

Commentaires sur le texte résultant de la « discussion sur la note de synthèse du groupe de travail » en séance du 16 décembre 2015, daté 20/01/2016 et publié le 4/02/2016 sur le site du HCB sous la rubrique « avis ».

Yves Bertheau, DR Inra au MNH, membre démissionnaire (03/02/2016)  
du Comité scientifique du Haut conseil des biotechnologies  
2-5/04/2016

### Contexte

Mme Christine Noiville, présidente du HCB, m'a informé le mercredi 30/03/2016 que, après concertation, les présidents du CS, du CEES et du HCB, avaient décidé de rendre publique la « position divergente » que j'avais tenté de faire passer en tant que membre du CS du HCB. Celui-ci avait fait paraître, après ma démission, une « note » datée du 20/01/2016, présentée comme le résultat d'une première étape, qui diffère de celle du 14 janvier, qui pourra donner « *lieu à un travail ultérieur au sein des comités du HCB et, in fine, à un avis du HCB* » (PV 30/04/2015).

N'étant plus membre du HCB, je ne peux plus émettre de position divergente au sens propre du terme<sup>1</sup>, mais je peux faire un commentaire rapide de cette note du 20/01/2016. Commentaires qui reprennent certains éléments que j'avais élaborés en tant que membre, et qui sont complétés par quelques réflexions liées à l'évolution du texte depuis mon départ. Il s'agit de commentaires synthétiques rapides, sans les références scientifiques. Mes commentaires n'abordent donc pas les effets probables sur les organismes et les agroécosystèmes.

La note du GT est disponible depuis fin mars 2016 sur le site du HCB sous la rubrique « publications » après l'avoir été pendant près de 2 mois sous la rubrique « avis »

[http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/fr/system/files/file\\_fields/2016/03/30/cs\\_1.pdf](http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/fr/system/files/file_fields/2016/03/30/cs_1.pdf)

Ces commentaires sont publics.

### Commentaires de la note de synthèse du GT en date du 20/01/2016

Cette note de synthèse du GT du CS s'inscrit dans le cadre d'une demande de la Commission européenne (CE) remontant à plusieurs années. L'enjeu est de qualifier, comme OGM ou non avec ou sans exemption de la procédure d'autorisation caractéristique des OGM, les produits d'un ensemble assez disparate de techniques anciennes et nouvelles, en combinaison ou non, de modification des organismes. Dans la présente note de synthèse du GT du CS du HCB, il s'agit plus particulièrement de végétaux: éditions du génome (méganucléases, TALEN, CRISPR...), greffe entre parties OGM et non OGM, agroinfiltration, cis- et intra-génèse, ségréants négatifs.

---

<sup>1</sup> Une « position divergente » au sens propre du terme, ne peut d'ailleurs, aux termes du RI du HCB, qu'être insérée dans un avis (inexistant dans le cas présent), par un membre du CS (ce que je ne suis plus).

Il n'est pas possible d'écrire dans le peu de temps qui m'est accordé une évaluation exhaustive de la note du GT, et il m'est apparu nécessaire d'insister sur ce qui me paraît le plus critiquable : certains manques, biais et *a priori*.

**Le manque d'exhaustivité de l'analyse du GT.** Le rapport du groupe de travail (GT) du CS du HCB n'aborde que certaines des techniques ou modifications, comme par exemple uniquement la méthylation de la cytosine dans le cas des épimutations, ou l'agro-infiltration seule, au lieu d'embrasser l'ensemble des techniques répertoriées par la CE (qui elle-même ne se préoccupe pas de toutes les méthodes). Il élude certaines techniques comme les méganucléases, dont on ne peut assurer qu'elles ne seront plus utilisées, ne serait-ce que par les détenteurs des brevets, pour des produits en cours de développement ou déjà développés. Il est donc difficile de comprendre comment les pouvoirs publics pourront se positionner sur l'ensemble des techniques abordées par la CE, un minimum requis au vu du préambule de la note du GT du CS.

**De nombreuses erreurs et imprécisions.** Les définitions des sous-types de ciblage par des nucléases (page 5) sont imprécises et partiellement incorrectes. La première catégorie (SDN1) correspond en effet aux mutations obtenues sans matrice de réparation, qui sont souvent des délétions - et éventuellement des insertions - de dizaines de bases. Les SDN1 ne sont donc pas, contrairement à la définition de la page 5, des mutations "ponctuelles" (un seul [voire jusqu' à 10 ?] nucléotide affecté).

L'indication "matrice/oligo non intégré" dans la Figure 1 pour SDN2/ODM est incorrecte. Pour les techniques SDN2 et ODM, on introduit comme dans SDN3 une matrice de réparation, qu'on cherche dans tous les cas à intégrer.

La frontière est floue entre SDN2 et SDN3 : où s'arrête la modification de la séquence d'un gène et où commence la définition d'un nouveau gène ?

La confusion est augmentée dans les fiches techniques. Sur l'exemple de la fiche CRISPR-Cas9 (idem pour les autres nucléases), une nouvelle liste de quatre types de modification apparaît page 39, qui ne reprend pas les définitions SDN1/2/3 et utilise "mutation ponctuelle" apparemment différemment. La Figure 1 de cette fiche (page 40), extraite d'un article, présente quatre cas de figure qui ne correspondent pas, ni aux trois catégories SDN1/2/3, ni aux quatre catégories de la page précédente. Le lecteur éprouvera sans doute quelque difficulté à s'y retrouver.

**La question des effets « hors cibles ».** Bien que déconnecté de la demande initiale de la CE et de toute saisine gouvernementale, la note de synthèse du GT n'abordait pas, dans un premier temps, les effets hors-cibles (hors sites , off-targets) des techniques d'édition (effets relégués dans des annexes). Les versions ultérieures les abordent de manière indirecte, par le biais des « progrès techniques » en cours, en ce qu'ils visent à accroître la spécificité de ces méthodes et à réduire les effets off-targets. En eux-mêmes, le fait que ces progrès soient toujours en cours, ne fait que démontrer que ces techniques ne sont pas encore matures, sentiment renforcé par la multiplicité des outils développés pour les améliorer.

La méthode d'obtention des modifications n'est curieusement pas traitée alors qu'elle est évidemment pertinente pour la compréhension de ces nouvelles techniques et pour une discussion de leurs effets possibles. On lit seulement à la page 39 que "La question de la vectorisation est purement technique". En quoi le fait d'être technique affecte-t-il d'en considérer les effets ? Cette

technique d'obtention, à savoir la transformation, même transitoire, par agrobactérie, biolistique, etc. est en effet forcément intrusive et agressive.

Le caractère très évolutif des techniques (ex. des CRISPR), les différences fortes en termes d'effets off-targets directs, leurs limites (efficacités faibles de transformation), leurs nécessités (ex : le besoin de méthodes intrusives comme faire des trous dans les membranes pour faire entrer le matériel dans les cellules) ainsi que l'impact des techniques associées (ex : cultures cellulaires), inductrices de stress cellulaires et donc de mutations et épimutations, justifient, pour les produits en résultant, une évaluation sur des dossiers complets de type OGM. Pour rappel, un récent article sur la transformation de cellules embryonnaires humaines a ainsi souligné le nombre important et inattendu des off-targets et les difficultés pour les prédire, quand ils ont pu être prédits.

Par ailleurs, la prédictibilité et les capacités de détection des hors-cibles et de leurs effets (mutations, effets épigénétiques, pléiotropies, criblages phénotypiques), survolées dans la note du GT, restent limitées en raison des nombreuses erreurs en séquençage (ex : techniques de Next Generation Sequencing), du travail important de curation des bases de données et des capacités à améliorer des logiciels que ce soit pour l'analyse des séquences, leurs assemblages fiables, ou la prédiction des off-targets. Il n'est pas innocent que des génomes « gold standards » aient dû être développés pour examiner les capacités des techniques et logiciels à discerner les variants lors des séquençages.

**Un manque d'approche synthétique.** La circulation d'ARN interférents dans les plantes peut induire des changements dans les autres parties végétales. L'effet de greffe sur des porte-greffes, avec des OGM comme scion ou porte-greffe, ou de l'emploi d'une des techniques d'édition du génome, conduisant ou non à une épimutation, peut donc être « perceptible » à distance. Contrairement à ce qui est spécifié dans la note du GT du CS, chaque élément participe donc à la formation des cellules des organes de reproduction. Pour ces végétaux, on ne peut donc pas considérer comme assurée l'absence de modification génétique ou épigénétique directe dans les fruits, parties fourragères, etc. qui seront commercialisés et consommés. Par ailleurs cette approche par les produits commercialisés ne prend en compte qu'un aspect étiquetage des produits consommés, mais pas l'aspect environnemental de la dissémination de ces parties commercialisées. Ces végétaux et les parties qui en seront commercialisées, doivent donc être évalués au travers de dossiers complets.

**L' « agro-infiltration » et la question du caractère confiné des milieux d'utilisation.** L'agro-infiltration est présentée dans la note du GT comme ne devant être utilisée qu'en milieu confiné, conduisant automatiquement à une destruction des organismes empêchant la dissémination d'OGM car ne visant pas la transformation de cellules germinales. Ce cas particulier d'utilisation confinée d'une technique de transgénèse, temporaire ou stable, ne peut être considéré sans tenir compte des erreurs de manipulation et de possibilités d'échappement dans l'environnement lors de leurs utilisations à l'interface milieu confiné / milieu disséminé, comme par exemple pour des lixiviations ou la détoxification de sols. Il n'est donc pas justifié de considérer que l'utilisation en milieu confiné de ces organismes modifiés ne puisse conduire à la dissémination d'OGM en sus des agrobactéries transformées. Par ailleurs, les opérateurs ont prévu de nombreuses applications des techniques d'agro-infiltration en conditions disséminées, par exemple par applications aériennes d'agrobactéries. L'examen de la production de ces organismes est tout autant requis au travers de dossiers complets, tant pour l'agrobactérie employée (objet d'un premier dossier) que pour le produit végétal, somatique ou germinal selon le stade végétal d'application des bactéries, transformé

résultant, que l'expression soit ou non espérée temporaire. Rappelons en outre que certains des végétaux ciblés peuvent se reproduire naturellement par multiplication végétative. De façon à ne pas induire en erreur les lecteurs de la note du GT, les techniques du même genre donnant des OGM, comme l'agro-infection / agro-inoculation ou le « floral dip », doivent être clairement mentionnées dans la note du GT, en raison des dossiers complets liés à ces techniques.

**Cisgénèse, intragénèse et cadre d'examen.** Que le cas des cisgénèse et intragénèse soit considéré dans la note du GT comme devant être examiné au cas par cas ne débouche pas sur des préconisations claires d'un cadre d'examen adapté. Comme pour les autres techniques, et leurs combinaisons, abordées dans ce document, l'évaluation de dossiers complets par une instance indépendante apparaît donc nécessaire, ne serait-ce qu'en raison de la vectorisation et des techniques intrusives stressantes associées, inductrices au minimum d'épimutations, quand ce n'est pas une transgénèse typique.

**Le concept d'équivalence entre plantes.** Dans le cas des techniques de contre-sélection d'éléments transformants (obtention de ségréants négatifs par « reverse breeding », etc.), il est étonnant, et non scientifique, que la note du GT n'explique pas comment et selon quels critères une plante issue d'OGM par des rétrocroisements pourrait être considérée comme équivalente à une plante non-OGM. Cette absence de transparence sur les critères rend les assertions du GT non falsifiables. Des contrôles seront donc nécessaires au travers de dossiers complets. Reste également la question récurrente des agrobactéries et de petits fragments des vecteurs de transformation subsistant éventuellement dans les cellules.

**Des raisonnements peu fondés scientifiquement.** On constate, dans le document, un certain nombre de lacunes sur des questions pourtant déjà bien investiguées en matière de traçabilité, détection et identification dans d'autres domaines comme les OGM. A ce propos, on peut observer un biais de raisonnement dans les tableaux, « remarques » ou page 19 du document (page 11 de la note), qui se focalisent sur la partie nucléaire ciblée et éludent l'ensemble des modifications induites dans les génomes d'une cellule. Il est pourtant fort probable, même pour les techniques d'édition du génome comme les CRISPR, qu'au vu des modifications de ces génomes induites par les stress (trous réalisés dans les membranes cytoplasmique et nucléaire, sélection des cellules transformées, cultures cellulaires) et des effets off-targets des techniques, un « pattern » (avec en particulier des séries de mutations et épimutations) d'identification de chaque technique pourrait probablement être établi. Plus généralement, des faisceaux convergents de preuves devraient pouvoir être construits, avec des systèmes d'aide à la décision, des approches matricielles, etc. comme pour la détection d'OGM inconnus. Si l'absence de considération de techniques sophistiquées de détection et d'identification des techniques est désignée comme « logique » dans le document, on peut aussi bien y voir un parti-pris. Evidemment établir de tels systèmes de détection / identification nécessite du temps et des spécialistes, toutes choses qui semblent avoir manqué pour l'élaboration de la note du GT du CS.

**Une approche « produit » dans un cadre traditionnellement « procédé ».** D'une manière générale l'amélioration ou l'application correcte d'une technique ne présage en rien l'innocuité du produit final. Cette vision « produit fini » sous-tend le discours de cette note du GT qui insiste page 14 (page 7 de la note) sur la possible évolution de la réglementation, au lieu de se focaliser sur la réglementation actuelle, majoritairement basée sur la méthode utilisée et donc de répondre aux

questions posées par la CE. Des évaluations devront donc être menées sur des dossiers complets établis dans un cadre sous assurance qualité (normalisation et formation aux techniques de séquençage, curation des bases de données, sensibilisation aux limites des logiciels d'analyses de séquences, approches de criblages phénotypique...).

**Contrôles de l'utilisation de bonnes pratiques.** Il convient de s'assurer, par des évaluations complètes, que les opérateurs auront bien utilisé les meilleures techniques et procédures dans le meilleur cadre technique possible. En effet, il peut être craint que, pour diverses raisons, en particulier financières (coûts de réalisation, effets de brevets croisés, rapidité de publication ou de mise sur le marché, durées et coûts de recherche des off-targets et de leurs effets, etc.), la meilleure technique et les meilleures pratiques ne soient pas toujours mises en œuvre par certains opérateurs, ceci sans compter des erreurs de manipulation, des rejets inopinés dans l'environnement, etc. en raison de destructions mal contrôlées. Il conviendrait donc de rapidement normaliser les méthodes d'évaluation des transformations et éditions, de développer des formations accréditées à l'analyse de séquences, off-targets, etc. et aux limites des analyses et assemblages de séquences, avec probablement le développement d'un cadre d'accréditation pour les laboratoires de séquençages et d'analyses. Annoncer à nouveau que les techniques de transformation, séquençage, etc. s'améliorent ne permet ni de régler les questions actuelles, ni d'anticiper les questions à venir.

**Des considérations économiques partielles et incongrues.** Il est toujours aussi étonnant de trouver des considérations socio-économiques, des assertions quant à la rapidité d'obtention de variétés, l'annonce que les thérapies géniques seraient évaluées par certaines instances, ou que des questions éthiques se posent quant à l'utilisation de cellules embryonnaires, etc. dans une note qui se penche sur des techniques appliquées au végétal. La création de variétés commerciales, adaptées aux conditions pédoclimatiques locales, peut être réalisée de diverses façons dont la transformation par édition du génome des variétés commerciales déjà adaptées. Ceci aboutirait à accroître les risques parallèlement à la multiplication des variétés commerciales locales à transformer. Quant à la facilité d'obtention rapide de variétés adaptées à des situations complexes, les difficultés rencontrées pour le développement de variétés résistantes à « la » sécheresse devrait inciter à plus d'humilité face à ces phénomènes multiformes pour lesquelles les formes et durées de stress jouent des rôles considérables.

**Pour conclure** quant à une évaluation du risque éventuel de ces techniques. La facilité d'emploi et le faible coût de certaines de ces techniques devrait inciter à un encadrement très strict de leur utilisation, pour éviter leur détournement par certains « biohackeurs ». Par exemple, un « forçage génétique » (gene drive), par inadvertance ou pour des raisons malintentionnées, ciblant des espèces sources de services écosystémiques importants, comme par exemple la pollinisation, aurait des conséquences graves. Il n'est pas innocent qu'un certain nombre de ces techniques d'édition du génome aient été récemment classées parmi les « armes de destruction massive » par les services fédéraux américains.