

Saisine 2012-SA-0227
Relatif à l'étude de Séralini et al. (2012)
« Long term toxicity of a ROUNDUP herbicide and a
ROUNDUP-tolerant genetically modified maize »
Audition du 10 octobre 2012 (séance du matin)

Etaient présents :

Les auteurs de la publication : Nicolas Defarge, Steeve Gress, Robin Mesnage, Gilles Eric Séralini, Joël Spiroux de Vendômois.

Les experts du GECU : Jean-Pierre Cravedi, Joël Guillemain, Erwan Poupon.

L'Anses : Chantal Arar, Eugénie Baril, Emmanuelle Bourgeois, Antony Fastier, Franck Foures, Dominique Gombert, Gérard Lasfargues, Jean-Charles Leblanc, Marc Mortureux, Moez Sanaa, Benoit Vergriette.

Après avoir réalisé un tour de table des différents participants, l'audition de l'équipe de Gilles-Éric Séralini commence.

L'Anses indique que, suite à la publication le 19 septembre dernier de l'étude sur la toxicité du maïs OGM NK 603 et du RoundupTM menée par l'équipe du professeur Gilles-Éric Séralini, l'Agence a été saisie par les Ministres des affaires sociales et de la santé, de l'écologie, du développement durable et de l'énergie, de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la Forêt et le Ministre délégué auprès du ministre de l'économie et des finances, chargé de l'économie sociale et solidaire et de la consommation. Les délais sont tendus, car le premier avis sur cette publication devra être rendu avant le 20 octobre.

Le principe général d'évaluation en matière de sécurité sanitaire au sein de l'Agence est de fonctionner sur la base de 16 comités d'experts permanents. Sur le présent dossier, les comités sollicités traitent notamment de l'évaluation des risques liés à l'utilisation des biotechnologies pour des produits destinés à l'alimentation et de l'évaluation des risques des produits phytopharmaceutiques. Il sera également fait appel dans cette analyse à des compétences diverses et transversales réunies dans le cadre d'un GECU.

Un expert du GECU indique que la tâche du GECU va au-delà de l'analyse de l'article lui-même et de ce que l'on peut en déduire de manière plus générale en matière d'évaluation des risques des OGM ou des produits phytosanitaires ou de l'association des deux. Aujourd'hui, l'objectif est d'avoir avec les auteurs de l'étude un échange approfondi, de manière à ce que le GECU réponde à la question de savoir si les résultats récents obtenus dans ce champ thématique scientifique sont de nature à modifier les avis des agences sur les plantes génétiquement modifiées en association avec un traitement phytosanitaire (le RoundupTM en l'occurrence) et, au-delà, si la façon dont est construite l'évaluation des risques sur ces OGM et des produits phytopharmaceutiques est suffisamment protectrice de la santé du consommateur.

Exposé de l'équipe de Gilles-Éric Séralini

L'équipe de Gilles-Éric Séralini indique qu'elle a étudié dans le passé les effets des pathocancérogènes et mycotoxines sur les reins et sur la biologie moléculaire des protéines de transport de stéroïdes, en fait sur les perturbations hormonales dues aux cancérogènes ou à différents produits chimiques. Depuis 2005, le travail de l'équipe porte sur les effets sur différents modèles, essentiellement des cellules humaines et ensuite des cellules testiculaires de rats, des principaux polluants des eaux de rivière et des eaux de surface, lesquels sont également les principaux polluants alimentaires chimiques.

L'équipe s'est donc focalisée sur les herbicides à base de glyphosate, notamment le RoundupTM. Ces travaux ont montré que, sur les cellules humaines (cellules fraîches placentaires, de cordon ombilical, de lignées hépatiques ou de reins embryonnaires), il y avait une perturbation endocrine surtout visible lorsque le glyphosate est en présence d'adjuvants, lesquels ont la propriété d'amplifier grandement la toxicité de l'herbicide.

Le glyphosate n'est pas herbicide par lui-même et ne pouvait pas agir sans les adjuvants. Le RoundupTM, avec les adjuvants, est un perturbateur endocrinien et peut même inhiber le récepteur des œstrogènes alpha et bêta, celui des androgènes, ainsi que l'aromatase. Les adjuvants seuls sont beaucoup plus toxiques que le RoundupTM, on se trouve en fait à des doses environnementales du ppb (partie par milliard) ou de quelques ppm (partie par million).

Le glyphosate seul est un perturbateur endocrinien quand il peut pénétrer dans les cellules, parce qu'il interagit avec l'aromatase purifiée. En l'absence d'adjuvants, il peut entrer quand même dans la cellule, mais avec moins de rapidité et de stabilité, et il faut dans ce contexte vérifier qu'il y a une activité de perturbation endocrine ou de toxicité *in vivo*.

L'équipe indique qu'elle a choisi dans son étude pour modèle le Roundup™, parce que c'est le pesticide le plus utilisé au monde, celui qui a donné lieu au plus grand nombre de publications et qu'il est parmi les pesticides le principal contaminant des eaux de rivière et des eaux de surface, en tout cas sous la forme de traceur glyphosate et de son métabolite AMPA. On ne mesure jamais, ou très rarement, les adjuvants éthoxylés dans les rivières, et l'ensemble peut évidemment être dissocié. Comme les fabricants revendent également ces adjuvants à des fabricants de lessive, on peut en retrouver certains dans les résidus d'eau de lessive, ce qui explique qu'il y a toujours des adjuvants qui permettent aux principes actifs des pesticides de pénétrer dans les cellules.

Il y a en conséquence une grave lacune dans l'évaluation des pesticides ; elle réside dans le fait que, dans les tests à long terme, seul un composé chimique comme le glyphosate est testé sur deux années par la société Monsanto et que ce n'est pas représentatif de la toxicité réelle du produit, ce qui conduit à fausser potentiellement les DJA ou LMR.

Par ailleurs, l'équipe de l'université de Caen étudie les effets des OGM sur la santé, une attention particulière a été portée sur le caractère agronomique introduit par une modification génétique, le plus répandu au monde : la tolérance au Roundup™, qui représente 80 % des OGM agricoles. G.E. Séralini précise que cette modification a conduit de facto à une évolution des pratiques agricoles et d'usage du Roundup™ et in fine à l'augmentation forte (x 400) des limites maximales de résidus du glyphosate aux Etats-Unis.

L'équipe de l'université de Caen explique ce qui l'a amené à choisir le maïs NK603. Les maïs NK603 ont été expertisés par la CGB en 2003, en particulier, l'étude de toxicité de 90 jours du dossier réglementaire. Malgré 50 effets statistiquement significatifs reconnus par Monsanto, les experts toxicologues de la CGB avait conclu que les 50 paramètres statistiquement significatifs correspondait à de la variabilité populationnelle. En revanche, l'équipe de Caen a reexpertisé l'étude et publié en 2009 un article concluant à des signes de toxicité hépatorenaux. Dans ce contexte, il semblait nécessaire de déterminer si les 50 paramètres présentant des différences significatives traduisent des signes hépatorenaux ou s'ils correspondent à des effets populationnels. Les experts à l'Afssa avaient aussi conclu à des variations populationnelles. G.E. Séralini interpelle un expert pour lui demander s'il était présent dans le comité d'experts de l'Afssa à l'époque. L'expert interpellé répond par l'affirmative, en indiquant qu'il n'était pas rapporteur sur le dossier. L'expert précise par ailleurs l'historique de l'évaluation de NK603 à l'Afssa. Ce dossier a été vu une première fois et les experts de l'Afssa ont refusé de conclure en l'absence des données chiffrées de l'étude et des résultats de leurs traitements statistiques. Ayant reçu les informations demandées le comité a collectivement jugé l'étude recevable. GE Séralini précise que ces informations complémentaires ne correspondent pas à une nouvelle étude *in vivo*.

L'équipe de GE Séralini reprend en citant les raisons qui l'ont poussées à mener cette étude : pas d'étude 90 jours requises pour tous les OGM agricoles, pas d'étude long terme, pas d'évaluation de l'herbicide avec sa formulation et combiné à l'OGM.

Une des limites de l'étude publiée tient au fait que les quantités d'OGM et de pesticides ne sont pas mesurées par rapport à la mortalité ou à la tumorigenèse dans les tests qui sont effectués. Cette limite peut être un facteur de confusion assez important et implique d'avoir la moyenne d'âge des contrôles et de prendre en compte toutes les variations pour une population de rats pour laquelle le contenu en OGM et en pesticides n'est pas contrôlé dans la nourriture quand cette population est nourrie à long terme. En outre l'étude comprend 10 rats par groupe, c'est une limite basse, certes, mais l'équipe n'a pas voulu conduire une étude de cancérogenèse, mais de toxicologie à long terme. En raison de l'absence de ce type d'étude pour les OGM et pour les pesticides en formulation.

Le protocole expérimental mis en place a duré deux ans et a testé – sur - plus de 200 rats – les effets d'un régime alimentaire composé de trois doses différentes du maïs transgénique (11 %, 22 % et 33 %), traité - ou non avec le Roundup™. Trois groupes ont été testés avec des doses croissantes du produit phytosanitaire seul, non associé à l'OGM. Au total, donc, ce sont neuf groupes de dix rats (trois groupes avec OGM, trois avec OGM et Roundup™,

trois avec Roundup™) qui ont été comparés à un groupe témoin, nourri avec la variété de maïs non transgénique la plus proche de l'OGM testé, sans traitement à l'herbicide.

Se limiter à dix rats par groupe a réduit les frais de l'étude de 20 M€ à 3 M€, mais, même ainsi réduite, la somme était d'autant plus difficile à réunir que l'INRA avait refusé de fournir les crédits nécessaires ; l'équipe s'est donc tournée vers d'autres partenaires intéressés par les effets des OGM dans l'alimentation sur la santé. Une cinquantaine de PME-PMI, la société civile, ainsi que des crédits de la distribution alimentaire à hauteur de 20 % ont financé l'étude. La distribution alimentaire était tenue contractuellement de ne pas interférer dans l'étude.

Le maïs a été choisi, parce qu'il est le plus représentatif des cultures européennes en OGM. L'étude a été menée dans le cadre de l'institut de biologie de l'université de Caen et de celui du pôle risques à la Maison de recherche en sciences humaines associée au CNRS.

Selon les industriels eux-mêmes, les OGM agricoles sont modifiés pour produire ou tolérer des pesticides. Sur les 160 millions d'hectares actuellement cultivés en OGM depuis 15 ans, 61 % sont tolérant à un herbicide (dont 90 % tolèrent spécifiquement le Roundup™), 17 % produisent un insecticide modifié de type Bt et 22 % font les deux.

Il y a une grosse lacune dans le système, puisque l'évaluation combinée de la plante traitée au Roundup™ n'est pas réalisée. La possibilité d'effet nouveau du pesticide associé à son OGM n'est pas appréhendée. Ainsi, le soja tolérant au Roundup™ a été importé pendant longtemps sans que l'on ait mesuré ses effets ; il y avait d'un côté l'évaluation de l'OGM par la CGB sans tenir compte du pesticide et, de l'autre, le comité pesticide qui n'avait pas été forcément saisi de ce problème, parce qu'on ne cultivait pas en Europe de soja tolérant au Roundup™. Cependant, le risque alimentaire aurait dû être évalué, puisque le produit était importé et consommé en Europe. Le sujet des plantes à pesticides est complètement sous-évalué, parce qu'il n'y a ni tests *in vivo* à plus long terme que trois mois, ni d'évaluation de l'herbicide avec sa formulation alors que la formulation du glyphosate le rend 10 à 100 fois, voire davantage, plus toxique que le glyphosate seul.

La publication de septembre dernier sur la toxicité du NK 603 comporte bien sûr des limites, et certains détails peuvent être améliorés, mais elle reste la plus détaillée jamais faite sur un OGM agricole et sur un pesticide en formulation.

Elle prend en compte trois doses d'OGM qui sont représentatives de l'alimentation américaine, trois doses de pesticides représentatives des limites dans l'eau du robinet (0,1 ppb), dans les résidus alimentaires d'OGM (400 ppm) et des limites de la dilution agricole professionnelle correspondant à une exposition à court terme des agriculteurs ou des jardiniers. Il faut rappeler qu'il n'y a pas de normes OCDE pour les OGM, elles sont toujours en débat, parce que les tests *in vivo* ne sont pas obligatoires. L'équipe a donc pris les normes OCDE sur les pesticides et a effectué les trois traitements.

Les OGM ont été cultivés avec et sans Roundup™ ; le traitement a été fait en une seule fois, cinq semaines après la levée, et un traitement de défrichage avant semis sur le terrain choisi. D'autres traitements phytosanitaires normaux (essentiellement fongicides) ont été effectués. La culture a été refaite dans les mêmes conditions et avec les mêmes traitements après une année, car l'expérience dure deux ans et que la date limite d'utilisation des croquettes produites à partir du maïs est de 18 mois. Les croquettes pour les rats ont été fabriquées dans un laboratoire habilité à cet effet, et les normes d'alimentation équilibrée ont été suivies, notamment en intégrant, comme le fait Monsanto, 33 % de maïs dans les croquettes (voir pour dire complément à 33 avec isogénique)

Une variété isogénique a été cultivée sans traitement au Roundup™ et a servi à confectionner des croquettes qui ont été administrées aux rats qui buvaient de l'eau contaminée au Roundup™.

La vérification de la composition a également porté sur les pesticides et les mycotoxines dont les teneurs sont inférieures aux limites maximales de résidus dosables.

Deux monitorings par semaine ont été effectués, sur 10 rats par groupe, comme l'avait fait Monsanto. La microscopie électronique a permis de faire de l'histologie sur 34 organes. 11 mesures sanguines ont été effectuées pour 200 rats, avec 50 à 100 paramètres, selon le moment. Ceci a permis d'identifier des données multi-variables complexes qui ont - été traitées en statistiques selon la méthode PLSDA, la méthode la plus fine aujourd'hui qui est utilisée en génomique et en transcriptomique pour étudier ce genre de données.

La testostérone et l'œstradiol ont été mesurés, parce qu'il était important pour l'équipe d'évaluer les perturbations hormonales, eu égard à ce qu'elle avait trouvé *in vitro*. Ceci n'avait jamais été fait dans les tests conduits par Monsanto sur le NK 603 ni sur les autres OGM. L'urine collectée pendant 24 heures a été analysée 11 fois.

Seuls les résultats scientifiques pertinents de l'étude ont été publiés, car il ne s'agit pas d'une étude de réglementation, mais de recherche. Néanmoins, si cela s'avère nécessaire, entre autres pour apaiser toute polémique survenue ou susceptible de survenir, les résultats complets de l'étude peuvent être publiés, la seule demande de l'équipe étant que, pour bien comprendre le dossier du NK 603, les données brutes équivalentes de l'étude de Monsanto soient également publiques (nombre de rats par groupe, souche de rats...).

L'équipe présente aux participants le diaporama de l'étude.

Le premier mâle nourri aux OGM est mort un an avant le premier témoin, et la première femelle, huit mois avant. Plus important encore, on relève deux à trois fois plus de mortalité chez les femelles traitées. Ces données sont brutes, il est très difficile, certes, de faire des modèles prédictifs de courbes irrégulières pour ensuite étudier des différences significatives sur dix rats. L'équipe donne une description de ce qui se passe et considère qu'il faut prendre en compte l'ensemble des résultats provenant des différentes techniques utilisées dans l'étude. Ces résultats concernent la mortalité, mais aussi les tumeurs, l'histopathologie des organes, la biochimie urinaire et sanguine, les marqueurs tissulaires, la microscopie optique et électronique. C'est lorsque tout concorde qu'il est possible de conclure qu'il y a un problème, chaque technique ayant ses propres limites par elle-même.

La taille du groupe contrôle et des groupes traités est également une limite. L'équipe a pris 10 rats par groupe, notamment pour des raisons budgétaires. Il est à signaler à ce propos qu'aucune conclusion n'est possible au-delà de la limite de l'espérance de vie des contrôles. Les tumeurs sont palpables, non régressives, et les effets ne sont pas linéaires à la dose. Il s'est par ailleurs avéré impossible d'utiliser les courbes de Kaplan-Meier, parce qu'il peut y avoir plusieurs tumeurs par rat.

L'étude a montré que les perturbations biochimiques étaient en corrélation avec les perturbations hormonales, notamment chez les femelles, avec un taux de testostérone élevée et des taux d'œstrogènes perturbés. De plus, les analyses -anatomopathologiques montrent que le second organe le plus atteint est l'hypophyse. Plusieurs études de la bibliographie montrent en effet, l'induction des tumeurs mammaires explicable par un dérèglement hypophysaire..

Chez les femelles, 93 % des tumeurs étaient mammaires. Chez les mâles, il y a eu aussi quelques tumeurs mammaires, mais les morts sont pour la plupart dues à des problèmes hépatiques et rénaux, avec des zones de nécrose au niveau du foie et des néphropathies. Les anomalies rénales sont beaucoup plus sévères dans les groupes traités que dans le groupe. Certes, dans la souche testée, les mâles présentent une tendance aux néphropathies au cours du vieillissement, mais, pendant l'étude, cette pathologie s'est déclarée également chez les rats plus jeunes.

Les effets sont spécifiques en fonction du sexe, non linéaires et hormono-dépendants.

L'étude montre que le traitement au Roundup™ correspond aux résultats obtenus *in vitro*, puisqu'elle a identifié une perturbation hormonale, notamment du rapport androgéno-œstrogénique, un dérèglement hypophysaire et des tumeurs pouvant être induites par ces perturbations (2,4 fois plus de tumeurs mammaires). Il a été également montré dans une étude *in vitro* que le Roundup™ était capable d'inhiber l'aromatase. Cette enzyme joue un rôle important, quand elle est perturbée, dans le cancer du sein.

Le glyphosate est difficile à doser dans les croquettes, car c'est une matrice plus difficile que l'eau. Toutefois, il a été retrouvé dans les organes des animaux traités, et cela pourrait expliquer les effets relevés chez les groupes OGM traités au Roundup™ qui sont comparables à la faible dose de Roundup™. Cela signifie que les quantités de glyphosate présentes dans les plantes et extraites au cours de la digestion de l'animal, peuvent avoir le même effet que les contaminants à faible dose du Roundup™ dans l'eau. Ceci est en cohérence avec les résultats de Malatesta qui avait montré des effets avec le soja au Roundup™.

On savait que le Roundup™ était beaucoup plus cytotoxique que le glyphosate, et les perturbations des paramètres rénaux de manière statistiquement significative (à la fois pour leur discriminance et leur différence significative) confirment ce qui a été relevé *in vitro* sur des cellules embryonnaires de reins humains. Il y a donc tous les éléments pour comprendre ce qui s'est passé sur les rats ayant reçu l'OGM traité au Roundup™ par la mise en évidence de ces perturbations rénales. Il restait néanmoins à comprendre ce qui se passait sur les OGM seuls qui conduit à un profil pathologique similaire, c'est-à-dire à la fois des pathologies hépatorénales qui sortaient en premier sur les 34 organes examinés et les tumeurs mammaires. L'équipe est donc revenue à la source, c'est-à-dire à ce qui se passe dans la plante.

Le Roundup™, à travers le glyphosate, inhibe l'EPSPS (enolpyruvyl-shikimate-phosphate synthase), l'enzyme de biosynthèse des premières étapes des acides aminés aromatiques essentiels chez la plante. Quand elle est inhibée, la plante ne peut plus fabriquer les acides aminés, donc les protéines, et elle va mourir c'est l'effet du Roundup™ sur une plante normale. Sur une plante OGM, on va sur-stimuler une EPSPS mutée qui, elle, est insensible au glyphosate, mais il n'y a pas d'enzyme qui sert à éliminer ce glyphosate dans une plante, OGM ou normale, et grâce aux adjuvants, il va y avoir également une nécrose des cellules.

Le glyphosate inhibe bien sûr l'EPSPS sauvage de la plante, il n'inhibe pas l'EPSPS muté surexprimée, laquelle peut fonctionner et va perturber le métabolisme des cycles aromatiques dans la plante. Ceci explique la diminution des teneurs en acides férulique et caféique dans les croquettes. C'est un début d'investigation intéressant, car ces deux acides sont connus dans la littérature pour être hépato-protecteurs et mammo-protecteurs ; cela n'empêche pas d'autres hypothèses comme le fait que les métabolites de ces produits qui sont diminués puissent être toxiques ou qu'il y ait d'autres métabolites toxiques dus à la surexpression d'une protéine dans la plante.

Ce n'est pas magique, mais en faisant d'une plante une usine à protéines nouvelles, on va sans doute perturber son métabolisme. Ceci a déjà été montré dans des publications de transcriptomique ou de protéomique. On n'est pas capable d'en interpréter l'importance si on ne demande pas de tests *in vivo* à long terme et c'est en ce sens que notre équipe a ouvert la voie.

En conclusion, l'étude a identifié des tumeurs mammaires et des toxicités hépatorénales qui corroborent la biochimie au niveau statistique (quand on peut vraiment la faire), ainsi que les résultats provenant de technologies variées (l'observation crue de la mortalité et des tumeurs des rats, l'observation histologique sur 34 organes, l'anatomopathologie, la microscopie optique, la microscopie électronique, la biochimie sanguine et urinaire et les marqueurs tissulaires).

Ces résultats corroborés donnent des indications de l'étude, considérant les limites de l'étude en raison de la mise en œuvre de 10 rats par groupe, même s'il ne s'agit pas d'une expérience de cancérogenèse, mais de toxicologie à long terme.

L'équipe considère que le Roundup™, et non le glyphosate seul, testé à long terme a des effets graves sur la santé à très faible dose, et des effets néfastes dus à la présence de métabolites toxiques présents dans l'OGM non traité. Elle recommande donc :

- que l'autorisation de ces produits soit revue ;

- que les tests de 90 jours soient prolongés pour tous les OGM, surtout ceux qui sont tolérants au Roundup™ ;
- que les pesticides soient testés pendant deux ans à faible dose et en formulation (pas seulement le principe actif) l'équivalence en substance ne démontre rien en ce qui concerne l'absence de toxicité, parce que la composition globale de la plante ne permet pas de voir toutes ces perturbations métaboliques ;
- que les tests réglementaires soient publics, indépendants des compagnies, soumis à une expertise contradictoire ; la transparence que recommande l'équipe a d'ailleurs fait l'objet d'une jurisprudence, sans compter qu'elle ne coûte rien en euro constant.

L'équipe de Gilles-Éric Séralini recommande que les produits auxquels les consommateurs sont exposés à long terme soient systématiquement évalués à long terme sur les rats, sinon il y aura des débats scientifiques permanents pour tous ces produits, tout comme pour les nanoparticules, ou les champs électromagnétiques.

Questions et remarques des participants

- À propos des résultats de l'étude que l'équipe s'apprête à publier, Un expert du GECU demande sur quels domaines portera la publication des résultats complémentaires.

L'équipe de Gilles-Éric Séralini indique que les prochaines publications porteront sur la composition détaillée du maïs des croquettes et la détection de l'ADN et de la protéine du transgène dans les organes des rats, le déroulement chronologique de l'expérimentation au niveau biochimique (une cinquantaine de paramètres biochimiques sont issus des analyses de sang et d'urine, et seules les données au 15^e mois qui ont été publiées en septembre).

- Un expert du GECU considère en préambule que, mener une étude pour répondre à des questions, c'est à la fois salubre, logique et respectable, souvent difficile, étant entendu que la finalité, lorsqu'on se pose des questions et met en œuvre un protocole, est que ce protocole - soit adapté aux questions que l'on s'est posées. En outre, le nombre de paramètres étudiés qui varie importe peu, l'essentiel étant de choisir des paramètres pertinents et de prendre en compte leur corrélation dans l'analyse des résultats.

Un expert du GECU demande à cet effet à l'équipe de Gilles-Éric Séralini si elle a cherché à rapprocher les paramètres biochimiques qui lui ont permis d'imputer un effet hépatotoxique dans l'étude à 90 jours de ce qu'elle a observé à 15 mois dans son étude de deux ans. L'équipe de Gilles-Éric Séralini répond par l'affirmative et précise que les résultats ont été déjà publiés avec les signes de toxicité. Un expert du GECU insiste sur le fait que, s'agissant des paramètres biochimiques, il a rapproché les résultats de l'étude de 90 jours avec ce qui a été publié sur les femelles à 15 mois, et qu'il n'a pas trouvé de cohérence. L'équipe de Gilles-Éric Séralini indique qu'il faut les rapprocher des résultats à 90 jours qui n'ont pas été encore publiés. Un expert du GECU indique qu'il n'est pas possible de tout mettre en une seule publication, certes, mais qu'il trouve dommage qu'après avoir fait cet effort considérable d'établir une chronologie en termes de paramètres analysés, les données ne soient pas présentées. L'équipe ne fait pas une seule fois allusion aux effets qui seraient éventuellement liés au temps ; il ne sert à rien d'intégrer la notion d'effet temps si elle n'est pas utilisée. Un expert du GECU ajoute que, ce qui est gênant au point de vue de la toxicologie, c'est que, au niveau de l'urine, on a l'urée qui augmente et la créatinine qui diminue, alors qu'ils évoluent en général dans le même sens. Dans le sang, en revanche, ces paramètres ne ressortent pas, et on ne peut conclure à une néphrotoxicité sans qu'il y ait altération de ces deux paramètres majeurs au niveau du sang. L'équipe répond que l'explication est simple, car, à partir du moment où il y a une anomalie du tube rénal, on peut tout imaginer sur la rétention ou sur l'expression d'un marqueur donné ; après, ce serait à rapprocher des résultats de microscopie des reins pour corréler exactement les effets, et cela fait partie des travaux à venir. Les auteurs précisent que la microscopie optique et électronique n'a pas été faite de façon systématique sur tous les organes. L'équipe ajoute qu'une pathologie n'est pas forcément déclenchée par un paramètre qui varie de manière linéaire avec le temps et qui va s'amplifier, mais par un dérèglement des paramètres qui peut être dû à l'état de l'organe à un moment donné. Par exemple, les mâles sont beaucoup plus

avancés en néphropathie que les femelles, et les premiers signes biochimiques de dérèglement de celles-ci correspondent bien à ceux des mâles, mais huit mois plus tard.

À propos des corrélations qui devraient exister dans le sang entre l'urée et la créatinine, l'équipe de Gilles-Éric Séralini indique que c'est valable comme un signe antérieur à ces pathologies graves, mais que, après, il peut y avoir des problèmes de filtration rénale qui dérèglent le système, à 15 mois on est au-delà. Il faut regarder en fait dans leur ensemble les perturbations biochimiques des marqueurs rénaux et l'état des organes en termes d'anatomopathologie, et c'est pour cela qu'il est possible de conclure qu'il y a un problème.

- Un expert du GECU relève que, dans l'une des - publications que l'équipe de Gilles-Éric Séralini a transmises aux participants sur l'amélioration qu'il faut apporter aux tests qui s'appliquent actuellement aux OGM, l'équipe suggère de fournir les données de la composition des aliments ce qui n'a pas été fait dans la présente publication. De plus, toujours dans cette publication le nombre d'animaux par groupe et sexe devrait être de 20 rats pour la trois mois et 10 pour la 24 mois, l'expert ne comprend pas. Certes, il ne s'agit pas d'une étude de cancérogenèse, mais plus l'étude est longue et plus on conserve les animaux, compte tenu de la létalité spontanée, plus l'effectif devrait être élevé. L'expert du GECU revient aussi sur les 50 paramètres statistiquement significatifs évoqués pour le NK 603 par l'équipe de Gilles-Éric Séralini, lesquels sont à 23 dans une publication de l'équipe en 2009, puis à 3 si l'on applique les facteurs de corrections FdR liées à des comparaisons multiples. L'équipe de Gilles-Éric Séralini rappelle que les normes de l'OCDE pour la biochimie indiquent 10 rats pour les tests de toxicité sub-chronique dans lesquelles sont mesurées les paramètres de biochimie sanguine et urinaires, quelle que soit la durée du test. Un expert du GECU soutient que l'on peut discuter de l'effectif par rapport à la puissance du test, et l'Anses l'a fait, mais ce n'est pas un problème de biochimie, et plus un test est long, plus l'effectif doit être élevé, toutes les expérimentations l'attestent.

L'équipe de Gilles-Éric Séralini réitère qu'il n'y avait pas lieu de prendre 50 rats, car l'étude ne portait pas sur la cancérogenèse. L'équipe n'avait pas de toute manière le budget nécessaire pour faire des tests sur 50 rats pendant deux ans. Un expert du GECU considère que les restrictions budgétaires ne peuvent pas être un argument -, car, quand on fait une étude avec des objectifs, si l'on ne s'en donne les moyens, cela peut conduire à recevoir des critiques. De plus, l'étude se présente comme étant BPL, mais quand on ajoute des paramètres ou introduit de nouvelles méthodes statistiques au cours de l'étude, comme cela a été fait par l'équipe, ce n'est plus BPL. L'équipe de Gilles-Éric Séralini en convient et précise que ce travail a été fait dans un environnement BPL, mais constitue une étude-recherche. Le choix scientifique qui a été pris par l'équipe, est d'analyser les tumeurs quand elles surviennent, plutôt que de dire qu'il n'était pas au départ prévu de les analyser.

L'équipe de Gilles-Éric Séralini ajoute que cette étude correspond à un protocole recherche qui n'a rien à voir avec un protocole de test réglementaire. Les résultats portent de façon factuelle, à la fois sur les tumeurs et sur la mortalité. L'équipe n'a pas souhaité faire d'analyses statistiques sur ce point, car elle sait très bien qu'avec 10 rats par groupe, les puissances de tests ne sont pas suffisantes. Ceci avait été reproché par l'équipe à l'étude de Monsanto.

Les membres de l'équipe sont intimement convaincus que, en ayant corrélé toutes les techniques, les effets qu'ils avaient observé n'étaient pas aléatoires. Certes, c'est perfectible, mais l'équipe a juste ouvert une voie, et il faut maintenant faire mieux collectivement. Le choix politique de l'équipe a été effectivement d'avoir plutôt dix groupes et trois doses que deux groupes et une dose avec 50 rats, parce qu'elle voulait débroussailler le sujet. De plus les méthodes statistiques OPLS-DA employées permettent ponctuellement de voir sur dix rats (le même nombre que Monsanto a utilisé pour ses tests), avec 11 prélèvements et 50 paramètres, ce qui est discriminant et significatif pour séparer les groupes et a ainsi permis de confirmer les pathologies observées. Enfin, il ne faut pas perdre de vue que 98 % à 99 % des études en biologie ont conclu avec moins de dix rats par groupe, sans compter

que 50 rats par groupe, ce n'est pas dans les moyens actuels de la recherche publique, et aucun appel d'offres n'a jamais permis d'atteindre ce chiffre.

- Un expert du GECU considère que c'est, là, le fond du débat. Il relève que l'équipe a précisé qu'elle était persuadée que ce qu'elle observait n'était pas aléatoire ; or, pour répondre à cette question, au-delà de l'intime conviction, il faut être en mesure de le démontrer, ce qui est tout simplement le but de la science. En l'occurrence, il y a un gros questionnement sur le traitement statistique des données (publiées ou en voie de l'être), car les choix effectués ne sont pas anodins, d'autant que les conclusions sont fortes pour ce qui est de l'impact du RoundupTM sur la santé.

- À propos des statistiques, l'Anses rappelle avoir publié en 2011 un rapport sur les tests statistiques pour traiter les données de l'étude de toxicité sub-chronique de 90 jours et a même suggéré d'augmenter le nombre de sujets en travaillant sur les notions de test non significatif et de puissance.

La présente étude permet de faire des tests statistiques, même si, avec seulement dix rats, il y a absence de puissance. Maintenant, c'est aux spécialistes d'interpréter si le signal observé a un sens biologique ou pas, et le fait est que, lorsque les données sur les tumeurs ont été testées plus en détail, cela n'a pas facilité l'interprétation. Les difficultés à faire des statistiques lorsqu'un rat présente plusieurs tumeurs sont reconnues. Cependant, sur le groupe de femelles qui présente des différences significatives pour la mortalité, on s'attendait à ce qu'il y ait beaucoup plus de tumeurs.

L'équipe de Gilles-Éric Séralini précise que, selon la taille et la localisation des tumeurs, la mortalité est induite de manière différente sur les organes vitaux, et on ne peut donc pas faire de corrélation entre la mortalité et le nombre de tumeurs. L'équipe a donc observé ce qui se passait au niveau biochimique et histologique pour avoir une interprétation biologique cohérente.

- Pour ce qui est de la méthode OPLS, l'Anses signale que le problème, c'est que la présentation n'est pas conventionnelle, ce qui rend difficile l'interprétation directe des résultats, puisqu'ils ne sont pas donnés en moyenne brute, mais en pourcentage. L'interprétation biologique est importante, parce que, même si on peut trouver des relations statistiques, il faut s'assurer si on se situe dans la marge biologique acceptable, or il n'y a pas les écarts types.

L'équipe de Gilles-Éric Séralini indique que l'étude est en dehors de la marge biologique acceptable donnée par rapport au contrôle, puisque les résultats sont statistiquement discriminants et différents. Par rapport à la variabilité populationnelle, on retombe sur la question de l'acceptabilité de la population pour laquelle l'équipe n'a pas mesuré le taux d'OGM et de pesticides dans l'alimentation. L'équipe a considéré qu'elle apporte un facteur de confusion si elle mesure à la variabilité populationnelle historique, pour laquelle on n'a pas mesuré depuis des décennies ces facteurs dans l'alimentation comportant des traitements pesticides.

- L'Anses indique qu'il est quand même regrettable, et l'équipe de Gilles-Éric Séralini en convient, que le nombre de groupes témoins n'ait pas été multiplié par deux ou par trois, d'autant que cela n'aurait pas particulièrement augmenté le budget de l'étude.

- Répondant à la demande d'éclaircissement de l'Anses sur le dosage du traitement RoundupTM des maïs lors de la culture, l'équipe de Gilles-Éric Séralini précise qu'il a été fait aux doses normales après la levée et avant la culture sur semis direct. Les résidus de glyphosate dans le maïs résultent de ce seul traitement. Ces résidus sont inférieurs aux LMR actuels, mais se retrouvent dans les organes des rats qui en mangent.

Pour ce qui est des trois doses utilisées, l'équipe de Gilles-Éric Séralini signale qu'elles correspondaient à la contamination régulière de l'eau du robinet (filtrée et contrôlée), à la contamination des OGM au RoundupTM dans l'alimentation et aux doses subagricoles, c'est-à-dire 0,5 % comme dose haute.

Il y avait un problème de consommation hydrique au bout de plusieurs mois sur la plus forte dose de Roundup™, mais ce résultat n'a pas été intégré dans la publication, car il n'interférait pas avec les résultats sur les plus faibles doses.

- L'Anses indique qu'elle partage l'avis de l'équipe de Gilles-Éric Séralini sur la rareté des études à long terme sur les OGM et lui demande ce qu'elle pense des tests à 90 jours. L'équipe précise que ces tests ne constituent pas une réponse sociale et médicale, car, pour les produits sont destinés à la vie entière, il faut donc des tests vie entière ; autrement, le doute subsistera, car l'épidémiologie est extrêmement compliquée lorsqu'il n'y a pas de traçabilité et que le paramètre à mesurer n'est pas identifié. En outre, l'étude a montré que la mortalité et les tumeurs n'apparaissent qu'après quatre mois, ce qui permet également d'évaluer la pertinence des tests à 90 jours.

L'équipe précise à la demande de l'Anses que les tests sont représentatifs de l'alimentation américaine, parce que l'Europe place comme OGM des produits qui ne le sont pas à 100 %, alors qu'aux États-Unis, où l'étiquetage est absent, on sait qu'il y a grosso modo 40 % de maïs transgénique et que, par ses résidus, il entre à 20 % dans l'alimentation. On peut donc dire que le taux de 11 % de maïs tolérant au Roundup™ est représentatif de l'alimentation américaine actuelle.

- L'Anses revient sur le choix de l'équipe de montrer ces paramètres biochimiques dans sa publication à 15 mois et demande ce qui le motive, d'autant qu'un seul groupe a été montré et que l'apparition des pathologies pouvait expliquer la non-corrélation avec la publication antérieure. Pourquoi ne pas avoir un temps plus précoce, moins impacté par l'apparition de pathologies.

L'équipe indique qu'elle a voulu voir ce qui se passait à tous les temps et, en l'occurrence, elle a regardé comme pierre de touche le dernier temps où il restait neuf à dix rats par groupe, ce qui permettait des résultats très discriminants et significativement différents. C'est le groupe de femelles qui a été choisi, parce qu'il présentait le plus de tumeurs mammaires.

- Un expert du GECU revient sur l'hypothèse de l'étude portant sur l'acide férulique et demande si son importance n'a pas été surestimée. L'équipe de Gilles-Éric Séralini précise que l'étude a dosé plusieurs acides, parce qu'elle a trouvé que l'EPSPS pouvait les modifier de manière indirecte, et ce sont les acides férulique et caféique dont les teneurs sont diminués dans les croquettes. L'équipe ajoute que l'acide férulique sert de biomarqueur de la perturbation du métabolisme pour expliquer vraiment les pathologies, lesquelles peuvent être dues à l'ensemble des acides phénoliques ou à d'autres composés secondaires.

Ces acides sont connus dans la littérature pour être hépato, réno et mammo-protecteurs et l'équipe est arrivée *in vitro* à détoxifier des cellules humaines qui avaient reçu du Roundup™ avec des plantes riches en ces acides.

Un expert du GECU indique que, ce qui l'intéresse dans la transposition *in vitro in vivo*, c'est la réalité en termes de doses, et demande, pour ne pas rester dans le domaine de la spéculation, ce que cette baisse de 16 à 30 % d'acide férulique représente en bout de chaîne en termes d'ordre de grandeur par rapport aux doses qui ont démontré des activités *in vivo*.

L'équipe indique que la propriété protectrice de ces deux acides est rapportée par la littérature scientifique et que les tests ne sont pas faits avec des doses toujours physiologiques, ce qui indique une tendance et pas forcément que les doses inférieures ne le sont pas. Il est vrai que trop de paramètres manquent lorsqu'il s'agit de transposer les doses *in vitro in vivo* ; ce qui est intéressant, c'est qu'il a été montré que l'EPSPS était capable de faire autre chose que rendre une insensibilité au glyphosate et d'avoir une action sur le métabolisme des composés aromatiques dans la plante.

- Un expert du GECU indique que, sur le volet pesticide et le mécanisme d'action qui serait susceptible de passer par une perturbation endocrinienne, l'étude part de l'hypothèse parfaitement fondée que le pesticide et son adjuvant peuvent avoir un effet différent de celui du pesticide tout seul. Cependant, comme il est compliqué de travailler *in vitro* avec des substances qui ont un pouvoir détergent important, il est difficile d'extrapoler dans ce cas

précis au-delà de l'extrapolation classique in vitro in vivo. Pour aller donc plus loin dans la confirmation de cette hypothèse, il considère que, au stade où l'article est publié, il faut davantage de données expérimentales pour préciser s'il s'agit ou pas d'un mécanisme de perturbation endocrinienne.

L'équipe de Gilles-Éric Séralini précise qu'elle dispose de nombreux éléments factuels sur la façon dont ce mécanisme fonctionne in vitro et a déjà publié une dizaine d'articles sur le sujet. Quand on parle de fortes et de faibles doses, on est dans l'ordre du ppm, et de la dose de la perturbation endocrine quand ce n'est plus toxique, avec inhibition des récepteurs œstrogènes et androgènes, de l'aromatase en particulier. In vivo, il y a effectivement d'autres éléments et d'autres perturbations endocrines que le rapport testostérone œstradiol, et l'équipe n'a pas encore tout publié, mais elle est quand même confortée dans son approche par les perturbations hypophysaires et celles des cytochromes P 450.

Pour l'équipe de Gilles-Éric Séralini, il y a une perturbation endocrine parce qu'il y a une perturbation du rapport testostérone/oestradiol et de l'hypophyse. Ces expériences doivent être recommencées car c'est la première fois que des tests sont réalisés avec une formulation à faible dose.

En outre, en matière de solubilité, les doses de substance détergente utilisées sont bien en dessous du seuil où la membrane de la cellule est détruite, elles démarrent de l'ordre de quelques ppb pour aller jusqu'à la dose agricole qui se trouve dans le RoundupTM.

- Un expert du GECU demande si l'équipe a mené des mesures analogues chez les mâles, et l'équipe de Gilles-Éric Séralini répond par l'affirmative en précisant qu'il y a des effets de perturbation endocrine également chez les mâles, et que ce sera publié dans le cadre des études sur tous les résultats chronologiques.
- Un expert du GECU indique qu'il est prêt à admettre que les adjuvants puissent avoir un effet de type perturbateur endocrinien, et l'équipe de Gilles-Éric Séralini précise que c'est la combinaison des deux, l'adjuvant et le principe actif, qui a un effet de perturbateur endocrinien, parce que l'adjuvant est corrosif et va déjà commencer à dégrader la membrane, mais va surtout permettre aux vésicules contenant le glyphosate d'entrer jusque dans le réticulum endoplasmique. C'est là que l'effet endocrinien à des doses non toxiques d'adjuvant va pouvoir se manifester. Cet effet combinatoire est d'ailleurs recherché par les fabricants de pesticides, car c'est lui qui permet au produit d'entrer dans les cellules, sinon, il n'est pas efficace.

Un expert du GECU indique qu'il s'agit de savoir si la combinaison de l'adjuvant et du principe actif arrive dans de bonnes conditions dans un tissu donné chez l'animal représentatif de l'homme. L'équipe précise qu'il y a en fait une micellisation et que l'adjuvant sert à micelliser le glyphosate, et les deux produits ont donc tendance à rester en micelle à des concentrations de l'ordre de quelques ppm ou ppb. De toute façon, ces produits se retrouvent quand ils sont dans un liquide. C'est le principe du savon, qui a pour but d'enlever les saletés en formant des micelles qui partent dans la phase savonneuse du lavage ; que le savon soit mélangé ou pas, liquide ou en poudre, il va toujours trouver les saletés, parce qu'il forme des micelles.

- L'Anses a relevé que l'équipe a suggéré qu'elle publierait d'autres résultats et demande si un calendrier de parution est déjà fixé. L'équipe de Gilles-Éric Séralini indique que son équipe n'a pas encore tout à fait arrêté l'ordre des publications pour ces résultats qui portent sur les chronologies, les effets sur les mâles, les différents organes, notamment sexuels, mais aussi le rein et le foie, avec les marqueurs, ainsi que sur la présence des transgènes et du glyphosate dans les organes et des résultats de transcriptomique et protéomique chez l'animal).
- L'Anses indique que, pour le moment, la tentative d'analyse a été faite à partir des données de l'article, ce qui n'est pas la meilleure solution, car les erreurs sont toujours possibles d'un côté ou de l'autre. Elle demande en conséquence si elle peut avoir les données de mortalité et des tumeurs par date, afin qu'elle procède aux analyses en étant sûre des données de départ. L'équipe annonce que ces données peuvent être

communiquées, mais rappelle que la politique de l'équipe est de porter au public les données brutes de l'étude 90 jours du NK 603 et qu'elle demande à cet effet que l'Anses publie de la même manière les données du NK 603 et du Roundup™, c'est-à-dire que les données soient échangées, comme cela se passe dans une collaboration scientifique. L'équipe ajoute, à propos de la polémique provoquée par l'étude, que, s'il n'y avait pas de gros enjeux économiques et politiques, ce débat aurait pu avoir lieu dès le départ de manière plus saine et plus ouverte. Or, des personnes qui ont servi aux États-Unis et en Europe à évaluer ce maïs NK 603 et ce Roundup™, notamment une qui a permis l'autorisation du NK 603 à l'agence européenne en 2003, attaquent maintenant l'étude de l'université de Caen. Il y a des critiques qui sont acceptables et d'autres, lancées avec une grande violence, qui ne correspondent pas à la réalité.

Le cadre réglementaire doit évoluer, et l'équipe se propose d'en faire la demande expresse au ministre de l'Agriculture. Il est anormal au XXI^e siècle de tenir confidentielles les données qui ont permis d'autoriser le maïs NK 603 et le Roundup™.

L'Anses indique qu'elle n'a aucun problème à donner à l'équipe du professeur Gilles-Éric Séralini accès à tout ce qu'il est réglementairement possible d'avoir, car elle est tenue de respecter le cadre réglementaire en vigueur. Elle ajoute que, pour l'Anses, la logique d'une audition comme celle d'aujourd'hui, est également d'écouter les chercheurs, même si elle ne peut pas apporter de réponse immédiate aux requêtes et recommandations exposées.

L'équipe de Gilles-Éric Séralini considère que, en matière de santé publique, il est inadmissible que, dans des sociétés avancées, des données de mesures sanguines des études de toxicologie soient considérées comme un secret industriel. La transparence est nécessaire sur toutes les données biologiques et anatomopathologiques qui ont permis l'autorisation du NK 603, car, il n'est pas concevable que soient mis sur le marché de façon non transparente des produits chimiques qui sont potentiellement toxiques.

L'équipe déclare que la différence entre la réglementation (qui distingue entre ce qui est accessible et ce qui est public) et ce que demande son équipe est une prise de risque grave sur la santé publique, pas seulement pour l'équipe, mais aussi pour une cinquantaine de PME-PMI associées au CNRS qui ont financé le travail et dont la responsabilité est totale dans la commercialisation des produits.

L'équipe annonce qu'elle considérera quand même la demande de l'Anses et la transmettra pour décision aux instances qui ont financé le travail.

Fin de séance.