

ISSN 1529-2498

Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires
COMMISSION DU CODEX ALIMENTARIUS

CODEX ALIMENTARIUS

**ALIMENTS DÉRIVÉS
DES BIOTECHNOLOGIES**



ORGANISATION DES NATIONS UNIES
POUR L'ALIMENTATION ET L'AGRICULTURE
ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ



Pour des plus amples renseignements sur les activités de la Commission du Codex Alimentarius, prière de s'adresser au:

Secrétariat du Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires
Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
Viale delle Terme di Caracalla
00100 Rome, Italie

Téléphone:	(+39) 06 57051
Télécopie:	(+39) 06 57054593
Télex:	625852 or 625853
Courrier électronique:	Codex@fao.org
Site Web:	http://www.codexalimentarius.net

On peut se procurer les publications du Codex auprès des points de vente des publications de la FAO ou en s'adressant au:

Groupe des ventes et de la commercialisation
Division de l'information
Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
Viale delle Terme di Caracalla
00100 Rome, Italie

Télécopie:	(+39) 06 57053360
Courrier électronique:	publications-sales@fao.org

Les appellations employées dans ce produit d'information et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture ni de l'Organisation mondiale de la santé aucune prise de position quant au statut juridique ou au stade de développement des pays, territoires, villes ou zones ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites.

ISBN 92-5-205259-3

Tous droits réservés. Les informations contenues dans ce produit d'information peuvent être reproduites ou diffusées à des fins éducatives et non commerciales sans autorisation préalable du détenteur des droits d'auteur à condition que la source des informations soit clairement indiquée. Ces informations ne peuvent toutefois pas être reproduites pour la revente ou d'autres fins commerciales sans l'autorisation écrite du détenteur des droits d'auteur. Les demandes d'autorisation devront être adressées au Chef du Service de la gestion des publications, Division de l'information, FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italie ou, par courrier électronique, à copyright@fao.org

© FAO et OMS 2004

PRÉFACE

La Commission du Codex Alimentarius et le Programme Mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires

1. La Commission du Codex Alimentarius met en œuvre le Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires dans le but de protéger la santé des consommateurs et d'assurer des pratiques loyales dans le commerce alimentaire. Le *Codex Alimentarius* (en latin Loi ou Code alimentaire) est un recueil de normes alimentaires adoptées à l'échelon international présenté de manière uniforme. Il inclut également des dispositions à caractère consultatif sous forme de codes d'usages, de directives et de recommandations à l'appui des objectifs du Codex Alimentarius. La Commission a exprimé l'opinion que les codes d'usages peuvent fournir des listes récapitulatives des conditions à remplir utiles aux autorités nationales chargées du contrôle des denrées alimentaires ou de l'application de la législation alimentaire. La publication du Codex Alimentarius vise à guider et à promouvoir l'élaboration et l'établissement de définitions et d'exigences concernant les denrées alimentaires, à faciliter leur harmonisation et, ce faisant, à faciliter le commerce international.

Principes pour l'Analyse des Risques et Directives sur l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés des biotechnologies modernes

2. La Commission du Codex Alimentarius a adopté des Principes et Directives sur les aliments dérivés des biotechnologies à sa vingt-sixième session en 2003. Il s'agit de principes de portée générale sur l'analyse des risques des aliments dérivés des biotechnologies modernes et de directives pour l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés de plantes et microorganismes à ADN recombiné. Cette publication sous format réduit devrait permettre une plus ample utilisation et une meilleure compréhension de l'analyse des risques et de l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés des biotechnologies par les gouvernements, les autorités réglementaires, les industries alimentaires et tous ceux qui manipulent les aliments, et les consommateurs.

3. Des renseignements complémentaires concernant ces textes, ou tout autre aspect des travaux de la Commission du Codex Alimentarius, peuvent être obtenus en s'adressant au :

*Secrétaire,
Commission du Codex Alimentarius
Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires
FAO, Viale delle Terme di Caracalla,
00100, Rome, Italie
Télécopie: (+39) 06570 54593
Courrier électronique.: codex@fao.org
<http://www.codexalimentarius.net>*

TABLE DES MATIÈRES:

PRÉFACE	iii
PRINCIPES POUR L'ANALYSE DES RISQUES LIÉS AUX ALIMENTS DÉRIVÉS DES BIOTECHNOLOGIES MODERNES (CAC/GL 44-2003)	
SECTION 1 - INTRODUCTION	1
SECTION 2 – CHAMP D'APPLICATION ET DÉFINITIONS	2
SECTION 3 – PRINCIPES	3
DIRECTIVE RÉGISSANT LA CONDUITE DE L'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS DÉRIVÉS DE PLANTES À ADN RECOMBINÉ(CAC/GL 45-2003)	
SECTION 1 - CHAMP D'APPLICATION	8
SECTION 2 - DÉFINITIONS	9
SECTION 3 - INTRODUCTION À L'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS	9
SECTION 4 - CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES	13
SECTION 5 – AUTRES CONSIDÉRATIONS	22
APPENDICE: ÉVALUATION DE L'ALLERGÉNICITÉ POTENTIELLE	25
DIRECTIVE RÉGISSANT LA CONDUITE DE L'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS PRODUITS À L'AIDE DE MICROORGANISMES À ADN RECOMBINÉ (CAC/GL 46-2003)	
SECTION 1 – CHAMP D'APPLICATION	30
SECTION 2 – DÉFINITIONS	33
SECTION 3 - INTRODUCTION À L'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS	34
SECTION 4- CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES	40
APPENDICE: ÉVALUATION DE L'ALLERGÉNICITÉ POTENTIELLE	53

**PRINCIPES POUR L'ANALYSE DES RISQUES LIÉS
AUX ALIMENTS DÉRIVÉS DES BIOTECHNOLOGIES
MODERNES**

CAC/GL 44-2003

SECTION 1 – INTRODUCTION

1. Pour de nombreux aliments, le niveau de sécurité sanitaire généralement accepté par la société reflète l'historique de leur consommation sûre par l'homme. Il est reconnu que dans la plupart des cas, les connaissances requises pour gérer les risques associés aux aliments ont été acquises au cours de leur longue histoire d'usage. Les aliments sont généralement considérés sains pour autant qu'ils aient fait l'objet de soins particuliers durant le développement, la production primaire, la transformation, l'entreposage, la manutention et la préparation.
2. Les dangers associés aux aliments sont soumis au processus de l'analyse des risques de la Commission du Codex Alimentarius pour évaluer des risques potentiels et, si nécessaire, pour développer des approches en vue de gérer ces risques. La conduite de l'analyse des risques est guidée par les décisions générales de la Commission du Codex Alimentarius¹ ainsi que par les Principes de travail pour l'analyse des risques² du Codex.
3. Alors que l'analyse des risques est utilisée depuis longtemps pour les risques chimiques (ex: résidus de pesticides, contaminants, additifs alimentaires, et auxiliaires technologiques) et qu'elle l'est de plus en plus pour les dangers microbiologiques et les facteurs nutritionnels, les principes n'ont pas été élaborés spécifiquement pour les aliments entiers.
4. L'approche de l'analyse des risques peut, en termes généraux, être appliquée aux aliments, y compris ceux qui sont dérivés des biotechnologies modernes. Il est toutefois reconnu que cette approche doit être modifiée quand

¹ Ces décisions incluent les *Déclarations de principes concernant le rôle de la science dans la prise de décision du Codex et les autres facteurs à prendre en considération*, et les *Déclarations de principes sur le rôle de l'évaluation des risques en matière de sécurité sanitaire des aliments* (Commission du Codex Alimentarius, Manuel de procédure ; treizième édition).

² « Principes de travail pour l'analyse des risques destinés à être appliqués dans le cadre du Codex Alimentarius » (adoptés lors de la vingt-sixième session de la Commission du Codex Alimentarius, 2003; Manuel de Procédure de la Commission du Codex Alimentarius, treizième édition).

elle est appliquée à un aliment entier plutôt qu'à un danger bien précis qui pourrait être présent dans l'aliment.

5. Les principes présentés dans le présent document doivent être lus en conjonction avec les Principes de travail du Codex pour l'analyse des risques, dont ces principes sont complémentaires.

6. Le cas échéant, les résultats d'une évaluation de risques appliqués par d'autres autorités réglementaires peuvent être utilisés pour aider à l'analyse des risques et éviter une répétition du travail.

SECTION 2 – CHAMP D'APPLICATION ET DÉFINITIONS

7. L'objectif de ces principes est de fournir un cadre pour l'application de l'analyse des risques en matière de sécurité sanitaire et de nutrition des aliments dérivés des biotechnologies modernes. Ce document n'aborde pas l'environnement, les aspects éthiques, moraux et socio-économiques de la recherche, le développement, la production et la commercialisation de ces aliments³.

8. Les définitions ci-dessous s'appliquent à ces principes:

« *Biotechnologie moderne* » s'entend par l'application :

- (i) de techniques de manipulation *in vitro* des acides nucléiques, y compris la recombinaison de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'introduction directe d'acides nucléiques dans des cellules ou organites, ou
- (ii) de la fusion cellulaire d'organismes n'appartenant pas à une même famille taxonomique, qui surmontent les barrières naturelles de la physiologie de la reproduction ou de la recombinaison et qui ne sont pas des techniques utilisées pour la reproduction et la sélection de type classique⁴.

« *Produit traditionnel de référence* » signifie un organisme/variété apparenté, ses composants et/ou produits, pour lesquels il existe une expérience bien établie de la sécurité sanitaire basée sur son utilisation courante en tant qu'aliment.⁵

³ Ce document ne concerne pas l'alimentation animale ni les animaux nourris avec ces aliments sauf dans la mesure où ces animaux ont été développés au moyen de biotechnologies modernes.

⁴ Cette définition est tirée du Protocole de Cartagena sur la prévention des risques biotechnologiques relatif à la Convention sur la Diversité Biologique.

⁵ Il est admis que dans un avenir proche, les aliments dérivés des biotechnologies modernes ne seront pas utilisés comme produits traditionnels de référence.

SECTION 3 – PRINCIPES

9. Le processus de l'analyse des risques pour les aliments dérivés des biotechnologies modernes devrait être compatible avec les Principes de travail pour l'analyse des risques du Codex.

ÉVALUATION DES RISQUES

10. L'évaluation des risques comporte une évaluation de la sécurité sanitaire, qui vise à déterminer si un danger, d'ordre nutritionnel ou tout autre problème de sécurité sanitaire est présent, et dans l'affirmative, à collecter des informations sur sa nature et sa gravité. L'évaluation de la sécurité sanitaire devrait inclure une comparaison entre l'aliment dérivé des biotechnologies modernes et le produit traditionnel de référence, en mettant l'accent sur la détermination des similitudes et des différences. Si un danger nouveau ou modifié, nutritionnel ou un autre problème de sécurité sanitaire était identifié par l'évaluation des risques, les risques qui y sont associés devraient être caractérisés pour déterminer sa pertinence pour la santé humaine.

11. Une évaluation de la sécurité sanitaire est caractérisée par une évaluation d'un aliment entier ou de l'un de ses composants, par rapport au produit traditionnel de référence en :

- A) prenant en compte à la fois les effets souhaités et les effets inattendus ;
- B) identifiant des dangers nouveaux ou modifiés;
- C) identifiant des modifications pertinentes pour la santé humaine concernant les éléments nutritifs essentiels.

12. Une évaluation de la sécurité sanitaire avant la mise sur le marché devrait être entreprise, en suivant une approche structurée et intégrée, et effectuée sur la base du cas par cas. Les données et informations, basées sur une science solide, obtenues en utilisant des méthodes appropriées et analysées suivant des techniques statistiques appropriées, devraient être d'une qualité et, le cas échéant, d'une quantité qui puissent résister à une revue scientifique critique.

13. L'évaluation des risques devrait s'appliquer à tous les aspects pertinents des aliments dérivés des biotechnologies modernes. L'approche de l'évaluation des risques pour ces aliments est basée sur l'examen des informations et

données multidisciplinaires reposant sur des éléments scientifiques, en tenant compte des facteurs mentionnés dans les lignes directrices jointes⁶.

14. Les données scientifiques pour l'évaluation des risques sont généralement obtenues auprès de sources diverses, telles que l'obteneur du produit, la littérature scientifique, des informations techniques générales, des scientifiques indépendants, des organismes réglementaires, des organes internationaux et autres parties intéressées. Les données devraient être évaluées en utilisant des méthodes scientifiques appropriées d'analyse des risques.

15. L'évaluation des risques doit tenir compte de toutes les données scientifiques disponibles et informations provenant de différentes procédures analytiques, à condition que ces procédures soient scientifiquement solides et que les paramètres mesurés soient comparables.

GESTION DES RISQUES

16. Les mesures de gestion des risques pour les aliments dérivés des biotechnologies modernes devraient être proportionnelles aux risques, basées sur les résultats de l'évaluation des risques et tenir compte, le cas échéant, d'autres facteurs légitimes conformément aux dispositions générales de la Commission du Codex Alimentarius⁷ ainsi qu'aux Principes de travail pour l'analyse des risques du Codex.

17. Il devrait être reconnu que différentes mesures de gestion des risques peuvent être capables d'assurer le même degré de protection du consommateur en ce qui concerne la gestion des risques associés à la sécurité sanitaire et aux impacts nutritionnels sur la santé humaine, et seraient par conséquent équivalentes.

18. Les gestionnaires des risques devraient prendre en compte les incertitudes identifiées dans l'évaluation des risques et mettre en place des mesures appropriées pour gérer ces incertitudes.

⁶ Référence est faite à la Directive régissant la conduite de l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés de plantes à ADN recombiné (CAC/GL 46-2003) à la Directive régissant la conduite de l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments produits à l'aide de micro-organismes à ADN recombiné (CAC/GL 46-2003).

⁷ Voir la note de bas de page 1

19. Les mesures de gestion des risques peuvent inclure, le cas échéant, l'étiquetage des aliments⁸, les conditions pour l'approbation de commercialisation et la surveillance après la mise sur le marché.

20. La surveillance après la mise sur le marché peut être une mesure appropriée de gestion des risques dans des circonstances spécifiques. Sa nécessité et son utilité devraient être examinées au cas par cas, durant l'évaluation des risques et la possibilité d'application pratique devrait être examinée durant la gestion des risques. La surveillance après la mise sur le marché devrait être entreprise dans le but de :

- A) vérifier les conclusions au sujet de l'absence ou de l'éventuelle survenue, de l'impact et de l'importance d'effets potentiels sur la santé du consommateur ; et
- B) surveiller les changements dans les niveaux d'ingestion des nutriments, associés à l'introduction d'aliments susceptibles de modifier significativement le statut nutritionnel, afin d'établir leur impact sur la santé humaine.

21. Des outils spécifiques peuvent être nécessaires pour faciliter la mise en œuvre et l'application des mesures de gestion des risques. Ces outils peuvent comprendre des méthodes analytiques appropriées, des matériels de référence, et la traçabilité des produits⁹ dans le but de faciliter le retrait du marché quand un risque pour la santé humaine a été identifié ou la surveillance après la mise sur le marché dans les circonstances indiquées au paragraphe 20.

COMMUNICATION SUR LES RISQUES

22. Une communication efficace sur les risques est essentielle durant toutes les phases de l'évaluation et de la gestion des risques. C'est un processus interactif qui implique toutes les parties concernées, y compris le gouvernement, l'industrie, les milieux universitaires, les médias et les consommateurs.

23. La communication sur les risques devrait inclure des processus décisionnels transparents d'évaluation de la sécurité sanitaire et de gestion des risques. Ces processus devraient être totalement documentés à toutes les étapes et ouverts à la vérification publique, tout en respectant les préoccupations

⁸ Référence est faite à l'avant-projet de Directives du CCFL pour l'étiquetage des aliments et des ingrédients alimentaires obtenus à l'aide de certaines techniques de modifications génétiques/génie génétique à l'étape 3 des procédures.

⁹ Il est admis que le traçage de produit a d'autres applications. Celles-ci doivent se conformer aux dispositions des accords SPS et OTC. L'application de la traçabilité du produit dans les domaines couverts par les deux accords fait l'objet d'un examen au sein du Codex sur la base des décisions du Comité exécutif à sa quarante-neuvième session.

légitimes quant à la confidentialité des informations commerciales et industrielles. En particulier, les rapports préparés sur les évaluations de la sécurité sanitaire et les autres aspects du processus de décisions devraient être disponibles pour toutes les parties intéressées.

24. Une communication efficace sur les risques devrait inclure des processus de consultation réceptifs. Ces processus de consultation devraient être interactifs. Les points de vue de toutes les parties intéressées devraient être recherchés et les questions pertinentes de sécurité sanitaire des aliments et de nutrition soulevées durant cette consultation devraient être prises en compte pendant le processus d'analyse des risques.

COHÉRENCE

25. Une approche cohérente devrait être adoptée pour caractériser et gérer les risques portant sur la sécurité sanitaire des aliments et la nutrition associés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes. Des différences injustifiées de niveau des risques présentés par ces aliments et les produits traditionnels de référence devraient être évitées.

26. Un cadre réglementaire transparent et bien défini devrait être mis en place pour la caractérisation et la gestion des risques associés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes. Il devrait assurer la cohérence en ce qui concerne les données requises, les cadres pour l'évaluation, le niveau acceptable de risque, les mécanismes de communication et de consultation ainsi que des processus décisionnels rapides.

RENFORCEMENT DES CAPACITÉS ET ÉCHANGE D'INFORMATIONS

27. Des efforts devraient être faits pour améliorer les capacités des autorités réglementaires, en particulier dans les pays en développement, pour évaluer, gérer et assurer la communication sur les risques associés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes, y compris d'en imposer l'application, ou interpréter les résultats des évaluations réalisées par d'autres autorités ou organismes d'expertise reconnus, y compris l'accès aux technologies analytiques. En outre, le renforcement des capacités pour les pays en développement, que ce soit par des accords bilatéraux ou avec l'aide d'organisations internationales, devrait avoir pour but l'application de ces principes.¹⁰

¹⁰ Référence est faite à l'assistance technique des dispositions de l'Article 9 de l'accord SPS et de l'Article 11 de l'accord OTC.

28. Les autorités réglementaires, organisations internationales et organismes d'expertise et l'industrie devraient faciliter l'échange d'informations, y compris sur les méthodes analytiques, par le biais de points de contact appropriés comprenant mais sans s'y limiter les points de contact du Codex et d'autres moyens adéquats.

PROCESSUS DE RÉVISION

29. La méthodologie d'analyse des risques et sa mise en œuvre devraient être compatibles avec les nouvelles connaissances scientifiques et autres informations pertinentes pour l'analyse des risques.

30. Étant donné l'évolution rapide du secteur des biotechnologies, l'approche en matière d'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés des biotechnologies modernes devrait être autant que de besoin réexaminée, afin de s'assurer que les dernières informations scientifiques disponibles sont intégrées dans l'analyse des risques. Lorsque de nouvelles informations scientifiques concernant une évaluation de risques deviennent disponibles, l'évaluation devrait être revue pour intégrer cette information et, le cas échéant, les mesures de gestion des risques adaptées en conséquence.

**DIRECTIVE RÉGISSANT LA CONDUITE DE L'ÉVALUATION
DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS DÉRIVÉS DE
PLANTES À ADN RECOMBINÉ**

CAC/GL 45-2003

SECTION 1 - CHAMP D'APPLICATION

1. Cette directive est un complément des Principes pour l'analyse des risques des aliments dérivés des biotechnologies modernes. Elle traite de la sécurité sanitaire et des aspects nutritionnels des aliments composés ou dérivés de plantes possédant un historique d'une utilisation sans risque et qui ont été modifiées à l'aide de biotechnologies modernes pour exprimer des caractéristiques nouvelles ou changées.
2. Ce document ne s'applique ni aux aliments pour animaux ni aux animaux nourris avec ces aliments. Il ne traite pas non plus des risques pour l'environnement.
3. Les principes d'analyse des risques du Codex, particulièrement ceux pour l'évaluation des risques, sont tout d'abord destinés à être appliqués à des entités chimiques discrets comme les additifs alimentaires et les résidus de pesticides ou à un contaminant chimique ou microbien spécifique qui présentent des dangers ou des risques identifiables; ils ne sont pas destinés à s'appliquer aux aliments entiers comme tels. En effet, peu d'aliments ont été évalués scientifiquement d'une manière qui permette de caractériser tous les risques liés à ceux-ci. De plus, beaucoup d'aliments contiennent des substances qui seraient probablement classées comme dangereuses si elles avaient été soumises aux approches classiques d'analyse de sécurité sanitaire. Une approche plus focalisée est donc requise lorsque l'on considère la sécurité sanitaire d'un aliment entier.
4. Cette approche repose sur le principe que la sécurité sanitaire d'aliments dérivés de nouvelles variétés de plantes, notamment les plantes à ADN recombiné, est évaluée par rapport au produit traditionnel de référence ayant un historique d'une utilisation sans risque, en tenant compte à la fois des effets souhaités et des effets involontaires. Plutôt que de chercher à identifier tous les dangers associés à un aliment donné, le but est de déceler des dangers nouveaux ou changés par rapport au produit traditionnel de référence.
5. Cette approche d'évaluation de la sécurité sanitaire s'inscrit dans le cadre d'évaluation des risques tel qu'il est décrit à la Section 3 des *Principes d'analyse des risques liés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes*. Si un danger nutritionnel ou autre problème de sécurité alimentaire, nouveau ou changé, est identifié par l'évaluation de la sécurité, le risque associé à celui-ci

devrait d'abord être examiné pour mesurer son effet sur la santé humaine. Après l'évaluation de la sécurité sanitaire et, au besoin, l'évaluation d'autres risques, l'aliment devrait être soumis aux considérations de gestion des risques en accord avec les Principes d'analyse des risques liés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes avant que sa distribution commerciale ne soit envisagée.

6. Les mesures de gestion de risques telles que la surveillance après la mise sur le marché des effets sur la santé du consommateur peut aider le processus d'évaluation des risques. Elles sont décrites au paragraphe 20 des Principes pour l'analyse des risques liés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes.

7. Cette directive décrit l'approche recommandée pour effectuer les évaluations de sécurité sanitaire des aliments dérivés de plantes à ADN recombiné pour lesquelles existe un produit traditionnel de référence, et identifie les informations et données généralement applicables pour réaliser de telles évaluations. Bien que cette directive soit destinée aux aliments dérivés de plantes à ADN recombiné, l'approche décrite pourrait plus généralement être appliquée aux aliments dérivés de végétaux qui ont été modifiés par d'autres techniques.

SECTION 2 – DÉFINITIONS

8. Les définitions ci-dessous s'appliquent à la présente Directive.

« *Plante à ADN recombiné* » – signifie une plante dans laquelle le matériel génétique a été modifié au moyen de techniques de manipulation *in vitro* des acides nucléiques, y compris la recombinaison de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'introduction directe d'acides nucléiques dans les cellules ou les organites.

« *Produit traditionnel de référence* » – signifie une variété de plante apparentée, ses composants et/ou ses produits, pour lesquels existe une expérience de l'innocuité basée sur une utilisation courante en tant qu'aliment.¹

SECTION 3 - INTRODUCTION À L'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS

9. Traditionnellement, les nouvelles variétés de plantes alimentaires n'ont pas systématiquement été soumises à des évaluations chimiques, toxicologiques, ou nutritionnelles approfondies avant leur commercialisation, à l'exception des aliments destinés à des groupes spécifiques, comme les nourrissons, pour

¹ Il est reconnu que dans un avenir prévisible, les aliments dérivés des biotechnologies modernes ne seront pas utilisés comme produit traditionnel de référence.

lesquels l'aliment peut constituer une part importante du régime alimentaire. Ainsi, les caractéristiques agronomiques et phénotypiques de nouvelles variétés de maïs, soja, pomme de terre et autres plantes alimentaires courantes sont évaluées par les sélectionneurs, mais les aliments dérivés de ces nouvelles variétés ne sont généralement pas soumis à des procédures d'analyse de sécurité sanitaire rigoureuses et approfondies, telles que les études sur animaux, qui sont usuelles pour les produits chimiques comme les additifs alimentaires ou les résidus de pesticides qui pourraient être présents dans les aliments.

10. L'utilisation de modèles animaux pour évaluer les limites toxicologiques est un élément majeur de l'évaluation des risques associés à de nombreux composés tels que les pesticides. Toutefois, dans la plupart des cas, la substance à évaluer est bien définie, de pureté connue, sans valeur nutritive particulière, et l'exposition humaine au composé est généralement faible. Il est par conséquent relativement simple de donner de tels composés à des animaux à des doses d'ordres de grandeur plus élevés que les niveaux d'exposition attendus chez l'homme, afin de déceler les éventuels effets néfastes pour la santé humaine. De cette façon, il est possible, dans la plupart des cas, d'estimer les niveaux d'exposition pour lesquels on n'observe pas d'effets néfastes, et de fixer des niveaux d'ingestion sûrs en appliquant des facteurs de sécurité appropriés.

11. Les études sur animaux ne peuvent être directement appliquées à l'examen des risques associés avec des aliments entiers, qui sont des mélanges complexes de composés souvent caractérisés par une grande variation de composition et de valeur nutritionnelle. Du fait de leur volume et de leur effet sur la satiété, ils ne peuvent généralement être donnés aux animaux qu'à des doses qui ne sont que de faibles proportions des quantités qui constituent le régime alimentaire chez l'homme. En outre, la valeur nutritionnelle et l'équilibre des régimes alimentaires utilisés est un élément important que doivent prendre en considération les études sur les animaux pour éviter l'induction d'effets néfastes sans rapport direct avec l'aliment en question. Détecter des effets néfastes éventuels et les associer définitivement à une caractéristique particulière de l'aliment peut donc être extrêmement difficile. Si la caractérisation de l'aliments indique que les données disponibles sont insuffisantes pour une évaluation fine de la sécurité sanitaire, des études sur les animaux correctement conçues pourraient être demandées pour les aliments entiers. Quant à savoir s'il est nécessaire d'effectuer des études sur les animaux, il faut pour cela déterminer s'il convient ou non de soumettre des animaux d'expérience à de telles études lorsqu'il est peu probable que celles-ci aboutissent à des données pertinentes.

12. Compte tenu des difficultés que représente l'application des procédures traditionnelles d'essai toxicologiques et d'évaluation des risques aux aliments entiers, l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés des végétaux alimentaires, plantes à ADN recombiné incluses requiert une approche plus spécifique. D'où le développement d'une approche multidisciplinaire d'évaluation de la sécurité qui prend en compte à la fois les changements souhaités et les changements involontaires qui peuvent se produire dans la

plante ou dans les aliments dérivés de celle-ci, en utilisant le concept d'*équivalence substantielle*.

13. Le concept d'équivalence substantielle est une étape clé dans le processus d'évaluation de la sécurité sanitaire. Ce n'est pas en soi une évaluation de sécurité sanitaire, mais représente plutôt le point de départ utilisé pour structurer l'évaluation de la sécurité sanitaire d'un nouvel aliment par rapport au produit traditionnel de référence². Ce concept est utilisé pour identifier les similarités et les différences entre le nouvel aliment et son produit traditionnel de référence. Il aide à l'identification de problèmes éventuels de sécurité ou de nutrition et est considéré comme la stratégie la plus appropriée à ce jour pour évaluer la sécurité sanitaire des aliments dérivés de plantes à ADN recombiné. Effectuée de cette façon, l'évaluation des risques ne peut garantir la sécurité absolue du nouveau produit. Elle vise plutôt à évaluer la sécurité associée à tout écart observé afin de pouvoir comparer la sécurité offerte par le nouveau produit à celle du produit traditionnel de référence.

EFFETS INVOLONTAIRES

14. Lors de la réalisation de l'objectif consistant à conférer un caractère spécifique (effet souhaité) à une plante par l'insertion des séquences d'ADN définies, des caractères additionnels peuvent, dans certains cas, être acquis ou des caractères existants peuvent être perdus ou modifiés (effets involontaires). L'apparition éventuelle d'effets involontaires n'est pas limitée à l'usage des techniques de manipulation *in vitro* des acides nucléiques. C'est un phénomène inhérent et général qui peut aussi se produire au cours des sélections classiques. Les effets involontaires peuvent être nocifs, bénéfiques ou neutres en ce qui concerne la santé de la plante ou la sécurité sanitaire des aliments dérivés de celle-ci. Des effets involontaires se produisant dans les plantes à ADN recombiné pourraient aussi être dus à l'insertion de séquences d'ADN et/ou à des sélections classiques ultérieures des plantes à ADN recombiné. L'évaluation de la sécurité doit inclure des données et des informations pour réduire la possibilité qu'un aliment dérivé d'une plante à ADN recombiné ait un effet néfaste, involontaire sur la santé humaine.

15. Des effets involontaires peuvent résulter de l'insertion aléatoire de séquences d'ADN dans le génome de la plante, cette insertion pouvant interrompre ou réprimer des gènes existants et activer des gènes silencieux, ou induire des modifications d'expression des gènes existants. Des effets involontaires peuvent également résulter de la formation de nouveaux ou modifiés profils de métabolites. Par exemple, de hauts niveaux d'expression d'enzymes peuvent induire des effets biochimiques secondaires ou des

² Le concept d'*équivalence en substance* (équivalence substantielle) comme décrit dans le rapport de consultation mixte FAO/OMS d'experts (2000) (Document WHO/SDE/PHE/FOS/00.6, OMS, Genève, 2000).

changements dans la régulation des voies métaboliques et/ou de niveaux modifiés de métabolites.

16. Les effets involontaires dus à la modification génétique peuvent être subdivisés en deux groupes: ceux qui sont « prévisibles » et ceux qui sont « imprévus ». Beaucoup d'effets involontaires sont, dans la plupart des cas, prévisibles sur la base des connaissances que l'on a du gène introduit et de ses implications métaboliques ou du site d'insertion. Du fait de l'accroissement des informations sur le génome végétal et de l'accroissement de la spécificité en termes de matériel génétique introduit par les techniques de recombinaison d'ADN comparativement aux méthodes classiques de sélection végétale, il pourra être plus facile de prédire les effets involontaires d'une modification particulière. Des techniques de biologie et de biochimie moléculaires peuvent aussi être utilisées pour analyser les changements éventuels au niveau de la transcription des gènes et de la traduction des messagers, qui pourraient conduire à des effets involontaires.

17. L'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés de végétaux à ADN recombiné fait appel à des méthodes précises pour identifier et détecter de tels effets involontaires et des procédures pour évaluer leur explication biologique et leur impact éventuel sur la sécurité sanitaire des aliments. Diverses données et informations sont nécessaires pour évaluer des effets involontaires puisqu'un simple test n'est pas suffisant pour détecter tous les effets involontaires possibles ou identifier, avec certitude, ceux qui sont pertinents en matière d'impact sur la santé humaine. Ces données et informations, prises dans leur globalité, fournissent une garantie que l'aliment présente une faible probabilité d'avoir des effets néfastes sur la santé humaine. L'évaluation des effets involontaires prend en compte les caractéristiques agronomiques/phénotypiques de la plante qui sont communément observées par les sélectionneurs lors de la sélection de nouvelles variétés à commercialiser. Ces observations des sélectionneurs fournissent un premier crible des plantes qui révèlent des caractères indésirables. Les nouvelles variétés qui passent cette sélection sont soumises à une évaluation de la sécurité sanitaire comme décrit aux sections 4 et 5.

CADRE DE L'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS

18. L'évaluation de la sécurité sanitaire d'un aliment dérivé d'une plante à ADN recombiné suit un processus par étape au cours duquel sont examinés les facteurs importants suivants :

- A) la description de la plante à ADN recombiné;
- B) la description de la plante hôte et de son utilisation comme aliment ;
- C) la description du ou des organisme(s) donneur(s) ;
- D) la description de la ou des modification(s) génétique(s) ;

- E) la caractérisation de la ou des modification(s) génétique(s) ;
- F) l'évaluation de la sécurité sanitaire ;
 - a) substances exprimées (substances autres qu'acides nucléiques) ;
 - b) analyses de composition en constituants essentiels ;
 - c) évaluation des métabolites ;
 - d) procédés de transformation de l'aliment ;
 - e) modifications nutritionnelles ; et
- G) les autres considérations.

19. Dans certains cas, les caractéristiques du produit peuvent nécessiter la recherche de données et d'informations additionnelles pour aborder des questions particulières au produit en question.

20. Les expériences destinées à l'obtention de données pour les évaluations de sécurité devraient être conçues et conduites en accord avec des concepts et principes scientifiques solides ainsi que, le cas échéant, de Bonnes pratiques de laboratoire. Les données primaires devraient être fournies aux autorités réglementaires sur demande. Les données devraient être obtenues avec des méthodes scientifiques solides, et analysées avec les méthodes statistiques appropriées. La sensibilité de chaque méthode d'analyse devrait être documentée.

21. Le but de chaque évaluation de la sécurité sanitaire est de fournir la garantie, à la lumière des connaissances scientifiques les plus récentes, que l'aliment n'aura pas d'effets nocifs quand il est préparé, utilisé et/ou consommé selon son usage prévu. L'objectif souhaité de ce type d'évaluation devrait être de déterminer si le nouvel aliment est aussi sûr et nutritif que le produit traditionnel de référence en prenant en compte l'impact sur le régime alimentaire de tous les changements dans le contenu nutritionnel ou la valeur nutritionnelle. Par essence, l'objectif du processus d'évaluation de la sécurité est donc de définir le produit à l'étude de manière à ce que les gestionnaires des risques puissent déterminer si des mesures doivent être appliquées et, dans l'affirmative, prendre à cet égard des décisions éclairées et appropriées.

SECTION 4 - CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

DESCRIPTION DE LA PLANTE À ADN RECOMBINÉ

22. Une description de la plante à ADN recombiné présentée pour l'évaluation de la sécurité sanitaire devrait être fournie. Cette description devrait identifier l'espèce cultivée, le ou les événement(s) de transformation à examiner ainsi que le type et le but de la modification et son objectif. Cette description devrait être

suffisamment détaillée pour aider à comprendre la nature de l'aliment soumis à l'évaluation de la sécurité.

DESCRIPTION DE LA PLANTE HÔTE ET DE SON UTILISATION COMME ALIMENT

23. Une description détaillée de la plante hôte devrait être fournie. Les données et informations nécessaires devraient comprendre, mais sans nécessairement s'y limiter :

- A) le nom commun et usuel ; le nom scientifique ; et, la classification taxonomique ;
- B) un historique de la culture et du développement à travers la sélection, en particulier, en identifiant les caractères qui peuvent avoir un impact néfaste sur la santé humaine ;
- C) des informations sur les génotype et phénotype de la plante hôte concernant sa sécurité, incluant tout toxicité ou pouvoir allergisant connus ; et
- D) un historique d'une utilisation sûre pour la consommation en tant qu'aliment.

24. Les informations phénotypiques pertinentes devraient être fournies non seulement pour la plante hôte, mais aussi pour les espèces proches et pour les plantes qui ont contribué ou qui ont pu contribuer significativement à son patrimoine génétique.

25. L'historique d'utilisation peut inclure des informations sur la façon dont la plante est classiquement cultivée, transportée et stockée, si des procédés particuliers sont nécessaires pour rendre la plante saine à la consommation, et le rôle habituel que joue la plante dans le régime alimentaire (ex: quelle partie de la plante est utilisée comme source alimentaire, si sa consommation est importante dans certains sous-groupes de la population, quels macro- ou micro-éléments nutritifs importants elle fournit au régime alimentaire).

DESCRIPTION DE L'ORGANISME OU DES ORGANISMES DONNEUR(S)

26. Des informations devraient être fournies sur le ou les organisme(s) donneur(s) et, le cas échéant, sur d'autres espèces apparentées. Il est particulièrement important de déterminer si le ou les organisme(s) donneur(s) ou d'autres membres apparentés de la famille taxonomique montrent naturellement des caractéristiques pathogènes ou, produisent des toxines, ou ont d'autres caractères affectant la santé humaine (ex: présence de facteurs antinutritionnels). La description du ou des organisme(s) donneur(s) devrait inclure:

- A) son(ses) nom(s) usuel(s) ou courant(s) ;
- B) le nom scientifique ;

- C) la classification taxonomique ;
- D) des informations sur son histoire naturelle en ce qui concerne la sécurité sanitaire de l'aliment ;
- E) des informations sur les toxines, les allergènes et les facteurs antinutritionnels survenant naturellement ; pour les micro organismes, des informations complémentaires sur la pathogénicité et les relations avec des pathogènes connus ; et
- F) des informations sur des usages passés et présents, dans l'approvisionnement alimentaire et de voie(s) d'exposition autres que l'usage alimentaire prévu (ex: présence éventuelle en tant que contaminant).

DESCRIPTION DE LA OU DES MODIFICATION(S) GÉNÉTIQUE(S)

27. Des informations suffisantes devraient être fournies au sujet de la modification génétique pour permettre l'identification de tout le matériel génétique potentiellement délivré à la plante hôte et pour fournir les informations nécessaires à l'analyse des données pour étayer la caractérisation de l'ADN inséré dans la plante.

28. La description du processus de transformation devrait inclure :

- A) des informations sur la méthode utilisée pour la transformation (ex: transformation au moyen d'*Agrobacterium*) ;
- B) si cela est applicable, des informations sur l'ADN utilisé pour modifier la plante (ex: plasmides assistants), en incluant sa source (végétale, microbienne, virale, synthétique), son identité et ses fonctions attendues dans la plante ; et
- C) des organismes hôtes intermédiaires, y compris les organismes (ex: bactéries) utilisés pour produire ou modifier l'ADN qui a servi à la transformation de l'organisme hôte ;

29. Les informations devraient être fournies sur l'ADN introduit, incluant :

- A) la caractérisation de tous les composants génétiques, comprenant les gènes marqueurs, les éléments régulateurs et les autres éléments affectant la fonction de l'ADN ;
- B) la taille et l'identité ;
- C) la localisation et l'orientation des séquences dans le vecteur/construction final(e) ; et
- D) la fonction.

CARACTÉRISATION DE LA OU DES MODIFICATION(S) GÉNÉTIQUE(S)

30. Dans le but d'aboutir à une compréhension claire de l'impact sur la composition et la sécurité sanitaire des aliments dérivés de plantes à ADN recombiné, une caractérisation moléculaire et biochimique détaillée de chaque modification génétique devrait être effectuée.

31. Des informations concernant les insertions d'ADN dans le génome de la plante devraient être fournies; celles-ci devraient inclure :

- A) la caractérisation et la description des matériels génétiques insérés ;
- B) le nombre de sites d'insertion ;
- C) l'organisation du matériel génétique inséré à chaque site d'insertion, en incluant le nombre de copies et des données sur la séquence du matériel inséré et sur la région environnante, suffisantes pour identifier toutes substances exprimées du fait du matériel inséré, ou, lorsque cela est plus approprié, d'autres informations telles que les transcrits ou les produits d'expression, pour identifier toutes nouvelles substances qui peuvent être présentes dans l'aliment ; et
- D) l'identification de tout cadre de lecture ouvert au sein de l'ADN inséré ou créé par les insertions avec l'ADN contigu du génome de la plante, y compris de ceux qui pourraient conduire à la création de protéines fusion.

32. Des informations devraient être fournies sur toutes les substances exprimées dans la plante à ADN recombiné, ces informations devraient inclure :

- A) le(s) produit(s) du gène (une protéine ou un ARN non traduit) ;
- B) la fonction du ou des produit(s) du gène;
- C) la description phénotypique du ou des nouveaux caractères(s) ;
- D) les niveau et site d'expression dans la plante du ou des produit(s) du gène exprimé et les niveaux de ses métabolites dans la plante, particulièrement dans les parties comestibles ; et
- E) lorsque c'est possible, la quantité du ou des produits du gène cible si la fonction de(s) séquence(s)/gène(s) exprimés est d'altérer l'accumulation d'un ARNm ou d'une protéine endogène spécifique.

33. De plus, des informations devraient être fournies :

- A) pour démontrer si l'arrangement du matériel génétique utilisé pour l'insertion a bien été conservé ou si des réarrangements importants sont intervenus pendant l'intégration ;

- B) pour démontrer si les modifications délibérées faites à la séquence des acides aminés de la protéine exprimée résultent en des changements dans ses modifications post-traductionnelles ou affectent des sites critiques pour sa structure ou sa fonction ;
- C) pour démontrer si l'effet escompté de la modification a bien été obtenu et que tous les caractères exprimés sont exprimés et hérités d'une manière stable après plusieurs générations et qui soit en accord avec les lois de l'hérédité. Il peut s'avérer nécessaire d'examiner le caractère héréditaire du transgène lui-même ou l'expression de l'ARN correspondant au cas où les caractéristiques phénotypiques ne peuvent être observées directement ;
- D) pour démontrer si les nouveaux caractère(s) exprimés sont exprimés comme prévu dans les tissus appropriés, d'une manière et à des niveaux cohérents avec les séquences régulatrices associées qui contrôlent l'expression du gène correspondant ;
- E) pour indiquer s'il existe une quelconque preuve qui suggère qu'un ou plusieurs gènes de la plante hôte a (ont) été affecté(s) par le processus de transformation ; et
- F) pour confirmer l'identité et le profil d'expression de toutes nouvelles protéines fusion.

ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE

Substances exprimées (substances qui ne sont pas des acides-nucléiques)

Evaluation de la toxicité éventuelle

34. Les techniques de manipulation *in vitro* des acides nucléiques permettent l'introduction d'ADN, qui peut résulter en la synthèse de nouvelles substances dans les plantes. Ces nouvelles substances peuvent être des composés classiques des plantes alimentaires, comme les protéines, les graisses, les hydrates de carbone, les vitamines, qui sont nouveaux dans le contexte de cette plante à ADN recombiné. Les nouvelles substances peuvent également comprendre de nouveaux métabolites résultant de l'activité des enzymes générées par l'expression de l'ADN introduit.

35. L'évaluation de la sécurité sanitaire devrait tenir compte de la nature chimique et la fonction de la nouvelle substance exprimée et mesurer la concentration de la substance dans les parties comestibles de la plante à ADN recombiné, en incluant, le cas échéant, les valeurs moyennes et ses écart-types. L'exposition par le régime alimentaire actuel et les effets éventuels sur des groupes particuliers de la population devraient aussi être considérés.

36. Les informations devraient être fournies pour s'assurer que les gènes d'organisme(s) donneur(s) codant pour des toxines connues ou des facteurs antinutritionnels présents dans le ou les organisme(s) donneur(s) ne sont pas transférés à des plantes à ADN recombiné qui n'expriment pas normalement ces toxines ou caractéristiques antinutritionnels. Cette garantie est particulièrement importante dans les cas où une plante à ADN recombiné est préparée différemment du végétal donneur, étant donné que les techniques de transformation alimentaire habituellement associées à l'organisme donneur peuvent désactiver; dégrader ou éliminer les facteurs antinutritionnels ou les composés toxiques.

37. Pour les raisons décrites à la Section 3, des études toxicologiques classiques peuvent ne pas être considérées nécessaires lorsque la substance ou une substance apparentée très proche a, en tenant compte de sa fonction et de son exposition, déjà été consommée dans l'alimentation sans incidents. Dans les autres cas, l'utilisation d'études toxicologiques classiques appropriées ou d'autres études de la nouvelle substance peut-être nécessaire.

38. Dans le cas de protéines, l'évaluation de la toxicité potentielle devrait se focaliser sur les similarités des séquences d'acides aminés entre la protéine d'une part et les protéines toxiques et les facteurs antinutritionnels (ex : inhibiteurs de protéases, lectines) connus d'autre part, ainsi que sur leur stabilité, à la chaleur, ou au processus de transformation et à la dégradation dans des modèles de simulation représentatifs des conditions gastriques et intestinales. Des études de toxicité orales³ appropriées peuvent être nécessaires à mener dans le cas où la protéine présente dans l'aliment n'est pas similaire à des protéines précédemment consommées sans incidents dans les aliments, et en tenant compte de sa fonction biologique quand elle est connue.

39. La toxicité potentielle de substances non protéiques introduites qui n'ont pas été consommées sans incidents dans les aliments devrait être évaluée sur la base du au cas par cas selon l'identité et la fonction biologique de la substance dans la plante et selon l'exposition alimentaire. Le type d'études à réaliser peut inclure des études portant sur le métabolisme, la toxicocinétique, la toxicité subchronique, la toxicité chronique, la carcinogénicité, la toxicité sur la fonction de reproduction et le développement, conformément aux approches toxicologiques traditionnelles.

40. Cela peut nécessiter l'isolement de la nouvelle substance à partir de la plante à ADN recombiné, ou la synthèse ou la production de cette substance à partir d'une source alternative, auquel cas il devrait être montré que le matériel

³ Des lignes directrices pour les études de toxicité orale ont été élaborées dans les forums internationaux, par exemple, les Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques.

étudié est équivalent sur le plan biochimique, structurel et fonctionnel à celui produit dans la plante à ADN recombiné.

Evaluation de l'allergénicité potentielle (protéines)

41. Quand la ou les protéine(s) résultant du gène inséré est présente dans les aliments, son allergénicité potentielle devrait être évaluée dans tous les cas. Une approche au cas par cas, progressive et intégrée utilisée dans l'évaluation de l'allergénicité potentielle de(s) nouvelle(s) protéines exprimée(s) devrait reposer sur divers critères utilisés en combinaison (puisque aucun critère n'est à lui seul suffisamment prédictif pour l'allergénicité ou la non-allergénicité). Comme indiqué au paragraphe 20, les données devraient être obtenues avec des méthodes scientifiques solides. Une présentation détaillée des points à considérer se trouve dans l'annexe au présent document⁴.

42. Les nouvelles protéines exprimées dans les aliments dérivés de plantes à ADN recombiné devraient être évaluées pour tout rôle éventuel dans l'activation d'entéropathies de sensibilité au gluten si le matériel génétique exprimé est obtenu à partir de blé, seigle, orge, avoine, ou de graines de céréales apparentées.

43. Le transfert de gènes issus d'aliments communément allergéniques et à partir d'aliments connus pour induire l'entéropathie de sensibilité au gluten chez les sujets sensibles devrait être évité à moins que ne soit documenté le fait que le gène en question ne code pas pour un allergène ou pour une protéine impliquée dans l'entéropathie de sensibilité au gluten.

Analyses de la composition en composants clés

44. Des analyses de concentrations des composants clés⁵ des plantes à ADN recombiné et, spécialement ceux caractéristiques de l'aliment, devraient être comparées par une analyse équivalente d'un produit traditionnel de référence cultivé et récolté dans les mêmes conditions. Dans certains cas, il peut être nécessaire de considérer la nécessité d'une comparaison complémentaire avec la

⁴ Le rapport 2001 de la Consultation d'experts FAO/OMS qui comprend une référence à plusieurs arbres de décision a été utilisé pour élaborer l'Annexe à cette directive.

⁵ Les nutriments essentiels ou anti-nutriments essentiels sont les constituants d'un aliment donné pouvant avoir un impact substantiel sur le régime alimentaire. Ils peuvent être des constituants majeurs (nutriments: graisses, protéines, hydrates de carbone ; anti-nutriments: inhibiteurs d'enzymes) ou des constituants mineurs (minéraux, vitamines). Les principales substances toxiques sont les composés toxicologiquement significatifs connus et présents naturellement dans la plante, comme les composés dont la toxicité potentielle et les concentrations peuvent influencer significativement sur la santé (ex: la solanine des pommes de terre si sa concentration augmente, le sélénium dans le blé) et les allergènes.

plante à ADN recombiné cultivée dans les conditions agronomiques prévues (ex: application d'un herbicide). La signification statistique de toute différence observée devrait être évaluée dans le contexte de la gamme de la variation naturelle du paramètre analysé pour déterminer sa signification biologique. Le référentiel utilisé dans cette évaluation devrait être idéalement une lignée parentale la plus proche de l'isogénie. Cela peut ne pas être possible dans les cas, et dans ce cas la lignée la plus proche possible devrait être choisie. Le but de cette comparaison, conjointement à une nécessaire -évaluation de l'exposition, est d'établir que les substances importantes pour la nutrition ou qui peuvent affecter la sécurité sanitaire de l'aliment n'ont pas été altérées de telle façon qu'elles auraient un impact néfaste sur la santé humaine.

45. La localisation des sites d'essais devrait être représentative de la gamme de conditions environnementales dans laquelle cette variété de plante est censée être cultivée. Le nombre de sites d'essai devrait être suffisant pour permettre une évaluation précise des caractéristiques de composition dans l'ensemble de ces conditions. De même, les essais devraient être conduits sur un nombre de génération suffisant pour permettre une exposition conforme à la variété des conditions rencontrées dans la nature. Afin de minimiser les effets environnementaux, et pour réduire les effets de variations génotypiques survenant naturellement au sein d'une variété cultivée, chaque site d'essais devrait être répliqué. Un nombre adéquate de plantes devraient être échantillonnées et les méthodes d'analyse devraient être suffisamment sensibles et spécifiques pour détecter des variations des composants clés.

Evaluation des métabolites

46. Certaines plantes à ADN recombiné peuvent avoir été modifiées de telle sorte qu'il pourrait en résulter des nouveaux métabolites ou des modifications des niveaux de divers métabolites dans l'aliment. Une attention particulière devrait être portée à l'accumulation potentielle, dans les aliments, de métabolites qui pourraient avoir un effet néfaste sur la santé humaine. L'évaluation de la sécurité sanitaire de telles plantes nécessite l'investigation des niveaux de résidus et de métabolites dans l'aliment et l'évaluation de tout changement dans les profils des nutriments. Lorsque des modifications de niveaux de résidus ou de métabolites sont identifiés dans les aliments, une attention particulière doit être donnée aux impacts éventuels sur la santé humaine en utilisant les procédures classiques d'établissement de la sécurité sanitaire de tels métabolites (ex : procédures pour évaluer l'innocuité des produits chimiques dans les aliments pour la santé humaine).

Transformation des aliments

47. Les éventuels effets de la transformation des aliments, y compris une préparation à domicile, effectuée sur des aliments dérivé de plantes à ADN recombiné devraient être considérés. Par exemple, des changements peuvent survenir en ce qui concerne la stabilité à la chaleur d'un toxique endogène ou la biodisponibilité d'un élément nutritionnel important après transformation. De ce

fait, des informations décrivant les conditions de transformation appliquées dans la production d'un aliment à partir de la plante devraient être fournies. Par exemple, dans le cas d'huiles végétales, des informations devraient être fournies sur le processus d'extraction et les étapes de raffinage consécutives.

Modification nutritionnelle

48. L'évaluation d'une éventuelle modification de composition des nutriments clés, qui devrait être conduite pour toutes les plantes à ADN recombiné, a déjà été abordée dans les *Analyses de la composition en composants clés*. Toutefois, les aliments dérivés de plantes à ADN recombiné qui ont subi des modifications afin de modifier intentionnellement leur qualité nutritionnelle ou leur fonctionnalité devraient être soumis à des évaluations nutritionnelles supplémentaires pour évaluer les conséquences de ces changements, et montrer si l'apport en nutriments est susceptible d'être modifié par l'introduction de ce type d'aliments dans les rations alimentaires.

49. Des informations sur les profils d'utilisation et de consommation connus d'un aliment et de ses dérivés devraient être utilisées pour estimer la consommation probable des aliments dérivés de la plante à ADN recombiné considérée. Le niveau attendu de consommation de l'aliment devrait être utilisé pour évaluer les implications nutritionnelles du profil modifié des nutriments aux niveaux habituel et maximal de consommation. En basant ces estimations sur la probabilité de consommation la plus haute, on apporte la garantie que le potentiel de tout effet nutritionnel indésirable sera détecté. Une attention particulière devrait être portée aux caractéristiques physiologiques particulières et exigences métaboliques de groupes de population spécifiques, tels que les nourrissons, les enfants, les femmes enceintes ou allaitantes, les personnes âgées et celles souffrant de maladies chroniques ou de systèmes immunitaires déficients. Sur la base de l'analyse des impacts nutritionnels et des besoins alimentaires de sous-groupes spécifiques de la population, des évaluations nutritionnelles additionnelles peuvent s'avérer nécessaires. Il est aussi important de vérifier dans quelle mesure l'élément nutritif modifié est biodisponible et reste stable au cours du temps, de la transformation et du stockage.

50. La pratique de sélection de plantes, incluant les techniques de manipulation *in vitro* des acides nucléiques, pour modifier les niveaux de nutriments dans les plantes cultivées peut induire des changements importants dans le profil des nutriments de deux manières. La modification intentionnelle des composés de la plante peut changer l'intégralité du profil nutritionnel du produit de la plante et ce changement peut affecter le statut nutritionnel des individus qui consomment cet aliment. Des modifications imprévues dans les nutriments peuvent avoir les mêmes effets. Bien que les composés de la plante à ADN recombiné aient été individuellement évalués comme sûrs, l'impact du changement sur le profil général des nutriments devrait être déterminé.

51. Quand les modifications résultent en un produit alimentaire, comme de l'huile végétale, de composition significativement différente du produit traditionnel de référence il peut être approprié d'utiliser d'autres aliments ou composants alimentaires traditionnels (des aliments ou composants alimentaires dont la composition nutritionnelle est la plus proche de celle de l'aliment dérivé d'une plante à ADN recombiné) comme référentiels appropriés pour évaluer l'impact nutritionnel de l'aliment.

52. Du fait des variations géographiques et culturelles des profils de consommation alimentaire, des changements nutritionnels associés à un aliment spécifique peuvent avoir un impact plus important dans certaines régions géographiques ou cultures que dans d'autres. Quelques plantes servent de source majeure pour un nutriment particulier chez certaines populations. Les nutriments et les populations concernées devraient être identifiés.

53. Certains aliments peuvent nécessiter des tests complémentaires. Par exemple, des études d'alimentarité sur animaux peuvent être justifiées pour les aliments dérivés de plantes à ADN recombiné, si des changements sur la biodisponibilité des nutriments sont attendus ou si leur composition n'est pas comparable à celle d'aliments traditionnels. Les aliments conçus pour améliorer la santé peuvent nécessiter des études nutritionnelles spécifiques, toxicologiques, ou tout autre étude qui soit appropriée. Si la caractérisation de l'aliment indique que les données disponibles sont insuffisantes pour une évaluation complète de son innocuité, des études sur animaux correctement conçues peuvent être demandées sur les aliments entiers.

SECTION 5 – AUTRES CONSIDÉRATIONS

ACCUMULATION POTENTIELLE DE SUBSTANCES SIGNIFICATIVES POUR LA SANTÉ HUMAINE

54. Certaines plantes à ADN recombiné peuvent présenter des traits (par exemple, une tolérance à un herbicide) qui peuvent conduire indirectement à une accumulation potentielle de résidus de pesticides, de métabolites dégradés de ces résidus, de métabolites toxiques, de contaminants ou d'autres substances qui peuvent être néfastes pour la santé humaine. L'évaluation de la sécurité devrait prendre en compte ce potentiel d'accumulation. Les procédures traditionnelles pour établir la sécurité sanitaire de ces composés (c'est-à-dire pour l'évaluation de la sécurité des produits chimiques pour l'homme) devraient être appliquées.

UTILISATION DE GÈNES MARQUEURS DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

55. Les technologies de modification génétique alternatives qui ne conduisent pas à la présence de gènes marqueurs de résistance à un antibiotique devraient être utilisées pour des développements futurs de plantes à ADN recombiné,

lorsque ces technologies sont disponibles et qu'elles ont démontré qu'elles sont sûres.

56. Le transfert de gènes à partir des plantes et de leurs produits alimentaires à des micro-organismes de la flore intestinale ou à des cellules humaines est considéré comme une rare possibilité, du fait qu'il implique l'enchaînement de nombreux événements complexes et improbables. Néanmoins, la possibilité de tels événements ne peut pas être complètement écartée.⁶

57. Lors de l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments contenant des gènes marqueurs de résistance à un antibiotique, les facteurs suivants devraient être pris en considération :

- A) l'utilisation clinique et vétérinaire et l'importance de l'antibiotique en question ;

(Certains antibiotiques sont actuellement les seuls médicaments efficaces disponibles pour traiter certaines pathologies (ex: la vancomycine pour le traitement de certaines infections par staphylocoques). Les gènes marqueurs conférant la résistance à de tels antibiotiques ne devraient pas être utilisés dans les plantes à ADN recombiné).

- B) si la présence dans l'aliment d'une enzyme ou d'une protéine codée par le gène marqueur de résistance peut affecter l'efficacité thérapeutique d'un antibiotique administré par voie orale, et

(Cette évaluation devrait fournir une estimation de la quantité d'antibiotique ingéré par voie orale qui pourrait être dégradée du fait de la présence de l'enzyme dans l'aliment, en prenant en compte des facteurs tels que le dosage de l'antibiotique, la quantité d'enzyme susceptible de rester dans l'aliment après exposition aux conditions digestives, y compris dans des conditions neutres ou alcalines de l'estomac, et la nécessité de cofacteurs (ex : ATP) pour l'activité enzymatique ainsi que la concentration estimée de tels facteurs dans l'aliment.)

- C) l'innocuité du produit du gène, comme c'est le cas pour tout autre produit de gène exprimé.

58. Si l'analyse des données et des informations suggère que la présence du gène marqueur de résistance à un antibiotique ou un produit du gène présente des risques pour la santé humaine, le gène marqueur ou son produit ne devrait

⁶ Dans les cas où les bactéries résistantes à l'antibiotique existent à des hauts niveaux dans la nature, la probabilité que de telles bactéries transfèrent cette résistance à d'autres bactéries est d'ordres de grandeur plus élevés que celle de transferts des aliments ingérés aux bactéries.

pas être présent dans l'aliment. Les gènes de résistance à un antibiotique utilisés dans la production alimentaire qui confèrent des résistances à des antibiotiques utilisés à des fins thérapeutiques ne devraient pas être présents dans les aliments.

RÉVISION DES ÉVALUATIONS DE SÉCURITÉ SANITAIRE

59. L'objectif des évaluations de sécurité sanitaire est de pouvoir conclure si le nouvel aliment est ou non aussi sain que le produit traditionnel de référence en prenant en compte l'impact sur le régime alimentaire de tous les changements dans le contenu ou la valeur nutritionnels. Néanmoins, l'évaluation de la sécurité devrait être réexaminée à la lumière de toute nouvelle information scientifique qui remettrait en cause les conclusions de l'évaluation initiale de la sécurité.

**APPENDICE : ÉVALUATION DE L'ALLERGÉNICITÉ
POTENTIELLE**

SECTION 1 – INTRODUCTION

1. Toute nouvelle protéine exprimée⁷ chez les plantes à ADN recombiné qui pourrait être présente dans l'aliment final devrait être évaluée sur le plan de son potentiel à générer des réactions allergiques. Ceci devrait conduire à examiner si une protéine nouvellement exprimée correspond à l'une de celles auxquelles certaines personnes sont déjà sensibles, et si une protéine nouvelle, dans l'apport alimentaire est susceptible d'induire des réactions allergiques chez certaines personnes.
2. Il n'existe pas pour le moment de méthodes définitives qui permettent de prédire la relation d'une réaction allergique chez l'homme avec une protéine nouvellement exprimée. En conséquence, pour évaluer l'allergénicité potentielle des protéines nouvellement exprimées, il est recommandé d'utiliser une approche au cas par cas, progressive et intégrée. Cette approche prend en compte les preuves provenant de différents types d'information et de données, car aucun critère n'est à lui seul suffisamment prédictif.
3. Le résultat de l'évaluation est une conclusion quant à la probabilité que la protéine soit un allergène alimentaire.

SECTION 2 – STRATÉGIE D'ÉVALUATION

4. Les étapes initiales de l'évaluation de l'allergénicité potentielle de toute protéine nouvellement exprimée consistent à déterminer : l'origine de la protéine introduite, toute similarité significative entre la séquence d'acides aminés de la protéine et celle des allergènes connus, ses propriétés structurelles, y compris, sans s'y limiter, sa sensibilité à la dégradation enzymatique, et sa stabilité à la chaleur et /ou aux traitements enzymatique et acide.
5. Comme aucun test unique ne peut prédire la probabilité d'une réponse IgE humaine suite à une exposition par voie orale, la première étape pour caractériser des protéines nouvellement exprimées devrait être la comparaison de la séquence d'acides aminés et de certaines caractéristiques

⁷ Cette stratégie d'évaluation ne s'applique pas pour évaluer si les nouvelles protéines exprimées sont capables d'induire une sensibilité au gluten ou d'autres entéropathies. La question des entéropathies est traitée dans l'Évaluation de l'allergénicité potentielle (protéines), paragraphe 42 de la directive régissant la conduite de l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés de plantes à ADN recombiné. De plus, la stratégie ne s'applique pas à l'évaluation des aliments quand l'expression des produits géniques est réduite à des fins hypoallergéniques.

physicochimiques de la nouvelle protéine exprimée avec celles d'allergènes connus en suivant une méthode reposant sur le poids de la preuve. Cela nécessitera la purification de toutes nouvelles protéines exprimées chez la plante à ADN recombiné, ou la synthèse ou la production de la substance à partir d'une autre source, auquel cas le matériel devrait être démontré équivalent sur le plan structurel, fonctionnel et biochimique à celui produit dans la plante à ADN recombiné. Une attention particulière devrait être portée sur le choix de l'hôte d'expression, puisque des modifications post-traductionnelles permises par des hôtes différents (c'est-à-dire les systèmes eucaryotiques *versus* les systèmes procaryotiques) peuvent avoir un impact sur le potentiel allergénique de la protéine.

6. Il est important d'établir si la source est connue pour provoquer des réactions allergiques. Les gènes dérivés de sources allergéniques connues devraient être présumés codants pour un allergène, à moins que des preuves scientifiques démontrent le contraire.

SECTION 3 – ÉVALUATION INITIALE

SECTION 3.1 – SOURCE DE LA PROTÉINE

7. En tant qu'élément de données étayant la sécurité sanitaire des aliments dérivés des plantes à ADN recombiné, l'information devrait décrire tout cas d'allergénicité associé à l'organisme donneur. Les sources allergisantes de gènes seraient définies comme les organismes pour lesquels il existe une preuve raisonnable qu'ils causent des réactions allergiques médiées par les IgE suite à des expositions par la voie orale, respiratoire ou cutanée. La connaissance de la source de la protéine introduite permet l'identification des outils et des données pertinents à considérer pour l'évaluation de l'allergénicité. Ceux-ci comprennent : la disponibilité de sérums à des fins de criblage; le type, la gravité et la fréquence des réactions allergiques documentées; et les caractéristiques structurelles et la séquence des acides aminés; les propriétés immunologiques et physicochimiques (lorsque disponibles) des protéines allergéniques connues provenant de cette source.

SECTION 3.2 – HOMOLOGIE DE LA SÉQUENCE D'ACIDES AMINÉS

8. L'objectif de la comparaison des homologues de séquence est d'évaluer à quel point la structure d'une protéine nouvellement exprimée est similaire à celle d'un allergène connu. Cette information peut indiquer si cette protéine a un potentiel allergénique. Les recherches de l'homologie de séquence en comparant la structure de toute protéine nouvellement exprimée avec tous les allergènes connus devraient être effectuées. Les recherches devraient être menées en utilisant différents algorithmes, tels que FASTA ou BLASTP, afin de prédire toute similarité structurelle générale. Des stratégies, telles que des recherches par étapes de segments d'acides aminés contigus identiques peuvent être effectuées pour déterminer les séquences qui peuvent constituer des épitopes

linéaires. La taille des segments d'acides aminés contigus recherchés devrait être fondée sur une base scientifique justifiée en vue de minimiser la possibilité d'obtention de faux négatifs ou de faux positifs⁸. Des procédures d'évaluation et de recherche validées devraient être utilisées afin d'obtenir des résultats biologiquement pertinents.

9. La réactivité croisée des IgE entre une protéine nouvellement exprimée et un allergène connu devrait être considérée comme possible quand il y a plus de 35 % d'identité pour un segment de 80 acides aminés ou plus (FAO/OMS 2001) ou selon un autre critère scientifiquement justifié. Toutes les informations résultant de la comparaison de l'homologie de séquence entre la protéine nouvellement exprimée et les allergènes connus devraient être rapportées pour permettre une évaluation scientifiquement fondée au cas par cas.

10. Les recherches d'homologie de séquence ont certaines limites. En particulier, les comparaisons se limitent aux séquences d'allergènes connus se trouvant dans les banques de données accessibles au public et la littérature scientifique. Il y a également des limites dans la capacité de ces comparaisons à détecter des épitopes non contigus capables de se fixer eux-mêmes spécifiquement aux anticorps IgE.

11. Un résultat négatif d'homologie de séquence indique que la protéine nouvellement exprimée n'est pas un allergène connu et qu'elle n'est pas susceptible d'avoir une réactivité croisée avec des allergènes connus. Un résultat indiquant l'absence d'une homologie de séquence significative devrait être pris en compte avec l'ensemble des autres données découlant de cette stratégie lorsqu'on évalue le potentiel allergénique de protéines nouvellement exprimées. Des études approfondies devraient être menées lorsque cela s'avère nécessaire (voir aussi les sections 4 et 5). Un résultat positif d'homologie de séquence indique que la protéine nouvellement exprimée est susceptible d'être allergénique. Si le produit devait être considéré plus avant, il devrait être évalué au moyen de sérum provenant des personnes sensibles à la source allergénique identifiée.

SECTION 3.3 – RÉSISTANCE À LA PEPSINE

12. La résistance à la digestion par la pepsine a été observée pour différents allergènes alimentaires ; il existe donc une corrélation entre la résistance à la digestion par la pepsine et le potentiel allergénique.⁹ Par conséquent, la

⁸ On reconnaît que la consultation FAO/OMS 2001 a suggéré de faire passer de 8 à 6 acides aminés, les recherches de segments identiques. Plus la séquence de peptides utilisée dans la comparaison progressive est petite, plus il est vraisemblable d'obtenir des faux positifs et, inversement, plus la séquence de peptides utilisée est grande, plus il est vraisemblable d'obtenir des faux négatifs, ce qui réduit l'utilité de la comparaison.

⁹ La méthode décrite dans United States Pharmacopoeia (1995) a servi à établir cette corrélation (Astwood et coll. 1996).

résistance d'une protéine à la dégradation en présence de pepsine sous les conditions appropriées indique qu'il faut mener une analyse plus poussée pour déterminer si la protéine nouvellement exprimée est allergénique. L'établissement d'un protocole de dégradation de la pepsine cohérent et bien-validé pourrait améliorer l'utilité de cette méthode. Cependant, il devrait être pris en compte le fait que l'absence de résistance à la pepsine n'exclut pas que la protéine nouvellement exprimée puisse être un allergène avéré.

13. Bien que le protocole de résistance à la pepsine soit fortement recommandé, il est reconnu que d'autres protocoles de sensibilité aux enzymes existent. Ces autres protocoles peuvent être utilisés lorsque les justifications adéquates sont apportées.¹⁰

SECTION 4 – DÉPISTAGE DE SÉRUMS SPÉCIFIQUES

14. Pour ces protéines provenant d'une source allergénique connue, ou qui ont une homologie de séquence avec un allergène connu, des tests immunologiques devraient être effectués lorsque les sérums existent. Les sérums de personnes qui ont une allergie cliniquement reconnue à la source de protéine peuvent être utilisés pour tester la fixation spécifique de la protéine aux anticorps de la catégorie IgE dans des essais *in vitro*. La question critique pour de tels essais sera la disponibilité de sérums humains provenant d'un nombre suffisant de personnes.¹¹ De plus, la qualité des sérums et la procédure d'essai doivent être normalisées pour donner un résultat de test valide. Pour les protéines provenant de sources non connues pour être allergéniques et qui ne présentent pas d'homologie de séquence avec un allergène connu, un criblage ciblé de sérum, peut être considéré lorsque ces tests, tels que décrits au paragraphe 17, sont disponibles.

15. Dans le cas d'une protéine nouvellement exprimée dérivée d'une source allergénique connue, un résultat négatif lors d'essais immunologiques *in vitro* ne doit pas être considéré comme suffisant, mais devrait inciter à mener des essais supplémentaires, tels que le recours possible à des tests cutanés et à des

¹⁰ Rapport de la Consultation mixte FAO/OMS d'experts sur l'allergénicité des aliments dérivés des biotechnologies (2001) : section 6 « résistance à la pepsine ».

¹¹ Selon le rapport de la Consultation mixte FAO/OMS d'experts sur l'évaluation de l'allergénicité des aliments dérivés des biotechnologies (22-25 janvier 2001, Rome, Italie), un minimum de 8 sérums pertinents est requis pour atteindre une certitude de 99 % que la nouvelle protéine n'est pas un allergène dans le cas d'un allergène majeur. De même, un minimum de 24 sérums pertinents est requis pour atteindre le même niveau de certitude dans le cas d'un allergène mineur. Il est reconnu que ces quantités de sérums peuvent ne pas être disponibles pour des questions de mise à l'essai.

protocoles¹² *ex vivo*. Un résultat positif à de tels tests indiquerait un potentiel allergène.

SECTION 5 –AUTRES CONSIDÉRATIONS

16. L'exposition absolue à la protéine nouvellement exprimée et les effets des procédés de transformation alimentaire pertinents conduiront à une conclusion générale sur le potentiel de risque pour la santé humaine. À cet égard, la nature du produit alimentaire destiné à la consommation devrait être prise en considération lors de la détermination des types de transformation qui seraient utilisés et leurs effets sur la présence de la protéine dans le produit alimentaire final.

17. Comme les connaissances scientifiques et la technologie évoluent, d'autres méthodes et outils peuvent être examinés pour évaluer le potentiel d'allergénicité des protéines nouvellement exprimées dans le cadre de la stratégie d'évaluation. Ces méthodes devraient être scientifiquement solides et comprendre un criblage ciblé de sérum (c'est-à-dire l'évaluation de fixation sur IgE dans le sérum des individus avec des réponses allergiques validées cliniquement pour des catégories d'aliments largement apparentés); la constitution de banques de sérum internationales; l'utilisation de modèles animaux; et l'examen de protéines nouvellement exprimées pour les épitopes des cellules T et les motifs structurels associés aux allergènes.

¹² La procédure *ex vivo* est décrite comme étant le test de l'allergénicité à l'aide de cultures de cellules ou de tissus provenant de sujets humains allergiques (Rapport de la Consultation mixte FAO/OMS d'experts sur l'évaluation de l'allergénicité des aliments dérivés des biotechnologies).

**DIRECTIVE RÉGISSANT LA CONDUITE DE L'ÉVALUATION
DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS PRODUITS À
L'AIDE DE MICROORGANISMES À ADN RECOMBINÉ**

*CAC/GL 46-2003***SECTION 1 – CHAMP D'APPLICATION**

1. Cette directive s'appuie sur les *Principes de l'analyse des risques liés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes* et traite des aspects de sécurité sanitaire et des aspects nutritionnels liés aux aliments produits par action de microorganismes à ADN recombiné.¹ Les microorganismes à ADN recombiné utilisés pour produire ces aliments sont en général dérivés de procédés de biotechnologies modernes à partir de souches dont l'utilisation s'est avérée sûre et déterminante dans la production alimentaire. Cependant, lorsqu'il s'agit de souches receveuses dont les antécédents ne font pas état d'une utilisation sûre, leur sécurité devra être démontrée.² Ces aliments et ingrédients alimentaires peuvent contenir des microorganismes à ADN recombiné vivants ou non viables ou peuvent être fabriqués par fermentation à l'aide de microorganismes à ADN recombiné desquels ces derniers sont ensuite éliminés.

2. Compte tenu de la possibilité que les questions énumérées ci-après soient examinées par d'autres organismes ou d'autres instruments, le présent document ne traite pas de ce qui suit:

- la sécurité des microorganismes utilisés en agriculture (pour la protection des végétaux, à titre de biofertilisants, dans les aliments pour animaux ou dans les aliments dérivés d'animaux ayant consommé ces aliments pour animaux, etc.);
- les risques associés aux rejets dans l'environnement de microorganismes à ADN recombiné utilisés en production alimentaire;
- la sécurité des substances produites par les microorganismes utilisés comme additifs ou auxiliaires technologiques, y compris

¹ Les microorganismes impliqués dans ces applications sont les bactéries, les levures et les champignons filamenteux. (Les utilisations visées sont, sans s'y limiter, la production de yaourt, de fromage, de saucisson sec, de natto, de kimchi, de pain, de bière et de vin.)

² La définition des critères servant à déterminer la sécurité des microorganismes utilisés dans la production d'aliments en l'absence d'antécédents démontrant une utilisation sûre, sort du cadre du champ d'application du présent document.

les enzymes destinés à être utilisés dans la production alimentaire;³

- les présumés avantages spécifiques pour la santé ou les effets probiotiques éventuellement attribuables à l'utilisation de microorganismes dans les aliments; ou
- les questions associées à la sécurité des travailleurs du secteur de la production alimentaire qui manipulent des microorganismes à ADN recombiné.

3. De nombreux microorganismes utilisés dans la production alimentaire ont un long historique d'une utilisation sans risque antérieure aux évaluations scientifiques. Peu de microorganismes ont fait l'objet d'une évaluation scientifique permettant de caractériser de manière complète tous les risques potentiels liés aux aliments produits à l'aide de ces microorganismes, y compris, dans certains cas, la consommation de microorganismes vivants. En outre, les Principes d'analyse des risques du Codex, particulièrement ceux pour l'évaluation des risques, sont tout d'abord destinés à être appliqués à des entités chimiques comme les additifs alimentaires et les résidus de pesticides ou à des contaminants chimiques ou microbiens spécifiques qui présentent des dangers et des risques identifiables. Ces principes n'étaient pas au départ destinés à s'appliquer aux utilisations délibérées de microorganismes dans la transformation des aliments ou dans les aliments transformés par fermentation microbienne. Les évaluations de la sécurité sanitaire effectuées à ce jour ont ciblé principalement l'absence des propriétés associées à la pathogénicité de ces organismes et l'absence d'effets néfastes attribués à l'ingestion de ces organismes plutôt que l'évaluation des résultats d'études prescrites. De plus, beaucoup d'aliments contiennent des substances qui seraient probablement classées comme dangereuses, si elles avaient été soumises aux approches classiques d'évaluation de la sécurité sanitaire. Par conséquent, il convient d'adopter une approche plus ciblée pour évaluer la sécurité sanitaire d'un aliment entier.

4. Les informations dont il faut tenir compte pour développer une telle approche sont les suivantes:

- A) les diverses utilisations de microorganismes dans la production alimentaire;
- B) la prise en compte des types de modifications génétiques susceptibles d'avoir été provoquées dans ces organismes;

³ Le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA) révisé actuellement les Directives sur les spécifications et considérations générales pour les préparations enzymatiques utilisées dans la transformation des produits alimentaires. Ces directives ont été utilisées pour évaluer les préparations enzymatiques dérivées de microorganismes génétiquement modifiés.

- C) les différentes méthodologies disponibles pour évaluer leur sécurité;
- D) les questions spécifiques associées à l'utilisation de microorganismes à ADN recombiné utilisés dans la production alimentaire, y compris leur stabilité génétique, le potentiel de transfert de gènes, la colonisation du tractus gastro-intestinal et la persistance⁴ subséquente, les interactions que le microorganisme à ADN recombiné peut avoir avec la flore gastro-intestinale ou l'hôte mammifère, et enfin, tout impact du microorganisme à ADN recombiné sur le système immunitaire.

5. Cette approche est basée sur le principe que la sécurité sanitaire des aliments, produits à l'aide de microorganismes à ADN recombiné, est évaluée par rapport aux produits traditionnels de référence qui ont un historique d'une utilisation sans risque, non seulement pour l'aliment produit à l'aide du microorganisme à ADN recombiné, mais également pour le microorganisme lui-même. Cette approche tient compte à la fois des effets attendus et des effets non intentionnels. Plutôt que de chercher à identifier tous les dangers associés à un aliment donné ou au microorganisme, le but est de déceler des dangers nouveaux ou changés par rapport au produit traditionnel de référence.

6. Cette approche d'évaluation de la sécurité sanitaire s'inscrit dans le cadre d'évaluation des risques tel qu'il est décrit à la Section 3 *des Principes d'analyse des risques liés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes*. Si un danger nutritionnel ou autre problème de sécurité sanitaire des aliments, nouveau ou changé, est identifié par l'évaluation de la sécurité sanitaire, le risque associé à celui-ci devrait d'abord être examiné pour mesurer son impact sur la santé humaine. Après l'évaluation de la sécurité sanitaire et, si nécessaire, l'évaluation d'autres risques, l'aliment ou une partie de cet aliment, tel qu'un microorganisme utilisé dans sa production, devrait être soumis aux considérations de gestion des risques en accord avec *les Principes d'analyse des risques liés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes* avant que sa distribution commerciale ne soit envisagée.

7. Les mesures de gestion de risques telles que la surveillance après la mise sur le marché des effets sur la santé du consommateur, peuvent faciliter le processus d'évaluation des risques. Celles-ci sont examinées au paragraphe 20 des *Principes pour l'analyse des risques liés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes*.

⁴ La persistance sous-entend la survie de microorganismes dans le tractus gastro-intestinal sur une période d'au moins deux fois plus longue que la durée du transit intestinal (International Life Science Institute, *The safety assessment of viable genetically modified microorganisms used as food*, 1999, Bruxelles; Consultation mixte d'experts FAO/OMS sur les aliments dérivés des biotechnologies – *Évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés de microorganismes génétiquement modifiés*, 24 au 28 septembre 2001, Genève, Suisse).

8. Cette directive décrit les approches recommandées pour évaluer la sécurité sanitaire des aliments produits à l'aide de microorganismes à ADN recombiné, en les comparant à un produit traditionnel de référence. L'évaluation de la sécurité sera axée sur la sécurité sanitaire des microorganismes à ADN recombiné utilisés dans la production alimentaire, et si cela est approprié, sur celle des métabolites produits par l'action des microorganismes à ADN recombiné sur les aliments. Cette Directive identifie les données et informations qui sont en général utilisables pour réaliser de telles évaluations. Lorsqu'une comparaison est effectuée entre un microorganisme à ADN recombiné ou un aliment produit à l'aide d'un microorganisme à ADN recombiné et les produits traditionnels de référence respectifs, toutes les différences identifiées devraient être prises en compte, qu'elles résultent d'effets attendus ou involontaires. Il doit être dûment tenu compte des interactions du microorganisme avec la matrice alimentaire ou la microflore et de la sécurité sanitaire de toute nouvelle protéine exprimée et de tout métabolite secondaire produit. Bien que cette directive soit destinée aux aliments produits à l'aide de microorganismes à ADN recombiné ou de leurs composants, l'approche décrite pourrait s'appliquer de manière générale aux aliments produits à l'aide de microorganismes qui ont été modifiés par d'autres techniques.

SECTION 2 – DÉFINITIONS

9. Les définitions ci-dessous s'appliquent à la présente Directive:

« **Microorganisme à ADN recombiné** » – signifie des bactéries, des levures ou des champignons filamenteux dont le matériel génétique a été modifié au moyen de techniques de manipulation *in vitro* des acides nucléiques, y compris la recombinaison de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'introduction directe d'acides nucléiques dans les cellules ou les organites.

« **Produit traditionnel de référence** »⁵ - signifie:

- un microorganisme/une souche dont les antécédents font état d'une utilisation sûre au niveau de la production et/ou de la transformation d'aliments et apparenté à la souche d'ADN recombiné. Le microorganisme peut être vivant dans l'aliment, ou peut être éliminé lors de la transformation ou bien encore rendu non viable au cours de la transformation; ou
- un aliment produit à l'aide de microorganismes utilisés dans la production alimentaire classique pour lesquels existe une

⁵ Il est reconnu que, dans un avenir prévisible, les microorganismes dérivés des biotechnologies modernes ne seront pas utilisés comme produits traditionnels de référence.

expérience de sécurité basée sur une utilisation courante en production alimentaire.

SECTION 3 - INTRODUCTION À L'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS

10. La plupart des aliments produits par multiplication délibérée de microorganismes remontent à l'Antiquité et leur consommation a été démontrée comme étant sûre bien avant l'émergence de méthodes scientifiques pour évaluer leur sécurité. Les microorganismes possèdent des propriétés particulières, telles que des taux de croissance élevés, qui favorisent les modifications génétiques par l'intermédiaire de techniques conventionnelles ou de biotechnologies modernes qui peuvent être mises en oeuvre dans des délais courts. Les microorganismes utilisés dans la production alimentaire à partir de techniques génétiques conventionnelles n'ont pas fait l'objet d'évaluations chimiques, toxicologiques, épidémiologiques ou médicales systématiques et approfondies avant la commercialisation de ces aliments. A la place les microbiologistes, mycologues et technologues de l'industrie alimentaire ont plutôt évalué de nouvelles souches de bactéries, de levures et de champignons filamenteux, pour leurs caractéristiques phénotypiques jugées utiles dans le domaine de la production alimentaire.

11. Les évaluations de la sécurité sanitaire des microorganismes à ADN devraient apporter des informations sur les points suivants: l'utilisation de microorganismes apparentés dans les aliments, l'absence de propriétés connues comme caractéristiques des pathogènes, dans les microorganismes à ADN recombiné ou les souches receveuses utilisées pour la construction des microorganismes à ADN recombiné, ainsi que les effets néfastes connus au niveau des organismes receveurs ou apparentés. En outre, lorsque le microorganisme à ADN recombiné affecte directement l'aliment ou qu'il y demeure présent, tout effet sur la sécurité sanitaire de l'aliment devrait être examiné.

12. Le recours à des modèles animaux pour évaluer les effets toxicologiques joue un rôle important dans l'évaluation de nombreuses substances, tels que les pesticides. Toutefois, dans la plupart des cas, la substance qui doit être évaluée est déjà caractérisée de manière adéquate, d'un degré de pureté connu, sans valeur nutritionnelle particulière et une exposition humaine à cette substance faible. Par conséquent, il est relativement aisé d'introduire de tels composés dans l'alimentation des animaux à des doses plusieurs fois supérieures au niveau d'exposition humaine prévu, de manière à identifier tout effet néfaste potentiel significatif pour la santé humaine. Il sera ainsi possible, dans la plupart des cas, d'évaluer les niveaux d'exposition auxquels aucun effet néfaste n'est observable et fixer des niveaux admissibles d'ingestion en appliquant des coefficients de sécurité appropriés.

13. Les études effectuées sur les animaux ne peuvent pas s'appliquer d'emblée à l'évaluation des risques que présentent les aliments entiers, ceux-ci étant faits d'un mélange complexe de composés et souvent caractérisés par une grande variation de composition et de valeur nutritionnelle. En raison de leur volume et de leur effet au niveau de la satiété, ces aliments ne peuvent en général être donnés aux animaux qu'à des quantités plusieurs fois plus faibles que celles susceptibles d'être présentes dans le régime alimentaire humain. En outre, la valeur nutritionnelle et l'équilibre des régimes alimentaires utilisés sont des éléments importants que doivent prendre en considération les études sur les animaux de manière à prévenir l'induction d'effets néfastes étrangers au matériau lui-même. Par conséquent, la détection de tout effet néfaste potentiel et son imputabilité à une caractéristique particulière de l'aliment est extrêmement difficile. Si la caractérisation de l'aliment démontre que les données disponibles sont insuffisantes pour permettre d'effectuer une évaluation exhaustive de la sécurité sanitaire, des études expérimentales chez l'animal, conçues de manière adéquate, pourront être exigées pour les aliments entiers. Un autre point à prendre en compte, pour décider de la nécessité d'effectuer des études sur les animaux, est de déterminer s'il convient ou non de soumettre des animaux d'expérience à de telles études, lorsqu'il est peu probable que celles-ci aboutissent à des données pertinentes.

14. Les études effectuées sur les animaux et servant aux évaluations toxicologiques ne peuvent pas non plus s'appliquer automatiquement à l'évaluation des risques potentiels que présente l'ingestion de microorganismes utilisés dans la production alimentaire. Les microorganismes sont des entités vivantes, composés de structure complexe formée de beaucoup de substances biochimiques. Par conséquent, ils ne peuvent être comparés à des substances pures. Dans le cas de certains aliments transformés, les microorganismes peuvent survivre à la transformation et à l'ingestion du produit alimentaire et peuvent entrer en compétition avec d'autres microorganismes, voire même s'implanter dans le milieu intestinal sur des périodes de temps considérables. Des études animales appropriées devraient être utilisées pour évaluer la sécurité sanitaire de microorganismes à ADN recombiné, lorsque les antécédents du donneur, ou du gène ou du produit génique n'ont pas montré que leur utilisation était sûre, compte tenu des informations disponibles concernant le donneur et la caractérisation du matériel génétiquement modifié et du produit génique. En outre, des études animales conçues de manière adéquate pourront être utilisées pour évaluer la valeur nutritionnelle de l'aliment ou la biodisponibilité de la nouvelle substance exprimée dans l'aliment.

15. Compte tenu des difficultés que représente l'application des procédures traditionnelles d'essai toxicologiques et d'évaluation des risques aux aliments entiers, l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments produits à l'aide de microorganismes à ADN recombiné requiert une approche plus ciblée. C'est l'objectif visé par l'élaboration d'une approche pluridisciplinaire en matière

d'évaluation de la sécurité sanitaire qui tient compte de l'effet prévu, de la nature de la modification ainsi que des changements involontaires identifiables, qui peuvent survenir dans le microorganisme ou de son action sur l'aliment, selon le concept d'*équivalence substantielle*.⁶

16. Alors que l'évaluation de la sécurité sanitaire portera principalement sur le microorganisme à ADN recombiné, les informations supplémentaires relatives à son interaction avec la matrice alimentaire devront être prises en compte lors de l'application du concept d'équivalence substantielle qui constitue une étape primordiale de l'évaluation de la sécurité sanitaire. Cependant, le concept d'équivalence substantielle ne constitue pas en soi une évaluation de la sécurité sanitaire, mais bel et bien le point de départ structurel de l'évaluation de la sécurité sanitaire liée à la fois à un microorganisme à ADN recombiné par rapport au produit traditionnel de référence et à l'aliment produit à l'aide du microorganisme à ADN recombiné par rapport au produit traditionnel de référence. Ce concept permet d'identifier pour évaluer les similitudes et les différences entre le microorganisme à ADN recombiné utilisé au cours de la transformation alimentaire ainsi que l'aliment produit à l'aide de microorganismes à ADN recombiné et les produits traditionnels de référence respectifs tels que définis au paragraphe 9. Il facilite l'identification des problèmes potentiels de sécurité sanitaire et de nutrition et il est considéré comme la stratégie la plus appropriée pour l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments produits à l'aide de microorganismes à ADN recombiné. Effectuée de cette façon, l'évaluation des risques ne peut garantir la sécurité sanitaire absolue du produit. Elle vise plutôt à évaluer la sécurité de toute différence observée, afin de pouvoir comparer la sécurité sanitaire du microorganisme à ADN recombiné et l'aliment produit à l'aide du microorganisme à ADN recombiné à celle de leurs produits traditionnels de référence respectifs.

EFFETS NON INTENTIONNELS

17. En cherchant à conférer un caractère donné (effet intentionnel) à un microorganisme par addition, substitution, élimination ou réarrangement des séquences de l'ADN donné, y compris celles utilisées à des fins de transfert ou de maintien de l'ADN dans un organisme receveur, il se peut dans certains cas que des caractères supplémentaires soient acquis ou que des caractères existants disparaissent ou soient modifiés. Les possibilités que de tels effets non intentionnels se produisent ne se limitent pas aux techniques de manipulation *in vitro* des acides nucléiques. Il s'agit plutôt d'un phénomène général inhérent qui

⁶ Le concept d'*équivalence substantielle* tel que décrit par la Consultation mixte d'experts FAO/OMS sur les aliments dérivés des biotechnologies - Aspects de la sécurité des végétaux génétiquement modifiés, 29 mai – 2 juin 2000, Genève (Suisse) et la section 4.3 du document de la Consultation mixte d'experts FAO/OMS sur les aliments dérivés des biotechnologies - Évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés de microorganismes génétiquement modifiés, 24 - 28 septembre 2001, Genève (Suisse).

peut se produire lors du développement de souches à l'aide de techniques et procédures génétiques traditionnelles ou à la suite de l'exposition de microorganismes à des pressions de sélection provoquées ou accidentelles. Les effets non intentionnels peuvent être délétères, bénéfiques ou neutres quant à la compétition avec les autres microorganismes, l'adaptation écologique du microorganisme, les effets du microorganisme sur la santé humaine après ingestion ou la sécurité sanitaire des aliments produits à l'aide du microorganisme. Les effets non intentionnels peuvent également se produire au sein des microorganismes à ADN recombiné lors de la modification intentionnelle ou de la recombinaison des séquences de l'ADN ou de toute autre évènement naturel survenant dans le microorganisme à ADN recombiné. L'évaluation de la sécurité sanitaire devrait inclure les données et les informations pour réduire la possibilité qu'un aliment dérivé d'un microorganisme à ADN recombiné ait un effet néfaste imprévu sur la santé humaine.

18. Des effets non intentionnels peuvent également se produire à la suite de l'insertion de séquences ADN étrangères à un microorganisme dans le génome microbien. Elles pourront être comparées à celles observées lors de l'activité d'éléments génétiques transposables se produisant naturellement. L'insertion d'ADN peut modifier l'expression des gènes du génome chez le receveur. L'insertion d'ADN provenant de sources hétérologues dans un gène peut également provoquer la synthèse d'une protéine chimérique, également désignée sous l'appellation de protéine fusion. En outre, il faut tenir compte de l'instabilité génétique et de ses répercussions.

19. Des effets non intentionnels peuvent également entraîner la formation de nouveaux profils métaboliques ou la modification des profils existants. À titre d'exemple, l'expression d'enzymes à de fortes concentrations ou l'expression d'une enzyme nouvelle pour l'organisme peut provoquer des réactions biochimiques secondaires et modifier la régulation des voies métaboliques ou les concentrations de métabolites.

20. Les effets non intentionnels imputables à la modification génétique peuvent être répartis en deux groupes: ceux dits prévisibles et ceux dits « inattendus ». Beaucoup d'effets non intentionnels sont dans la plupart des cas prévisibles, car ils sont liés à la connaissance du caractère ajouté, aux conséquences métaboliques ou au site d'insertion. Il devrait être de plus en plus facile de prévoir les effets non intentionnels d'une modification donnée, compte tenu de l'accroissement de nos connaissances en matière de génomes microbiens et de physiologie microbienne ainsi que de la spécificité accrue de la fonction du matériel génétique introduit par l'entremise des techniques d'ADN recombiné par rapport aux autres formes de manipulation génétique. Des techniques de biologie et de biochimie moléculaires peuvent également être utilisées pour analyser les changements qui interviennent au niveau de la

transcription et de la traduction génétiques et qui peuvent conduire à des effets non intentionnels.

21. L'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments produits à l'aide de microorganismes à ADN recombiné fait appel à des méthodes précises pour identifier et détecter ces effets non intentionnels ainsi qu'à certaines procédures pour évaluer leur pertinence biologique et les impacts potentiels sur la sécurité sanitaire des aliments. Étant donné qu'aucun test individuel ne permet de détecter l'ensemble des effets non intentionnels ou d'identifier avec certitude les effets qui sont pertinents en matière de santé humaine, des données et informations variées sont requises pour évaluer ces effets non intentionnels. Ces données et informations, prises dans leur globalité, devraient confirmer qu'il est peu probable que l'aliment ait des effets néfastes sur la santé humaine. L'évaluation des effets non intentionnels doit tenir compte des caractéristiques biochimiques et physiologiques du microorganisme qui sont habituellement sélectionnées à des fins d'amélioration des souches utilisées pour la production de boissons et d'aliments vendus dans le commerce. Ce processus de détermination constitue le premier tri des microorganismes qui présentent des caractères non intentionnels. Les microorganismes à ADN recombiné qui franchissent cette première sélection seront ensuite soumis à une évaluation de la sécurité sanitaire, telle que décrite dans la section 4.

CADRE DE L'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS

22. L'évaluation de la sécurité sanitaire d'un aliment produit à l'aide d'un microorganisme à ADN recombiné repose sur l'évaluation de la sécurité sanitaire que présente l'utilisation dudit microorganisme en fonction d'un processus par étape au cours duquel les facteurs pertinents suivants sont examinés:

- A) La description du microorganisme à ADN recombiné;
- B) la description du microorganisme receveur et son utilisation dans la production alimentaire;
- C) la description du (ou des) organisme(s) donneur(s);
- D) la description de la (ou des) modification(s) génétique(s), y compris le vecteur et la construction;
- E) la caractérisation de la (ou des) modification(s) génétique(s);
- F) l'évaluation de la sécurité sanitaire:
 - a. des substances exprimées: évaluation de la toxicité potentielle et autres caractéristiques associées à la pathogénicité;
 - b. analyse de la composition des composants clés;
 - c. évaluation des métabolites;
 - d. effets sur le processus d'élaboration des aliments;

- e. évaluation des réactions immunologiques;
- f. évaluation de la viabilité et de la persistance de microorganismes dans le tractus gastro-intestinal humain;
- g. résistance aux antibiotiques et transfert de gènes; et,
- h. modification nutritionnelle.

23. Dans certains cas, les caractéristiques des microorganismes et/ou des aliments produits/transformés à l'aide de ces microorganismes rendront nécessaire la génération de données et d'informations supplémentaires, afin de répondre aux questions propres aux microorganismes et/ou produits alimentaires étudiés.

24. Les expériences prévues pour obtenir des données utiles aux évaluations de la sécurité sanitaire devraient être conçues et effectuées en fonction de concepts et de principes scientifiques objectifs ainsi que, lorsque cela est approprié, de bonnes pratiques de laboratoire. Les autorités chargées de la réglementation devraient avoir accès sur demande aux données essentielles. Les données devraient être obtenues par l'entremise de méthodes scientifiques objectives et analysées par le biais de techniques statistiques appropriées. La sensibilité de chaque méthode d'analyse devrait être consignée.

25. Toute évaluation de la sécurité sanitaire a pour but de démontrer, à la lumière des plus récentes connaissances scientifiques disponibles, que l'aliment n'aura pas d'effets néfastes lorsqu'il est préparé ou consommé conformément à l'utilisation prévue, pas plus que l'organisme lui-même n'aura d'effets néfastes lorsque des organismes vivants demeurent présents au sein de cet aliment. Les évaluations de la sécurité devraient cibler les aspects sanitaires qui touchent l'ensemble de la population, y compris les personnes immunodéprimées, les enfants et les personnes âgées. L'objectif souhaité de ce type d'évaluation devrait être de déterminer si les nouveaux aliments et/ou microorganismes sont aussi sûrs que le produit traditionnel de référence en tenant compte de l'impact sur le régime alimentaire de tous les changements sur l'équilibre ou la valeur nutritionnels. Lorsqu'il est probable que le microorganisme soit vivant au moment de l'ingestion, la sécurité de celui-ci devrait être comparée à celle du produit traditionnel de référence en tenant compte de la persistance du microorganisme à ADN recombiné dans le tractus gastro-intestinal et, le cas échéant, des interactions de celui-ci avec la flore gastro-intestinale des mammifères (en particulier des humains) et des impacts du microorganisme sur le système immunitaire. Par nature, l'objectif du processus d'évaluation de la sécurité sanitaire est de définir le produit à l'étude de manière à ce que les gestionnaires des risques puissent déterminer si des mesures doivent être appliquées pour protéger la santé des consommateurs et, dans l'affirmative, prendre à cet égard des décisions claires et appropriées.

SECTION 4 - CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES**DESCRIPTION DU MICROORGANISME À ADN RECOMBINÉ**

26. Il convient de fournir une description de la souche de bactéries, de levures ou de champignons ainsi que de l'aliment soumis à une évaluation de la sécurité sanitaire. Cette description devrait être suffisante pour aider à comprendre la nature de l'organisme ou de l'aliment produit en utilisant l'organisme faisant l'objet d'une évaluation de la sécurité sanitaire. Les microorganismes à ADN recombiné utilisés dans la production alimentaire ou contenus dans des aliments devraient être déposés comme cultures souches avec une identification appropriée grâce à des méthodes moléculaires, si possible dans des collections de culture établies. Cela pourrait faciliter l'examen de l'évaluation initiale de la sécurité. De telles cultures souches devraient être mises à la disposition des autorités réglementaires sur demande.

DESCRIPTION DU MICROORGANISME RECEVEUR ET SON UTILISATION DANS LA PRODUCTION ALIMENTAIRE

27. Il convient de fournir une description exhaustive du microorganisme receveur ou du microorganisme qui sera modifié. Les microorganismes receveurs devraient présenter un historique d'une utilisation sûre pour la production d'aliments ou que sa consommation alimentaire est sûre. Les organismes qui produisent des toxines, des antibiotiques ou autres substances qui ne devraient pas être présentes dans les aliments, ou qui comportent des éléments génétiques susceptibles de favoriser l'instabilité génétique, la résistance aux antibiotiques ou qui sont susceptibles de contenir des gènes porteurs de fonctions génératrices de pathogénicité (c'est-à-dire des gènes également réputés être des vecteurs pathogènes ou portant des facteurs de virulence) ne devraient pas être utilisés comme receveurs. Les données et informations requises devraient inclure, mais sans s'y limiter, les éléments suivants:

- A) identité: le nom scientifique, le nom usuel ou tout autre(s) nom(s) servant à désigner le microorganisme, la désignation de la souche, les informations relatives à la souche et à sa source, ou les numéros d'enregistrement ainsi que toute autre information provenant d'une collection de culture reconnue à partir de laquelle l'organisme ou ses antécédents peuvent être obtenus, et le cas échéant, les informations confirmant sa situation taxonomique;
- B) l'historique de son utilisation et de sa culture, les informations connues sur le développement de souches (y compris l'isolement des mutations ou des souches antérieures utilisées pour la construction de la souche); plus particulièrement l'identification des caractères susceptibles d'avoir des effets néfastes sur la santé humaine;

- C) les informations relatives au génotype et au phénotype du microorganisme receveur en rapport avec sa sécurité, y compris toutes toxines connues, antibiotiques, facteurs de résistance aux antibiotiques et autres facteurs reliés à la pathogénicité ou aux effets immunologiques, et les informations relatives à la stabilité génétique du microorganisme;
- D) des antécédents démontrant une utilisation sûre pour la production alimentaire ou une consommation sûre lorsqu'il est présent dans les aliments; et
- E) les informations relatives aux paramètres de production pertinents utilisés pour la culture du microorganisme receveur.

28. Les informations pertinentes concernant le génotype et le phénotype devraient être fournies non seulement pour le microorganisme receveur, mais aussi pour les espèces apparentées et pour tout autre(s) élément(s) génétique(s) extrachromosomique(s) qui contribue(nt) aux fonctions de la souche receveuse, surtout lorsque des espèces apparentées sont utilisées dans les aliments ou lorsqu'elles ont des effets pathogènes sur les humains ou sur les animaux. Il convient de tenir compte des informations relatives à la stabilité génétique du microorganisme receveur, y compris, le cas échéant, la présence d'éléments mobiles d'ADN, c'est-à-dire de séquences d'insertion, de transposons, de plasmides et de prophages.

29. Les antécédents en matière d'utilisation peuvent contenir certaines informations sur la manière dont le microorganisme receveur est habituellement cultivé, sur son transport et son stockage, sur les mesures d'assurance qualité habituellement appliquées, y compris celles servant à vérifier l'identité de la souche et les critères de production pour les microorganismes et les aliments, ainsi que des informations qui indiquent si ces organismes demeurent vivants au sein de l'aliment transformé ou s'ils sont éliminés ou rendus non viables à la suite de leur élaboration.

DESCRIPTION DU OU DES ORGANISME(S) DONNEUR(S)

30. Des informations devraient être fournies sur le (ou les) organisme(s) donneur(s) ainsi que, si cela est applicable, sur tout autre(s) organisme(s) intermédiaire(s), et lorsque cela est pertinent, sur les organismes apparentés. Il importe plus particulièrement de déterminer si le (ou les) organisme(s) donneur(s) ou intermédiaire(s), ou toute autre espèce étroitement apparentée présente de manière naturelle des caractères pathogènes ou de production de toxines, ou toute autre caractéristique pouvant affecter la santé humaine. La description du (ou des) organisme(s) donneur(s) ou intermédiaire(s) devrait inclure les éléments suivants:

- A) identité: le nom scientifique, le nom usuel ou tout autre nom servant à désigner le microorganisme, la désignation de la souche,

les informations relatives à la souche et à sa source, ou les numéros d'enregistrement ainsi que toute autre information provenant d'une collection de culture reconnue à partir de laquelle l'organisme et ses antécédents pourraient être obtenus, et le cas échéant, les informations confirmant sa situation taxonomique;

- B) les informations relatives à l'organisme ou aux organismes apparentés qui relèvent de la sécurité sanitaire de l'aliment;
- C) les informations relatives au génotype et au phénotype du microorganisme en rapport avec sa sécurité, y compris toute toxine connue et autres facteurs reliés à la pathogénicité ou aux effets immunologiques;
- D) les informations relatives aux utilisations antérieures et actuelles, s'il en est, dans la chaîne alimentaire et aux voies d'exposition autres que l'utilisation alimentaire prévue (par exemple, sa présence éventuelle en tant que contaminants).

DESCRIPTION DE LA (OU DES) MODIFICATION(S) GÉNÉTIQUE(S), Y COMPRIS DU VECTEUR ET DE LA CONSTRUCTION GÉNÉTIQUES

31. Il convient de fournir suffisamment d'informations sur la (ou les) modification(s) génétique(s), afin de permettre l'identification de tout matériel génétique qui sera éventuellement introduit ou modifié dans le microorganisme receveur. Il convient également de fournir les informations nécessaires à l'analyse des données à l'appui de la caractérisation de l'ADN ajouté, inséré, modifié ou éliminé au sein du génome microbien.

32. La description du procédé de construction de la souche devrait inclure les éléments suivants:

- A) les informations relatives à la (ou aux) méthode(s) utilisée(s) pour la modification génétique;
- B) les informations relatives à l'ADN utilisé pour modifier le microorganisme, y compris la source (par exemple, végétale, microbienne, virale ou synthétique), l'identité et la fonction prévue du microorganisme à ADN recombiné, le nombre de copies pour les plasmides; et
- C) les organismes receveurs intermédiaires y compris les organismes (par exemple, autres bactéries ou champignons) utilisés pour produire ou transformer l'ADN avant l'introduction au sein de l'organisme receveur final.

33. Il convient de fournir des informations sur l'ADN ajouté, inséré, éliminé ou modifié, notamment:

- A) la caractérisation de tous les éléments génétiques, y compris les gènes marqueurs, les vecteurs et les éléments régulateurs ou autres qui modifient la fonction de l'ADN;
- B) la taille et l'identité;
- C) la localisation et orientation de la séquence dans le vecteur/construction finale; et
- D) la fonction.

CARACTÉRISATION DE LA OU DES MODIFICATIONS GÉNÉTIQUES

34. Afin de mieux faire comprendre l'impact des modifications génétiques sur la composition et la sécurité sanitaire des aliments produits à l'aide de microorganismes à ADN recombiné, il convient d'effectuer une caractérisation moléculaire et biochimique exhaustive de la modification génétique. L'ADN qui doit être inséré devrait être limité de préférence aux séquences nécessaires pour remplir les fonctions voulues, afin de faciliter l'évaluation de la sécurité sanitaire.

35. Il convient de fournir des informations sur les modifications de l'ADN au sein du microorganisme à ADN recombiné. Ces informations devraient être les suivantes:

- A) la caractérisation et la description des matériels génétiques ajoutés, insérés, éliminés ou autrement modifiés, y compris les plasmides ou autres vecteurs d'ADN utilisés pour le transfert des séquences génétiques ciblées. Cela devrait inclure l'analyse du potentiel de mobilisation de tout plasmide ou autre élément génétique utilisé, la localisation du matériel génétique ajouté, inséré, éliminé ou autrement modifié (localisation chromosomique ou extrachromosomique); le nombre de copies du plasmide si le matériel inséré est situé sur un plasmide multicopie;
- B) le nombre de sites d'insertion;
- C) l'organisation du matériel génétique modifié à chaque site d'insertion, y compris le nombre de copies et les séquences du matériel inséré, modifié ou supprimé, des plasmides ou autres vecteurs d'ADN utilisés pour transférer les séquences génétiques ciblées, et les séquences avoisinantes. Ces informations permettront d'identifier toute substance exprimée résultant du matériel inséré, modifié ou supprimé;
- D) l'identification de tout cadre de lecture ouvert dans la séquence d'ADN insérée ou créée par les modifications de l'ADN contigu sur le chromosome ou le plasmide, y compris ceux qui pourraient entraîner l'émergence des protéines fusion; et

- E) une référence particulière à toute(s) séquence(s) connue(s) susceptible(s) de coder ou d'influencer l'expression des fonctions potentiellement dangereuses.

36. Il convient également de fournir des informations sur toutes les substances exprimées au sein d'un microorganisme à ADN recombiné. Lorsque cela est approprié, ces informations seront les suivantes:

- A) le(s) produit(s) du gène (par exemple, une protéine ou un ARN non traduit) ou toute autre information telle que l'analyse des transcripts ou produits d'expression, afin d'identifier les nouvelles substances susceptibles d'être présentes dans l'aliment;
- B) la fonction du (ou des) produit(s) du gène;
- C) la description phénotypique du ou des nouveaux caractères;
- D) le niveau et le site d'expression (intracellulaire, périplasmique – dans les organites pour les bactéries Gram négatif – sécrété pour les microorganismes eucaryotes) du (ou des) produit(s) du gène exprimé(s) et, s'il y a lieu, les concentrations de ses métabolites au sein de l'organisme;
- E) la quantité du (ou des) produit(s) du (ou des) gène(s) inséré(s) si la fonction de la (ou des) séquence(s) exprimée(s) ou gène(s) exprimé(s) consiste à modifier le niveau d'un ARN messager ou d'une protéine endogène spécifique; et
- F) l'absence d'un produit de gène ou, de métabolites de dégradation du produit de gène, si cela est applicable à la (ou aux) fonction(s) attendue(s) de la (ou des) modification(s) génétique(s).

37. En outre, il convient de fournir les informations qui permettront:

- A) de démontrer si la réorganisation du matériel génétique modifié a été préservée⁷ ou si des réarrangements significatifs se sont produits après l'introduction dans la cellule et la multiplication de la souche recombinante aux seules fins des utilisations prévues en matière de production alimentaire, y compris ceux qui peuvent survenir durant le stockage conformément aux techniques actuelles;

⁷ Les génomes microbiens sont plus fluides que ceux d'eucaryotes supérieurs, c'est-à-dire que les organismes se développent plus rapidement, s'adaptent aux changements environnementaux et sont plus aptes à subir des modifications. Les réarrangements chromosomiques sont répandus. La plasticité génétique générale des microorganismes peut avoir une incidence sur l'ADN recombiné des microorganismes et doit être prise en compte lors de l'évaluation de la stabilité des microorganismes à ADN recombiné.

- B) de démontrer si les modifications délibérées apportées à la séquence d'acides aminés de la protéine exprimée ont une incidence sur la modification post-traductionnelle ou sur les sites qui jouent un rôle fondamental au niveau de sa structure ou de sa fonction;
- C) de démontrer si l'effet prévu de la modification s'est concrétisé et que tous les caractères exprimés sont exprimés et hérités de manière stable tout au long des cycles de multiplication requis pour la ou les utilisations prévues dans le domaine de la production alimentaire et sont conformes aux lois de l'hérédité. Il peut être nécessaire d'étudier l'hérédité de l'ADN inséré ou modifié ou l'expression de l'ARN correspondant si les caractéristiques phénotypiques ne peuvent pas être mesurées directement⁸;
- D) de démontrer si le ou les nouveaux caractères s'expriment de la manière prévue et qu'ils ciblent les sites cellulaires appropriés ou sont sécrétés à des niveaux et de manière conformes aux séquences régulatrices associées qui gouvernent l'expression du gène correspondant;
- E) d'indiquer si oui ou non des éléments permettent de supposer qu'un ou plusieurs gènes du microorganisme receveur ont été affectés par les modifications ou par le processus d'échange génétique; et
- F) de confirmer l'identité et le profil d'expression de toute nouvelle protéine fusion.

ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE

38. L'évaluation de la sécurité sanitaire du microorganisme modifié devrait être effectuée au cas par cas, selon la nature et l'ampleur des changements introduits. Les études toxicologiques conventionnelles peuvent ne pas être nécessaires lorsque la substance ou une substance étroitement apparentée a, compte tenu de sa fonction et de l'exposition, été consommée de manière sûre dans un aliment. Les effets des microorganismes à ADN recombiné sur la matrice alimentaire devraient être pris en compte. Si la caractérisation de l'aliment démontre que les données disponibles sont insuffisantes pour permettre d'effectuer une évaluation exhaustive de la sécurité, des études expérimentales chez l'animal ou *in vitro* avec le microorganisme à ADN recombiné et/ou l'aliment produit à l'aide de celui-ci, conçues de façon appropriée, pourraient s'avérer nécessaires.

⁸ Les souches modifiées devraient être maintenues de façon à permettre la vérification de la stabilité génétique.

Substances exprimées: évaluation de la toxicité potentielle et autres caractéristiques relatives à la pathogénicité

39. Quand il s'agit d'introduire une nouvelle substance au sein d'un aliment ou du processus de transformation alimentaire, il faut recourir aux études toxicologiques conventionnelles ou autres études applicables concernant cette substance. Cela peut impliquer l'isolement de la nouvelle substance à partir du microorganisme à ADN recombiné, du produit alimentaire si la substance est sécrétée, voire même la synthèse ou la production de la substance à partir d'une autre source si nécessaire. Dans ce dernier cas, il conviendra de démontrer que la substance est équivalente à celle produite par le microorganisme à ADN recombiné sur le plan structurel, fonctionnel et biochimique. Il convient aussi de fournir des informations sur l'exposition prévue des consommateurs à cette substance, l'ingestion potentielle et l'impact éventuel de la substance sur le régime alimentaire.

40. L'évaluation de la sécurité sanitaire de la substance exprimée devrait tenir compte de sa fonction et de sa concentration au sein de l'aliment. La quantité de microorganismes vivants qui demeurent présents dans l'aliment devrait également être déterminée et comparée au produit traditionnel de référence. Les mesures quantitatives devraient être analysées à l'aide des techniques statistiques appropriées. L'évaluation devra également tenir compte de l'exposition par le régime alimentaire courante et des effets potentiels sur les sous-groupes de la population.

- En ce qui concerne les protéines, l'évaluation de la toxicité potentielle devrait tenir compte de la structure et de la fonction de la protéine et être axée sur les similitudes entre les séquences d'acides aminés de la protéine d'une part, et des toxines protéiques et des composés antinutritionnels (par exemple, les inhibiteurs de protéase et les sidérophores) connus d'autre part, ainsi que sur leur stabilité à la chaleur ou au processus de transformation et à la dégradation, dans des modèles gastriques et intestinaux de simulation représentatifs des conditions gastriques et intestinales. Lorsque la consommation d'une protéine présente dans un aliment n'a jamais été démontrée comme étant sûre et que cette protéine ne présente pas une similitude étroite avec des protéines dont la consommation s'est révélée sûre, il convient d'effectuer des études pertinentes de toxicité par voie orale⁹ en tenant compte de sa fonction biologique dans les microorganismes, si celle-ci est connue.

⁹ Des directives pour les études de toxicité par voie orale ont été élaborées dans différentes instances internationales, par exemple, les directives de l'OCDE pour les essais des substances chimiques.

- La toxicité éventuelle des substances non protéiques, qui n'ont pas déjà été consommées de manière sûre, devrait être évaluée au cas par cas en fonction de l'identité, de la concentration et de la fonction biologique de la substance, ainsi que selon le régime alimentaire. Parmi les différentes études qu'il conviendrait d'effectuer, notons les évaluations relatives au métabolisme, à la toxicocinétique, à la toxicité chronique et à la cancérogénicité, aux effets sur la fonction reproductrice et à la tératogénicité.

41. Il conviendrait de démontrer que les nouvelles propriétés exprimées ou les propriétés modifiées ne sont apparentées à aucune caractéristique des organismes donneurs susceptibles d'avoir des effets néfastes sur la santé. Des informations devraient être fournies pour s'assurer que les gènes codant des toxines connues ou des facteurs antinutritionnels que l'on sait présents dans les organismes donneurs ne sont pas transférés aux microorganismes à ADN recombiné qui, en général, n'expriment pas de telles caractéristiques toxiques ou antinutritionnelles.

- Des études *in vivo* ou *in vitro* supplémentaires pourraient être requises, au cas par cas, pour évaluer la toxicité des substances exprimées, en tenant compte de l'accumulation potentielle de l'une ou l'autre de ces substances, des métabolites toxiques ou des antibiotiques qui pourraient résulter de la modification génétique.

Analyses de la composition des éléments clés

42. Les analyses des concentrations des éléments clés¹⁰ contenus dans les aliments produits à l'aide de microorganismes à ADN recombiné devraient être comparées à des analyses équivalentes effectuées sur un produit traditionnel de référence produits dans des conditions similaires. La significativité statistique de toute différence observée devrait être évaluée en fonction de la fourchette naturelle de variation associée à ce paramètre afin d'en déterminer l'importance biologique. Le ou les référentiels utilisés dans le cadre de cette évaluation devrait idéalement être un aliment produit à partir d'une lignée parentale la plus proche de l'isogénie. Effectuée si nécessaire conjointement avec une évaluation

¹⁰ Les nutriments ou anti-nutriments clés sont parmi les constituants d'un aliment donné, ceux qui sont susceptibles d'avoir un impact considérable sur l'ensemble du régime alimentaire. Ils peuvent être des constituants nutritionnels majeurs (lipides, protéines, glucides), des inhibiteurs d'enzymes agissant à titre d'anti-nutriments, ou des composés mineurs (minéraux, vitamines). Les principaux facteurs toxiques sont les composés toxicologiquement importants que l'on sait produits par le microorganisme, tels que les composés dont le potentiel toxique et la concentration peuvent avoir une incidence sur la santé. Les microorganismes traditionnellement utilisés dans le cadre de la transformation d'aliments ne sont pas réputés produire de tels composés dans des conditions normales de production.

de l'exposition, cette comparaison vise à démontrer que les substances susceptibles d'avoir une incidence sur la sécurité sanitaire de l'aliment n'ont pas été modifiées de telle sorte qu'il pourrait avoir des effets néfastes sur la santé humaine.

Évaluation des métabolites

43. Certains microorganismes à ADN recombiné peuvent être modifiés de manière à obtenir de nouvelles concentrations ou des concentrations modifiées des différents métabolites présents dans les aliments produits à l'aide de ces microorganismes. En présence de concentrations modifiées de métabolites dans les aliments, il importe de tenir compte des impacts potentiels sur la santé humaine associés à l'utilisation de procédures conventionnelles lors de l'établissement de la sécurité des métabolites (par exemple, les procédures pour évaluer la sécurité pour l'homme des produits chimiques utilisés dans les aliments).

44. Les nouvelles concentrations ou les concentrations modifiées de métabolites produits par le microorganisme à ADN recombiné peuvent modifier la population de microorganismes en culture mixte et éventuellement accroître les probabilités de développement d'organismes dangereux ou d'accumulation de substances nocives. Les effets potentiels de la modification génétique d'un microorganisme sur les autres microorganismes devraient être évalués lors de l'utilisation d'une culture mixte de microorganismes dans la production alimentaire, notamment dans le cas de production de fromage naturel, de miso, de sauce au soja, etc.

Les effets de la transformation des aliments

45. Il importe également de tenir compte des effets potentiels de la transformation des aliments, y compris de la préparation à domicile, sur les aliments produits à l'aide de microorganismes à ADN recombiné. À titre d'exemple, des changements pourraient survenir au niveau de la stabilité thermique d'une substance toxique endogène ou de la biodisponibilité d'un nutriment important à la suite de la transformation. Des informations devraient, par conséquent, être fournies sur les conditions de production d'un aliment. Par exemple, dans le cas du yaourt, des informations devraient être fournies sur la croissance de l'organisme et sur les conditions de culture.

Évaluation des effets immunologiques

46. Le potentiel allergène de toute protéine résultant de l'insertion d'un gène et présente dans l'aliment devrait être évalué. Il convient d'analyser les probabilités que des personnes soient d'ores et déjà sensibles à la protéine et d'évaluer si une protéine nouvellement introduite dans la chaîne alimentaire provoquera ou non des réactions allergiques. Une présentation détaillée des questions, qui devraient être prises en compte, est donnée dans l'appendice de cette directive.

47. Il faut partir du principe que les gènes dérivés de sources allergéniques connues codent pour un allergène, et qu'il faut donc les éviter, à moins qu'il ne soit prouvé scientifiquement que ce n'est pas le cas. Le transfert de gènes provenant d'organismes connus pour induire l'entéropathie de sensibilité au gluten chez les sujets sensibles devrait être découragé, à moins que ne soit documenté le fait que le gène en question ne code pas pour un allergène ou pour une protéine impliquée dans l'entéropathie de sensibilité au gluten.

48. Les microorganismes à ADN recombiné qui demeurent vivants dans les aliments peuvent interagir avec le système immunitaire au niveau du tractus gastro-intestinal. Ces interactions seront analysées de manière plus approfondie en fonction de la nature des différences entre le microorganisme à ADN recombiné et le produit traditionnel de référence.

Évaluation de la viabilité et de la persistance des microorganismes dans le tractus gastro-intestinal humain

49. Pour certains aliments produits à l'aide de microorganismes à ADN recombiné, l'ingestion de ces microorganismes et leur persistance¹¹ peuvent avoir un impact sur le tractus intestinal humain. La présence de produits traditionnels de référence dans les aliments et la nature des effets intentionnels et non intentionnels des modifications génétiques dicteront la nécessité de recourir à des essais plus approfondis sur ces microorganismes. Si la transformation du produit alimentaire final élimine les microorganismes vivants (par exemple, par traitement thermique lors de la cuisson du pain) ou si l'accumulation de produits finaux toxiques pour le microorganisme (tel que l'alcool ou des acides) empêche la viabilité, il ne sera pas nécessaire d'étudier la viabilité et la persistance des microorganismes au sein du système alimentaire.

50. En ce qui concerne les applications pour lesquelles les microorganismes à ADN recombiné utilisés au cours de la production alimentaire demeurent vivants dans le produit alimentaire final, (par exemple les organismes présents dans certains produits laitiers), il serait souhaitable de démontrer la viabilité (ou la durée de résidence) du microorganisme seul et dans la matrice alimentaire respective dans le système digestif et l'impact sur la microflore intestinale par des systèmes appropriés. La nature des effets

¹¹ La colonisation permanente à long terme de microorganismes ingérés est une occurrence rare. Certains micro-organismes administrés par voie orale ont été retrouvés dans les matières fécales ou dans la muqueuse du côlon plusieurs semaines après interruption de l'alimentation. Que le microorganisme génétiquement modifié soit ou non établi dans le tractus gastro-intestinal, il reste possible qu'il puisse influencer la microflore ou l'hôte mammifère. (Consultation mixte FAO/OMS sur les aliments dérivés des biotechnologies – *Évaluation de la sécurité des aliments dérivés de microorganismes génétiquement modifiés*, 24-28 septembre, 2001, Genève (Suisse).

souhaités ou non intentionnels et l'importance des différences par rapport au produit de référence détermineront l'ampleur de ces essais.

RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES ET TRANSFERT DE GÈNES

51. En général, les souches traditionnelles de microorganismes développés à des fins de transformation des aliments n'ont pas fait l'objet d'une évaluation de leur résistance aux antibiotiques. Plusieurs microorganismes utilisés en production alimentaire possèdent une résistance intrinsèque à des antibiotiques précis. De telles propriétés n'excluent pas que ces souches puissent être utilisées comme receveuses lors de la construction de microorganismes à ADN recombiné. Toutefois, les souches dans lesquelles la résistance aux antibiotiques est codée par des éléments géniques transmissibles ne devraient pas être utilisées lorsque ces souches et ces éléments géniques sont présents dans l'aliment final. Toute indication de la présence de plasmides, de transposons et d'intégrons contenant de tels gènes de résistance aux antibiotiques devrait être prise en compte de manière spécifique.

52. Pour la sélection de microorganismes à ADN recombiné, il convient d'utiliser d'autres technologies dont la sécurité sanitaire a été démontrée et qui ne reposent pas sur les gènes marqueurs de résistance aux antibiotiques de microorganismes vivants et présents dans les aliments. En général, l'utilisation de marqueurs de résistance aux antibiotiques à des fins de construction de souches intermédiaires ne devrait pas présenter de dangers sérieux susceptibles d'empêcher l'utilisation des souches idéales pour la production d'aliments, à la condition toutefois que les gènes marqueurs de résistance aux antibiotiques aient été éliminés de la construction finale.

53. Le transfert de plasmides et de gènes entre la microflore intestinale résidente et les microorganismes à ADN recombiné ingérés peut survenir. Il faut également tenir compte de la possibilité que se produise le transfert de gènes de microorganismes à ADN recombiné et des produits alimentaires dérivés de microorganismes à ADN recombiné aux microorganismes présents dans l'intestin ou dans les cellules humaines, ainsi que des répercussions d'un tel transfert. Il est peu probable que l'ADN transféré se maintienne en l'absence de pression de sélection. Toutefois, on ne peut pas totalement écarter la possibilité que de tels événements se produisent.

54. Afin de minimiser les risques de transfert génétique, les étapes suivantes devraient être envisagées:

- A) l'intégration chromosomique du matériel génétique inséré est préférable à l'intégration au sein d'un plasmide;
- B) lorsque le microorganisme à ADN recombiné demeure viable dans le tractus gastro-intestinal, il faudrait éviter d'utiliser dans l'hybridation génétique des gènes susceptibles d'offrir un avantage sélectif aux

organismes receveurs auxquels le matériel génétique est transféré involontairement; et

- C) il convient d'éviter d'utiliser les séquences qui facilitent l'intégration dans d'autres génomes lors de la construction du matériel génétique introduit.

MODIFICATION NUTRITIONNELLE

55. L'évaluation de changements éventuels de la composition des principales substances nutritives, qui devrait être réalisée pour chaque aliment produit à l'aide de microorganismes à ADN recombiné, a déjà été abordée dans la section « *Analyses de la composition des éléments clés* ». Si de telles modifications ont été mises en œuvre, l'aliment devrait faire l'objet d'essais supplémentaires afin d'évaluer les répercussions de ces modifications et de déterminer si l'apport nutritionnel sera affecté ou non par l'introduction de ces aliments dans la chaîne alimentaire.

56. Les informations relatives aux modèles connus de l'utilisation et de la consommation d'un aliment et de ses dérivés devraient servir à évaluer l'ingestion potentielle de l'aliment produit à l'aide d'un microorganisme à ADN recombiné. L'ingestion prévue de cet aliment devrait à son tour être utilisée pour évaluer les implications sur le plan nutritionnel du nouveau profil nutritionnel à des niveaux de consommation moyen et maximal. Une estimation fondée sur le taux de consommation probable le plus élevé permettra de détecter tout effet nutritionnel néfaste potentiel. Il convient de porter une attention particulière aux caractéristiques physiologiques et aux exigences métaboliques particulières de certains groupes de populations tels que les enfants en bas âge, les enfants, les femmes enceintes et les femmes allaitantes, les personnes âgées et les personnes souffrant de maladies chroniques ou ayant un système immunitaire affaibli. Des évaluations nutritionnelles supplémentaires pourraient être nécessaires selon les résultats des analyses des impacts nutritionnels et les besoins alimentaires de groupes de populations particuliers. Il importe également de déterminer l'ampleur de la biodisponibilité de la substance nutritive modifiée et de sa stabilité au fil du temps ainsi qu'au cours de la transformation et du stockage.

57. L'utilisation de biotechnologies modernes pour modifier les concentrations de nutriments dans les aliments produits à l'aide de microorganismes pourrait entraîner de vastes changements au sein du profil nutritionnel. La modification délibérée du microorganisme pourrait modifier le profil nutritionnel global du produit et, par conséquent, affecter l'état nutritionnel des personnes qui consomment cet aliment. L'impact des modifications susceptibles d'affecter le profil nutritionnel global du produit devrait être déterminé.

58. Lorsque la modification donne naissance à un produit alimentaire dont la composition diffère considérablement de celle du produit traditionnel de

référence, il conviendra d'utiliser d'autres aliments ou composants alimentaires traditionnels (c'est-à-dire des aliments dont la composition nutritionnelle se rapproche davantage de celle de l'aliment produit à l'aide d'un microorganisme à ADN recombiné) à titre de référentiels appropriés pour évaluer l'impact nutritionnel de l'aliment.

59. Certains aliments peuvent devoir être soumis à des essais supplémentaires. À titre d'exemple, des études d'alimentation sur les animaux peuvent être justifiées dans le cas d'aliments produits à l'aide de microorganismes à ADN recombiné si l'on anticipe des changements au niveau de la biodisponibilité des substances nutritives ou si la composition des produits obtenus n'est pas comparable à celle des produits traditionnels. En outre, les aliments conçus à des fins diététiques pourront faire l'objet d'une évaluation qui dépasse le champ d'application de la présente directive, notamment des études nutritionnelles, toxicologiques ou autres spécifiques et appropriées. Si la caractérisation de l'aliment démontre que les données disponibles sont insuffisantes pour permettre d'effectuer une évaluation exhaustive de la sécurité, des études expérimentales chez l'animal, conçues de manière adéquate, pourront être exigées pour les aliments entiers.

RÉVISION DES ÉVALUATIONS DE LA SÉCURITÉ

60. L'objectif d'une évaluation de la sécurité sanitaire est de déterminer si l'aliment produit à l'aide d'un microorganisme à ADN recombiné est aussi sûr que le produit traditionnel de référence prenant en compte l'impact sanitaire de tous les changements dans le contenu ou la valeur nutritionnelle. Toutefois, l'évaluation de la sécurité sanitaire devra être révisée à la lumière des nouvelles informations scientifiques qui remettent en question les résultats de l'évaluation initiale de la sécurité.

**APPENDICE : ÉVALUATION DE L'ALLERGÉNICITÉ
POTENTIELLE**

SECTION 1 – INTRODUCTION

1. Toute nouvelle protéine exprimée¹² produite par des microorganismes à ADN recombiné, qui pourrait être présente dans l'aliment final, devrait être évaluée sur le plan de son potentiel à générer des réactions allergiques. Ceci devrait conduire à examiner, si une protéine nouvellement exprimée correspond à l'une de celles auxquelles certaines personnes sont déjà sensibles, et si une protéine nouvelle dans l'apport alimentaire est susceptible d'induire des réactions allergiques chez certaines personnes.
2. Il n'existe pas pour le moment de méthodes définitives qui permettent de prédire la relation d'une réaction allergique chez l'homme avec une protéine nouvellement exprimée. En conséquence, pour évaluer l'allergénicité potentielle des protéines nouvellement exprimées, il est recommandé d'utiliser une approche au cas par cas, progressive et intégrée. Cette approche prend en compte les preuves provenant de différents types d'informations et de données, car aucun critère n'est à lui seul suffisamment prédictif.
3. Le résultat de l'évaluation est une conclusion quant à la probabilité que la protéine soit un allergène alimentaire.

SECTION 2 – STRATÉGIE D'ÉVALUATION

4. Les étapes initiales de l'évaluation de l'allergénicité possible de toute protéine nouvellement exprimée consistent à déterminer: l'origine de la protéine introduite, toute similarité significative entre la séquence d'acides aminés de la protéine et celle des allergènes connus, et ses propriétés structurelles, y compris, sans s'y limiter, sa sensibilité à la dégradation enzymatique, et sa stabilité à la chaleur et /ou aux traitements enzymatique et acide.
5. Comme aucun test unique ne peut prédire la probabilité d'une réponse IgE humaine, suite à une exposition par voie orale, la première étape pour caractériser des protéines nouvellement exprimées devrait être la comparaison de la séquence d'acides aminés et certaines caractéristiques physicochimiques

¹² Cette stratégie d'évaluation n'est pas applicable pour évaluer si les nouvelles protéines exprimées sont capables d'induire une sensibilité au gluten ou d'autres entéropathies. La question des entéropathies est traitée dans *l'Évaluation des effets immunologiques*, paragraphe 47, de la Directive régissant la conduite de l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments produits à l'aide de microorganismes à ADN recombiné. De plus, la stratégie ne n'est pas applicable à l'évaluation des aliments quand l'expression des produits géniques est réduite à des fins hypoallergéniques.

de la nouvelle protéine exprimée avec celles d'allergènes connus en suivant une méthode reposant sur le poids de la preuve. Cela nécessitera la purification de toutes protéines nouvellement exprimées produites par des microorganismes à ADN recombiné ou la synthèse ou la production de la substance à partir d'une autre source, auquel cas le matériel testé devrait être démontré comme équivalent sur le plan structurel, fonctionnel et biochimique à celui produit par des microorganismes à ADN recombiné. Une attention particulière devrait être portée sur le choix de l'hôte d'expression, puisque des modifications post-traductionnelles permises par des hôtes différents (c'est-à-dire les systèmes eucaryotiques *versus* les systèmes procaryotiques) peuvent avoir un impact sur le potentiel allergénique de la protéine.

6. Il est important d'établir si la source est connue pour provoquer des réactions allergiques. Les gènes dérivés de sources allergéniques connues devraient être présumés codants pour un allergène, à moins que des preuves scientifiques ne démontrent le contraire.

SECTION 3 – ÉVALUATION INITIALE

SECTION 3.1 – SOURCE DE LA PROTÉINE

7. En tant qu'élément des données étayant la sécurité sanitaire des aliments produits à l'aide de microorganismes à ADN recombiné, l'information devrait décrire tout cas d'allergénicité associé à l'organisme donneur. Les sources allergisantes de gènes seraient définies comme les organismes pour lesquels il existe une preuve raisonnable qu'ils causent des réactions allergiques médiées par les IgE suite à des expositions par la voie orale, respiratoire ou cutanée. La connaissance de la source de la protéine introduite permet l'identification des outils et des données pertinents à considérer pour l'évaluation de l'allergénicité. Ceux-ci comprennent: la disponibilité de sérums à des fins de criblage; le type, la gravité et la fréquence des réactions allergiques documentées; et les caractéristiques structurelles et la séquence des acides aminés; les propriétés immunologiques et physicochimiques (lorsque disponibles) des protéines allergéniques connues provenant de cette source.

SECTION 3.2 – HOMOLOGIE DE LA SÉQUENCE D'ACIDES AMINÉS

8. L'objectif de la comparaison des homologues de séquence est d'évaluer à quel point la structure d'une protéine nouvellement exprimée est similaire à celle d'un allergène connu. Cette information peut indiquer si cette protéine a un potentiel allergénique. Les recherches de l'homologie de séquence visant à comparer la structure de toute protéine nouvellement exprimée avec tous les allergènes connus devraient être effectuées. Les recherches devraient être menées en utilisant différents algorithmes, tels que FASTA ou BLASTP, afin de prédire toute similarité structurelle générale. Des stratégies, telles que des recherches par étapes de segments d'acides aminés contigus identiques peuvent être effectuées pour déterminer les séquences qui peuvent constituer des épitopes linéaires. La taille des segments d'acides aminés contigus recherchés

devrait être fondée sur une base scientifique justifiée en vue de minimiser la possibilité d'obtention de faux négatifs ou de faux positifs¹³. Des procédures d'évaluation et de recherche validées devraient être utilisées, afin d'obtenir des résultats biologiquement pertinents.

9. La réactivité croisée des IgE entre une protéine nouvellement exprimée et un allergène connu devrait être considérée comme possible quand il y a plus de 35 pour cent d'identité pour un segment de 80 acides aminés ou plus (FAO/OMS 2001) ou selon un autre critère scientifiquement justifié. Toutes les informations résultant de la comparaison de l'homologie de séquence entre la protéine nouvellement exprimée et les allergènes connus devraient être rapportées pour permettre une évaluation scientifiquement fondée au cas par cas.

10. Les recherches d'homologie de séquence ont certaines limites. En particulier, les comparaisons se limitent aux séquences d'allergènes connus se trouvant dans les banques de données accessibles au public et la littérature scientifique. Il y a également des limites dans la capacité de ces comparaisons à détecter des épitopes non contigus, capables de se fixer eux-mêmes spécifiquement aux anticorps IgE.

11. Un résultat négatif d'homologie de séquence indique que la protéine nouvellement exprimée n'est pas un allergène connu et qu'elle n'est pas susceptible d'avoir une réactivité croisée avec des allergènes connus. Un résultat indiquant l'absence d'une homologie de séquence significative devrait être pris en compte avec l'ensemble des autres données découlant de cette stratégie lorsqu'on évalue le potentiel allergénique de protéines nouvellement exprimées. Des études approfondies devraient être menées lorsque cela s'avère nécessaire (voir aussi les sections 4 et 5). Un résultat positif d'homologie de séquence indique que la protéine nouvellement exprimée est susceptible d'être allergénique. Si le produit devait être considéré plus avant, il devrait être évalué au moyen de sérum provenant des personnes sensibles à la source allergénique identifiée.

SECTION 3.3 – RÉSISTANCE À LA PEPSINE

12. La résistance à la digestion par la pepsine a été observée pour différents allergènes alimentaires; il existe donc une corrélation entre la

¹³ On reconnaît que la consultation FAO/OMS 2001 a suggéré de faire passer de 8 à 6 acides aminés, les recherches de segments identiques. Plus la séquence de peptides utilisée dans la comparaison progressive est petite, plus il est vraisemblable d'obtenir des faux positifs et, inversement, plus la séquence de peptides utilisée est grande, plus il est vraisemblable d'obtenir des faux négatifs, ce qui réduit l'utilité de la comparaison.

résistance à la digestion par la pepsine et le potentiel allergénique.¹⁴ Par conséquent, la résistance d'une protéine à la dégradation en présence de pepsine sous les conditions appropriées indique qu'il faut mener une analyse plus poussée pour déterminer si la protéine nouvellement exprimée est allergénique. L'établissement d'un protocole de dégradation de la pepsine cohérent et bien validé pourrait améliorer l'utilité de cette méthode. Cependant, il devrait être tenu compte du fait que l'absence de résistance à la pepsine n'exclut pas que la protéine nouvellement exprimée puisse être un allergène avéré.

13. Bien que le protocole de résistance à la pepsine soit fortement recommandé, il est reconnu que d'autres protocoles de sensibilité aux enzymes existent. Ces autres protocoles peuvent être utilisés lorsque les justifications adéquates sont apportées.¹⁵

SECTION 4 – DÉPISTAGE DE SÉRUMS SPÉCIFIQUES

14. Pour ces protéines provenant d'une source allergénique connue, ou qui ont une homologie de séquence avec un allergène connu, des tests immunologiques devraient être effectués lorsque les sérums existent. Les sérums de personnes qui ont une allergie cliniquement reconnue à la source de protéine peuvent être utilisés pour tester la fixation spécifique de la protéine aux anticorps de la catégorie IgE dans des essais *in vitro*. La question critique pour de tels essais sera la disponibilité de sérums humains provenant d'un nombre suffisant de personnes.¹⁶ De plus, la qualité des sérums et la procédure d'essai doivent être normalisées pour donner un résultat de test valide. Pour les protéines provenant de sources non connues pour être allergénique et qui ne présentent pas d'homologie de séquence avec un allergène connu, un criblage ciblé de sérum, peut être considéré, lorsque ces tests tels que décrits au paragraphe 17 sont disponibles.

15. Dans le cas d'une protéine nouvellement exprimée dérivée d'une source allergénique connue, un résultat négatif lors d'essais immunologiques *in vitro* ne doit pas être considéré comme suffisant, mais devrait inciter à mener des essais supplémentaires, tels que le recours possible à des tests cutanés et à

¹⁴ La méthode décrite dans *United States Pharmacopoeia* (1995) a servi à établir cette corrélation (Astwood et coll. 1996).

¹⁵ Consultation mixte FAO/OMS d'experts (2001).

¹⁶ Selon le rapport de la Consultation mixte FAO/OMS d'experts sur l'évaluation de l'allergénicité des aliments dérivés des biotechnologies (22-25 janvier 2001, Rome, Italie), un minimum de 8 sérums pertinents est requis pour atteindre une certitude de 99 pour cent que la nouvelle protéine n'est pas un allergène dans le cas d'un allergène majeur. De même, un minimum de 24 sérums pertinents est requis pour atteindre le même niveau de certitude dans le cas d'un allergène mineur. Il est reconnu que ces quantités de sérums peuvent ne pas être disponibles pour des questions de mise à l'essai.

des protocoles¹⁷ *ex vivo*. Un résultat positif à de tels tests indiquerait un potentiel allergène.

SECTION 5 –AUTRES CONSIDÉRATIONS

16. L'exposition absolue à la protéine nouvellement exprimée et les effets des procédés de transformation alimentaires pertinents conduiront à une conclusion générale sur le potentiel de risque pour la santé humaine. À cet égard, la nature du produit alimentaire destiné à la consommation devra être pris en considération lors de la détermination des types de transformations qui seraient utilisés et leurs effets sur la présence de la protéine dans le produit alimentaire final.

17. Comme les connaissances scientifiques et la technologie évoluent, d'autres méthodes et outils peuvent être examinés pour évaluer le potentiel d'allergénicité des protéines nouvellement exprimées dans le cadre de la stratégie d'évaluation. Ces méthodes devraient être scientifiquement solides et comprendre un criblage ciblé de sérum (c'est-à-dire l'évaluation de fixation sur IgE dans le sérum des individus avec des réponses allergiques validées cliniquement pour des catégories d'aliments largement apparentés); la constitution de banques de sérum internationales; l'utilisation de modèles animaux; et l'examen de protéines nouvellement exprimées pour les épitopes des cellules T et les motifs structurels associés aux allergènes.

¹⁷ Consultation mixte FAO/OMS d'experts (2001) pour une description de *ex vivo*.