

Le directeur général

NOTE
d'appui scientifique et technique
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relatif à l'analyse des différences de la publication de Séralini *et al.* (2014) "Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize" par rapport à la publication initiale de 2012

L'Anses a été saisie le 27 juin 2014 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) pour la réalisation de l'appui scientifique et technique suivant : analyse des différences de la publication de Séralini *et al.* (2014) "*Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize*" par rapport à la publication initiale (Séralini *et al.* (2012) "*Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize*").

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA DEMANDE

En septembre 2012, l'équipe du Professeur Séralini a publié un article intitulé "*Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize*" dans la revue scientifique Food and Chemical Toxicology. Cet article faisait notamment état d'une augmentation de la mortalité et du taux de tumeurs chez des rats nourris pendant deux ans avec le maïs génétiquement modifié NK603.

Dans son avis du 19 octobre 2012¹ (saisine 2012-SA-0227), l'Anses indiquait que les conclusions avancées par les auteurs de cet article étaient insuffisamment soutenues par les données publiées. L'agence relevait néanmoins que la question de l'évaluation des effets à long terme des OGM n'était pas assez documentée.

En novembre 2013, l'éditeur Elsevier a retiré cette publication de la revue Food and Chemical Toxicology. Le 24 juin 2014, l'équipe du Professeur Séralini a republié l'étude dans la revue scientifique Environmental Sciences Europe, sous le titre "*Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize*". La publication a été réécrite mais ne comporte pas de résultats de recherche supplémentaires. En revanche, certaines données brutes relatives à l'étude sont accessibles sur le site internet de la revue.

Dans ce contexte, la DGCCRF a sollicité l'avis de l'Anses afin de préciser si ces nouveaux éléments sont de nature à remettre en cause l'avis initial de l'Agence du 19 octobre 2012.

2. ORGANISATION DES TRAVAUX

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

La comparaison préliminaire des publications de Séralini *et al.* (2012) et Séralini *et al.* (2014) a été réalisée par l'Unité d'Évaluation des Risques Biologiques dans les Aliments de la Direction d'Évaluation

¹ Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'analyse de l'étude de Séralini *et al.* (2012) "*Long term toxicity of a ROUNDUP herbicide and a ROUNDUP-tolerant genetically modified maize*".
<https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/BIOT2012sa0227.pdf>

des Risques de l'Anses. Ensuite, deux experts en statistiques ont été sollicités afin qu'ils analysent les éléments nouveaux dans la publication de 2014 par rapport à celle de 2012. Leurs rapports ont été présentés lors de la réunion du Groupe de Travail (GT) « Biotechnologie » du 28 octobre 2014. Enfin, le présent Appui Scientifique et Technique (AST) a été validé par le GT « Biotechnologie » réuni le 20 novembre 2014.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS

3.1. Comparaison des publications

La publication de Séralini *et al.* (2014) ne comporte pas de résultats de recherche supplémentaires par rapport à la publication de Séralini *et al.* (2012).

Outre les nombreuses différences de forme, dont celles liées au changement de revue scientifique, deux différences de fond ont été identifiées et correspondent à l'ajout des phrases suivantes :

- page 7 (paragraphe "Tumor incidence" de la section "Results") : "*Using a non-parametric multiple comparison analysis, mammary tumor incidence was significantly increased at the lowest dose of R compared to controls ($p < 0.05$, Kruskal-Wallis test with post hoc Dunn's test).*"
- page 13 (section "Discussion") : "*For instance, comparing the 11% GMO-treated female group to the controls, the assumption that the tumors are equally distributed is rejected with a level of significance of 0.54% with the Westlake exceedance test [67]. The classical tests of Kolmogorov-Smirnov (one-sided) and Wilcoxon-Mann-Whitney reach α values of significance, which are respectively of 1.40% and 2.62%.*"

Les auteurs de la publication ont aussi mis à disposition 5 fichiers (2 Excel, 2 PDF et 1 Word), disponibles sur le site internet de la revue Environmental Sciences Europe. Les fichiers Excel contiennent les données brutes individuelles (i) des paramètres hématologiques et biochimiques mesurés au 15^{ème} mois et (ii) du nombre de tumeurs et de la mortalité mesurés dans les différents groupes pour les deux sexes. Ce deuxième fichier correspond à celui qui avait déjà été transmis à l'Anses par M. Séralini le 15 octobre 2012, suite à l'audition du 10 octobre 2012 (avis de l'Anses du 19 octobre 2012). Les fichiers PDF donnent respectivement (i) la liste des paramètres sanguins et urinaires (avec indication du type d'échantillon analysé et de l'unité utilisée) et (ii) le numéro de code des rats appartenant à chacun des 10 groupes pour les deux sexes, ainsi que la liste des tissus et lésions macroscopiques examinés. Enfin, le fichier Word donne la liste des 4 fichiers ci-dessus (2 Excel et 2 PDF) mis à disposition avec la publication. Il ne s'agit donc que d'une partie des données brutes de l'étude et non de leur intégralité.

3.2. Analyse des éléments nouveaux dans la publication de 2014

3.2.1. Données brutes disponibles

Les résultats présentés dans la publication de Séralini *et al.* (2014) étant identiques à ceux de la publication de 2012, certaines réserves exprimées dans l'avis de l'Anses du 19 octobre 2012, liées au dispositif expérimental, ne sont pas levées, notamment en ce qui concerne le nombre de rats par groupe (10), la souche de rat utilisée (Sprague Dawley) et le fait qu'il n'y ait qu'un lot de témoins pour chaque sexe et qu'il soit de taille réduite.

Par ailleurs, dans son avis du 19 octobre 2012, l'Anses présentait les résultats d'analyses statistiques réalisées par ses soins avec les données brutes disponibles à l'époque. Elle concluait que les résultats statistiquement significatifs obtenus avant correction (il n'y avait plus de différence significative après correction des tests pour tenir compte de leur multiplicité, tel que recommandé notamment dans le rapport de l'Anses (ANSES 2011)) ne présentaient pas de cohérence biologique dans leur globalité et

qu'il serait nécessaire de disposer des données biologiques sur les résultats pour avancer dans l'analyse. Cette réserve est maintenue, car Séralini *et al.* (2014) n'ont pas accédé à la demande de mise à disposition de l'ensemble des données brutes de l'étude formulée par l'Anses (audition du 10 octobre 2012 et avis du 19 octobre 2012).

3.2.2. Nouveaux traitements statistiques des données

Séralini *et al.* (2014) présentent de nouvelles analyses statistiques sur les incidences de tumeurs qui ne figuraient pas dans la publication de 2012. La 3^{ème} phrase du paragraphe "Statistical analysis" de la section "Methods" indique que les différences entre les nombres de tumeurs mammaires observées dans les différents groupes d'animaux ont été testées avec le test de Kruskal-Wallis et le test de Dunn. Les raisons pour lesquelles ces tests n'ont pas été appliqués aux autres pathologies listées dans le tableau 2 de l'article ne sont pas présentées.

D'après les auteurs, les résultats de ces tests montrent qu'il existe une différence significative entre le nombre de tumeurs mammaires du groupe R (faible dose) et celui observé dans le groupe témoin ($p < 0.05$). Toutefois, les données brutes fournies avec la publication ne permettent pas de reproduire ce test (il faudrait pour cela disposer du nombre de tumeurs pour chacun des rats et non pas du nombre total de tumeurs par groupe). Néanmoins, certaines indications données dans le texte ("50% to 80% of female animals had developed tumors in all treatment groups", "with up to three tumors per animal", "whereas only 30% of controls were affected", "with 80% of animals affected in each R treatment groups") combinées aux données brutes fournies par groupe permettent de reconstituer de manière probable les données brutes par rat. Si on se place entre 707 et 714 jours (le groupe témoin a alors 4 tumeurs et le groupe R faible dose en a 14), on constate en effet qu'il est possible d'obtenir des données brutes qui donnent une p-value significative aux tests considérés (calculs réalisés sous le logiciel R avec la fonction `kruskalmc`). Néanmoins, ceci n'est plus possible après 714 jours, car le nombre de tumeurs du groupe témoin passe à 5 puis 6, ce qui rend les tests non significatifs, notamment à la fin de l'expérimentation.

Séralini *et al.* (2014) semblent donc avoir sélectionné *a posteriori* le moment qui était opportun pour avoir un test statistique significatif. Or, réaliser ce test à un moment choisi au vu des données revient en fait à effectuer ce test à tous les instants et sélectionner l'instant où il devient significatif. La correction nécessaire n'est alors plus une simple correction de Dunn au vu du nombre de groupes à l'instant où le test est réalisé, mais cette correction multipliée par le nombre d'instant (ici plus de 700), ce qui rendrait ce test non significatif (si les tests avaient été significatifs à la fin de l'expérimentation prévue, cette correction multiple n'aurait pas été nécessaire). L'ajout de ce paragraphe n'apporte donc pas d'élément probant par rapport aux questions statistiques soulevées par la publication de 2012.

Dans la section "Discussion", Séralini *et al.* (2014) mentionnent l'utilisation d'un autre type de tests statistiques (Westlake, Kolmogorov-Smirnov et Wilcoxon-Mann-Whitney) pour comparer la distribution des tumeurs entre groupes de rats. D'après les auteurs de la publication, ces tests révèlent l'existence d'une différence significative entre le groupe OGM 11% et le témoin. Cependant, les modalités de mise en œuvre de ces tests ne sont pas décrites en détail dans l'article (l'application de ces tests n'est pas mentionnée dans la section "Methods") et il est difficile de comprendre quelles sont les hypothèses qui ont été précisément testées. Les résultats obtenus pour les autres groupes de rats ne sont pas présentés. Pour ces différentes raisons, l'interprétation des résultats est délicate.

Par ailleurs, la référence Deheuvels (2013) citée dans cette section (numérotée [67] dans la publication) est un chapitre de livre dans lequel l'exemple utilisé sont les données de Séralini *et al.* (2012). Les données présentées et les exemples traités permettent d'obtenir les résultats reportés dans Séralini *et al.* (2014) et d'identifier la variable utilisée (délai d'apparition des tumeurs), qui n'est pas clairement définie dans l'article. Cependant, dans le préambule de ce chapitre de livre, il est bien précisé que ces données sont traitées comme un "experimental dataset" composé uniquement de 2 groupes, ce qui peut se justifier dans cet ouvrage car les données sont utilisées pour expliquer les tests, sans volonté de tirer des conclusions scientifiques. En revanche, ces résultats ne devraient pas être reportés tels quels dans Séralini *et al.* (2014), en ne traitant que le groupe pour lequel la probabilité d'obtenir une différence significative avec le groupe témoin est la plus grande, sans correction de la multiplicité des groupes et

donc des comparaisons. Ces tests seraient utilisables ici moyennant une correction par la méthode FDR (False Discovery Rate) par exemple, de manière à prendre en compte la multiplicité des groupes. Une autre méthode permettant de tester les différences serait, comme au point précédent, de réaliser un test de Kruskal Wallis sur l'ensemble des groupes suivi d'un test de Dunn pour caractériser les éventuelles différences. Mais ces tests sont ici non significatifs, car ils prennent en compte l'ensemble des groupes et la multiplicité des tests. De même que précédemment, l'ajout de ce paragraphe n'apporte donc pas d'élément probant par rapport aux questions statistiques soulevées par la publication de 2012.

3.3. Conclusion

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail considère que la publication de Séralini *et al.* (2014) ne remet pas en cause les conclusions de l'avis initial du 19 octobre 2012 (saisine 2012-SA-0227) sur la publication de Séralini *et al.* (2012).

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

OGM, produits phytopharmaceutiques, NK603, Roundup, étude à long terme

BIBLIOGRAPHIE

ANSES (2011). Recommandations pour la mise en œuvre de l'analyse statistique des données issues des études de toxicité sub-chronique de 90 jours chez le rat dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché d'OGM (saisine 2009-SA-0285). ANSES, Maisons-Alfort. 95 p.

Deheuvels, P (2013). On testing stochastic dominance by exceedance, precedence and other distribution-free tests, with applications. *In* Statistical Models and Methods for Reliability and Survival Analysis (eds V Couallier, L Gerville-Réache, C Huber-Carol, N Limnios and M Mesbah), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, USA.

Séralini G-E, Clair E, Mesnage R, Gress S, Defarge N, Malatesta M, Hennequin D et Spiroux de Vendômois J (2012). Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Food and Chemical Toxicology*, **50**: 4221-4231.

Séralini G-E, Clair E, Mesnage R, Gress S, Defarge N, Malatesta M, Hennequin D et Spiroux de Vendômois J (2014). Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Environmental Sciences Europe*, **26**: 14.