

Évaluation de l'innocuité des aliments issus d'organismes génétiquement modifiés

J.M. WAL

RÉSUMÉ

L'autorisation de mise sur le marché des aliments constitués ou issus d'organismes génétiquement modifiés (OGM) s'accompagne d'une évaluation préalable de leur innocuité. En raison notamment du manque de pertinence des études toxicologiques classiques, cette évaluation se fonde sur le concept de « substantielle équivalence », selon lequel le nouvel aliment sera considéré comme aussi sûr que l'aliment traditionnel de référence avec lequel l'équivalence en substance aura été établie. Une évaluation spécifique du risque potentiel, notamment de l'allergénicité, lié aux protéines d'expression des gènes d'intérêt et/ou marqueurs reste cependant indispensable. Si l'organisme à l'origine du transgène est un allergène reconnu, la plante transgénique risque d'exprimer une protéine allergénique, mais des patients sensibles doivent alors pouvoir être recrutés et utilisés pour des tests *in vivo* et *in vitro*. Si le transgène provient d'un allergène alimentaire peu courant ou d'un organisme dont l'allergénicité n'a jamais été suspectée, il n'est pas possible de recruter des patients sensibles. L'évaluation ou la prédiction de l'allergénicité fait alors appel à des méthodes indirectes. Elles concernent les propriétés physico-chimiques de la protéine étrangère exprimée : stabilité à la chaleur, aux pH acides, aux traitements technologiques, ou encore résistance aux attaques par les enzymes digestives. Une approche complémentaire se fonde sur l'analyse des homologues de séquences pouvant exister entre cette protéine et des allergènes dont la structure est connue et répertoriée dans des banques de données accessibles sur Internet. De plus, l'allergénicité d'un aliment est le plus souvent d'origine multigénique ce qui soulève le risque d'effets pléiotropes sur le phénotype du transformant et, en particulier, une modification du niveau d'expression de protéines allergéniques endogènes, normalement présentes dans les lignées conventionnelles. Rien ne permet, jusqu'à présent, de considérer les OGM comme plus, ou moins allergéniques que les organismes traditionnels correspondants. Mais on ne peut cependant pas évaluer, dans tous les cas, de manière fiable et objective leur allergénicité. Il convient donc d'étudier l'impact des technologies modernes sur l'apparition éventuelle de nouvelles structures allergènes.

MOTS-CLÉS : Allergie alimentaire – Aliments transgéniques.

SUMMARY

Evaluation of the safety of foods derived from genetically modified organisms. – Marketing Authorization for foods composed of or derived from genetically modified organisms (GMO) is accompanied by preliminary evaluation of their safety. In view, in particular, of the lack of relevance of classical toxicological tests, this evaluation is based on the concept of « substantial equivalence », according to which the novel food is considered to be as safe as the traditional reference food with which the substantial equivalence has been established. However, specific evaluation of the potential risk, especially allergenicity, related to expression proteins of the genes of interest and/or markers remains essential. If the organism used for the transgene is a recognized allergen, the transgenic plant may express an allergenic protein, but sensitive patients should be able to be recruited and used for *in vivo* and *in vitro* tests. If the transgene is derived from an unusual dietary allergen or an organism which has never been suspected to be allergenic, sensitive patients cannot be recruited. In this case, evaluation or prediction of allergenicity is based on indirect methods, concerning the physicochemical properties of the foreign protein expressed: stability to heat, acid pH, technological treatments, or resistance to attack by digestive enzymes. A complementary approach is based on analysis of possible sequence homologies between this protein and allergens with a known structure and listed in data banks accessible by Internet. The allergenicity of a food is also usually multigenic which raises the risk of pleiotropic effects on the phenotype of the transformant and, in particular, modification of the level of expression of endogenous allergenic proteins, normally present in conventional cell lines. At the present time, there is no evidence to suggest that GMO are either more or less allergenic than the corresponding traditional organisms. However, their allergenicity cannot be objectively and reliably evaluated in every case. The impact of modern technology on the possible appearance of new allergens must therefore be studied.

KEY-WORDS : Food allergy – Transgenic foods.

Laboratoire d'Immuno-Allergie Alimentaire, Laboratoire Associé INRA-CEA, DRM-SPI, Bât. 136, C.E. Saclay, 91191 GIF-SUR-YVETTE.

Tirés à part : J.M. Wal (même adresse).

WAL J.M. – Évaluation de l'innocuité des aliments issus d'organismes génétiquement modifiés. *Rev. fr. Allergol.*, 1997, **37** (3), 326-333.

La commercialisation à destination d'un large public des « Nouveaux Aliments » a soulevé le problème de leur innocuité et de l'évaluation du risque potentiel que leur consommation pouvait entraîner pour la Santé Publique.

Les « Nouveaux Aliments » recouvrent à la fois les produits « exotiques » dont la consommation était jusqu'ici confidentielle, et ceux issus des (bio)technologies modernes, en particulier du génie génétique.

Dans le large débat d'idées et de passions qui a accompagné la mise sur le marché des premières plantes transgéniques, le risque de faire apparaître ou de développer des allergies a largement été mis en avant. Il a conduit à s'interroger sur une possible émergence de nouvelles structures immunoréactives, du fait du développement des nouvelles technologies de production et de transformation des aliments : que ce soit la sélection génétique de nouvelles variétés, les façons culturales, la manipulation et le transfert de gènes dans les plantes et les animaux transgéniques, la production de protéines recombinantes, la modification de la structure ou de la texture des aliments par des procédés physiques ou thermiques [1, 2].

Les bases réglementaires ainsi que les procédures d'évaluation de l'innocuité des nouveaux aliments et notamment de ceux issus d'organismes génétiquement modifiés (OGM) ont été maintenant précisées dans un règlement communautaire publié le 14 février 1997 au Journal Officiel des Communautés Européennes. Nous allons en présenter et en discuter les principales dispositions et implications dans ce papier.

BASES SCIENTIFIQUES ET RÉGLEMENTAIRES D'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ DES NOUVEAUX ALIMENTS ET NOTAMMENT DE CEUX ISSUS D'ORGANISMES GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉS

L'examen et l'instruction des dossiers d'évaluation de l'innocuité des nouveaux aliments et notamment de ceux issus d'organismes génétiquement modifiés et leur autorisation de mise sur le marché se fait à l'échelon communautaire sous la responsabilité effective d'instances scientifiques nationales et communautaires. Pour la France la Commission de Génie Biomoléculaire (CGB) est compétente, elle peut également saisir le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. En cas de contestation entre instances nationales, le Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine de Bruxelles arbitre. Il est à noter que les comités scien-

tifiques de l'Union européenne, chargés d'émettre un avis d'experts sur l'évaluation du risque, sont maintenant regroupés au sein de la Direction Générale 24, c'est-à-dire séparés et indépendants des instances politiques et administratives responsables de la gestion du risque et de la décision.

L'évaluation de la sécurité alimentaire recouvre en fait deux notions : l'innocuité ou absence de toxicité proprement dite, et la valeur nutritionnelle de l'aliment nouveau. Ces deux notions sont regroupées sous le terme de salubrité (*wholesomeness*). Les principaux points à étudier sont les suivants [3, 4] :

En ce qui concerne l'innocuité

1) la toxicité potentielle de la (des) protéine(s) exprimée(s) ; 2) les effets toxiques potentiels secondaires dus aux métabolites résultant de l'activité enzymatique de la protéine nouvelle exprimée ; 3) l'allergénicité potentielle de la protéine nouvelle exprimée ; 4) des effets potentiels non recherchés et non attendus (augmentation de la teneur en composés toxiques naturellement présents...), liés à un effet pléiotropique des gènes ; 5) le risque de transfert du transgène inséré à des micro-organismes de la flore digestive, par exemple le gène marqueur de résistance à un antibiotique qui serait sous le contrôle d'un promoteur bactérien.

En ce qui concerne la valeur nutritionnelle

1) les teneurs en macro-et micro-nutriments principaux ; 2) les teneurs en composés anti-nutritionnels (inhibiteurs de protéases, lectines...) ; 3) la biodisponibilité des nutriments ; 4) les conséquences sur les régimes alimentaires des populations concernées, compte tenu des spécificités régionales.

La procédure d'évaluation proposée résulte des discussions de nombreux groupes de travail et réunions internationales qui ont rassemblé plusieurs centaines d'experts scientifiques. Le dernier en date est le groupe de travail de l'OCDE : « Toxicological and nutritional testing of novel foods », qui s'est tenu à Aussois, mars 1997. Il a fait suite à une consultation mixte FAO-OMS : « Biotechnology and food safety » (Rome, octobre 1996), et à deux groupes de travail, l'un de l'OMS (Copenhague, 1994) : « Application of the principles of substantial equivalence to the safety evaluation of foods or food components from plants derived by modern biotechnology » [5], l'autre de l'OCDE (Oxford, 1994) : « Food safety evaluation » [6]. Ces réunions ont affiné le concept d'« Équivalence en substance » et précisé ses modalités d'application pour l'évaluation de la salubrité des nouveaux aliments et notamment de

ceux issus d'organismes génétiquement modifiés. Ce concept avait d'ailleurs déjà été élaboré lors d'une consultation FAO-OMS (Genève, 1990) : « Strategies for assessing the safety of foods produced by biotechnology » [7], et d'un groupe de travail de l'OCDE, en 1993 : « Safety evaluation of foods derived by modern biotechnology – concepts and principles » [8].

Cette procédure d'évaluation repose donc sur le Concept d'« Équivalence en Substance », analysé par G. Pascal [3, 4].

C'est le concept selon lequel si un nouvel aliment est démontré « substantiellement équivalent » à un aliment traditionnel existant, on peut le considérer de la même façon au plan de la sécurité. C'est-à-dire que l'aliment nouveau est « aussi » sûr que l'aliment traditionnel correspondant. Dans l'application de ce concept, on doit tenir compte des procédés technologiques auxquels peuvent être soumis ces nouveaux aliments, ainsi que des usages et du niveau de consommation prévus. L'établissement de l'équivalence en substance n'est pas une évaluation toxicologique proprement dite, mais un exercice dynamique, biologique et analytique, de comparaison d'un aliment nouveau à un aliment existant.

Dans le cas des aliments constitués ou issus d'organismes génétiquement modifiés la détermination de l'équivalence en substance est réalisée au cas par cas ; elle fait intervenir des considérations de divers ordres. Elle prend d'abord en compte la caractérisation de l'hôte, du donneur, et de l'organisme modifié. Sont ainsi analysés : 1) l'origine de la plante hôte et l'historique de son utilisation comme denrée alimentaire, sa composition, sa teneur en nutriments caractéristiques, mais aussi en toxines, en composés anti nutritionnels, son allergénicité éventuelle... 2) les caractéristiques correspondantes du donneur et la nature du transgène inséré, 3) au niveau de l'organismes modifié : la caractérisation de l'insert, la fonctionnalité des gènes introduits, le niveau, la régulation, le lieu et la stabilité de l'expression de ces gènes.

La détermination de l'équivalence en substance prend également en compte la caractérisation du produit alimentaire : 1) les caractéristiques phénotypiques de la plante, notamment les critères de morphologie, vitesse de croissance, résistance... habituellement mesurés par les sélectionneurs, 2) l'analyse de la composition en nutriments caractéristiques, vitamines, oligo-éléments... mais aussi en composés toxiques ou anti-nutritionnels naturellement présents.

Notons que la mise en application d'une telle démarche, simple dans son principe, et la définition d'une équivalence en substance, au cas par cas, ne sont pas aisées et donnent encore lieu à discussion et interprétation entre experts notamment

sur les bases de la comparaison entre aliment traditionnel et aliment génétiquement modifié. Les conditions de culture, en Europe ou aux USA (climat, situation des parcelles...), les variétés cultivées (isogéniques ou non), les bases de référence analytiques, sont autant de source de variabilité des observations mesurées sur la plante transgénique et sur un standard de comparaison mal précisé. Elles rendent délicate l'interprétation de différences qui peuvent être dues aux conditions expérimentales tout autant qu'aux effets du transgène. Par ailleurs la liste des éléments à prendre en compte pour la comparaison n'est pas limitative dès lors que des effets pléiotropiques dus au transgène pourraient donner lieu à des effets non désirés, non attendus et donc non recherchés.

Malgré tout, l'évaluation de l'équivalence en substance peut aboutir à trois situations différentes [3, 4]. Lorsque l'équivalence en substance est établie, c'est-à-dire que rien ne permet de distinguer l'aliment nouveau de l'aliment traditionnel correspondant : ni dans sa composition (critères analytiques), ni dans ses caractéristiques biologiques ou fonctionnelles, alors aucune autre démonstration de salubrité ne s'impose. L'aliment nouveau est « aussi » sûr que l'aliment traditionnel qui a servi à sa comparaison.

Lorsque l'aliment nouveau présente des caractéristiques telles qu'il ne peut y avoir équivalence en substance avec un aliment traditionnel de référence (c'est par exemple le cas pour un substitut de matière grasse non digestible et non absorbé), une étude toxicologique complète, comme pour une nouvelle molécule, peut être nécessaire. Cependant, lorsque le nouveau produit est destiné à remplacer un constituant majeur de l'alimentation, une méthodologie adaptée, différente de celle utilisée en toxicologie traditionnelle devra être mise en œuvre.

Le cas le plus fréquent est cependant celui où l'équivalence en substance est établie à l'exception des produits des gènes d'intérêt (ou des gènes marqueurs). Ce sont généralement des protéines, souvent des enzymes, intervenant dans les mécanismes de tolérance à un pesticide, de résistance à l'agression par un pathogène, de modification de processus physiologiques comme la maturation. Il convient alors de faire une évaluation spécifique des risques potentiels de ces produits : ce sont essentiellement le risque toxique et le risque allergique. L'évaluation du risque toxique et notamment du risque de toxicité aiguë ne bénéficie pas de modèle universel. S'agissant de plantes ou même de protéines purifiées, les tests utilisant des animaux de laboratoire recevant des quantités importantes par gavage, ne sont pas pertinents et entraînent des troubles dus davantage à des déséquilibres alimentaires qu'à la toxicité du produit. C'est pourquoi on peut également avoir

recours à des comparaisons avec des protéines toxiques identifiées dont la séquence figure dans des banques de données. L'évaluation du risque allergique ne dispose pas non plus de test universel fiable et pertinent et fait appel à différentes approches selon les cas.

ÉVALUATION DU RISQUE ALLERGIQUE DES ALIMENTS ISSUS D'ORGANISMES GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉS

Une démarche similaire à celle présentée ci-dessus a été proposée pour l'évaluation du risque allergique des aliments issus d'organismes génétiquement modifiés, à l'issue de nombreux débats, par l'ILSI Allergy and Immunology Institute (AII), et l'International Food Biotechnology Council (IFBC) [9]. Cette stratégie se fonde sur l'analyse de différentes situations et l'appréciation du risque potentiel correspondant à chacune d'elles. Elle distingue plusieurs niveaux de décision, et préconise les études, directes ou indirectes à mettre en œuvre à chacune des étapes.

L'arbre de décisions qui guide la démarche s'intéresse en premier lieu à l'origine du transgène inséré, et distingue s'il provient : 1) d'un aliment reconnu comme allergénique, c'est-à-dire appartenant aux familles impliquées dans 90 p. cent des cas reconnus d'allergie alimentaire. L'étude américaine liste ces groupes, au nombre de huit : arachides, soja, noix, lait, œufs, poissons, crustacés, blé ; 2) d'aliment(s) dont l'allergénicité est soupçonnée ou rarement évoquée ; 3) d'un aliment pour le quel aucun cas d'allergie n'a été décrit. Cette approche est d'ailleurs reprise par la Food and Drug Administration américaine pour prescrire les modalités d'étiquetage qui découlent de l'évaluation de l'allergénicité du nouvel aliment et qui doivent obligatoirement l'accompagner pour informer les consommateurs formant des « groupes à risque ».

L'origine du transgène, le fait de savoir si ce transgène exprime normalement dans les parties consommables de la plante, une protéine dont le potentiel allergène est reconnu est donc le premier aspect à prendre en compte dans l'identification et la maîtrise des points critiques pour la sécurité alimentaire.

Lorsque l'origine du transgène est un allergène alimentaire connu, l'étude américaine s'interroge alors pour déterminer 1) si ce transgène particulier code réellement une protéine allergénique qui sera exprimée dans la plante hôte, et 2) si l'Homme risque d'être exposé, c'est-à-dire si les organes où cet allergène est (sera) exprimé sont ceux avec lesquels on peut entrer en contact par voie respiratoire ou alimentaire. En cas de réponse négative à ces questions, et malgré une origine « à risque » du transgène, l'organisme

génétiquement modifié et/ou l'aliment qui en est constitué ou issu seraient considérés comme sans risque et ne nécessiteraient pas d'évaluation complémentaire ! Notons d'ailleurs d'emblée que dans la procédure proposée, la reconnaissance d'un risque allergénique réel pour le consommateur n'est pas censé entraîner de refus d'autorisation de mise sur le marché par les comités d'évaluation compétents, mais nécessiterait seulement un étiquetage de l'origine de l'aliment. Il ne semble pas que les positions françaises, voire européennes aillent pour l'instant dans ce sens.

CAS OU LE TRANSGÈNE PROVIENT D'UN ALLERGÈNE ALIMENTAIRE BIEN CONNU

Si le transgène introduit code un allergène connu, il est tout à fait probable que la plante transgénique va exprimer la protéine exogène avec son potentiel allergénique. C'est ce qui s'est passé lorsque la Société Pioneer Hi-Bred Int. a voulu intégrer dans le soja l'albumine 2S de la noix du Brésil. C'est une protéine de réserve riche en méthionine et cystéine et dont l'introduction dans le soja visait logiquement à rééquilibrer la composition protéique de la graine (naturellement pauvre en acides aminés soufrés) et donc à augmenter la valeur biologique du soja pour l'alimentation animale. Malheureusement, l'albumine 2S est un allergène reconnu par les IgE sériques des patients sensibles à la noix du Brésil, et ces mêmes patients reconnaissent tout autant cette protéine lorsqu'elle est exprimée non plus par la noix du Brésil, mais par le soja transgénique [10].

Nous-mêmes avons d'ailleurs montré que la β -lactoglobuline recombinante, exprimée dans *E. coli* possédait les mêmes caractéristiques immunologiques (en particulier de même immunoréactivité vis-à-vis d'IgE de patients allergiques au lait de vache) que la molécule native présente naturellement dans le lactosérum [11].

La position américaine voudrait que dans ce cas la commercialisation d'aliments constitués ou issus d'organismes génétiquement modifiés puisse être autorisée sous réserve d'essais complémentaires. Dans la mesure où l'organisme à l'origine du transgène est un allergène reconnu, des patients sensibles doivent pouvoir être recrutés et utilisés pour des tests *in vivo* et *in vitro*. Les tests *in vitro*, de type RAST, ou ELISA, soit directs, soit réalisés en inhibition compétitive devraient être réalisés sur au moins 14 sérums de patients dont l'allergie à l'organisme donneur du transgène est bien documentée. Ce nombre doit permettre de détecter la présence d'un allergène majeur avec une probabilité supérieure à 99 p. cent et de détecter un allergène mineur (avec lequel 20 p. cent de la population d'individus sensibles réagit) avec

une probabilité supérieure à 95 p. cent [9]. Un résultat positif doit conduire à un étiquetage de l'aliment transgénique. Un résultat négatif doit être confirmé par des tests *in vivo* : prick tests d'abord, puis si eux mêmes sont négatifs, par des tests de provocation en double aveugle contre placebo. En cas de réponse positive, là encore, l'étiquetage de l'origine du transgène doit figurer sur le nouvel aliment, sinon il est conclu que le transgène inséré ne code aucun allergène et un étiquetage spécifique n'est alors pas nécessaire.

**CAS OU LE TRANSGÈNE
PROVIENT D'UN ALLERGÈNE
ALIMENTAIRE PEU COURANT
OU D'UN ORGANISME
DONT L'ALLERGÉNITÉ
N'A JAMAIS ÉTÉ SUSPECTÉE**

Dans les cas où il ne serait pas possible de recruter 14 patients sensibles car l'organisme donneur du transgène n'est pas un allergène courant, l'AII et l'IFB estiment que des conditions moins strictes peuvent être appliquées pour l'évaluation de l'innocuité. S'il n'est pas possible de rassembler au moins 5 sérums de patients sensibles à l'organisme donneur du transgène, la probabilité de détecter, par des tests immunochimiques, un allergène majeur est alors inférieure à 95 p. cent. Il convient de compléter ces tests par une autre approche.

L'évaluation de l'allergénicité éventuelle de la molécule d'intérêt exprimée par le transgène reste une question primordiale mais complexe. Il s'agit dans la plupart des cas de protéines d'origine bactérienne, dont l'allergénicité est peu connue et mal établie. Elles sont d'ailleurs considérées parfois comme très faiblement allergènes. Peu de données historiques cliniques ou épidémiologiques sont généralement disponibles, les cas d'allergie sont peu ou mal répertoriés et les sérums de patients sensibilisés sont rares voire inexistantes. Il faut donc se tourner vers d'autres méthodes indirectes d'évaluation, voire de prédiction de l'allergénicité.

L'expérimentation animale ne permet pas de fournir, pour l'instant, de modèles pertinents extrapolables à l'homme, en raison à la fois des importantes variations de réponses observées chez l'animal en fonction de l'espèce, de l'individu, du mode de sensibilisation, de la nature de l'allergène..., et de la diversité de la réponse IgE humaine liée elle-même à la variabilité génétique de la population [12]. Dans le cas de l'étude de l'allergénicité de la noix du Brésil, les essais sur animaux avaient même conduit à considérer la « fameuse » albumine 2S comme un allergène mineur, voire un toléroène [13] !

Lorsqu'il n'existe aucun élément clinique ou historique permettant de suspecter une quelconque

allergénicité, le rapport de l'AII et de l'IFB propose une approche fondée sur la reconnaissance de l'identité ou de la similarité de la protéine d'intérêt exprimée avec des protéines, allergènes reconnus, dont la structure est connue et répertoriée dans des banques de données accessibles sur Internet. Des programmes de comparaison de séquences (BLAST ou FASTA) permettent l'analyse des homologies de séquences pouvant exister et d'identifier des fragments analogues, plus ou moins longs. L'existence de tels fragments comportant une succession d'au moins 8 résidus d'acides aminés contigus, identiques ou chimiquement similaires est considérée comme une présomption d'allergénicité. Alors qu'ils admettent qu'il n'y a pas de relation clairement établie entre la structure d'une protéine et la manifestation d'activité allergénique, les auteurs se fondent sur l'analyse et la localisation (mapping) des épitopes B et T des principaux allergènes, ainsi que sur l'étude des cross réactivités immunologiques observées entre allergènes apparentés ou non pour inférer qu'en l'absence de tels fragments, la probabilité est très faible que la molécule exprimée partage un épitope commun avec un allergène connu. Sur cette base, ils concluent que les aliments constitués ou issus d'organismes génétiquement modifiés actuellement sur le marché ne contiennent pas de protéines étrangères nouvelles ayant la moindre correspondance avec des allergènes connus et donc ne présentent pas de présomption d'allergénicité.

Cette approche permet d'éliminer rapidement des constructions à risque potentiel. Par contre, l'absence de séquences communes ou voisines d'une telle longueur ne constitue pas une garantie formelle d'innocuité en raison : 1) de la pauvreté des informations disponibles dans les banques de données où seule une fraction des allergènes sont répertoriés. C'est ainsi que la liste dressée dans le rapport analysé rassemble 160 aliments ou substances apparentées aux aliments pouvant être impliqués dans des cas d'allergie alimentaire. Ce n'est certainement pas exhaustif, et de plus, nombre d'entre eux ne sont pas indexés comme allergènes dans les bases de données sur la séquence des protéines, et ne peuvent donc être retrouvés en utilisant « allergène » comme clé de recherche ; 2) du fait que des alignements de séquences homologues, beaucoup plus courts que 8 résidus d'acides aminés consécutifs pourraient rendre compte de l'existence d'épitopes conformationnels de structures suffisamment voisines pour provoquer une cross-réactivité immunologique. On peut en effet noter à ce propos que des familles de protéines comme les lipocalines et les calycines, caractérisées par une structure tertiaire commune très conservée, dite en « barril β », et constituée d'arrangements de 8 ou 10 feuillets β antiparallèles, regroupent un grand nombre

d'allergènes très puissants : pneumallergènes tels que les allergènes majeurs présents dans la salive, les phanères ou les poils de souris, de chat, de cheval, ou trophallergènes comme la β -lactoglobuline du lait de vache [14, 15].

Dans ce cas, comme dans celui où l'étude directe par des tests *in vitro* n'aura pu être réalisée que sur moins de 5 sérums, si les résultats sont négatifs, le rapport propose alors de compléter l'évaluation par des tests « physico chimiques ».

Là encore la démarche est intéressante bien qu'elle ait de quoi surprendre *a priori*, puisque les auteurs s'appuient sur l'hypothèse, qu'ils justifient en partie, que les allergènes, en tant qu'entité chimique, pourraient se caractériser par un certain nombre de propriétés physico chimique communes alors qu'il n'existe pas de lien étroit bien établi entre la structure, ou entre la fonction d'une protéine et son caractère allergène éventuel.

Ces tests concernent la stabilité à la température, aux pH acides et plus généralement aux traitements subis lors des procédés technologiques industriels, la résistance à la dégradation par les enzymes digestives.

Partant du principe 1) que l'allergénicité est essentiellement le fait de la molécule protéique intacte, et 2) que plus une protéine sera résistante à l'hydrolyse lors de la digestion gastrique et intestinale, plus elle aura de chance d'être absorbée intacte par la muqueuse intestinale, et ainsi d'exercer son immunoréactivité au niveau des cellule immuno-compétentes, les auteurs du rapport américain proposent un modèle de digestion *in vitro* pour mesurer la résistance à la protéolyse. Appliqué aux principaux allergènes alimentaires, ce test fait apparaître une certaine corrélation : la stabilité est supérieure à 2 minutes, voire même à 1 heure pour des allergènes majeurs, alors que des protéines « anodines », comme les protéines d'intérêt actuellement exprimées dans les OGM, seraient dégradées dans les 15 secondes.

Ces critères sont pertinents, mais pas absolus : une protéine alimentaire sensible aux attaques enzymatiques et dégradée lors de la digestion comme la caséine entière, se révèle être un allergène aussi puissant que la β -lactoglobuline, protéine globulaire résistante aux protéases. De plus il est maintenant bien démontré que des fragments peptidiques, même de relativement courte longueur conservent une partie non négligeable de l'allergénicité de la molécule entière [16].

Un autre critère physico-chimique mis en avant est la résistance à la chaleur et plus généralement aux process industriels. Là encore une certaine corrélation entre la dégradation ou l'élimination

plus ou moins rapide de la protéine lors de ces opérations, et son caractère allergène a pu être montrée par les auteurs, et leur a permis de conférer à ce test un certain pouvoir prédictif, qui a été vérifié *a posteriori* sur les protéines d'intérêt actuellement exprimées dans les OGM.

Lorsque tous ces critères sont négatifs, l'aliment constitué ou issu d'organismes génétiquement modifiés est considéré comme parfaitement sain, non allergénique, et dispensé de tout étiquetage spécifique. Par contre lorsqu'une présomption d'allergénicité est établie par les tests *in vitro* sur sérums ou par l'analyse de séquences, un étiquetage sur le risque allergène éventuel doit accompagner la mise sur le marché du nouvel aliment. Si seuls les tests physico-chimiques sont « positifs », le problème de l'étiquetage reste entier.

Enfin d'autres considérations accessoires seraient à prendre en compte, qui nous paraissent par contre, elles, être essentielles.

La teneur dans l'aliment de la protéine d'intérêt exprimée par l'OGM est certainement un facteur important conditionnant la manifestation d'une activité allergène. Les allergènes alimentaires majeurs connus représentent une part importante dans la composition de l'aliment, dans le cas du soja, du lait ou de l'arachide, ils peuvent représenter de 1 à 80 p. cent des protéines totales. Par contre dans les aliments constitués ou issus d'organismes génétiquement modifiés la protéine d'intérêt qui est exprimée représente généralement de l'ordre de 0.01 à 0.4 p. cent du contenu en protéines.

D'autre part, jusqu'ici seule l'origine du transgène, c'est-à-dire l'organisme donneur, a été prise en compte. L'hôte a certainement aussi un rôle primordial dans la manifestation d'une allergénicité du nouvel aliment, allergénicité indirectement liée au transgène, et indépendante de la protéine d'intérêt exprimée. Les allergènes naturellement présents dans les aliments ont une origine multigénique. Ceci soulève dans le cas des OGM une question supplémentaire : le transgène inséré peut-il entraîner des effets pléiotropes sur le phénotype du transformant et, en particulier, modifier le niveau d'expression de certaines protéines endogènes, allergènes, normalement présentes dans les lignées naturelles ? Cet aspect a été pris en compte par Burks [17] qui a montré, mais par une technique de séparation relativement peu discriminante, que l'introduction du gène codant pour la protéine conférant la résistance au glyphosate ne provoque pas de modification qualitative et quantitative visible dans la composition en allergènes endogènes « naturels » du soja transgénique par rapport aux différentes variétés commerciales correspondantes.

LES ALLERGÈNES « CACHÉS » DES ALIMENTS

Il ne s'agit pas d'un problème propre aux nouveaux aliments, mais il s'y applique ; il prend une importance de plus en plus considérable et devra être systématiquement pris en compte pour assurer la sécurité des consommateurs [1].

Il s'agit d'allergènes présents parfois en quantités minimales dans des aliments dans lesquels le consommateur même averti ne s'attend pas à les trouver. Leur ingestion involontaire peut provoquer des manifestations minimales ou, au contraire, beaucoup plus graves, notamment lorsqu'il s'agit de traces résiduelles de dérivés d'arachide.

Ces allergènes indésirables et insoupçonnés peuvent provenir de contamination. Il peut également s'agir d'ingrédients ajoutés à doses trop faibles pour qu'il soit besoin de le mentionner à l'étiquetage ou utilisés à des fins d'auxiliaire technologique. L'étiquetage peut alors se référer à la fonction et non à l'origine. C'est ainsi que le lysozyme, allergène du blanc d'œuf, est utilisé comme conservateur, non seulement dans les aliments, mais également dans des cosmétiques ou des médicaments.

Le soja est également un grand pourvoyeur insidieux d'allergènes dans la viande les protéines de soja sont également incorporées dans les produits de boulangerie et de pâtisserie. Il intervient également à la base d'agents texturants, gélifiants, d'émulsifiants, en tant qu'hydrolysats ; fermenté, il entre dans la composition de sauces. La présence de résidus de protéines a également été rapportée dans des huiles végétales.

Steinman dans une revue récente [18] liste ainsi plusieurs dizaines d'aliments pouvant contenir des ingrédients dérivés d'allergènes reconnus comme les protéines d'œuf, de lait, de soja ou d'arachide. Le risque de présence d'un tel allergène est encore accru dans les plats préparés ou cuisinés.

Dans ces conditions, un régime d'éviction stricte est difficile à respecter et les risques d'accidents allergiques à un tel allergène ou à tel autre avec lequel il existe des sensibilisations croisées, devient de plus en plus important

Le problème est encore plus grave avec l'arachide qui est devenu l'allergène alimentaire le plus puissant, le plus fréquemment impliqué, et celui donnant les accidents les plus sévères. Son usage s'est considérablement répandu notamment sous forme de beurre d'arachide, et en tant qu'émulsifiant d'arôme, de constituant de sauce, ou sous forme d'hydrolysats dans les boissons.

CONCLUSION

En conclusion, jusqu'ici, rien ne permet donc de considérer les OGM comme étant plus ou moins allergéniques que les organismes natifs ou traditionnels correspondants, et à ce jour, on ne peut évaluer ni prédire de manière fiable et objective leur allergénicité. La stratégie en plusieurs étapes fondée sur un arbre de décisions et les procédures d'évaluation proposées par l'AAI et l'IFBC sont donc intéressantes et permettent une première approche de l'évaluation de l'innocuité. Il faut cependant noter que 1) la détection de la présence d'allergènes mineurs dans les aliments constitués ou issus d'organismes génétiquement modifiés ou d'une possible potentialité allergénique qui serait apparentée à un allergène mineur ne bénéficient pas encore de tests totalement fiables, 2) les conséquences pratiques de l'appréciation et de l'interprétation des résultats de cette procédure d'évaluation en terme de commercialisation et de règle d'étiquetage sont elles encore sujettes à discussion, 3) cette approche de type prédictif, devrait obligatoirement s'accompagner de la mise en place de mesures et de réseaux de surveillance de l'impact éventuel sur la santé publique de ces nouveaux aliments après leur autorisation de mise sur le marché. L'organisation et le développement des procédures de traçabilité de ces produits tout du long de la filière agro-alimentaire pourront permettre un tel suivi.

Ne connaissant pas encore les mécanismes qui transforment une glycoprotéine *a priori* banale en un allergène puissant [19], il convient d'étudier de manière approfondie l'impact des (bio)technologies modernes sur l'apparition de néo-allergènes ou la création de nouveaux épitopes d'allergénicité accrue.

RÉFÉRENCES

1. Moneret-Vautrin D. A. – Les allergènes alimentaires et leurs modifications par les technologies agro-alimentaires. *Rev. fr. Allergol.*, 1997, 37, 21-28.
2. Moneret-Vautrin D. A., Petihory D. – Risques allergiques des technologies alimentaires et des consommations de produits nouveaux. *Méd. Nutr.*, 1987, 23, 217-224.
3. Pascal G. – Évaluation de la sécurité alimentaire des plantes transgéniques. In : Les plantes transgéniques en agriculture. Dix ans d'expérience de la Commission de Génie Biomoléculaire. Kahn Éd., John Libbey Eurotext, 1996, Paris.
4. Pascal G. – Évaluation de la sécurité alimentaire des plantes transgéniques. *Ch. Nutr. Diet.*, 1997, 32, 17-18.

5. World Health Organization, Application of the Principles of Substantial Equivalence to the Safety Evaluation of Foods or Food Components from Plants Derived by Modern Biotechnology, World Health Organization, Food Safety Unit, Geneva, 1995, 63.
6. Organization for Economic Cooperation and Development, Food Safety Evaluation, OECD Publications, Paris, France, 1996.
7. Organisation Mondiale de la Santé, Stratégies d'Évaluation de la Salubrité des Aliments produits par Biotechnologie, Consultation conjointe FAO-OMS, OMS Genève, 1993.
8. Organization for Economic Cooperation and Development, Evaluation de la Sécurité des denrées Alimentaires issues de la Biotechnologie moderne : Concepts et Principes, OECD Publications, Paris, France, 1993.
9. Metcalfe D.D., Astwood J.D., Townsend R., Sampson H.A., Taylor S.L., Fuchs R.L. – Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1996, 36(S), S165-S186.
10. Nordlee J.A., Taylor S.L., Townsend J.A., Thomas L.A., Bush R.K. – Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybeans. *N. Engl. J. Med.*, 1996, 334, 688-692.
11. Chatel J.M., Bernard H., Clement G., Frobert Y., Batt C., Gavalchin J., Peltre G., Wal J.M. – Expression, purification and immunochemical characterization of recombinant beta-lactoglobulin, a major cow milk allergen. *Mol. Immunol.*, 1996, 33, 1113-1118.
12. Wal J.M. – Approches du risque allergique lié aux protéines issues de traitements technologiques. *Méd. Nut.*, 1991, 27, 133-139.
13. Melo V.M.M., Xavier-Filho J., Silva-Lima M., Prouvost-Danon A. – Allergenicity and tolerance to proteins from Brazil nut (*Bertholleria excelsa* H.B.K.). *Food Agric. Immunol.*, 1994, 6, 185-195.
14. Papiz M. Z., Sawyer L., Eliopoulos E. E., North A. C. T., Findlay J. B. C., Sivaprasad Rao R., Jones T. A., Newcomer M. E., Kraulis P. J. – The structure of beta-lactoglobulin and its similarity to plasma retinol-binding protein. *Nature*, 1986, 324, 383-385.
15. Dandeu J. P., Rabillon J., David B. – Structure et fonction de quelques protéines allergéniques d'origine animale et végétale. *Rev. Fr. Allergol.*, 1995, 35, 519-523.
16. Maynard F., Jost R., Wal J.M. – Human IgE binding capacity of tryptic peptides from bovine alpha-lactalbumin. *Int. Archs Allergy Immunol.* (in press).
17. Wesley Burks A.W., Fuchs R.L. – Assessment of the endogenous allergens in glyphosate-tolerant and commercial soybean varieties. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1995, 96, 1008-1010.
18. Steinman H.A. – « Hidden » allergens in foods. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1996, 98, 241-250.
19. Aas K. – What makes an allergen an allergen. *Allergy*, 1978, 33, 3-14.



ANNALES DE GÉNÉTIQUE

Rédaction : 31, bd de Latour-Maubourg, 75343 PARIS Cedex 07
Tél. : 01 40 62 64 00 – Télécopie : 01 45 55 69 20

Administration – Abonnements – Publicité : 15, rue Saint-Benoît, 75278 PARIS Cedex 06
Tél. : 01 45 48 42 60 – Télécopie : 01 45 44 81 55

ABONNEMENTS 1997 (4 numéros par an)

FRANCE : 1 600 F – Étudiant, CES : 800 F
ÉTRANGER : 1 780 FF – Étudiant : 890 FF

Les abonnements sont payables au comptant et ne sont mis en service qu'après réception du règlement.

Les chèques bancaires en provenance de l'étranger devront être adressés au compte n° 0651115557 CIC, Montparnasse, PARIS (France).

Checks drawn on banks in countries other than France should be made payable to account number 0651115557 CIC, Montparnasse, PARIS (France).