

HAUT CONSEIL DES BIOTECHNOLOGIES

COMITE SCIENTIFIQUE

Paris, le 14 janvier 2011

REPONSE A LA CONSULTATION DE L'AESA SUR LE CHOIX DES COMPARATEURS DANS L'EVALUATION DES RISQUES DES PLANTES GENETIQUEMENT MODIFIEES

Le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) a été sollicité par la Direction générale de la prévention des risques du Ministère de l'écologie, du développement durable, des transports et du logement pour examiner le projet de révision des lignes directrices de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA) sur le choix des comparateurs dans l'évaluation des risques des plantes génétiquement modifiées, et pour l'inviter à répondre à la consultation publique correspondante de l'AESA.

Le Comité scientifique (CS)¹ du HCB a procédé à l'examen de ce document sous la présidence de Jean-Christophe Pagès. Une réponse collective a été construite par voie électronique par l'évaluation d'une compilation de commentaires individuels. Les commentaires du HCB à destination de l'AESA sont transmis par ce rapport aux autorités françaises.

¹ La composition du CS est indiquée dans l'Annexe 2.

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	3
2. COMMENTAIRES SUR LE PROJET DE RÉVISION DES LIGNES DIRECTRICES DE L’AESa SUR LE CHOIX DES COMPARATEURS DANS L’ÉVALUATION DES RISQUES DES PLANTES GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉES	3
2.1 REMARQUES GÉNÉRALES	3
2.2 COMMENTAIRES PAR SECTION	4
ANNEXE 1 : ELABORATION DES COMMENTAIRES	9
ANNEXE 2 : CONTRIBUTION DE MEMBRES DU CEES	10
ANNEXE 3 : COMPILATION DES RÉPONSES ENVOYÉES À L’AESa EN ANGLAIS	12
1. GENERAL COMMENTS	12
2. COMMENTS PER SECTION	13

1. Introduction

L'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA) a ouvert une consultation publique sur un projet de lignes directrices sur le choix des comparateurs (contrôles d'évaluation) dans l'évaluation des risques des plantes génétiquement modifiées (PGM), avec notamment une réflexion sur le sujet des PGM contenant plusieurs transgènes (*stack* ou empilage de transgènes), qui compliquent la définition et parfois la production des comparateurs les plus appropriés.

La Direction générale de la prévention des risques du Ministère de l'écologie, du développement durable, des transports et du logement a sollicité le Haut Conseil des biotechnologies (HCB) pour examiner ce projet de révision des lignes directrices de l'AESA sur le choix des comparateurs et pour l'inviter à répondre à la consultation publique correspondante de l'AESA².

Le Comité scientifique (CS) du HCB a procédé à l'examen du document sous la présidence de Jean-Christophe Pagès. Une réponse collective a été construite par voie électronique par l'évaluation d'une compilation de commentaires individuels. Les commentaires du HCB à destination de l'AESA sont transmis par ce rapport aux autorités françaises. Des commentaires individuels de membres du Comité économique, éthique et social (CEES) sont également rapportés dans l'Annexe 2 de ce document.

L'AESA collecte les commentaires résultant de la consultation publique au moyen de formulaires en ligne distincts pour chaque section des documents mis à disposition. Le CS a préparé un paragraphe de remarques générales, et des commentaires organisés par section de façon indépendante. Ces commentaires ont été transmis à l'AESA en anglais³.

2. Commentaires sur le projet de révision des lignes directrices de l'AESA sur le choix des comparateurs dans l'évaluation des risques des plantes génétiquement modifiées

2.1 Remarques générales

Le document passe bien en revue l'ensemble des propositions les plus évidentes (lignées parentales, isogéniques, lignées "ségréantes négatives", lignées possédant un fond génétique le plus proche possible de l'OGM, etc.). Il faudrait toutefois rappeler que d'une génération à l'autre, des mutations ont lieu naturellement dans l'ADN, et qu'en utilisant les techniques classiques de reproduction, il est impossible d'être sûr d'avoir deux individus 100 % génétiquement identiques, au(x) transgène(s) près.

Le CS du HCB suggère que d'autres comparateurs adaptés pourraient être définis au cas par cas : en s'appuyant sur la littérature, le demandeur pourrait discuter des interactions possibles, d'un point de vue théorique, entre les différents transgènes, leurs produits et leurs effets à l'échelle moléculaire et cellulaire, à l'échelle de la plante et du peuplement. A partir de cette analyse, les effets éventuels de ces combinaisons de caractères transgéniques sur les aspects nutritionnels et environnementaux pourraient être discutés et pourraient justifier le choix de comparateurs adaptés.

Le HCB juge qu'il est inapproprié de faire référence au "*Draft EC regulation on implementing rules concerning applications for authorization of GM food and feed*"? Cela soulève plusieurs problèmes de nature différente :

- 1) Ce document n'est pas accessible au public
- 2) Ce document n'est ni validé ni finalisé, il n'a donc aucune valeur de référence, et encore moins, en tant que réglementation en vigueur

² La consultation publique est ouverte sur le site de l'AESA. Le document soumis à la consultation et la procédure de réponse à la consultation sont disponibles sur le lien : <http://www.efsa.europa.eu/fr/consultations/call/gmo101115.htm>.

³ Les réponses en anglais ont été compilées dans l'Annexe 3.

- 3) Le présent document sur les comparateurs n'est-il pas précisément supposé contribuer à définir et alimenter ce projet de règlement ?

Le CS du HCB s'interroge sur une confusion entre l'objectif affiché de ce document, qui est de proposer des lignes directrices sur le choix des comparateurs pour l'évaluation des risques des plantes génétiquement modifiées, et la définition de réglementation d'évaluation, avec l'exemple de la déclaration de la nécessité d'évaluer toutes les sous-combinaisons de transgènes d'un empilage. Autant qu'il a pu être vérifié, cette exigence ne figure pas dans les exigences actuelles des règlements et directives européens en vigueur.

Le CS du HCB signale un problème significatif général de redondance et de confusion dans le document ; le document gagnerait en clarté avec les améliorations suivantes :

- 1) les définitions de la terminologie des comparateurs devraient être clairement énoncées une fois pour toutes en amont des lignes directrices, par exemple dans le chapitre 1.3 *Terminology*. Ce chapitre devrait inclure la définition des *negative segregants*.
- 2) les grands principes valides pour l'ensemble du document devraient également être mentionnés une fois en tant que tels, et non répétés dans chaque section. Il s'agit notamment du principe selon lequel sont exigées une information de pedigree de l'OGM évalué et de son comparateur, ainsi qu'une justification du choix du comparateur
- 3) les comparateurs exigés et tolérés selon les différents cas envisagés devraient être clairement présentés sous forme de tableau synthétique qui pourrait résumer l'ensemble des lignes directrices
- 4) il faudrait réduire la redondance des textes au minimum au sein des sections (voir redondance et contradiction dans la section 3.1 entre le premier paragraphe et les deux derniers paragraphes), et entre sections (exemple de redondance inutile entre les sections 3.2 et 3.4.1)
- 5) les chapitres 2 et 3 gagneraient à être intégrés dans un chapitre unique pour limiter la redondance des textes et clarifier la portée des lignes directrices, qui est supposée être la définition de comparateurs dans le respect d'une réglementation en vigueur pour l'évaluation des risques, et non la définition de cette réglementation en sus, comme il semble être fait pour l'évaluation des empilages.

2.2 Commentaires par section

- Section 1.3. Terminology for comparators

Les termes définis ici ne devraient pas être définis à nouveau ailleurs dans le document. Cette section devrait définir l'ensemble des types de comparateur qui seront utilisés dans les différents cas ailleurs dans le document (ex. *negative segregants*).

- Section 2.3. Issues related to the sub-combinations of events present in stack

I. 273-288 :

Cette section cite partiellement le chapitre 2.3.5 de la dernière version des lignes directrices sur l'évaluation de l'impact environnemental des plantes GM (Octobre 2010) traitant de l'évaluation des risques des empilages, et proposant l'évaluation des sous-combinaisons de transgènes d'un empilage. En plus du problème déjà signalé de l'utilisation d'un document de lignes directrices comme une référence réglementaire, deux problèmes de clarté terminologique sont à signaler dans cet autre document :

1) Si "shall" est contraignant, et si "should" ne l'est pas, qu'attend-on d'un pétitionnaire pour des demandes formulées avec "should" ?

2) Que signifie exactement "consider" et "considerations" dans : l. 276 "the applicant should consider (...)" ou l. 286 "the ERA (...) shall include a consideration of all other sub-combinations). Un verbe plus explicite pourrait-il être utilisé?

- Section 3.1. Comparator(s) for single events

Le premier paragraphe de ce chapitre et les deux derniers sont redondants, et semblent se contredire sur un point. Quelle est la valeur de ce premier paragraphe? Que signifie l. 310-l. 313 "However, (...) the applicant may instead consider the use of a non-GM variety (...)"? N'est-ce pas contradictoire avec l. 337 " for ERA, field trials for comparative analysis will normally include (...) its conventional counterpart (...)" Ou la nuance est-elle dans le "normally"? A clarifier, en évitant toute redondance et en fusionnant ces trois paragraphes.

l. 314-327 :

Etablir les définitions une fois et une seule dans le chapitre *Terminology*.

l. 328-330 :

"In all cases, information on the breeding scheme (pedigree) in relation to both the GM plant and the chosen conventional counterpart together with clear justification for the use of the selected conventional counterpart shall be provided."

Principe à extraire et mentionner clairement une fois pour tout le document. Une nouvelle section pourrait être créée qui contiendrait tous les principes qui sont valides pour tout le document.

l. 339 :

"For ERA, field trials for comparative analysis will normally include the GMO under assessment and its conventional counterpart, with the latter receiving typical conventional management, which will soon require an integrated pest management approach within the EU."

Quelle est la pertinence dans ce document de la mention "which will soon require an integrated pest management approach within the EU" ?

l. 341-342 :

"Depending on the GMO and on the problem formulation, additional treatments/management regimes may need to be considered in the comparative analysis, e.g. conventional counterpart receiving no or minimal herbicide and/or pesticide treatment."

Enlever la phrase après "e.g." qui ne semble pas tout à fait correcte et faire une référence à la section 3.5, précisément dédiée au sujet d'autres paramètres à prendre en compte dans les comparaisons, notamment en relation avec la tolérance aux herbicides ou la résistance aux insectes.

- Section 3.2. Comparator(s) for events stacked by conventional crossing

Le CS du HCB est satisfait que le document exige du pétitionnaire qu'il décrive le pedigree de l'OGM et du comparateur, avec une justification du choix du comparateur.

I. 369, I. 386, I. 412 :

“Any set of events which have all been risk assessed, and which contain between them all the events present in the stack.”

“For the assessment of interactions between events that could impact on protein expression levels, MC requires as comparators any set of events which have all been risk assessed, and which contain between them all the events present in the stack, should be included as comparators.”

“(…) i.e. the appropriate negative segregant(s) or a set of events which have all been risk assessed and which contain between them all the events present in the stack (…)”

Remplacer *“which”* par *“that”*, sinon le sens de ces phrases est différent de celui désiré, et la structure grammaticale est incorrecte (virgule avant *which*).

I. 356-357 et I. 405-406 :

“In addition ERA also considers to what extent the combination of events in a stack results in changes in management systems, which could lead to additional environmental impacts compared to the single events.”

“ERA in addition to stability, expression and potential synergistic effects, should also consider to what extent the combination of events results in changes in management systems which could lead to additional environmental impacts compared to the single events.”

Le CS du HCB note avec satisfaction la prise en compte de l'impact de la culture des PGM sur les pratiques agricoles de gestion des cultures. Il pourrait toutefois être plus clairement mentionné que cet impact peut être négatif comme positif. On note au passage qu'il devrait y avoir une virgule entre *“systems”* et *“which”* I. 406, sinon il faudrait écrire *“that”*, et la phrase n'aurait pas le même sens.

I. 359-360 :

“However, there will be cases where this is not possible e.g. where re-transformation results in genetically linked inserts.”

En effet mais la re-transformation est hors sujet ici. Cette section traite des empilages résultant de croisement conventionnel. Le sujet de la re-transformation est spécifiquement traité dans la section 3.4.1. En revanche, le problème des inserts génétiquement liés reste correctement mentionné ici.

I. 361-384 :

La logique du choix proposé pour le comparateur idéal et les comparateurs alternatifs des plantes contenant des empilages de transgènes n'est pas claire.

Ainsi, d'un côté, on recommande de comparer l'impact d'une plante contenant un empilage de transgènes avec l'impact d'une plante sans transgène (le tout versus l'absence) : c'est le cas du comparateur idéal (*conventional counterpart*) et d'une première proposition de comparateur alternatif (un *negative segregant*)

Et d'un autre côté, on recommande de comparer l'impact d'une plante contenant un empilage de transgènes avec l'impact de plantes contenant des sous-ensembles de ces mêmes transgènes (le tout versus les parties). C'est le cas de la deuxième proposition de comparateur alternatif : un lot de plantes déjà évaluées contenant entre elles l'ensemble des événements de l'empilage.

I. 393-395 :

"In all cases information on the breeding scheme (pedigree) in relation to both the GM stack and the chosen comparator(s) together with clear justification for the use of the selected comparator(s) shall be provided."

Principe à extraire et mentionner clairement une fois pour tout le document.

I. 415-426 :

Pourquoi ne pas fusionner ces deux paragraphes en un paragraphe? Les comparateurs demandés semblent les mêmes dans les deux paragraphes.

- Section 3.3. Risk assessment of the sub-combinations of events present in a stack

Intéressant mais concerne la question de l'évaluation des sous-combinaisons plutôt que le choix des comparateurs, qui est le sujet du document. Les exigences réglementaires devraient être clarifiées, avec des références valides, et clairement distinguées des suggestions de comparateurs.

I. 446 :

"If events within a stack can be demonstrated to be tightly genetically linked, then, by definition, segregation of these events can be considered unlikely."

Il faudrait quantifier l'expression *"tightly genetically linked"* en centimorgan (cM). Deux événements distants de 1 cM sont proches mais ils ségrégeront statistiquement dans à peu près 10 graines sur 1000, ce qui est déjà important à l'échelle d'un champ. Notez que ceci concerne la descendance en autofécondation d'une plante hémizygote pour les transgènes. Si la plante est homozygote pour les transgènes, il n'y a plus de ségrégation en autofécondation.

I. 460 :

"It is recognised that if concerns over stability and/or interactions are indicated by these initial experiments then further more detailed experimentation encompassing a greater number of treatments may be required to identify which of the large number of potential interactions is responsible for any potential adverse effects shown initially."

Peut-il être demandé au pétitionnaire de justifier le choix et le protocole de ces expériences initiales, sachant qu'elles conditionnent la nécessité de mettre en œuvre des expériences supplémentaires?

- Section 3.4.1. Re-transformation

I. 482-492 :

Eviter les redondances dans le document et faire référence au passage correspondant dans la section 3.2 autant que possible, pour mettre en évidence les spécificités des comparateurs pour les plantes génétiquement modifiées composées de plusieurs événements non génétiquement liés, produites par re-transformation versus par croisement conventionnel. Un tableau synthétique serait bienvenu pour faciliter ces comparaisons.

I. 477-479 :

"However, should the re-transformation result in tight genetic linkage between the new and existing events, then applicants should provide evidence that independent segregation of these is not possible."

Comme mentionné dans la section 3.3 l. 446, “*tight linkage*” doit être précisément défini car la ségrégation de deux événements génétiquement liés n’est jamais strictement impossible. Un seuil de liaison génétique devrait être strictement défini au-dessous duquel un pétitionnaire peut traiter deux événements comme un seul événement.

- Section 3.4.3. Co-transformation

l. 509-510 :

“In co-transformation the insertion sites of the transformation cassettes within the genome may be genetically linked or unlinked.”

La co-transformation se distingue de la re-transformation étant donné qu’au cours de la co-transformation, des cassettes indépendantes peuvent fréquemment s’insérer de manière contiguë en tandem dans le génome de la plante receveuse. La règle de vérification et de seuil que nous avons proposée pour la définition de “*tightly linked*” dans la section sur la re-transformation doit rester la même, même si l’on peut s’attendre à une fréquence bien plus importante d’insertions contiguës de transgènes par co-transformation.

- Section 4. Cases where alternative approaches in the comparative risk assessment may be required

l. 567-570 :

“For example, with GM oilseed rape with increased lauric acid (dodecanoic acid) content, a comparative food/feed risk assessment could be made using oils from coconut and palm kernel as comparators instead of conventional oilseed rape oil.”

“(…) *instead* (…)?” Il semble surprenant de ne pas imposer une comparaison entre l’huile d’un OGM et celle d’un comparateur de la même espèce, même si il peut être intéressant de rajouter un comparateur d’huile d’une autre espèce. Il faudrait maintenir ici les comparateurs de types non-OGM de la même espèce et le plus proche génétiquement, à moins de justifier clairement une impossibilité technique de comparaison ou une absence totale de pertinence de cette comparaison.

Annexe 1 : Elaboration des commentaires

Ces commentaires ont été élaborés par le CS du HCB, composé de :

Jean-Christophe Pagès, Président, Jean-Jacques Leguay, Vice-Président,

et par ordre alphabétique des noms de famille : Yves Bertheau, Pascal Boireau, Denis Bourguet, Florence Coignard, François-Christophe Coléno, Jean-Luc Darlix, Elie Dassa, Maryse Deguergue, Hubert de Verneuil, Robert Drillien, Anne Dubart-Kupperchmitt, Nicolas Ferry, Claudine Franche, Philippe Guerche, Joël Guillemain, Mireille Jacquemond, André Justin, Bernard Klonjkowski, Marc Lavielle, Jane Lecomte, Olivier Le Gall, Yvon Le Maho, Stéphane Lemarié, Didier Lereclus, Rémy Maximilien, Antoine Messéan, Bertrand Ney, Jacques Pagès, Daniel Parzy, Catherine Regnault-Roger, Pierre Rougé, Patrick Saindrenan, Pascal Simonet, Virginie Tournay, Bernard Vaissière, Jean-Luc Vilotte.

Ayant participé à l'élaboration du document AESA soumis à consultation publique, Antoine Messéan n'a contribué ni à l'élaboration ni à la rédaction de ces commentaires.

Aucun des autres membres du CS n'a déclaré avoir de conflits d'intérêts qui auraient pu interférer avec sa réponse à la consultation.

Annexe 2 : Contribution de membres du CEES

Deux membres du Comité Economique, Ethique et Social (CEES) du HCB se sont exprimés sur le document de l'AESA : « **Draft Guidance on the Selection of Comparators for the Risk Assessment of GM Plants** ».

Ces deux commentaires sont reportés ici :

Frédéric Jacquemart, France Nature Environnement :

Il est clair que ce document est essentiellement technique et donc du ressort du CS. Néanmoins, la société civile ne pourra que se féliciter de: " The Panel has also taken into account the fact that the comparative analysis for food/feed and environmental risk assessment requires the use of two complementary tests in field trials: the test of difference and the test of equivalence."

Comme le demande le CS, les termes du document devraient être rigoureusement définis, notamment le concept de « negative segregant(s) ».

Par ailleurs, et ceci est du ressort du CEES, il est anormal que des documents cités en référence soient inaccessibles. Il est aussi anormal que des délais aussi courts nous soient imposés pour réagir.

Jeanne Grosclaude, C.F.D.T. :

Ce projet de nouveau guide est suscité principalement par l'arrivée de PGM contenant plusieurs modifications génétiques « empilées », qu'elles soient étroitement associées (par exemple dans une même cassette) ou dispersées dans le génome au risque de ségréger au cours d'un cycle reproductif (par exemple dans cette dernière situation la culture de semences F1 vendues par le producteur, ce qui est le cas le plus courant, conduit à une récolte de graines filles F2 hétérogènes au plan génomique : c'est cette population hétérogène qui sera consommée par des animaux ou traitée au plan industriel).

Il est aussi tenu compte de la production de plantes aux propriétés nouvelles, sans continuité avec des variétés pré-existantes, délibérément conçues pour être différentes et non équivalentes, notamment au plan nutritionnel ou agronomique. La notion de correspondant conventionnel devient alors plus complexe à définir.

Ce guide s'adresse aux pétitionnaires et aux experts chargés de l'évaluation, listant les renseignements à fournir et analyser. Il obéit à des logiques basées sur un cadrage scientifique rigoureux prenant en considération les nouvelles méthodes de modification génétique.

Il est bon de rappeler malgré tout que pour les profanes la première qualité d'un argumentaire, qu'il porte sur la composition intrinsèque d'une plante, son adaptation à l'alimentation humaine ou animale ou sur l'impact environnemental de sa mise en culture, est de susciter la confiance des citoyens. Le choix approprié des « comparateurs » en est un élément déterminant, à côté d'analyses statistiques méthodologiquement inattaquables. *La réponse du HCB (paragraphe 2.1, remarques générales) pourrait rappeler cette finalité première des évaluations conduites au plan européen.*

Plusieurs questions traitées dans ce guide répondent à des interrogations soulevées dans les délibérations du CEES, et c'est un point de satisfaction.

Le CEES a maintes fois souligné que les comparaisons devraient se faire au plus près des conditions réelles d'exploitation : le document prévoit que par exemple une plante résistante à un herbicide doit être comparée à son homologue après traitement par l'herbicide, et aussi en présence du traitement herbicide conventionnel appliqué habituellement, ce que demandait le CEES à l'occasion des dossiers qu'il a examinés.

Le CEES ne s'est pas toujours accommodé non plus d'évaluations basées uniquement sur les connaissances publiées, « historiques », sur des événements unitaires, qui permettraient d'attester de l'innocuité, ou du risque, de tel assemblage ou telle association de molécules nouvellement produites.

La recherche bibliographique est la base des évaluations de l'EFSA. Le CEES a souhaité un plus grand recours à des expérimentations. Intuitivement le profane sait bien que les propriétés de l'assemblage ne sont pas l'addition des propriétés des parties, et qu'il y a un espace pour l'inattendu, les phénomènes coopératifs. Le document ouvre clairement la perspective de mettre en œuvre des expérimentations spécifiques, pour fournir de réelles nouvelles données, et non seulement des preuves « par analogie ». Cela va dans le sens de la demande du CEES de procéder par exemple à des expériences sur gros animaux, s'ils sont destinataires du produit de la récolte, et pas seulement à des simulations sur petits rongeurs. De plus si des récoltes hétérogènes de graines filles (F2) sont produites pour la consommation, il est clair qu'on ne peut exclure une valeur nutritionnelle du mélange F2 différente de celle des graines homogènes produites par F0 ou des graines F1 utilisées comme semence. Cela renforce l'idée répétée par le CEES que chaque production doit être testée dans les conditions où elle est utilisée ou consommée.

Ces remarques valent aussi bien pour l'étude de la composition chimique, ou de la valeur alimentaire, ou de l'adaptation à tel ou tel mode de conduite des cultures ou de l'effet sur l'environnement.

Ainsi ces recommandations d'experts rejoignent le sens commun. Cela pourrait être également souligné dans les remarques générales : *cette évolution des termes de la comparaison va dans le sens d'une meilleure acceptation des arguments par les profanes, et peut renforcer la confiance des citoyens dans l'expertise européenne.*

Annexe 3 : Compilation des réponses envoyées à l'AESA en anglais

Cette annexe est une compilation des réponses envoyées par section à l'AESA en anglais. Chaque section correspond à un formulaire en ligne distinct.

1. General comments

This document properly reviews the most obvious propositions for comparators (parental lines, isogenic lines, negative segregants, non-GM lines with genetic backgrounds comparable to the GM line, etc). Nevertheless, it should be emphasised that mutations occur naturally in genomic DNA from one generation to the next: classical reproduction techniques never result in individuals that are 100% identical apart from the transgene(s).

The Scientific Committee (SC) of the High Council for biotechnologies (HCB) suggests that other comparators may be defined on a case-by-case basis: from a theoretical point of view based on scientific literature data, the applicant could discuss possible interactions between different transgenes, their products and their effects at the molecular and cellular level, at the plant and population level. From this analysis, the potential impact of combinations of transgenes on food/feed aspects and on the environment could be discussed and could justify an alternative choice of appropriate comparators.

HCB considers it is inappropriate for EFSA to use the draft EC regulation *on implementing rules concerning applications for authorization of GM food and feed* as a reference throughout the draft guidance. This raises several issues of different kinds:

- 1) This document is not accessible to the public
- 2) This document is neither validated nor even finalised; therefore it should not be used as a reference, especially as a regulation in effect.
- 3) Isn't this guidance on the selection of comparators supposed to contribute to define and feed this draft regulation?

The SC of HCB wishes there were no confusion between the intended scope of the document, which is to provide guidance on the selection of comparators for the risk assessment of GM plants, and the definition of regulatory requirements for the risk assessment, with the example of the requirement for evaluating all sub-combinations of transgenes of a stack. As far as we could check, this requirement is not part of the current requirements of EC Regulations and Directives in effect.

The SC of HCB points out a significant problem of redundancy and confusion throughout the document; the document could be clearer with the following improvements:

- 1) Definitions for comparators terminology should be clearly stated once, upstream of the guidance itself, in the section 1.3 Terminology for example. This section should notably include the definition for negative segregants.
- 2) Basic principles that apply to the whole document should also be stated only once as such, and not repeated in each section. This applies to the principle stating that information on the breeding scheme (pedigree) in relation to both the GM plant and the chosen conventional counterpart shall be provided, together with clear justification for the use of the selected conventional counterpart.
- 3) First-choice and tolerated alternative comparators for each specific case of GM plants considered in the document should be clearly presented in a synthetic table, which could nicely summarise the whole guidance document
- 4) Redundancy must be reduced to the minimum within sections (*e.g.* redundancy and potential contradiction in section 3.1 between the first and the last two paragraphs), and between sections (*e.g.*, useless redundancy between parts of sections 3.2 and 3.4.1)

- 5) Chapters 2 and 3 should be integrated in a unique chapter in order to reduce text redundancy and to clarify the scope of the guidance, which is supposed to be the definition of comparators for the risk assessment of GM plants in a regulatory framework in effect, and not the definition of new risk assessment regulation, as seems to be the case concerning the requirements for risk assessment of stacks.

2. Comments per section

- Section 1.3. Terminology for comparators

This section should define all the different types of comparators used in the document, including negative segregants. The terms defined here should not be defined again elsewhere in the document.

- Section 2.3. Issues related to the sub-combinations of events present in stack

I. 273-288 :

This section partially quotes section 2.3.5 of the latest version of EFSA guidance on the environmental risk assessment of GM plants (October 2010), dealing with the issue of stacked events, and recommending that all sub-combinations of transgenes of a stack be risk assessed. Apart from the issue of using a guidance document as a regulatory reference, two issues to point out here:

- 1) If “shall” is binding, and if “should” is not, what is expected from an applicant for demands formulated with “should”?
- 2) What exactly means “consider” and “considerations” in I. 276 *“the applicant should consider (...)”* or I. 286 *“the ERA (...) shall include a consideration of all other sub-combinations”*. Could a more explicit verb be used instead of “consider”?

- Section 3.1. Comparator(s) for single events

The first paragraph of this section is redundant with the last two paragraphs, but they seem to differ on one point. What is the value of this first paragraph? What does mean I. 310-I. 313 *“However, (...) the applicant may instead consider the use of a non-GM variety (...)”*? Isn't it in contradiction with I. 337 *“for ERA, field trials for comparative analysis will normally include (...) its conventional counterpart (...)”* Or is *“normally”* supposed to cover the fact that alternative comparators may be used? This should be clarified, redundancy should be avoided and these three paragraphs should be fused.

I. 314-327 :

The definitions should be stated once for all in the section 3.1 Terminology.

I. 328-330 :

“In all cases, information on the breeding scheme (pedigree) in relation to both the GM plant and the chosen conventional counterpart together with clear justification for the use of the selected conventional counterpart shall be provided.”

This principle should be extracted from this section and stated clearly once for all in the document. A section could state all the principles that are valid throughout the document.

I. 339 :

“For ERA, field trials for comparative analysis will normally include the GMO under assessment and its conventional counterpart, with the latter receiving typical conventional management, which will soon require an integrated pest management approach within the EU.”

What is the relevance of the mention “which will soon require an integrated pest management approach within the EU” in that document?

I. 341-342 :

“Depending on the GMO and on the problem formulation, additional treatments/management regimes may need to be considered in the comparative analysis, e.g. conventional counterpart receiving no or minimal herbicide and/or pesticide treatment.”

We recommend to delete the phrase after “e.g.”, which does not seem quite right, and we recommend to refer to section 3.5 instead, which is precisely dedicated to the issue of other criteria to take into account for the choice of comparators, especially in relation with herbicide tolerance or insect resistance.

- Section 3.2. Comparator(s) for events stacked by conventional crossing

The Scientific Committee (SC) of the High Council for biotechnologies (HCB) endorses the requirement for the applicant to describe the pedigree of both the GM plant and its comparator, and to justify clearly the choice of the comparator.

I. 369, I. 386, I. 412 :

“Any set of events which have all been risk assessed, and which contain between them all the events present in the stack.”

“For the assessment of interactions between events that could impact on protein expression levels, MC requires as comparators any set of events which have all been risk assessed, and which contain between them all the events present in the stack, should be included as comparators.”

“(…) i.e. the appropriate negative segregant(s) or a set of events which have all been risk assessed and which contain between them all the events present in the stack (…)”

Replace “which” with “that” in all these sentences, otherwise the meaning is different from the one originally intended and the grammatical structure is incorrect (comma before which).

I. 356-357 et I. 405-406 :

“In addition ERA also considers to what extent the combination of events in a stack results in changes in management systems, which could lead to additional environmental impacts compared to the single events.”

“ERA in addition to stability, expression and potential synergistic effects, should also consider to what extent the combination of events results in changes in management systems which could lead to additional environmental impacts compared to the single events.”

The SC of HCB notes with satisfaction that the guidance document takes into account potential impacts of GM crops on management systems. However, it is worth clarifying that this impact can be negative as well as positive.

A comma is missing between “systems” and “which”, I. 406, otherwise one should write “that” and the meaning would be different.

I. 359-360 :

“However, there will be cases where this is not possible e.g. where re-transformation results in genetically linked inserts.”

Yes, but re-transformation is off topic. This section deals with stacks resulting from conventional crossing. The topic of re-transformation is specifically addressed in section 3.4.1. The example of re-transformation should be removed from this section. However, the problem with genetically linked inserts is correctly emphasised here.

I. 361-384 :

The rationale for the proposed first-choice and alternative comparators for assessing the impact of a plant containing stacked events is unclear.

On the one hand, the comparators proposed for assessing the impact of plant containing stacks of transgenes are plants without any transgene (the whole versus the absence): it is the case for the first-choice comparator (conventional counterpart), and the first alternative comparator proposed (a negative segregant).

On the other hand, the comparators proposed are a set of plants each containing subsets of the transgenes present in the stack, given that all the transgenes should be represented between the different plants of the set (the whole versus the parts): it is the case for the second alternative comparator proposed (a set of plants that have all been risk assessed and that contain, between them, all the events present in the stack).

I. 393-395 :

“In all cases information on the breeding scheme (pedigree) in relation to both the GM stack and the chosen comparator(s) together with clear justification for the use of the selected comparator(s) shall be provided.”

This principle should be extracted from this section and stated clearly once for all the document.

I. 415-426 :

Why not fuse these two paragraphs into one ? The comparators indicated seem the same for the two sets of evaluations mentioned in these paragraphs.

- Section 3.3. Risk assessment of the sub-combinations of events present in a stack

Interesting but deals with the question of evaluation of sub-combinations rather than the selection of comparators, which is supposed to be the scope of this document. The regulatory requirements should be clarified, with valid references, and set apart from the suggestions of comparators.

I. 446 :

“If events within a stack can be demonstrated to be tightly genetically linked, then, by definition, segregation of these events can be considered unlikely.”

The expression *“tightly genetically linked”* should be quantified in centimorgan (cM). Two events that are 1cM apart may be considered relatively close, yet they will segregate in about 10 seeds out of 1000, which is already significant at the field scale. Note that this segregation problem concerns the progeny by autofecondation of plants that are hemizygous for the transgenes. If the plant is homozygous for the transgenes, they won't segregate during autofecondation.

I. 460 :

"It is recognised that if concerns over stability and/or interactions are indicated by these initial experiments then further more detailed experimentation encompassing a greater number of treatments may be required to identify which of the large number of potential interactions is responsible for any potential adverse effects shown initially."

Could the applicant be asked to justify the choice and the protocol of these initial experiments, considering that they will condition the requirement for setting up further more detailed experiments?

- Section 3.4.1. Re-transformation

I. 482-492 :

Redundancies should be avoided in the document. Please refer to the corresponding text in section 3.2 as much as possible, to highlight the specificities of comparators for GM plants carrying unlinked stacked events that were produced by re-transformation versus by conventional crossing. A synthetic table would be welcome to facilitate those comparisons.

I. 477-479 :

"However, should the re-transformation result in tight genetic linkage between the new and existing events, then applicants should provide evidence that independent segregation of these is not possible."

As mentioned for section 3.3 I. 446, "tight linkage" should be precisely defined, considering that the segregation of two genetically linked events is never strictly impossible. A threshold of genetic linkage should be strictly defined under which two genetically linked events could be treated as one single event.

- Section 3.4.3. Co-transformation

I. 509-510 :

"In co-transformation the insertion sites of the transformation cassettes within the genome may be genetically linked or unlinked."

Co-transformation differs from re-transformation in that during co-transformation, independent transformation cassettes harboured on distinct plasmids tend to insert in tandem in the receiving genome. The rule for verification of genetic distance and for a threshold for the definition of "tightly linked" that we proposed in the re-transformation section must also be applied here, even if co-transformation is expected to yield a much higher frequency of contiguous insertion events.

- Section 4. Cases where alternative approaches in the comparative risk assessment may be required

I. 567-570 :

"For example, with GM oilseed rape with increased lauric acid (dodecanoic acid) content, a comparative food/feed risk assessment could be made using oils from coconut and palm kernel as comparators instead of conventional oilseed rape oil."

"(...) instead (...)?" It seems surprising not to impose a comparison between the oil produced from a GM plant and the oil produced from a comparator of the same species, even if it can be interesting to add an oil produced from a comparator of another species. Non-GM comparators of the same species as the GM plant, and that are the closest genetically to that plant, however, should be maintained, unless the applicant provides a clear justification for a technical barrier or a total lack of relevance for that comparison.