



Maisons-Alfort, le 5 février 2010

## AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments  
relatif à son auto-saisine sur l'article publié dans 'International Journal of  
Biological Sciences' et intitulé 'A comparison of the effects of three GM corn  
varieties on mammalian health'**

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

### 1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) s'est auto-saisie le 23 décembre 2009 suite à la publication de l'article intitulé 'A comparison of the effects of three GM corn varieties on mammalian health' en décembre 2009 dans 'International Journal of Biological Sciences'<sup>1</sup>.

Dans cette publication, les auteurs réexaminent les données des études de toxicité sub-chronique de 90 jours réalisées chez le rat par administration des maïs génétiquement modifiés (GM) NK 603, MON 810 et MON 863<sup>2</sup> et concluent à la mise en évidence de signes de toxicité hépatorénale.

La conclusion de cette publication remettrait en cause la sécurité sanitaire des maïs NK603, MON810 et MON863.

### 2. CONTEXTE

L'étude publiée, objet de l'autosaisine, fait suite à une précédente publication de la même équipe dans laquelle une analyse statistique des données de l'étude 90 jours du maïs génétiquement modifié MON863 montrait que suite à l'ingestion des maïs, les rats présentaient des signes de toxicité hépatorénale (Séralini *et al.*, 2007).

Cette publication a été analysée en 2007 par plusieurs instances d'évaluation des risques liés à la mise sur le marché de plantes génétiquement modifiées. Toutes ont conclu que la publication n'apportait pas d'éléments scientifiques qui seraient de nature à remettre en cause les précédents avis de ces instances d'évaluation sur les risques sanitaires des maïs MON863, estimés comparables à ceux des variétés de maïs non génétiquement modifiés (CGB 2007, AFSSA 2007, EFSA 2007, Doull *et al.* 2007)

#### Historique de l'évaluation à l'Afssa des maïs GM étudiés dans la publication

**NK603** L'Afssa a été saisie en 2003 sur deux dossiers d'autorisation de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié NK603, l'un concernant l'importation et l'utilisation en alimentation humaine de grains et de produits dérivés au titre du règlement (CE) n° 258/97 et l'autre l'importation et l'utilisation en alimentation animale au titre de la directive 2001/18/CE. L'Afssa avait rendu, sur les deux dossiers, un avis final dans lequel elle considérait que la consommation de

<sup>1</sup> Spiroux de Vendômois J., Roullier F., Cellier D. and Séralini GE. (2009) A comparison of the effects of three GM corn varieties on mammalian health, *Int. J. Biol. Sci.*, 5, 709-726.

<sup>2</sup> Ces données sont celles qui ont été examinées dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché des maïs génétiquement modifiés NK603, MON810 et MON863.

maïs de la lignée NK603 ne présentait pas de risques nutritionnels pour l'homme et l'animal (avis du 13 janvier 2004, saisine 2003-SA-0401).

**MON810** Les maïs portant l'événement MON 810 et leurs produits dérivés destinés à l'alimentation humaine et animale ont été notifiés selon les articles 8 et 20 de la directive N°1829/2003 et inscrits sur le registre communautaire en avril 2005. Ils n'ont pas été évalués à l'Afssa dans ce cadre.

En avril 2008, lors de la demande de renouvellement de l'autorisation de mise sur le marché de ces maïs, l'Afssa a évalué le dossier et conclu que les maïs MON810 présentaient le même niveau de sécurité sanitaire que les variétés de maïs conventionnelles (avis du 30 avril 2008, saisine 2008-SA-0043).

Suite au rapport du professeur Le Maho et à la publication de l'avis de l'EFSA le 30 juin 2009, l'Afssa a renouvelé ses conclusions (avis du 29 janvier 2009, saisine 2008-SA-0266 et du 30 octobre 2009, saisine 2009-SA-0257).

**MON863** Les maïs portant l'événement de transformation MON863 ont été évalués par l'Afssa en 2003 en vue de l'importation, la transformation et l'utilisation comme tout autre maïs au titre de la directive N°2001/18/CE (avis du 6 novembre 2003, saisine 2003-SA-0324) et au titre du règlement (CE) 258/97 relatif aux nouveaux aliments et ingrédients alimentaires (avis du 2 décembre 2003, saisine 2003-SA-0325).

Ces avis concluaient à l'absence de risques liés à la consommation de ces maïs pour l'homme et l'animal.

### 3. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisés (CES) Biotechnologie réuni le 21 janvier 2010.

### 4. ARGUMENTAIRE

Rappel sur les données analysées dans la publication:

#### **Nature des maïs génétiquement modifiés**

Les maïs NK603 sont tolérants au glyphosate par introduction en tandem de deux gènes permettant l'expression de la protéine CP4 EPSPS et CP4 EPSPS L214P (un acide aminé substitué en position 214). Les gènes proviennent d'une bactérie commune du sol *Agrobacterium sp.* souche CP4. Le premier gène est contrôlé par le promoteur de l'actine de riz et le second par le promoteur 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur.

Les deux protéines sont des 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate acide synthétases, tolérantes au glyphosate, elles catalysent une réaction de la voie de l'acide shikimique qui conduit à la biosynthèse des acides aminés aromatiques. L'enzyme, présente naturellement dans les maïs, est inhibée par le glyphosate. Les acides aminés aromatiques ne sont plus synthétisés ce qui conduit à la mort de la plante. L'expression de formes tolérantes de l'enzyme (CP4EPSPS et CP4EPSPS L214P) permet la production d'acides aminés aromatiques même en présence de glyphosate. Les enzymes exprimées par le transgène sont homologues aux enzymes naturellement présentes dans la plante. Aucun effet toxique n'a été mis en évidence à des doses supérieures à 572 mg/kg p.c. pour CP4EPSPS et 817mg/kg p.c. pour CP4EPSPS L214P (toxicité aiguë par administration unique chez la souris).

La présence éventuelle de glyphosate et de ses métabolites secondaires dans les maïs est liée au traitement des plantes par l'herbicide. Les produits des gènes apportés par la modification génétique ne changent pas la structure du glyphosate et de ses métabolites, aucun nouveau métabolite n'est créé par les enzymes exprimées par le transgène. Par ailleurs, l'usage du glyphosate sur les maïs NK603 a fait l'objet de deux avis favorables de l'Afssa (dossier 2008-0630 et 2007-3111). Pour émettre ces avis, l'Afssa évalue notamment

la toxicité du glyphosate et de ses métabolites secondaires. L'Afssa s'assure que la teneur en glyphosate des maïs traités est inférieure aux limites maximales en résidus fixées par l'union Européenne.

Les maïs MON 810 et MON863 expriment respectivement le domaine toxique des protéines CRY1Ab et CRY3Bb1. Les protéines sont codées par des gènes issus de *Bacillus thuringiensis*. Ces protéines ont la propriété de créer des pores dans les cellules intestinales de certains lépidoptères conduisant à la perturbation du système d'absorption intestinal. Le domaine de CRY1Ab est toxique pour la pyrale (*Ostrinia nubilalis* ou European corn borer) et la sésamie (*Sesamia non agrioides* ou Mediterranean Corn Borer) alors que CRY3Bb1 est toxique pour les larves de coléoptères, en particulier le doryphore (*Leptinotarsa decemlineata*) et également les coléoptères ravageurs des racines de maïs (*Diabrotica sp.*). Aucun signe de toxicité pour les mammifères n'a été rapporté dans la littérature parmi les nombreuses études menées sur ces protéines (pour revue Betz *et al* 2000, Bondzhio *et al* 2008).

### Essais toxicologiques

Les études ont été réalisées par Monsanto en juin 2000 pour le NK603 et le MON810 et par Covance en mars 2001 pour le MON863.

Dans les deux cas, la mise en œuvre de ces études répond aux exigences des Bonnes Pratiques de Laboratoires (BPL), ce qui atteste de l'application de principes méthodologiques internationalement admis et de la traçabilité des données.

Deux concentrations de maïs GM (11% et 33%) dans le régime alimentaire ont été évaluées chez des rats Sprague-Dawley. Les groupes témoins ont reçu le maïs quasi isogénique à la même concentration. Six autres groupes de rats ont reçu, des maïs de variétés conventionnelles non GM, à la concentration la plus élevée de 33%.

Les maïs NK603 utilisés dans l'étude ont été traités au glyphosate. Les teneurs en glyphosate et AMPA (métabolite secondaire principal) sont respectivement de 0.09µg/g et inférieures au seuil de détection de 0.05µg/g dans les grains (dossiers NK603, Monsanto).

Quatre-vingt trois paramètres (biochimie + poids) ont été mesurés et environ 450 comparaisons réalisées pour chacune des 3 études de toxicité 90 jours.

## ANALYSE DE LA PUBLICATION

Cette analyse porte sur deux aspects de la publication 1) les critiques formulées par les auteurs sur la méthodologie utilisée par Monsanto et 2) le traitement statistique des données et son interprétation par les auteurs.

### 1) Critiques formulées par les auteurs de la publication sur la méthodologie

#### 1.1 Nombre de doses et nombre de prélèvements

Selon les auteurs, le protocole OCDE n'est pas suivi à la fois sur le nombre de doses mises en œuvre (trois recommandées) et sur les temps de prélèvement. La première remarque est fondée, mais elle se doit de prendre en compte les spécificités méthodologiques liées à l'administration de l'OGM. En effet, la dose maximale est imposée par le respect de l'équilibre alimentaire (33% dans le cas de ces maïs). Une dose inférieure (11% dans ce cas) permet d'évaluer l'éventuelle relation entre dose forte et dose plus faible. La pertinence d'une troisième dose encore plus faible apparaît très discutable *a priori*.

Concernant le nombre de prélèvements dans le temps, le pétitionnaire a bien suivi le protocole OCDE qui recommande un examen hématologique et biochimique sanguin « au terme de la période d'essai » et « le cas échéant » en cours d'essai (OCDE, 1998).

Les auteurs font remarquer que, pour les groupes qui reçoivent un régime contenant une variété commerciale de maïs, l'équivalence en substance vis-à-vis de l'OGM n'est pas démontrée. Selon eux, l'étude simultanée de plusieurs variétés de maïs non GM est source de variabilité et entraîne un déséquilibre entre les données provenant des groupes ayant reçu des maïs GM et ceux ayant reçu des variétés non GM. Si la multiplication des groupes se doit d'être prise en compte sur le plan de l'analyse statistique, les experts du CES voient

au contraire un grand intérêt dans l'utilisation de variétés commerciales, afin de mesurer la variabilité des paramètres avec différents régimes alimentaires à base de plante non GM.

### 1.2 Paramètres biologiques observés

Selon les auteurs, « *certaines paramètres importants ne sont pas mesurés* ». Ils citent :

- la  $\gamma$  glutamyl transférase ( $\gamma$ GT) (non mesurée aux deux temps de prélèvement),
- le cholestérol et les triglycérides sanguins,
- les cytochromes P450 et les hormones sexuelles.

Concernant, le cholestérol et les triglycérides non mesurés dans les études MON810 et NK603, l'affirmation est fondée.

Les  $\gamma$ GT, comme les phosphatases alcalines (PAL) qui elles sont mesurées, sont des marqueurs d'hépatotoxicité non spécifiques (Zimmerman, 1984 ; Bearman, 2000). A ce titre, ce ne sont pas des paramètres de première intention.

Il est important de respecter la hiérarchie des marqueurs déduits de l'expérience. Ainsi, il est admis selon EMEA (EMEA, 2006) que les enzymes alanine aminotransférases (ALAT) et aspartate aminotransférases (ASAT), associées à la bilirubine, sont les marqueurs de première intention pour juger d'un potentiel hépatotoxique. La présence d'altérations macroscopiques et/ou microscopiques du foie contribue par ailleurs à renforcer le jugement (Guillemain, 2009). Le protocole OCDE recommande la mesure de plus de deux enzymes indicatrices de la fonction hépatique, ce qui est respecté dans les études réalisées.

Concernant les marqueurs de la fonction endocrine, leur mesure peut présenter un intérêt. Ils ne sont toutefois pas exigés par le protocole OCDE 408 mis en œuvre (OCDE 1998). Enfin les cytochromes P450 sont essentiellement mesurés dans des cas spécifiques d'interaction au niveau du métabolisme.

L'Afssa, consciente des spécificités et méthodologies liées à l'administration de l'aliment entier, a engagé des réflexions visant à optimiser le protocole OCDE 408 pour l'évaluation des OGM et à approfondir les aspects liés à l'analyse statistiques des données.

### 1.3 Puissance statistique en lien avec le plan d'expérience

Chaque groupe est constitué de 20 mâles et 20 femelles, les analyses de sang et d'urine ne portent que sur 10 animaux de chaque sexe par groupe. Le poids des organes et l'histologie concernent la totalité des effectifs, soit 20 animaux. Les auteurs considèrent que « *la taille des échantillons est largement insuffisante pour assurer un degré de puissance acceptable des analyses statistiques* ». En particulier sur les paramètres biochimiques qui ne sont mesurés que sur un effectif de 10 animaux par groupe et par sexe.

La puissance du test statistique est une notion importante, elle dépend à la fois de l'effectif et de la taille de l'effet observée entre les traitements (fixée ici par les auteurs à un écart type). La signification toxicologique d'une différence égale à un écart type dépend du paramètre considéré.

Ce calcul est, par ailleurs, basé sur la variation d'un paramètre isolé alors que l'analyse toxicologique prend en compte un ensemble de paramètres convergents ayant une signification toxicologique pour un tissu ou pour un organe.

Ayant repris l'analyse des données issues de l'étude du maïs MON810, nous avons calculé que la puissance d'un test de comparaison (ANOVA) basé sur un effectif de 10 rats était de 80% lorsque la différence entre le traitement OGM et le traitement non OGM était égale à 1,3 fois l'écart type des observations.

A partir des mêmes données, nous obtenons une puissance de 88% pour un effet égal à un écart type pour les paramètres poids des organes qui portent sur 20 animaux par sexe et par groupe. Ce point fera prochainement l'objet d'un avis.

### 1.4 Interprétation des différences d'effet entre les doses

Les auteurs dénoncent le fait que l'absence d'effet-dose linéaire est utilisée pour conclure à la sécurité de l'OGM. C'est en effet un non sens de parler d'effet dose linéaire lorsque le protocole ne met en œuvre que deux doses. Cependant, la comparaison des effets à faible et forte dose est un élément pertinent du jugement. Ainsi, une augmentation des effets observés entre la dose faible et la dose forte renforce la signification biologique de l'effet. A *contrario*, un effet à la dose faible jugé significatif au niveau statistique mais n'ayant pas de

signification biologique, et qui ne serait pas confirmé à la dose forte lors d'un traitement pendant 90 jours, n'aura guère de sens toxicologique.

Les auteurs considèrent également que :

- La durée de l'étude ne permettrait de mettre en évidence que des effets modérés,
- La disparition de l'effet à la forte dose ou après une plus longue durée d'exposition ne devrait pas être prise comme le signe de l'absence d'effet dans les lots traités.

Or, il a été montré que la grande majorité des effets toxiques se révèlent au cours de l'étude 90 jours, les études 6 mois ne faisant que confirmer les données précédentes (Betton *et al.*, 1994 Afssa, 2008b). Le jugement des auteurs suppose de prendre en compte la nature et la dose du produit administré.

Ainsi, les agents néphro ou hépatotoxiques manifestent bien souvent leurs effets à court terme, y compris certaines plantes médicinales comme la Germandrée petit-chêne (Laliberté et Villeneuve, 1996) ou le thé vert qui a conduit à des greffes de foie (Gloro *et al.*, 2005, Bonkovsky, 2006, Molinari *et al.*, 2006).

Notons que la dose de 33% administrée aux rats équivaut à la consommation de 2 à 2,5 kg du dit maïs par jour chez l'Homme<sup>3</sup>.

Le deuxième argument est une remise en cause profonde du raisonnement toxicologique et de l'interprétation des résultats des essais de toxicologie expérimentale. Cette position pourrait être retenue si elle était justifiée par des arguments scientifiques, liés par exemple, au mécanisme d'action supposé.

### 1.5 Interprétation des différences d'effets inter-sexes

Les auteurs indiquent que les différences inter-sexes sont fréquemment utilisées pour rejeter des effets significatifs. Cette affirmation n'est pas fondée, le raisonnement habituel conduisant à rejeter un événement statistiquement significatif en tenant compte de l'effet dans l'autre sexe est le suivant : Si un événement est considéré comme biologiquement significatif pour un seul sexe, il est évidemment pris en compte. Si un événement est statistiquement significatif pour un seul sexe mais non biologiquement significatif, le fait de ne pas être retrouvé pour l'autre sexe (ni statistiquement parlant, ni biologiquement parlant) permet d'affirmer l'absence de sens biologique puis toxicologique de ce phénomène isolé.

Des variations de paramètres physiologiques ou métaboliques sont en effet parfois liées au sexe et des différences entre les groupes dépendantes du sexe peuvent être retenues si elles sont étayées.

## 2) Analyse du traitement des données et de son interprétation

### 2.1 Nouvelle analyse statistique des données réalisée par les auteurs

Les résultats de trois types d'analyse sont présentés dans l'article :

- i. Analyse des différences entre
  - rats alimentés avec du maïs GM et rats alimentés avec du maïs non-GM isogénique (contrôle)
  - rats alimentés avec du maïs GM et rats alimentés avec 6 variétés de maïs non-GM normales (variétés commerciales de références)
  - rats alimentés avec du maïs isogénique (contrôle) et rats alimentés avec 6 variétés de maïs de références

Trois variétés GM et deux doses (11% ou 33%) ont été considérées, soit 6 traitements GM. Les tests de différence OGM versus contrôle ont été réalisés aux deux doses pour chaque variété pour environ 80 paramètres et à deux temps (5 et 14 semaines).

- ii. les résultats d'une analyse en composantes principales sur des groupes de paramètres mesurées sur les rats utilisés par les auteurs pour étudier l'effet du sexe

<sup>3</sup> Calcul : 20g consommés pour 200 g chez un rat soit 100g/kg, soit 33g de maïs OGM/kg, ce qui conduit à 33 x 70 kg = 2.3 kg.

- iii. une analyse graphique de l'évolution entre les temps - « 5 semaines » et « 14 semaines » de quelques paramètres (créatinine, triglycéride, chlorure) chez des groupes de rats alimentés avec du maïs GM ou avec le contrôle.

Le nombre de tests statistiques de différences réalisés par les auteurs est très grand (cf. tableau E de la publication). Dans ces conditions, il est fréquent que certains ressortent comme significatifs. Il s'agit d'un problème fréquent lorsque de nombreuses hypothèses sont testées avec un même échantillon de données. Comme l'indiquent les auteurs, les tests statistiques peuvent être corrigés en utilisant des techniques appropriées (Hochberg and Benjamini, 2000 ; Benjamini et Yekutieli, 2001).

Les auteurs réalisent ces corrections de p-value et constatent qu'après correction, la plupart des tests ne sont plus significatifs sur l'ensemble des trois études. Pour l'étude concernant les maïs MON810 les auteurs reconnaissent qu'aucun résultat ne reste significatif (page 711 dernière phrase). Les tableaux 1 et 2 de la publication présentent les résultats sans ajustement des p-values au taux de faux positifs possibles. C'est en partie sur ces tableaux que les auteurs concluent à des signes d'hépto- et néphro-toxicité. Les seules différences significatives confirmées après correction concernent le groupe de rats mâles alimentés avec une dose de 33% de maïs NK603 sur les paramètres phosphore urinaire, lymphocytes et neutrophiles parmi les 83 paramètres mesurés et les 452 comparaisons réalisées.

Les auteurs reconnaissent qu'une différence significative n'est pas suffisante pour juger de l'effet d'un régime alimentaire incluant du maïs OGM et qu'il est nécessaire, d'une part, d'évaluer le niveau de cette différence et, d'autre part, d'examiner si des différences significatives sont obtenues entre l'isogénique (contrôle) et des variétés de référence. Les auteurs abordent cet aspect du problème de deux manières :

- en ne reportant que les cas où au moins une des différences OGM vs. contrôle est supérieure à 5%
- en encadrant la valeur de la différence lorsque cette différence n'est significative que dans la comparaison OGM vs contrôle et pas dans la comparaison contrôle vs. variétés de référence

Le tableau 1 de la publication indique que des différences significatives ont été obtenues entre contrôle et variétés de référence pour les paramètres cités ci-dessus pour NK603, soit phosphore urinaire, lymphocytes et neutrophiles or ces valeurs des différences ne sont pas encadrées dans le tableau. Ces résultats montrent que les effets observés et soulignés par les auteurs ne sont pas exclusivement liés au régime alimentaire à base de maïs GM.

### **Analyse en composantes principales et graphiques des cinétiques**

L'analyse en composantes principales (ACP) a été utilisée pour mettre en évidence un effet sexe (Figures 1-2). L'analyse de l'effet durée de traitement (5 et 14 semaines) est essentiellement réalisée à partir de graphiques (Figures 3-7). Il aurait été plus rigoureux d'utiliser un modèle mixte incluant des effets fixes et des effets aléatoires : les effets fixes seraient ici la durée de traitement, le sexe et le régime alimentaire, et les effets aléatoires seraient utilisés pour modéliser la variabilité entre individus.

L'ACP a été réalisée pour soutenir l'hypothèse que la réponse puisse être différente chez les mâles et les femelles. Les graphiques présentés semblent à première vue conforter cette hypothèse, mais l'inertie associée n'est que de 40 à 60 % seulement. Les deux axes de l'ACP reportés sur le graphique laissent donc une grande part de la variabilité des données inexpliquée.

De plus, en l'absence d'une définition des axes de l'ACP, appelés facteur 1 et 2 dans l'étude, il n'est pas possible d'interpréter les résultats de l'ACP et, en particulier, d'identifier l'origine des différences entre mâles et femelles.

Par ailleurs, l'existence de différences entre les sexes est bien connue pour certains paramètres, sans pour autant se traduire par une toxicité (exemple poids corporels, poids d'organe, certains paramètres hématologiques et biochimiques).

## **2.2 Analyse des résultats toxicologiques**

Selon les auteurs, les résultats indiquent des effets hépto et néphrotoxiques. L'Afssa rappelle que ces résultats (mentionnés dans les tableaux de la publication) ne prennent pas en compte les méthodes correctives préconisées par les auteurs.

De plus, les valeurs observées, en particulier, celles des marqueurs de toxicité, auraient du être rapprochées des données obtenues avec les variétés commerciales et des données historiques (cf le tableau 2 de la publication de Doull *et al.* 2007).

### 2.2.1 Résultats de l'étude NK603

#### **Fonction hépatique**

Une augmentation significative des PAL est rapportée en fin d'étude chez les femelles, à la concentration de 11%, sans que cet effet soit observé à la dose de 33% et sans corrélation avec le poids du foie.

#### **Fonction rénale**

Les auteurs évoquent une possible perturbation de la fonction rénale en raison de l'augmentation de la teneur en P, Na et K dans l'urine, chez les mâles à 33% (tableau I) alors que les paramètres sanguins de la filtration rénale ne confirment pas cette hypothèse. Les concentrations en éléments minéraux dans l'urine sont variables, et dépendent en particulier de la consommation hydrique. Isolés, ils ne suffisent pas à témoigner d'une atteinte rénale.

Les valeurs de l'urée et de la créatinine diminuent aux deux concentrations de 11% et 33% (tableau 1), alors que l'inverse est attendu en cas de néphrotoxicité.

#### **Hématologie**

La baisse de 23% des lymphocytes chez les femelles à la dose forte n'est reliée à aucun autre paramètre hématologique et elle est sans conséquence macroscopique ou microscopique sur des organes cibles (rate par exemple). Les variations ponctuelles, sans relation les unes avec les autres ne permettent pas de tirer des conclusions d'ordre toxicologique.

#### **Poids des organes**

Une faible augmentation du poids du cœur et du foie est observée chez les mâles à 33%. A noter toutefois que le poids moyen des cœurs dans ce groupe ( $1.98 \pm 0.261\text{g}$ ) est identique à celui du groupe GM 11% ( $1.99 \pm 0.254\text{g}$ ) qui lui est sans différence significative versus le témoin isogénique, et qu'il ne diffère pas statistiquement de deux des groupes recevant une variété commerciale (1.93 et 1.92g pour Cropland et Campbell, respectivement).

Ces données hétérogènes, sans que les paramètres majeurs d'hépatotoxicité rappelés précédemment ne soient modifiés, sont une parfaite illustration de la déconnexion entre les variations statistiquement significatives et leurs significations biologiques.

### 2.2.2 Résultats de l'étude MON810

#### **Fonction hépatique**

On retiendra essentiellement une diminution légère de la concentration sérique en albumine chez les mâles à 33% entraînant *de facto* celle du ratio albumine/globuline. Cette observation isolée n'a strictement aucun sens toxicologique. Aucune altération histologique n'est par ailleurs rapportée dans ce groupe.

#### **Fonction rénale**

Ici encore, la conclusion d'une éventuelle néphrotoxicité ne repose que sur la prise en compte de paramètres isolés (augmentation du poids des reins et de l'urée mais dans deux groupes différents).

Il convient de noter que dans Séralini *et al.* (2007), les auteurs s'étaient basés sur la baisse de poids significative des reins pour évoquer une néphrotoxicité. Cet effet n'avait pas été observé lors d'études avec les hybrides MON863xNK603 et MON863xMON810xNK603. Cela démontre que si l'analyse toxicologique se doit de considérer des effets ponctuels, la notion de convergence d'arguments reste essentielle.

#### **Hématologie**

Le nombre de leucocytes et lymphocytes diminue légèrement dans le groupe femelle nourri avec le maïs MON810 à la dose de 33%. Les lymphocytes étant une population très largement majoritaire chez le rat, il est logique que le taux des leucocytes soit aussi modifié. Ceci illustre les cas où 2 paramètres sont signalés modifiés alors que l'une des modifications est la conséquence de l'autre.

#### **Poids des organes**

Les seules variations significatives de poids des organes concernent la dose la plus faible pour un seul sexe, sans être corrélées à un quelconque effet biologique.

### 2.2.3 Résultats de l'étude MON863

Les données provenant du maïs MON863 ont déjà fait l'objet d'une publication en 2007 par les mêmes auteurs. Suite à cette publication plusieurs instances d'évaluation des risques liés aux OGM (CGB 2007, AFSSA 2007, EFSA 2007, Doull *et al.* 2007) se sont saisies de la question et ont ré-analysé les données. Toutes confirment l'absence d'éléments scientifiques qui remettraient en cause les conclusions des évaluations des maïs MON863.

## 5. CONCLUSION

Les auteurs fondent leurs conclusions sur les résultats de tests statistiques dont ils critiquent la faiblesse. Ils préconisent d'utiliser d'autres méthodes qui corrigent le risque de faux positifs. Ces méthodes conduisent à un nombre très réduit de différences significatives.

Les auteurs prennent en compte des résultats hétérogènes (constantes biologiques et poids d'organes sans lien avec les constantes modifiées, temps d'observation différents, niveaux de doses différents, redondance de certains paramètres (poids absolu/poids relatif d'organes, ratio) sans interprétation de la pertinence toxicologique. Les variations signalées vont parfois dans le sens contraire de ce qui est habituellement admis en toxicologie pour conclure à une néphro- ou hépato-toxicité

Par ailleurs, aucune référence n'est faite aux données des examens histopathologiques, pourtant déterminants pour corroborer la toxicité au niveau des organes et tissus, notamment lorsque l'on évoque des effets néphro- ou hépatotoxiques.

Habituellement, l'analyse des données d'une étude toxicologique repose sur 1) la signification intrinsèque de la variation d'un paramètre, 2) le sens de cette variation en relation avec l'altération d'un organe ou système et 3) la notion de convergence d'événements traduisant un effet sur une cible. La prise en compte de ces différents éléments dans les études sur les maïs NK603, MON810 et MON863 ne permet pas d'aboutir aux conclusions émises par les auteurs de la présente publication.

Par conséquent, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments considère que cette publication n'apporte pas d'élément nouveau susceptible de modifier les conclusions précédentes de l'Afssa sur la sécurité sanitaire des maïs NK603, MON810 et MON863.

**Le directeur général**

**Marc MORTUREUX**

### MOTS-CLES

**Mots clés : OGM, Maïs NK603, Maïs MON810, Maïs MON863, tolérance au glyphosate, résistance à des lépidoptères**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Afssa** (2003) Avis du 6 novembre 2003 relatif à un dossier d'autorisation de mise sur le marché d'un maïs grain génétiquement modifié lignée MON 863 et d'un maïs hybride MON 863 x MON 810 résistants aux insectes en vue de l'importation, la transformation et l'utilisation comme tout autre maïs, à l'exclusion de la culture, sur le territoire de l'Union européenne, au titre de la directive 2001/18/C. *Dossier n° 2003-SA-0324*.  
<http://www.afssa.fr/Documents/BIOT2003sa0324.pdf>

**Afssa** (2003) Avis du 2 décembre 2003 concernant la mise sur le marché de grains et produits dérivés de grains de maïs de la lignée MON 863 et du maïs hybride MON 863 x MON 810 résistants aux insectes au titre du règlement (CE) 258/97 relatif aux nouveaux aliments et aux nouveaux ingrédients alimentaires. *Dossier n° 2003-SA-0325*.  
<http://www.afssa.fr/Documents/BIOT2003sa0325.pdf>

**Afssa** (2004) Avis du 13 janvier 2004 relatif à un dossier d'autorisation de la mise sur le marché de grains et de produits dérivés de grains de maïs génétiquement modifié tolérant au Roundup Ready® lignée NK 603 au titre du règlement (CE) n°258/97. *Dossier n° 2003-SA-0401*. <http://www.afssa.fr/Documents/BIOT2003sa0401.pdf>

**Afssa** (2007) Avis du 26 avril 2007 relatif à la récente étude publiée sur le maïs génétiquement modifié MON863. *Dossier n° 2007-SA-0109*.  
<http://www.afssa.fr/Documents/BIOT2007sa0109.pdf>

**Afssa** (2008) Avis du 30 avril 2008 relatif à une demande de renouvellement de mise sur le marché du maïs génétiquement modifié MON 810, résistant aux lépidoptères, pour l'importation, la transformation, ainsi que l'utilisation en alimentation humaine et animale de ses produits dérivés, au titre du règlement (CE) n°1829/2003. *Dossier n° 2008-SA-0043*.  
<http://www.afssa.fr/Documents/BIOT2008sa0043.pdf>

**Afssa** (2008b) Avis relatif aux études de toxicité réalisées dans le cadre des demandes de mises sur le marché d'OGM, saisine 2007-SA-0396, 29 février 2008.

**Afssa** (2009) Avis du 29 janvier 2009 sur le rapport du Pr le Maho adressé à la Commission Européenne en juin 2008. *Dossier n° 2008-SA-0266*.  
<http://www.afssa.fr/Documents/BIOT2008sa0266.pdf>

**Afssa** (2010) Avis relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation ROUNDUP READY à base de glyphosate, de la société MONSANTO AGRICULTURE France S.A.S. *Dossier n° 2008-0630*.

**Afssa** (2010) Avis relatif à une demande d'extension d'usage majeur de la préparation ROUNDUP PRO2 à base de glyphosate, de la société MONSANTO AGRICULTURE France S.A.S. *Dossier n° 2007-3111*.

**Betz F.S., Hammond B.G. and Fuchs R.L.** (2000) Safety and Advantages of *Bacillus thuringiensis*-Protected Plants to Control Insect Pests. *Reg. Toxicology and pharmacology*, 32, 156-173.

**Benjamini, Y., and D. Yekutieli**, (2001). The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency. *Ann. Stat.* 29 (4): 1165–1188.

**Bondzio A., Stumpff F., Schön J., Martens H., Einspanier R.** (2008) Impact of *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ab on rumen epithelial cells (REC) - a new in vitro model for safety assessment of recombinant food compounds. *Food Chem. Toxicol.* 46, 6, 1976-1984.

**Bearman S.I.** (2000) Veno-occlusive disease of the liver. *Curr. Opin. Oncol.*, 12: 103-109.

**Betton G., Cockburn A., Harpur E., Hopkins J., Illing P., Lumley C., Connors T.** (1994) A critical review of the optimum duration of chronic rodent testing for the determination of non-tumourigenic toxic potential: a report by the BTS Working Party on Duration of Toxicity Testing. *Hum. Exp. Tox.* 13, 221-232.

**Bonkovsky H. L.** (2006). « Hepatotoxicity associated with supplements containing Chinese green tea (*Camellia sinensis*) ». *Ann Intern Med*, 144, 68-71.

**CGB** (2007) Avis de la Commission de Génie Biomoléculaire du 15 juin 2007

**Doull J, Gaylor D, Greim HA, Lovell DP, Lynch B, Munro IC** (2007) Report of an Expert Panel on the reanalysis by of a 90-day study conducted by Monsanto in support of the safety of a genetically modified corn variety (MON 863). *Food Chem Toxicol.* 45, 2073-2085.

**EMEA** (2008) Non-clinical guideline on drug-induced hepatotoxicity, 24 January 2008 EMEA/CHMP/SWP/150115/2006  
<http://www.ema.europa.eu/pdfs/human/swp/15011506en.pdf>

**EFSA** (2007) EFSA review of statistical analyses conducted for the assessment of the MON863 90-day rat feeding study <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/19r.htm>

**Gloro R., Hourmand-Ollivier I., Mosquet B., Mosquet L., Rousselot P., Salamé E., Piquet M.A., Dao T.** (2005) Fulminant hepatitis during self-medication with hydroalcoholic extract of green tea. *Eur J Gastroenterol.Hepatol.*,17, 1135-1137.

**Guillemain J.** (2009) Evolution des protocoles et critères de preuve dans les tests toxicologiques. *Colloque INRA « Les OGM face aux nouveaux paradigmes de la biologie »* Paris, février 2009.

**Hochberg, Y. and Benjamini, Y.** More powerful procedures for multiple significance testing. *Statistics in Medicine.* 1990; 9:811--818.

**Laliberté L. et Villeneuve J. P.** (1996). Hepatitis after the use of germander, a herbal remedy. *CMAJ*, 154, 1689-1692.

**Molinari M., Watt K.D.S., Kruszyna T., Nelson R., Walsh M., Huang W-Y, Nashan B., Peltekian K.** (2006) Acute liver failure induced by green tea extracts: Case report and review of the literature *Liver transplantation*, 12, 1892-1895.

**OCDE** (1998) Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents.OECD guideline for the testing of chemicals. Guideline 408. Adopted 21 September 1998, *OECD Paris*  
<http://www.botanischergarten.ch/OECD/OECD-Repeated-90day-on-Rodents-408-1998.pdf>

**Séralini G.E., Cellier D., Spiroux de Vendômois** (2007) New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity, *J. Arch. Environ. Contam. Toxicol.*52, 596-602.

**Zimmerman H.J.** (1984) Function and integrity of the liver. In *Henry JB ed. Clinical diagnostic and management by laboratory methods, 17th edition, Philadelphia: WB Saunders*, 217-250.