609
- Rubio-Infante N, Moreno-Fierros L (2015) An overview of the safety and biological effects of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins in mammals. *J. Appl. Toxicol.* 36(5):630-648
- Sagstad A, Sanden M, Haugland Ø, et al (2007) Evaluation of stress- and immune-response biomarkers in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed different levels of genetically modified maize (Bt maize), compared with its near-isogenic parental line and a commercial suprex maize. *J Fish Dis* 30:201–12. doi: 10.1111/j.1365-2761.2007.00808.x
- Scheideler SE, Rice D, Smith B, et al (2008) Evaluation of Nutritional Equivalency of Corn Grain from DAS-O1507-1 (Herculex* I) in the Diets of Laying Hens. *J Appl Poult Res* 17:383–389. doi: 10.3382/japr.2007-00080
- Schrøder M, Poulsen M, Wilcks A, et al (2007) A 90-day safety study of genetically modified rice expressing Cry1Ab protein (*Bacillus thuringiensis* toxin) in Wistar rats. *Food Chem Toxicol* 45:339–49. doi: 10.1016/j.fct.2006.09.001
- Séralini G-E, Cellier D, de Vendomois JS (2007) New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity. *Arch Environ Contam Toxicol* 52:596–602. doi: 10.1007/s00244-006-0149-5
- Séralini G-E, Clair E, Mesnage R, et al (2012) Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Food Chem Toxicol* 50:4221–31. doi: 10.1016/j.fct.2012.08.005
- Séralini G-E, Clair E, Mesnage R, et al (2014) Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Environ Sci Eur* 26:14. doi: 10.1186/s12302-014-0014-5
- Séralini G-E, de Vendômois JS, Cellier D, et al (2009) How subchronic and chronic health

- effects can be neglected for GMOs, pesticides or chemicals. *Int J Biol Sci* 5:438–43.
- Séralini G-E, Mesnage R, Clair E, et al (2011) Genetically modified crops safety assessments: present limits and possible improvements. *Environ Sci Eur* 23:10. doi: 10.1186/2190-4715-23-10
- Simó C, Ibáñez C, Valdés A, et al (2014) Metabolomics of Genetically Modified Crops. *Int J Mol Sci* 15:18941–18966. doi: 10.3390/ijms151018941
- Sjogblad RD, McClintock JT, Engler R. 1992. Toxicological considerations for protein components of biological pesticide products. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 15: 3–9
- Snell C, Bernheim A, Bergé J-B, et al (2012) Assessment of the health impact of GM plant diets in long-term and multigenerational animal feeding trials: A literature review. *Food Chem Toxicol* 50:1134–1148. doi: 10.1016/j.fct.2011.11.048
- Srivastava V, Obudulu O, Bygdell J, et al (2013) OnPLS integration of transcriptomic, proteomic and metabolomic data shows multi-level oxidative stress responses in the cambium of transgenic hipl- superoxide dismutase *Populus* plants. *BMC Genomics* 14:893. doi: 10.1186/1471-2164-14-893
- Stadler MB, Stadler BM (2003) Allergenicity prediction by protein sequence. *FASEB J* 17:1141–3. doi: 10.1096/fj.02-1052fje
- Stanley-Horn DE, Dively GP, Hellmich RL, et al (2001) Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:11931–6. doi: 10.1073/pnas.211277798
- Stein HH, Sauber TE, Rice DW, et al (2009) Growth Performance and Carcass Composition of Pigs Fed Corn Grain from DAS-Ø15Ø7-1 (Herculex I) Hybrids1. *Prof Anim Sci* 25:689–694. doi: 10.15232/S1080-7446(15)30776-2
- Trabalza-Marinucci M, Brandi G, Rondini C, et al (2008) A three-year longitudinal study on the effects of a diet containing genetically modified Bt176 maize on the health status and performance of sheep. *Livest Sci* 113:178–190. doi: 10.1016/j.livsci.2007.03.009
- Trtikova M, Wikmark OG, Zemp N, et al (2015) Transgene Expression and Bt Protein Content in Transgenic Bt Maize (MON810) under Optimal and Stressful Environmental Conditions. *PLoS One* 10:e0123011. doi: 10.1371/journal.pone.0123011
- Tudisco R, Calabrò S, Cutrignelli MI, et al (2015) Genetically modified soybean in a goat diet: Influence on kid performance. *Small Rumin Res* 126:67–74. doi: 10.1016/j.smallrumres.2015.01.023
- Tudisco R, Mastellone V, Cutrignelli MI, et al (2010) Fate of transgenic DNA and evaluation of metabolic effects in goats fed genetically modified soybean and in their offsprings. *Animal* 4:1662–71. doi: 10.1017/S1751731110000728
- Vecchio L, Cisterna B, Malatesta M, et al Ultrastructural analysis of testes from mice fed on genetically modified soybean. *Eur J Histochem* 48:448–54.
- vom Saal FS, Hughes C (2005) An Extensive New Literature Concerning Low-Dose Effects

- of Bisphenol A Shows the Need for a New Risk Assessment. *Environ Health Perspect* 113:926–933. doi: 10.1289/ehp.7713
- Waltz E (2009) GM crops: Battlefield. *Nature* 461:27–32. doi: 10.1038/461027a
- Willison LN, Zhang Q, Su M, et al (2013) Conformational epitope mapping of Pru du 6, a major allergen from almond nut. *Mol Immunol* 55:253–263. doi: 10.1016/j.molimm.2013.02.004
- Wraight CL, Zangerl AR, Carroll MJ, Berenbaum MR (2000) Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:7700–3. doi: 10.1073/pnas.130202097
- Zangerl AR, McKenna D, Wraight CL, et al (2001) Effects of exposure to event 176 *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch and black swallowtail caterpillars under field conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:11908–12. doi: 10.1073/pnas.171315698
- Zeljenková D, Ambrušová K, Bartušová M, et al (2014) Ninety-day oral toxicity studies on two genetically modified maize MON810 varieties in Wistar Han RCC rats (EU 7th Framework Programme project GRACE). *Arch Toxicol* 88:2289–2314. doi: 10.1007/s00204-014-1374-8
- Zhou J, Harrigan GG, Berman KH, et al (2011) Stability in the Composition Equivalence of Grain from Insect-Protected Maize and Seed from Glyphosate-Tolerant Soybean to Conventional Counterparts over Multiple Seasons, Locations, and Breeding Germplasms. *J Agric Food Chem* 59:8822–8828. doi: 10.1021/jf2019038
- Zolla L, Rinalducci S, Antonioli P, Righetti PG (2008) Proteomics as a Complementary Tool for Identifying Unintended Side Effects Occurring in Transgenic Maize Seeds As a Result of Genetic Modifications. *J Proteome Res* 7:1850–1861. doi: 10.1021/pr0705082

Références légales

- LAgr. 910.1. <https://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/19983407/index.html>
- LGG. 814.91. <https://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/19996136/index.html>
- ODE. 814.911. <https://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/20062651/index.html>
- ODAIGM. 817.022.51. <https://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/20050176/index.html>
- OUC. 814.912. <https://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/20100803/index.html>