



ORGANISATION DES
NATIONS UNIES POUR
L'ALIMENTATION ET
L'AGRICULTURE

ORGANISATION
MONDIALE DE LA
SANTÉ



Évaluation de l'allergénicité des aliments génétiquement modifiés

**Rapport de la Consultation mixte FAO/OMS d'experts sur les aliments
dérivés des biotechnologies - Allergénicité des aliments dérivés des
biotechnologies
Rome, 22-25 janvier 2001**

**Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO)
Rome, Italie**

Les opinions exprimées dans ce rapport sont celles des participants à la consultation et n'engagent nullement la FAO ni l'OMS

TABLE DES MATIÈRES

1. INTRODUCTION.....	3
2. HISTORIQUE.....	3
3. PORTEE.....	4
4. APERÇU DES ALLERGIES D'ORIGINE ALIMENTAIRE	5
5. ÉVALUATION DE L'ALLERGENICITE DES ALIMENTS GENETIQUEMENT MODIFIES PAR LA METHODE DE L'ARBRE DECISIONNEL.....	8
5.1 INTRODUCTION.....	8
5.2 ARBRE DECISIONNEL FAO/OMS 2001	9
5.3. ALIMENTS CONTENANT UN GENE ISSU D'UNE SOURCE DONT L'ALLERGENICITE EST AVEREE	9
5.4 ALIMENTS CONTENANT UN GENE ISSU D'UNE SOURCE QUI N'A PAS LA REPUTATION D'ETRE ALLERGENE	11
5.5 SURVEILLANCE APRES COMMERCIALISATION	12
5.6 AUTRES CRITERES PRIS EN CONSIDERATION	13
5.6.1. <i>Niveau d'expression</i>	13
5.6.2. <i>Effets non voulus</i>	13
6. NORMALISATION DES METHODES.....	13
6.1 ESTIMATION DE L'HOMOLOGIE DES SEQUENCES A L'AIDE DES BASES DE DONNEES SUR LES ALLERGENES	13
6.2 DEPISTAGE AVEC LE SERUM SPECIFIQUE.....	15
6.3 DEPISTAGE AVEC DES SERUMS CIBLES	16
6.4 RESISTANCE A LA PEPSINE	17
6.5. MODELES ANIMAUX	18
7. CONCLUSIONS	18
8. RECOMMANDATIONS.....	20
9. ABREVIATIONS.....	21
10. BIBLIOGRAPHIE.....	22
LISTE DES PARTICIPANTS.....	24
EXPERTS	24
AUTEURS DES DOCUMENTS DE TRAVAIL	25
OBSERVATEURS DES ORGANISATIONS INTERNATIONALES	26
PRÉSIDENT DU GROUPE SPÉCIAL INTERGOUVERNEMENTAL DU CODEX SUR LES ALIMENTS DÉRIVÉS DES BIOTECHNOLOGIES	26
PRÉSIDENT DU COMITÉ DU CODEX SUR L'ÉTIQUETAGE DES DENRÉES ALIMENTAIRES	27
SECRÉTARIAT FAO/OMS.....	27
LISTE DE DOCUMENTS.....	28
ARBRE DECISIONNEL FAO/OMS 2000.....	29
ARBRE DECISIONNEL FAO/OMS 2001.....	30

1. Introduction

Une Consultation mixte FAO/OMS d'experts sur les aliments dérivés des biotechnologies s'est déroulée du 22 au 25 janvier 2001 au siège de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), à Rome. Cette consultation, qui avait pour objet d'assurer le suivi de la consultation mixte FAO/OMS d'experts qui s'est tenue du 29 mai au 2 juin 2000 à Genève (Suisse), était centrée sur l'allergénicité des aliments génétiquement modifiés. Au total, 28 experts, dont certains étaient les auteurs de documents de travail, ont participé à la consultation. La liste complète des participants se trouve à l'annexe 1.

M. Jacques Vercueil, directeur de la Division de l'analyse du développement agricole et économique du Département économique et social de la FAO, a ouvert la séance au nom des directeurs généraux de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et de la FAO. M. Vercueil a déclaré, au cours de son allocution, que l'allergénicité était l'un des thèmes qui suscitaient le plus d'interrogations à propos de l'innocuité des aliments génétiquement modifiés. Il est urgent de mettre au point une méthode fiable pour évaluer le pouvoir allergisant des nouveaux aliments produits par la technique des recombinaisons génétiques. L'application de mesures appropriées de gestion des risques pourrait diminuer le risque d'allergénicité associé aux aliments génétiquement modifiés.

Les experts ont élu M. Dean Metcalfe au poste de président et M. Harris Steinman à celui de vice-président. M. Steve Taylor a été désigné comme rapporteur. Les experts ont convenu d'articuler leurs débats autour de l'arbre décisionnel adapté au cours de la consultation FAO/OMS qui a eu lieu en 2000 (annexe 3). Les participants ont formé deux groupes de travail pour leur confier la rédaction du rapport, en leur laissant le soin d'élire leurs propres président et rapporteur. Il a été décidé que le premier groupe de travail s'occuperait essentiellement des produits élaborés avec des gènes provenant de sources dont le pouvoir allergisant est avéré (le côté gauche de l'arbre décisionnel reproduit à l'annexe 3) et de la surveillance après commercialisation – ce groupe a choisi M. Carsten Bindslev-Jensen comme président et M. David Hill comme rapporteur – et que le deuxième groupe de travail s'occuperait surtout des produits créés avec des gènes provenant de sources qui n'ont jamais montré aucun pouvoir allergisant (le côté droit de l'arbre décisionnel reproduit à l'annexe 3) – ce groupe a nommé M. Rob Aalberse, président et M. Ricki Helm, rapporteur. La liste des documents de travail est reproduite à l'annexe 2. Le rapport intitulé "Assessment of Scientific Information Concerning StarLink Corn" (EPA, 2000) a aussi été présenté à titre de cas concret d'application des méthodes débattues par les experts de la consultation.

Les experts ont aussi pris note des questions particulières soulevées par le secrétariat commun FAO/OMS de la consultation dans les documents Biotech 01/02.

2. Historique

En 1990 et 1996, la FAO et l'OMS ont organisé ensemble deux consultations d'experts centrées sur les aspects des aliments génétiquement modifiés touchant à l'innocuité et à la qualité nutritionnelle. En 1990, les experts ont considéré que les différentes techniques relevant de la biotechnologie formaient un continuum, allant des techniques classiques de sélection d'espèces aux méthodes modernes fondées sur l'ADN recombiné, et ont conclu que les denrées issues de la biotechnologie moderne n'étaient pas, en elles-mêmes, moins sûres que les produits issus de la biotechnologie traditionnelle (OMS, 1991). Les experts ayant pris part à la consultation de 1996 ont recommandé d'accorder une place importante au principe

d'équivalence en substance dans l'évaluation de la sécurité des aliments et des ingrédients issus des plantes génétiquement modifiées en vue de l'alimentation humaine. (FAO, 1996). La Commission du Codex Alimentarius et ses organes subsidiaires compétents ont pris en considération les conclusions des deux consultations.

En réponse aux inquiétudes croissantes exprimées par la population mondiale au sujet de la sécurité sanitaire et des qualités nutritionnelles des aliments, la Commission du Codex Alimentarius a décidé, lors de sa 23^{ème} session, tenue en 1999, d'établir un Groupe spécial intergouvernemental sur les aliments dérivés des biotechnologies, chargé d'élaborer des normes, des directives ou des recommandations, selon les besoins, pour les aliments issus de la biotechnologie ou pour des caractéristiques conférées aux aliments par voie biotechnologique. La première réunion du groupe spécial a eu lieu au Japon, en mars 2000. La FAO et l'OMS ont fait part de leur intention d'organiser une série de consultations d'experts pour appuyer les travaux du groupe spécial.

La Consultation mixte FAO/OMS d'experts sur les aliments dérivés des biotechnologies, qui s'est tenue en juin 2000 à Genève (OMS, 2000), a examiné l'ensemble des questions de sécurité sanitaire concernant les aliments produits à partir de plantes génétiquement modifiées et les experts se sont penchés sur la possibilité de poser l'équivalence en substance en principe général de l'évaluation scientifique des risques. Les experts ont recensé les domaines particuliers qui appellent d'autres consultations d'experts et ont recommandé à la FAO et à l'OMS d'organiser conjointement, et en priorité, une consultation sur l'évaluation du pouvoir allergisant des aliments génétiquement modifiés et des protéines nouvelles qu'ils contiennent.

Les experts réunis en 2000 ont adapté un arbre décisionnel (annexe 3) à l'évaluation de l'allergénicité des protéines nouvelles introduites dans les aliments génétiquement modifiés. Ils ont reconnu la nécessité d'accroître la fiabilité des procédures permettant d'évaluer les risques d'allergénicité associés aux aliments génétiquement modifiés au moyen de l'arbre décisionnel, et qu'il conviendrait d'envisager notamment l'ajout de critères supplémentaires.

3. Portée

Les experts consultés avaient pour mission de fournir un avis scientifique à la FAO, à l'OMS et à leurs États membres sur l'évaluation de l'allergénicité des aliments génétiquement modifiés. Ce qui recouvre en particulier:

- un examen général du pouvoir allergisant des aliments génétiquement modifiés
 - l'étude du pouvoir allergisant spécifique des aliments génétiquement modifiés

- l'examen de la méthode de l'arbre décisionnel
 - examen et révision éventuelle de l'arbre décisionnel préliminaire mis au point en juin 2000 par les experts de la Consultation mixte FAO/OMS pour évaluer l'allergénicité des aliments génétiquement modifiés
 - élaboration de procédures normalisées pour décider des critères particuliers de l'arbre décisionnel qui seront retenus, en vue d'harmoniser l'application de l'arbre décisionnel

- étude des possibilités de surveillance après commercialisation en vue de leur inclusion dans l'arbre décisionnel et des technologies à l'appui de la mise en oeuvre de la surveillance après commercialisation.
- Questions particulières soulevées par l'évaluation de l'allergénicité des aliments génétiquement modifiés
- utilisation de bases de données dans l'évaluation de l'allergénicité des aliments génétiquement modifiés
 - recours aux essais sur animaux
 - autres questions connexes

4. Aperçu des allergies d'origine alimentaire

Les allergies alimentaires sont des troubles déclenchés par un produit ou un ingrédient alimentaire qui, habituellement, n'engendre pas de tels effets, eux-mêmes provoqués par une réaction anormale du système immunitaire à une ou plusieurs protéines spécifiques présentes dans l'alimentation. Les véritables allergies alimentaires peuvent mettre en jeu plusieurs types de réponses immunitaires (Sampson et Burks, 1996). Les allergies alimentaires les plus courantes sont induites par des anticorps qui sont des immunoglobulines de classe E (IgE)¹ spécifiques d'un allergène. Les réactions induites par des IgE sont dites d'hypersensibilité immédiate car les symptômes apparaissent entre quelques minutes et quelques heures après l'ingestion de l'aliment incriminé. Les IgE peuvent induire des allergies au pollen, aux spores des moisissures, aux pellicules de la peau des animaux, au venin d'insectes et à d'autres stimulus présents dans l'environnement ainsi qu'à l'alimentation. Les réactions induites par des IgE affectent peut-être 10 à 25% de la population des pays développés (Mekori, 1996), mais les allergies d'origine alimentaire forment une faible fraction des maladies allergiques. Les nourrissons et les jeunes enfants sont plus fréquemment sujets à des allergies alimentaires induites par des IgE que les adultes; la prévalence parmi les enfants âgés de moins de trois ans peut atteindre 5 à 8% (Bock, 1987; Sampson, 1990a; Commission européenne, 1998).

Les véritables allergies alimentaires englobent aussi les réactions d'hypersensibilité retardée dont les mécanismes sont moins connus. Ces réactions incluent des réactions à médiation cellulaire qui font intervenir des lymphocytes sensibilisés localisés dans des tissus, plutôt que des anticorps (Sampson, 1990b). Dans les réactions induites par des cellules, l'apparition des symptômes se produit plus de huit heures après l'ingestion de l'aliment incriminé. La prévalence générale des réactions d'origine alimentaire à médiation cellulaire n'est pas encore établie avec certitude (Burks et Sampson, 1993b), mais ces réactions ont été bien étudiées chez les jeunes enfants. L'entéropathie retardée d'origine alimentaire a été observée chez des jeunes enfants exposés à des protéines de lait, de soja et, moins souvent, à d'autres protéines. La réaction d'hypersensibilité à médiation cellulaire qui se rencontre le plus fréquemment dans toutes les tranches d'âge de la population est la maladie coeliaque, également connue sous le nom d'entéropathie d'intolérance au gluten. La maladie coeliaque affecte une personne sur 300 à 3 000, selon sa localisation géographique.

¹ L'immunoglobuline E (IgE) est un anticorps protéique qui reconnaît un allergène. Elle circule dans le sang et se fixe à la surface de cellules spécifiques (basophiles et mastocytes). La liaison entre une IgE présente à la surface d'une de ces cellules et un allergène provoque la sécrétion de médiateurs chimiques qui déclenchent les symptômes associés aux réactions allergiques.

Les aliments qui provoquent des allergies alimentaires sont très divers. Le Comité du Codex sur l'étiquetage des denrées alimentaires a établi, après de longs débats, une liste des aliments allergisants (associés à des réactions induites par l'IgE) les plus courants à l'échelle mondiale, liste qui comprend l'arachide, le soja, le lait, les oeufs, les poissons, les crustacés, le blé et les noix portées par des arbres. Cette liste a été présentée à la Commission du Codex Alimentarius, qui l'a adoptée en 1999 à sa 23ème session. Ces denrées fréquemment allergènes sont à l'origine de plus de 90% de toutes les réactions allergiques modérées à aiguës aux aliments, bien que de nombreuses publications aient mis en évidence plus de 160 produits alimentaires capables de causer des réactions allergiques sporadiques (Hefle et al., 1996). Théoriquement, n'importe quel aliment renfermant une protéine pourrait déclencher une sensibilisation allergique, toutefois, la probabilité de provoquer une allergie varie beaucoup entre les aliments. En plus des réactions dues aux allergènes repris sur la liste du Codex, les réactions allergiques aux fruits et légumes frais relevant du syndrome d'allergie orale sont également assez répandues (Ortolani et al., 1988). Ces denrées ne figurent pas sur la liste Codex. Les symptômes sont généralement modérés et limités à la région oro-pharyngée. Certains parmi les allergènes les plus importants de ces denrées sont thermolabiles et ne résistent pas à la digestion. Cependant, chez certains patients allergiques aux fruits et aux légumes, le syndrome d'allergie orale peut être suivi d'une réaction systémique (Ballmer-Weber et al., 2000). La liste dressée par le Comité du Codex sur l'étiquetage des denrées alimentaires mentionne aussi des céréales renfermant du gluten (blé, seigle, orge, avoine et épeautre) qui sont impliquées dans l'étiologie de l'entéropathie d'intolérance au gluten.

Dans les allergies alimentaires induites par une IgE, l'exposition à des aliments particuliers et aux protéines qu'ils renferment déclenche la formation d'anticorps IgE spécifiques d'un allergène alimentaire. Ces anticorps IgE se fixent à la surface des mastocytes et des basophiles d'une personne qui, ainsi sensibilisée, réagira lors de l'exposition ultérieure à ce produit alimentaire particulier. Aussi, pour acquérir cette sensibilité, les personnes doivent avoir été exposées une première fois à l'aliment en question. Certaines protéines alimentaires ont plus de chances que d'autres d'induire une sensibilisation allergique. Il existe très peu d'informations sur les seuils minimaux d'exposition alimentaire requis pour provoquer une sensibilisation allergique chez les personnes qui y sont sujettes. Cependant, les jeunes enfants ont beaucoup plus de chances d'être sensibilisés que les adultes et sont probablement sensibilisés par des niveaux d'exposition relativement faibles à l'aliment incriminé. L'exposition ultérieure d'une personne sensibilisée à l'aliment incriminé donnera vraisemblablement lieu à une réaction allergique. Le pontage des anticorps IgE par l'allergène à la surface des mastocytes ou des basophiles déclenche la libération de divers médiateurs de réactions allergiques. Ces médiateurs sont sécrétés dans les tissus et le sang et interagissent avec différents récepteurs, entraînant l'apparition des symptômes caractéristiques des réactions allergiques. L'intensité d'exposition alimentaire à une protéine allergisante nécessaire pour provoquer une réaction détectable chez des personnes préalablement sensibilisées et très sensibles n'est pas connue avec précision, mais semble être comprise dans une fourchette qui va du microgramme à quelques milligrammes.

Les allergies alimentaires induites par des IgE se manifestent par des phénomènes modérés ou aigus, qui peuvent même aller jusqu'à mettre en péril la vie du malade. Le niveau d'exposition alimentaire requis pour déclencher une réaction varie suivant les personnes. Néanmoins, les personnes les plus sujettes aux allergies alimentaires réagiront à des niveaux d'exposition compris entre un microgramme et quelques milligrammes, ou peut-être inférieurs (les études conduites sur les doses déclenchantes sont restreintes, si bien qu'on ne peut encore

déduire avec précision la concentration minimale avec effet nocif observé pour une denrée déterminée). De très faibles quantités d'un aliment incriminé peuvent provoquer une réaction grave, et le niveau qui garantit qu'aucune réaction n'apparaîtra, n'a pas été défini.

L'entéropathie d'intolérance au gluten, ou maladie coeliaque, est une réaction immunitaire induite par une cellule T et déclenchée par le gluten (gliadine), qui frappe les personnes qui y sont génétiquement prédisposées. La phase active de la maladie se traduit par un phénomène inflammatoire siégeant dans le petit intestin, qui entraîne une malabsorption s'accompagnant de la perte d'éléments nutritifs, d'anémie, de diarrhée et de douleurs osseuses, entre autres symptômes. Les personnes sujettes à cette maladie doivent éviter toute leur vie durant de consommer le gluten présent dans le blé, le seigle, l'orge et d'autres céréales apparentées.

La maladie coeliaque, ainsi que d'autres entéropathies également reconnues par les experts de cette consultation comme étant des affections importantes, n'ont pas été prises en compte dans les stratégies d'évaluation examinées au cours de cette consultation.

Les allergies alimentaires, induites ou non par l'IgE, sont traitées par des régimes qui proscrivent la consommation de certains aliments. Comme dans les deux cas le seuil de déclenchement est une dose faible et non déterminée avec précision, les personnes affectées risquent d'éprouver des difficultés à suivre un régime d'évitement total.

Presque tous les allergènes alimentaires sont des protéines, bien que d'autres substances alimentaires, telles les haptènes², puissent intervenir dans le processus allergique. Bien que certains allergènes alimentaires soient identifiés et caractérisés, beaucoup d'autres demeurent encore inconnus. Nombre d'allergènes alimentaires connus se rattachent à certains groupes de protéines, ce qui peut faciliter l'identification des allergènes inconnus provenant d'autres sources. De même, les protéines de la prolamine du blé, du seigle, de l'orge, etc. contribuent au déclenchement de l'entéropathie d'intolérance au gluten. Si les plantes cultivées qui servent à la production de denrées de base contiennent des milliers de protéines différentes, relativement peu d'entre elles sont allergisantes. La répartition de ces protéines varie entre les différentes parties de la plante et peut être influencée par des facteurs de l'environnement, comme le climat et l'exposition aux maladies.

Les techniques de sélection classiques ont accru la diversité des protéines présentes dans l'approvisionnement vivrier. Toutefois, les variations de la composition protéique de notre régime alimentaire apportées par les techniques traditionnelles d'amélioration des espèces ont eu peu d'effet, le cas échéant, sur le pouvoir allergisant de nos principaux aliments. Par contre, l'évolution des préférences alimentaires et la modification des pratiques de fabrication et de formulation des aliments risquent d'avoir des implications sensibles sur le développement des allergies alimentaires. Par exemple, l'allergie à l'arachide a atteint une fréquence élevée en Amérique du Nord et en Europe occidentale, mais pas dans d'autres pays qui consomment moins d'arachides. De même, des denrées introduites récemment, comme le kiwi, sont venues grossir le lot d'allergènes alimentaires. S'agissant de la composition des produits alimentaires, la distribution plus large de certains produits ethniques, tels que ceux qui contiennent des graines de sésame, peut contribuer à accroître la sensibilité allergique à certains aliments. Ces observations tendent à prouver que le nombre d'allergènes potentiels

² Les haptènes sont de petites molécules susceptibles d'interagir avec les protéines du corps ou des protéines de l'alimentation et de rendre ces protéines allergisantes.

présents dans l'approvisionnement vivrier est restreint, mais montrent en même temps que de nouveaux produits allergisants arrivent quelquefois sur le marché.

Ce qui précède montre clairement que l'allergénicité mérite une attention particulière dans l'évaluation de l'innocuité des aliments produits par modification génétique. Au cours de cette évaluation, les caractéristiques des nouveaux produits (protéines) géniques doivent être appréciées à la lumière des similitudes qu'elles présentent avec des allergènes alimentaires ou environnementaux connus. De surcroît, si l'examen d'un aliment génétiquement modifié, basé sur la comparaison de ce dernier avec son homologue traditionnel révèle la présence accidentelle de protéines nouvelles résultant des transformations, le pouvoir allergisant de ces protéines nouvelles devrait aussi être évalué selon une démarche analogue.

5. Évaluation de l'allergénicité des aliments génétiquement modifiés par la méthode de l'arbre décisionnel

5.1 Introduction

En 1996, le International Food Biotechnology Council et le Allergy and Immunology Institute de l'Institut international des sciences de la vie (IFBC/ILSI) ont présenté une démarche fondée sur un arbre décisionnel pour l'évaluation de l'allergénicité potentielle des nouveaux produits (protéines) géniques présents dans les aliments génétiquement modifiés (Metcalf et al., 1996). Cette méthode d'évaluation du pouvoir allergisant a été largement adoptée dans le secteur de la biotechnologie appliquée à l'agriculture. Cette stratégie s'appuie sur la source du gène, sur l'homologie entre la séquence des protéines nouvelles et celle d'allergènes connus, sur la liaison immuno-chimique entre la protéine nouvelle et l'IgE du sérum sanguin de personnes allergiques au matériel génétique transféré, et sur les propriétés physico-chimiques de la protéine nouvelle (Metcalf et al., 1996; Taylor, 1997).

La question de l'allergénicité des aliments génétiquement modifiés a été abordée pour la première fois lors de la Consultation mixte FAO/OMS sur la biotechnologie et l'innocuité des aliments, qui s'est tenue en 1996. À l'époque les experts avaient préconisé une méthode d'évaluation semblable à celle élaborée par l'IFBC/ILSI, basée sur les critères suivants: source du matériel génétique transféré, poids moléculaire, homologie de séquence, stabilité à la chaleur et à la transformation, effet du pH et/ou des sucs gastriques (stabilité à la digestion), et fréquence dans les aliments. La consultation de 1996 avait débouché sur la conclusion que "l'évaluation du pouvoir allergisant des organismes génétiquement modifiés peut et doit obéir à une démarche scientifique rationnelle" dans le cadre de l'évaluation globale de la sécurité sanitaire des aliments. En outre, les experts réunis en 1996 avaient formulé plusieurs recommandations concernant le pouvoir allergisant des aliments génétiquement modifiés:

- Le transfert de gènes prélevés dans une denrée fréquemment allergisante doit être évité à moins qu'il soit prouvé que le gène transféré ne code pas pour un allergène.
- Les aliments qui s'avèrent contenir un allergène transféré à partir de l'organisme qui a fourni l'ADN ne devraient pas pouvoir bénéficier d'une autorisation de mise sur le marché, à moins qu'ils puissent être clairement identifiés sur le marché et que cette identité ne disparaisse pas au cours de la distribution et de la transformation. Sans compter le fait que l'étiquetage risque de ne pas être commode à appliquer dans ces situations, et que des problèmes particuliers se posent pour les consommateurs qui ne peuvent pas lire ou qui achèteraient un produit non étiqueté.

- Les organisations concernées devraient se pencher sur l'opportunité de prendre des dispositions, et/ou sur ces dispositions elles-mêmes, visant des aliments contenant une ou plusieurs protéines nouvelles qui présentent les caractéristiques d'un allergène, sans qu'aucune allergie à ce produit génique ait jamais été détectée dans l'un ou l'autre groupe de patients.
- Il faut encourager l'identification des allergènes alimentaires et des caractéristiques de ces allergènes qui définissent leur immunogénicité.

Les experts de la Consultation mixte FAO/OMS sur la sécurité sanitaire des aliments génétiquement modifiés d'origine végétale, tenue en 2000, se sont à nouveau penchés sur l'allergénicité des aliments génétiquement modifiés. La procédure de l'arbre décisionnel mise au point par l'IFBC/ILSI a été adaptée, moyennant quelques changements mineurs, à l'évaluation des protéines nouvelles introduites dans les aliments génétiquement modifiés (annexe 3). Ces mêmes experts ont conclu que "si un aliment génétiquement modifié contient le produit d'un gène provenant d'une source dont les effets allergisants sont connus, le produit du gène doit être considéré comme allergisant jusqu'à preuve du contraire. Il faudrait décourager le transfert de gènes à partir d'aliments fréquemment allergisants à moins qu'il puisse être établi que le gène transféré ne code pas pour un allergène. Il faudrait évaluer le pouvoir allergisant des protéines nouvelles introduites dans des aliments génétiquement modifiés sur la base de l'arbre décisionnel reproduit à l'annexe 3." Ces derniers ont aussi noté que certains critères de l'arbre décisionnel de l'IFBC/ILSI tel qu'il a été adapté par la FAO et l'OMS (annexe 3) avaient été critiqués. Ils ont poursuivi leur conclusion en ces termes: "Il faudrait envisager d'ajouter des critères supplémentaires dans l'arbre décisionnel lorsque la source du matériel génétique n'a pas la réputation d'être allergisante. Le niveau et le site d'expression de la protéine nouvelle et les propriétés fonctionnelles de cette dernière représenteraient deux de ces critères".

Les experts consultés en 2000 ont recommandé "d'encourager l'OMS et la FAO à convoquer une consultation d'experts sur l'évaluation de l'allergénicité des aliments génétiquement modifiés et des protéines nouvelles qu'ils renferment. Cette consultation devrait être axée sur la mise au point d'un arbre décisionnel amélioré aux fins de l'évaluation de l'allergénicité des aliments génétiquement modifiés et sur la normalisation et la validation de critères déterminés, tels que les meilleures méthodes pour évaluer la stabilité au cours de la digestion." Dans ce contexte, les participants à la consultation rapportée dans le présent document se sont efforcés d'améliorer l'arbre décisionnel en partant de celui créé par l'IFBC/ILSI tel qu'il a été adapté par la Consultation FAO/OMS de 2000 (annexe 3).

5.2 *Arbre décisionnel FAO/OMS 2001*

Après avoir examiné les informations scientifiques existant au moment de la consultation et en avoir débattu abondamment, les experts réunis en 2001 ont élaboré un nouvel arbre décisionnel (annexe 4), qui sera dénommé "arbre décisionnel FAO/OMS 2001" dans la suite du présent rapport. Pour ce faire ils ont développé les procédures élaborées précédemment pour examiner le pouvoir allergisant en y ajoutant plusieurs stratégies.

5.3 *Aliments contenant un gène issu d'une source dont l'allergénicité est avérée*

Lorsque la protéine exprimée provient d'une source dont l'allergénicité est connue, l'analyse présentée dans l'arbre décisionnel FAO/OMS 2001 s'appuie sur l'homologie des séquences puis sur l'évaluation de l'allergénicité de la protéine exprimée avec du sérum de patients allergiques aux constituants de l'organisme source (annexe 4). L'examen de

l'homologie des séquences constitue la première étape. Les critères qui indiquent que l'analyse de l'homologie des séquences a donné un résultat positif sont exposés à la section 6.1. Une fois démontrée l'homologie entre la séquence de la protéine étudiée et celle d'un allergène avéré, le produit est considéré comme allergisant et, généralement, les essais s'arrêtent là. Si cette homologie n'est pas démontrée, on teste systématiquement la protéine exprimée sur des sérums sensibilisés à la source en question. Ces recherches visent à évaluer l'allergénicité éventuelle de la protéine exprimée à l'aide du sérum de patients allergiques au matériel source (section 6.2). Le profil de ces patients doit correspondre rigoureusement aux définitions des directives internationales. Le sérum prélevé sur des patients ayant un faible niveau de sensibilisation risque de ne pas être un bon indicateur, faute de réactivité à la protéine exprimée. C'est pourquoi, on recommande de ne prendre que des patients qui présentent un niveau de sensibilisation à la source de l'allergène supérieur à 10 kUI/l d'IgE spécifique.

Contrairement aux précédents, l'arbre décisionnel FAO/OMS 2001 n'établit pas de distinction entre les constituants des organismes sources fréquemment et moins fréquemment allergisants en ce qui concerne le dépistage des protéines qui réagissent au sérum spécifique. Celui-ci se fait donc indépendamment de la fréquence relative des allergies au matériel source en question, à condition que les sérums soient disponibles (section 6.2). Les publications scientifiques ne livrent pas suffisamment de données pour établir que les patients hypersensibles présentent un risque de réaction aiguë plus prononcé avec des aliments fréquemment allergisants qu'avec des aliments moins fréquemment allergisants.

Le degré de confiance dans les résultats du dépistage au sérum spécifique dépendra du nombre de sérums disponibles pour l'analyse. Pour établir avec une certitude de 95% qu'un allergène majeur n'a pas été transféré (un allergène majeur est défini comme étant celui auquel plus de 50% des personnes sensibles à cette substance réagissent au cours des immuno-essais avec une IgE spécifique) depuis la source, on doit obtenir un résultat négatif avec au moins six sérums pertinents. Pour établir avec une certitude de 99% que l'on n'a pas transféré un allergène majeur du matériel source, il faut obtenir un résultat négatif avec au moins huit sérums pertinents. En outre, en utilisant 17 sérums d'essai pertinents, on a 95% de chances de détecter le transfert d'un allergène mineur (un allergène mineur est défini comme étant celui auquel moins de 50% des personnes sensibles à cette substance réagissent dans des immuno-essais avec une IgE spécifique) provenant de la source à laquelle au moins 20% de la population affectée réagit. Avec 24 sérums pertinents, la probabilité de détecter un allergène mineur provenant de la source à laquelle au moins 20% de la population affectée réagit s'élève à 99%. On peut invoquer des arguments pour justifier l'utilisation d'un plus petit nombre de sérums si des sérums pertinents manquent, mais cette modification de procédure risque de donner un résultat faussement négatif. Toutefois, on préconise d'employer un plus grand nombre de sérums chaque fois que c'est possible, afin d'accroître le degré de confiance associé aux résultats négatifs d'un immuno-essai, comme décrit plus haut. Les experts consultés estiment également que l'utilisation d'un plus petit nombre de sérums de haute qualité très bien caractérisés peut être préférable à l'utilisation d'un nombre élevé de sérums de moins bonne qualité. La méthode *in vitro* appliquée devrait être un essai validé permettant de doser une IgE spécifique (section 6.2).

Un résultat positif signifie que le produit est probablement allergisant et mettra normalement fin au développement de ce produit. Si le dépistage de l'allergénicité pratiqué avec le sérum spécifique donne un résultat négatif, l'analyse se poursuit par un dépistage sur des sérums ciblés (section 6.3), par un essai de résistance à la pepsine (section 6.4) et sur des modèles animaux (section 6.5) (voir annexe 4). De plus, la conduite d'essais *in vivo* et *ex*

vivo³ sur des patients allergiques peut aussi être utile pour confirmer les résultats positifs d'un dépistage au sérum spécifique; ou s'il est plus probant d'obtenir un résultat négatif à l'issue d'un essai in vivo/ex vivo approprié qu'un résultat positif à l'issue d'un dépistage au sérum spécifique, à condition que l'essai in vivo/ex vivo ait été pratiqué sur des sujets allergiques bien caractérisés. Les méthodes in vivo/ex vivo comprennent le test de la piquûre épidermique (Bruijnzeel-Koomen et al, 1995), la libération d'histamine par les cellules basophiles (Bindslev-Jensen et Poulsen, 1996) et la provocation allergénique orale (Bock et al, 1988; Bruijnzeel-Koomen et al, 1995). Ces procédures seront vraisemblablement soumises à l'approbation des comités d'éthique (commissions d'examen internes). Aussi, les essais in vivo chez l'être humain ne constituent pas une étape obligatoire dans l'arbre décisionnel FAO/OMS 2001, mais sont envisageables dans certains cas.

Si le dépistage au sérum spécifique livre un résultat équivoque, on poursuit en général l'analyse par un dépistage avec des sérums ciblés, par un essai de résistance à la pepsine ou sur des modèles animaux (voir annexe 4). Les essais in vivo ou ex vivo sur des patients allergiques aux constituants de l'organisme source peuvent aussi être envisagés.

L'arbre décisionnel FAO/OMS 2001 n'est pas applicable à l'évaluation des denrées dont les produits géniques sont soumis à une régulation restrictive destinée à diminuer le risque d'allergie. Dans ces cas, il faudrait recourir à des essais in vivo comprenant le test de la piquûre, des provocations ouvertes, et des provocations alimentaires en double aveugle incluant l'essai d'un témoin (placebo).

5.4 *Aliments contenant un gène issu d'une source qui n'a pas la réputation d'être allergène*

Lorsque la protéine exprimée provient d'une source qui n'a pas la réputation d'être allergène, l'arbre décisionnel FAO/OMS 2001 repose sur 1) une homologie de séquence avec des allergènes connus (alimentaires et environnementaux), 2) un dépistage sur sérums ciblés pour détecter une réactivité croisée avec des sérums de patients allergiques aux substances qui se rapprochent en gros de la source du gène, 3) la résistance à la pepsine et 4) des essais d'immunogénicité sur des modèles animaux (annexe 4). Dans cette situation, la recherche d'allergènes homologues s'appuie sur deux procédures.

La première étape consiste à rechercher des allergènes présentant une séquence d'acides aminés homologue dans une base de données, conformément aux principes décrits à la section 6.1. Si cette recherche fait apparaître un degré d'homologie avec un allergène connu qui laisse supposer qu'il pourrait y avoir réactivité croisée, on considère que la protéine comporte un risque allergique. Il n'est généralement pas nécessaire de pousser plus loin l'évaluation de l'allergénicité.

Si aucune homologie n'a été mise en évidence, on passe à la deuxième étape. Dans ce cas, des essais de réactivité croisée sont menés sur un groupe d'échantillons de sérum riches en anticorps IgE relativement spécifiques de la source du gène (section 6.3). Pour ce dépistage sur sérums ciblés, on distingue 6 groupes d'organismes sources: les levures et moisissures, les monocotylédones, les dicotylédones, les invertébrés, les vertébrés et les "autres". On recherche des anticorps IgE qui manifesteraient une réactivité croisée avec la protéine étudiée, dans un groupe de 50 échantillons de sérum riches en IgE correspondant aux allergènes du

³ in vivo (chez des personnes allergiques); ex vivo (sur des cellules ou des tissus prélevés chez des personnes allergiques).

groupe d'organismes sources concerné. Si l'un de ces sérums donne un résultat positif, on considère que la protéine exprimée comporte un risque allergique et il n'est généralement pas nécessaire de pousser plus loin l'évaluation de l'allergénicité. Si le gène provient d'une bactérie, il est impossible d'effectuer un dépistage sur des sérums ciblés, étant donné qu'on ne connaît aucune population normale de personnes sensibilisées (via les IgE) aux protéines bactériennes.

Lorsque le dépistage sur sérums ciblés est positif, on peut poursuivre l'évaluation en appliquant les procédures *in vivo/ex vivo* décrites à la section 5.3 si l'on souhaite confirmer les résultats du dépistage précité. Si les résultats des essais *in vivo/ex vivo* s'écartent de ceux du dépistage, ces résultats sont plus probants que ne le serait un résultat de dépistage positif, à condition que les essais *in vivo/ex vivo* aient été pratiqués sur des patients allergiques bien caractérisés.

Si aucun sérum n'a révélé de réactivité croisée, la protéine est soumise à d'autres analyses: la résistance à la pepsine et la démonstration d'une immunogénicité sur des modèles animaux pertinents, conformément aux protocoles exposés aux sections 6.4 et 6.5.

5.5 *Surveillance après commercialisation*

Les experts consultés estiment que l'évaluation de l'allergénicité avant la commercialisation de l'aliment génétiquement modifié donne une garantie de sécurité sanitaire satisfaisante. Ils reconnaissent néanmoins que, compte tenu de la grande variabilité génétique de la population humaine et de la variation du régime alimentaire suivant la localisation géographique, la nocivité des aliments génétiquement modifiés devrait être réexaminée après que le produit a été mis sur le marché. Cette mesure pourrait offrir une garantie de sécurité supplémentaire.

Idéalement, il faudrait mettre en place un système de notification par les intéressés de tous les effets nuisibles pour la santé des consommateurs et des employés des industries alimentaires. Les aspects suivants des données communiquées devraient être validés:

- le résultat clinique concernant le pouvoir allergisant
- la relation de cause à effet entre l'effet néfaste rapporté et l'exposition au produit ou à l'ingrédient alimentaire génétiquement modifié particulier.

Ces données validées devraient être enregistrées, synthétisées et publiées. Ce système pourrait tirer parti de l'expérience acquise avec les systèmes nationaux de surveillance (par exemple les centres épidémiologiques, les centres anti-poison).

Cependant, la faisabilité des systèmes de surveillance après commercialisation requiert un examen plus poussé, car il reste plusieurs problèmes en suspens, notamment:

- la traçabilité et l'étiquetage des produits ou ingrédients alimentaires génétiquement modifiés
- le manque de données de référence sur la prévalence et l'incidence des allergies d'origine alimentaire
- la coexistence de multiples facteurs, alimentaires et non alimentaires, qui prête à confusion

- l'évolution des régimes alimentaires au cours du temps
- le manque d'experts formés et d'infrastructures, en particulier dans les pays en développement

5.6 *Autres critères pris en considération*

5.6.1. Niveau d'expression

Les protéines fortement allergènes s'expriment souvent à des niveaux relativement élevés. Cependant, les allergènes peuvent sensibiliser les personnes vulnérables à des doses inférieures au milligramme, voire inférieures au microgramme (Sorva et al., 1994; Jarvinen et al., 1999). Le déclenchement de symptômes objectifs chez des personnes déjà sensibilisées peut aussi se produire à de faibles niveaux d'exposition, mais n'a pas été rapporté à des doses inférieures à 500 microgrammes (Rance et Dutau, 1997; Hourihane et al., 1997). Il est donc impossible d'établir un niveau d'expression en dessous duquel une protéine peut être considérée comme dépourvue de pouvoir allergisant. Si bien que le niveau d'expression ne peut pas encore être incorporé dans l'évaluation du pouvoir allergisant des aliments génétiquement modifiés.

5.6.2. Effets non voulus

En conférant un caractère particulier (effet voulu) à l'organisme hôte par l'insertion de séquences d'ADN, cet hôte pourrait théoriquement acquérir des caractères supplémentaires ou perdre des caractères ou voir certains d'entre eux s'amplifier (effets non voulus). Les effets non voulus peuvent être dus à des événements tels qu'une insertion au hasard, qui pourrait entraîner la fragmentation de gènes existants et modifier l'expression des protéines. Bien que les effets non voulus ne soient pas propres à l'application des techniques de l'ADN recombiné, il faudrait repérer ces effets dans toute la mesure du possible et déterminer leur incidence sur le pouvoir allergisant des aliments génétiquement modifiés.

S'agissant de l'allergénicité, on pourrait s'attendre à deux types d'effets non voulus. Premièrement, l'insertion d'un gène peut activer ou supprimer des gènes de l'hôte de façon aléatoire en provoquant soit l'augmentation soit la diminution de l'expression de protéines particulières. Si la plante hôte contient des protéines allergènes connues, il faudra vérifier si le niveau d'expression de ces allergènes ne s'est pas élevé, dans le cadre de la procédure d'évaluation de la sécurité sanitaire. Deuxièmement, si la comparaison entre l'aliment génétiquement modifié et le même aliment intact démontre que l'insertion du gène crée de protéines nouvelles supplémentaires, il conviendra d'évaluer l'allergénicité éventuelle de ces protéines en appliquant la procédure décrite ici.

6. Normalisation des méthodes

6.1 *Estimation de l'homologie des séquences à l'aide des bases de données sur les allergènes*

Les bases de données protéiques consultées habituellement (PIR, SwissProt et TrEMBL) contiennent les séquences d'acides aminés de la plupart des allergènes pour lesquels cette information est connue. Toutefois, ces bases de données ne sont, pour le moment, pas tout à fait à jour. Une base de données spécialisée dans les allergènes est en construction.

Procédure proposée pour déterminer le pourcentage d'identité entre les acides aminés de la protéine exprimée et ceux d'allergènes connus.

Première étape: obtenir les séquences d'acides aminés de tous les allergènes repris dans les bases de données protéiques (pour SwissProt et TrEMBL voir <http://expasy.ch/tools>; pour PIR voir <http://www-nbrf.georgetown.edu/pirwww>) au format FASTA (en n'utilisant que les acides aminés de la protéine mature et en ne tenant pas compte des séquences de tête, le cas échéant). Mettons que ce soit l'ensemble de données (1).

Deuxième étape: préparer une série complète de séquences de 80 acides aminés obtenues à partir de la protéine exprimée (en ne tenant pas non plus compte des séquences de tête, le cas échéant). Mettons que ce soit l'ensemble de données (2).

Troisième étape: se rendre sur le site d'EMBL: <http://www2.ebi.ac.uk> et comparer chaque séquence de l'ensemble de données (2) avec toutes les séquences de l'ensemble de données (1), en employant le programme d'alignement FASTA disponible sur le site Internet et en choisissant les valeurs par défaut pour la pénalité d'espace vide et la largeur.

Il faut considérer qu'il peut y avoir réactivité croisée entre la protéine exprimée et un allergène connu (ceux qu'on peut trouver dans les bases de données protéiques) lorsque:

1) on obtient plus de 35% d'identité avec la séquence d'acides aminés de la protéine exprimée (sans la séquence de tête, le cas échéant), en prenant une fenêtre de 80 acides aminés et une pénalité d'espace vide appropriée (en utilisant un programme d'alignement de type Clustal ou un programme équivalent)

ou:

2) lorsque des segments de six acides aminés contigus sont identiques

Si le pourcentage d'identité égale ou excède 35%, on considère que l'homologie est significative dans le contexte de cette méthode d'évaluation. La recherche de la présence éventuelle d'allergènes manifestant une réactivité croisée dans les aliments génétiquement modifiés, fondée sur l'homologie des séquences d'acides aminés, est expliquée plus en détail dans d'autres publications (Gendel, 1998a; Gendel, 1998b).

La similarité structurelle avec des allergènes connus peut aussi avoir son importance, si elle s'accompagne d'une homologie significative entre les séquences d'acides aminés, mais elle est inférieure à 35%. Dans ce cas, la réactivité croisée est peu probable. On connaît néanmoins certaines familles structurelles de protéines qui contiennent plusieurs allergènes. Citons par exemple:

- les lipocalines
- les protéines de transfert de lipides non spécifiques
- les napines (albumines 2S des semences)
- les parvalbumines

Si la protéine exprimée appartient à l'une de ces familles, on peut considérer qu'elle a plus de chances d'être allergisante.

Il est peu probable que deux protéines similaires sur le plan fonctionnel, mais pas du point de vue structurel, manifestent une réactivité croisée. Par exemple, les inhibiteurs de protéases, qui se répartissent dans plusieurs familles de protéines différentes, ne manifestent aucune réactivité croisée. Il en va de même pour les protéines associées à des phénomènes de pathogenèse, qui se rangent dans plusieurs groupes structurels différents.

Si le risque que l'identité entre six acides aminés contigus soit due au hasard n'est pas négligeable, on peut s'assurer qu'une réactivité croisée est possible si le critère (1) est négatif et que le critère (2) est positif. Dans ce cas, il faudra tester des anticorps appropriés (humains ou animaux) pour étayer la possibilité d'une réactivité croisée.

6.2 *Dépistage avec le sérum spécifique*

L'évaluation de la réactivité d'anticorps IgE dans le sérum de patients allergiques aux organismes sources concernés demande une méthode *in vitro* adéquate. Il existe plusieurs immuno-essais bien validés à cet effet. Les experts sont d'avis que tous ces essais conviennent.

En plus des précautions exposées plus haut à propos de la sélection d'un sérum présentant les qualités requises pour ce dépistage, il faut aussi tenir compte de la glycosylation et des épitopes munis de glycannes. Les protéines qui s'expriment dans les plantes hôtes sont susceptibles d'être modifiées après la traduction, ce qui peut avoir un impact sur leur pouvoir allergisant. Il faut être particulièrement attentif aux effets de la glycosylation parce que:

1. le degré de glycosylation peut modifier la capacité de la protéine à se prêter aux transformations et à la protéolyse;
2. la glycosylation peut altérer la structure de l'épitope, soit en recouvrant une partie de la surface de la protéine (en particulier si la glycosylation est étendue), soit en introduisant des épitopes composés de glycannes. On sait que les épitopes composés de glycannes se prêtent fortement à la réactivité croisée.

Les glycannes peuvent se fixer à la molécule par une liaison N ou par une liaison O. Il est possible de localiser avec une certaine précision les sites qui accueilleront des liaisons N, mais il n'est pas encore possible de prévoir où aura lieu la glycosylation par des liaisons O.

L'importance de la réactivité croisée entre des anticorps IgE et des épitopes munis de glycannes ne tient pas tant à leur contribution potentielle au syndrome allergique (qui peut être minime dans bien des cas), mais au fait que la structure de la partie protéique de ces glycoprotéines n'entre pas en ligne de compte dans le cas présent, en effet, toutes les protéines dotées de structures polysaccharidiques (glycanne) se prêtent à la réactivité croisée. Lorsqu'on soumet des glycoprotéines à un dépistage pour détecter leur réactivité croisée, il importe de distinguer clairement les anticorps IgE de la partie glycosylée, d'une part, et les anticorps IgE de la partie protéique, d'autre part. En général, il est préférable de choisir des échantillons de sérum dépourvus d'anticorps IgE des glycannes, d'extraire par absorption ces anticorps IgE avec les glycoprotéines n'entrant pas en ligne de compte qui proviennent du même hôte, ou d'effectuer ces essais en présence de variants non glycosylés, qui auraient été exprimés dans un hôte bactérien, par exemple.

Les informations sur les relations entre les épitopes composés de glycanes et les allergies proviennent en grande partie de travaux menés sur des glycoprotéines de végétaux et d'invertébrés. On en sait moins au sujet des glycoprotéines de micro-organismes eucaryotes comme les levures. Cependant, il est probable qu'ils demandent les mêmes précautions.

6.3 Dépistage avec des sérums ciblés

Ce n'est pas parce qu'on n'a pas trouvé d'allergène présentant une homologie de séquence avec la protéine exprimée que cet allergène homologue n'existe pas. Cela peut être dû à un manque d'informations sur l'allergène concerné. Le dépistage sur des échantillons de sérum prélevés au hasard parmi la population allergique a peu de chances d'aboutir. Cependant, une approche plus ciblée peut, dans certains cas, se révéler plus pertinente.

- Si la protéine recombinante est issue d'une monocotylédone, il est proposé de tester des échantillons de sérum prélevés chez des patients qui ont beaucoup d'anticorps IgE spécifiques d'allergènes de monocotylédones comme l'herbe et le riz.
- Si la protéine recombinante provient d'une dicotylédone, il est proposé de tester des échantillons de sérum prélevés chez des patients qui ont beaucoup d'anticorps IgE spécifiques d'allergènes de dicotylédones, comme du pollen d'arbres ou d'herbes sauvages, du céleri, des arachides, des noix portées par des arbres et du latex.
- Si l'allergène provient d'une moisissure, il est proposé de tester des échantillons de sérum prélevés chez des patients qui ont beaucoup d'anticorps IgE correspondant à des moisissures, des levures et des champignons, comme *Alternaria* ou *Cladosporium*, et chez des patients sensibilisés à l'aspergillose ou à *Trichophyton*.
- Si l'allergène provient d'un invertébré, il est proposé de tester des échantillons de sérum prélevés chez des patients qui ont beaucoup d'anticorps IgE correspondant à des invertébrés tels que mites, blattes, crevettes, chironomidés ou ver à soie.
- Si l'allergène provient d'un vertébré, on propose de tester des échantillons de sérum prélevés chez des patients qui ont beaucoup d'anticorps IgE spécifiques de mammifères de compagnie, d'animaux de laboratoire, du lait de vache, du poisson, des protéines sériques du blanc et du jaune de l'oeuf de poule.
- Si l'allergène provient d'une autre source, par exemple une bactérie, il n'existe pas à l'heure actuelle de procédure de dépistage général utilisant des sérums ciblés pour cet allergène.

Le regroupement d'un trop grand nombre de sérums (>5) est déconseillé, parce que cela diluerait les anticorps manifestant une réactivité croisée. Pour obtenir une sensibilité maximale, il faut tester des sérums individuels.

La procédure classique consiste à utiliser 25 échantillons de sérum individuel contenant une grande quantité d'IgE correspondant au groupe d'allergènes présents dans l'air sélectionné et le cas échéant 25 échantillons correspondant au groupe d'allergènes alimentaires sélectionnés.

6.4 *Résistance à la pepsine*

On fait subir un traitement de dégradation à la pepsine à la protéine exprimée, purifiée ou enrichie (non chauffée et non transformée) en appliquant les modes opératoires normalisés et les bonnes pratiques de laboratoire. En outre, la protéine exprimée devrait être évaluée sous sa principale forme comestible dans les mêmes conditions de dégradation à la pepsine que celles appliquées pour examiner la protéine exprimée. Il convient d'inclure, à titre de comparaison, des protéines alimentaires non allergisantes (lipo-oxygénase du soja, phosphatase acide de la pomme de terre ou des substances équivalentes) et allergisantes (bétalactoglobuline du lait, antitrypsine du soja ou des composés équivalents), afin de déterminer le degré relatif de résistance à la pepsine de la protéine exprimée. Les concentrations de protéines devraient être évaluées par dosage colorimétrique (par exemple le dosage à l'acide bicinchonique, le dosage protéique de Bradford ou un dosage protéique équivalent), avec de l'albumine de sérum de boeuf comme étalon. Il y a lieu d'évaluer l'activité protéolytique de la pepsine (Ryle). Les mélanges enzyme/protéine doivent être préparés en ajoutant 500 µg de protéine à 200 µl d'une solution de pepsine à 0,32% (poids/volume) dans du NaCl 30 mM/l, à pH2,0, maintenue sous agitation dans un bain à 37°C pendant 60 minutes. On expose des aliquotes de 500 microgrammes de la solution pepsine/protéine durant des périodes de 0, 15, 30 secondes et 1, 2, 4, 8, 15 et 60 minutes, à l'issue desquelles chaque aliquote est neutralisée avec un tampon approprié. Les solutions protéiques neutralisées doivent être mélangées avec un tampon dénaturant de charge (tampon de Laemmli) pour électrophorèse sur gel de polyacrylamide au dodécylsulfate de sodium (SDS-PAGE) avec ou sans agent réducteur (DTT ou 2-ME) et chauffées pendant 5 minutes à 90°C. Les échantillons contenant 5 µg de protéine/cm de gel devraient être évalués à l'aide d'un gradient de gel tricine (10-20%) avant d'être soumis à une SDS-PAGE ou à un système de gel équivalent, dans des conditions électrophorétiques non réductrices et réductrices. Les protéines contenues dans le gel doivent être visualisées par des procédés de coloration à l'argent ou à la suspension colloïdale d'or. La détection de la protéine exprimée intacte et/ou de fragments intacts supérieurs à 3,5 kDa tend à indiquer que la protéine risque d'être allergène. La présence de fragments de protéine inférieurs à 3,5 kDa ne peut être corrélée systématiquement à un risque d'allergie et cette donnée sera prise en considération avec d'autres critères de l'arbre décisionnel. Pour détecter une protéine exprimée dans une denrée comestible, on pratiquera une analyse par buvardage de Western (immunotransfert), où la protéine transférée sur membrane sera révélée avec un anticorps polyclonal IgG, conformément aux procédures de laboratoire. L'immunotransfert doit être comparé au gel de la SDS-PAGE coloré à l'argent ou à la suspension colloïdale d'or et refléter la tache colorée de la protéine exprimée obtenue dans des conditions identiques.

L'expérimentateur doit être attentif aux précautions indiquées ci-après. Les denrées comestibles peuvent contenir des inhibiteurs de protéases ou d'autres substances susceptibles de favoriser ou de diminuer la dégradation des protéines. Les fragments résultants peuvent ne pas réagir avec la source d'anticorps IgG polyclonaux. Enfin, la résistance à la pepsine ou la dégradation complète d'une protéine ne permettent pas de prédire avec certitude absolue le pouvoir allergisant des protéines nouvelles et ces paramètres doivent être pris en considération avec d'autres critères de l'arbre décisionnel. Bien que le protocole d'essai de résistance à la pepsine exposé ci-dessus soit fortement recommandé, les experts reconnaissent qu'il existe d'autres tests de résistance aux enzymes. Le recours à d'autres protocoles est admis à condition qu'il soit bien justifié. Le producteur devrait tenir compte de ces résultats, parallèlement à d'autres critères de l'arbre décisionnel.

6.5. *Modèles animaux*

L'évaluation de l'allergénicité potentielle des protéines exprimées peut être complétée par des essais sur des modèles animaux en cours de développement, qui peuvent fournir des informations utiles. Plusieurs modèles animaux sont envisageables pour évaluer l'allergénicité à une échelle relative, et ce, en pratiquant une sensibilisation par voie orale sur le modèle de rat de Brown Norway (Knippels et al., 1998) ou une administration par voie intrapéritonéale sur des modèles murins (Dearman et al., 2000) ou sur d'autres modèles animaux pertinents. Les résultats devraient être présentés sous la forme de profils caractéristiques (isotypes) d'anticorps de lymphocytes T auxiliaires 1 et 2 pour évaluer l'activité immunogénique/allergisante potentielle. Les différentes voies d'administration dans les modèles animaux (orale, intrapéritonéale) ne donnent pas toujours les mêmes résultats. Aussi la sélection d'une voie d'administration n'implique pas l'exclusion d'autres voies de sensibilisation. On recommande d'étudier les résultats obtenus par deux voies de sensibilisation chez la même espèce animale ou chez des espèces différentes.

Il est conseillé de classer l'allergénicité potentielle de la protéine exprimée par rapport à des allergènes alimentaires faibles et puissants bien connus et par rapport à des protéines non allergènes pour le modèle animal. Lorsque de nouvelles données paraîtront sur les modèles animaux, il sera peut-être nécessaire de modifier les protocoles afin d'optimiser les conditions permettant d'évaluer le pouvoir allergisant des protéines.

Si les modèles animaux actuels donnent des informations supplémentaires sur l'allergénicité potentielle de protéines nouvelles, ils ne rendent pas compte de tous les aspects des allergies alimentaires induites par des IgE chez les humains.

7. **Conclusions**

1. Les experts consultés estiment que l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments issus de la biotechnologie doit obéir à une démarche intégrée, menée par étapes et au cas par cas, et qu'il en va de même pour l'évaluation du pouvoir allergisant des aliments issus de la biotechnologie.
2. Les experts insistent sur le fait qu'il faut évaluer l'allergénicité potentielle de tous les aliments issus de la biotechnologie.
3. L'arbre décisionnel mis au point lors de la consultation FAO/OMS 2000 a servi de base à la consultation de 2001. Les experts ont estimé qu'il fallait modifier cet arbre décisionnel pour y incorporer les résultats des recherches plus récentes, ce qui s'est concrétisé avec la mise au point de l'arbre décisionnel FAO/OMS 2001.
4. Si la protéine exprimée provient d'une source dont le pouvoir allergisant est avéré, l'arbre décisionnel FAO/OMS 2001 propose que l'évaluation débute par l'analyse de l'homologie de séquence avec des allergènes connus de la source. Si cette analyse est négative, la prochaine étape consiste à rechercher d'éventuelles combinaisons avec des IgE, par des immuno-essais et peut aussi comporter des essais in vivo conduits sur des patients allergiques à l'organisme source.
5. Si la protéine exprimée provient d'une source qui n'a pas la réputation d'être allergisante, l'arbre décisionnel FAO/OMS 2001 propose que l'évaluation débute par l'analyse de l'homologie de séquence avec des allergènes alimentaires et environnementaux connus. Si cette analyse donne des résultats positifs, la protéine

est considérée comme un allergène potentiel. Si aucune homologie de séquence significative n'a été mise en évidence, on procède à un dépistage avec des sérums ciblés en employant des échantillons de sérum qui contiennent une grande quantité d'anticorps IgE relativement spécifiques de la source du gène. Si le dépistage avec des sérums ciblés s'avère positif, la protéine est considérée comme un allergène potentiel. Si cet essai est négatif, on teste la résistance de la protéine exprimée à la pepsine et l'immunogénicité de cette protéine sur des modèles animaux pertinents, afin de déterminer la probabilité de son pouvoir allergisant.

6. Les experts précisent que l'arbre décisionnel FAO/OMS 2001 n'est pas applicable à l'évaluation des denrées dont le pouvoir allergisant a été affaibli par une régulation restrictive des gènes.
7. Les experts sont d'avis que l'évaluation de l'homologie de la séquence des protéines par un procédé suffisamment sensible et spécifique pour détecter une éventuelle réactivité croisée constitue une partie importante de l'évaluation de l'allergénicité de la protéine exprimée.
8. Les experts estiment qu'il faudrait conduire d'autres études pour déterminer la quantité d'allergène qui sensibilise et déclenche les phénomènes allergiques.
9. Les experts soulignent que les bases de données sur les allergènes réclament une mise à jour permanente.
10. Les experts ont conclu que les modèles animaux n'avaient pas été testés pour tous les allergènes alimentaires, mais qu'il existe suffisamment de données scientifiques pour pouvoir affirmer que l'utilisation de ces modèles livre des renseignements intéressants concernant l'allergénicité des aliments issus de la biotechnologie.
11. Les experts considèrent que la sensibilité à la pepsine est un paramètre pertinent pour l'identification d'allergènes potentiels et que le mode opératoire décrit ne prétend pas reproduire les conditions physiologiques de la digestion gastrique.
12. Le recours à des essais in vivo chez l'être humain pour évaluer le pouvoir allergisant des aliments issus de la biotechnologie peut, dans bien des cas, soulever un problème éthique et leur utilisation devra être décidée au cas par cas.
13. La surveillance après commercialisation est utile pour détecter les effets nocifs et les séquelles à long terme des aliments issus de la biotechnologie et les experts précisent que la faisabilité de certains aspects de sa mise en oeuvre demande des études supplémentaires.
14. Les experts admettent que l'arbre décisionnel FAO/OMS 2001 et les explications qui l'accompagnent devront être adaptés ultérieurement pour refléter l'évolution rapide des connaissances scientifiques dans le domaine de l'allergie et de la biotechnologie, mais que cet arbre décisionnel est adéquat dans l'état actuel des connaissances.

8. Recommandations

1. Les experts recommandent d'utiliser l'arbre décisionnel FAO/OMS 2001 pour déterminer le pouvoir allergisant des aliments issus de la biotechnologie.
2. Les experts recommandent à la FAO et à l'OMS de veiller à mettre à jour l'arbre décisionnel chaque fois que c'est nécessaire.
3. L'identification des allergènes alimentaires et la détermination des propriétés antigéniques de ces derniers méritent d'être encouragées.
4. Les bases de données protéiques et géniques nécessaires à l'évaluation de l'allergénicité des aliments issus de la biotechnologie devraient être tenues et fréquemment mises à jour.
5. Il faudrait mener des recherches supplémentaires afin de mettre au point et de valider des modèles animaux et des modes opératoires pertinents pour évaluer l'allergénicité des aliments issus de la biotechnologie.
6. Les experts préconisent d'étudier de plus près les possibilités de mettre en oeuvre la surveillance après commercialisation.
7. Les experts recommandent à la FAO et à l'OMS de fournir un appui technique à leurs membres afin de renforcer leurs capacités et leur infrastructure pour leur permettre d'évaluer l'allergénicité des aliments issus de la biotechnologie.
8. Les experts recommandent à ces mêmes organisations d'établir un réseau de coordination destiné à favoriser et à intensifier les échanges entre experts, aux fins de l'amélioration des modes opératoires normalisés, des bonnes pratiques de laboratoire et des bonnes pratiques cliniques, et ce, en vue de faciliter l'évaluation du pouvoir allergisant des aliments issus de la biotechnologie.

9. Abréviations

ADN: acide désoxyribonucléique

DTT: dithiothreitol (agent de réduction pour les protéines et les enzymes)

EAACI: Académie européenne d'allergologie et d'immunologie clinique

IFBC: International Food Biotechnology Council

Ig: immunoglobuline

IgE: immunoglobuline de classe E

IgG: immunoglobuline de classe G

ILSI: Institut international des sciences de la vie

kUI/l: kilounités internationales/litre

kDa: kilodalton

ME: mercaptoéthanol

lymphocyte T: lymphocyte thymodépendant

lymphocytes T auxiliaires 1: participent à la différenciation de cellules cytotoxiques et activent des macrophages, qui, une fois activés, jouent un rôle effecteur dans la réponse immunitaire

lymphocytes T auxiliaires 2: contribuent principalement à l'amplification des réponses des lymphocytes B.

SCOOP/NUTR/REPORT/2: Programme de coopération scientifique/Nutrition/Rapport/2

SDS-PAGE: électrophorèse sur gel de polyacrylamide au dodécylsulfate de sodium

10. Bibliographie

1. Ballmer-Weber BK, Vieths S, Luttkopf D, Heuschmann P, Wuthrich B (2000): *Celery allergy confirmed by double-blind, placebo-controlled food challenge: a clinical study in 32 subjects with a history of adverse reactions to celery root*. J Allergy Clin Immunol, 106(2): 373-8
2. Bindslev-Jensen C, Poulsen LK (1996): *In vitro diagnostic tests*. Chapter 7 In: Sampson HA, Simons E, Metcalfe DD: Food Allergy 2nd edition, Blackwell Scientific Publications: 137-150
3. Bock SA (1987): *Prospective appraisal of complaints of adverse reactions to foods in children during the first three years of life*. Paediatrics, 79: 683-688
4. Bock SA, Sampson HA, Atkins FM, Zeiger RS, Lehrer S, Sachs M, Bush RK, Metcalfe DD (1988): *Double-blind, placebo-controlled food challenge (DBPCFC) as an office procedure: a manual*. J Allergy Clin Immunol, 82(6): 986-97
5. Burks AW, Sampson H (1993): *Food allergies in children*. Current Problems in Paediatrics 23: 230-252
6. Bruijnzeel-Koomen C, Ortolani C, Aas K, Bindslev-Jensen C, Björkstén B, Moneret-Vautrin D, Wütrich B (1995): *Adverse reactions to food*. Position Paper. Allergy, 50: 623-635
7. Dearman RJ, Caddick H, Basketter DA, Kimber I (2000): *Divergent antibody isotope responses induced in mice by systemic exposure to proteins: a comparison of ovalbumin with bovine serum albumin*. Food Chem Toxicol, 38: 351-360
8. EPA (2000): *A Set of Scientific Issues Being Considered by the Environmental Protection Agency Regarding Assessment of Scientific Information Concerning StarLink Corn*. FIFRA Scientific Advisory Panel Meeting, Environmental Protection Agency of the United States
9. European Commission (1998): *Consideration of the Epidemiological Basis for appropriate Measures for the Protection of the Public Health in Respect of Food Allergy*, SCOOP/NUTR/REPORT/2, European Commission, Brussels
10. FAO (1996): *Biotechnology and food safety, Report of a joint FAO/WHO consultation*. FAO Food and Nutrition Paper 61, Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome
11. Gendel SM (1998a): *Sequence databases for assessing the potential allergenicity of proteins used in transgenic foods*. Adv. Food Nutr. Res. 42: 63-92
12. Gendel SM (1998b): *The use of amino acid sequence alignments to assess potential allergenicity of proteins used in genetically modified foods*: Adv. Food Nutr. Res. 42: 45-62
13. Hefle SL, Nordlee JA, Taylor SL (1996): *Allergenic foods*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 36: S69-S89
14. Hourihane JO'B, Kilburn SA, Nordlee J, Hefle S, Taylor SL, Warner JO (1997): *An evaluation of the sensitivity of subjects with peanut allergy to very low doses of peanut protein: a randomized, double-blind, placebo-controlled food challenge study*. J. Allergy Clin. Immunol, 100: 596-600
15. Jarvinen KM, Makinen-Kiljunen S, Suomalainen H (1999): *Cow's milk challenge through human milk evokes immune responses in infants with cow's milk allergy*. J. Pediatr, 135:506-512

16. Knippels et al. (1998): *Oral sensitization to food proteins: a Brown Norway rat model*. Clin Exp Allergy, 28: 368-375
17. Mekori YA (1996): *Introduction to allergic diseases*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 36: S1-S18
18. Metcalfe DD, Astwood JD, Townsend R, Sampson HA, Taylor SL, Fuchs RL (1996): *Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 36: S165-S186
19. Ortolani C, Ispano M, Pastorello E, Bigi A, Ansaloni R (1988): *The oral allergy syndrome*. Ann Allergy 61(6 Pt 2): 47-52
20. Rance F, Dutau G (1997): *Labial food challenge in children with food allergy*. Pediatr Allergy Immunol 8: 41-44
21. Sampson HA (1990a): *Food Allergy*. Current Opinion in Immunology 2: 542-547
22. Sampson HA (1990b): *Immunologic mechanisms in adverse reactions to foods*. Immunology and Allergy Clinics of North America 11: 701-706
23. Sampson HA, Burks AW (1996): *Mechanisms of food allergy*. Annual Review of Nutrition 16: 161-177
24. Sorva R, Makinen-Kiljunen S, Juntunen-Backman K (1994): *B-Lactoglobulin secretion in human milk varies widely after cow's milk ingestion in mothers of infants with cow's milk allergy*: J Allergy Clin Immunol 93: 787-792
25. Taylor, S. L. (1997): *Food from genetically modified organisms and potential for food allergy*. Environ Toxicol Pharmacol 4: 121-126
26. WHO (1991): *Strategies for assessing the safety of foods produced by biotechnology*. Report of a Joint FAO/WHO Consultation, World Health Organization, Geneva
27. WHO (2000): *Safety aspects of genetically modified foods of plant origin*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, World Health Organization, Geneva

Liste des participants

EXPERTS

CALDAS, Luiz Q de A, Director, Poison Control Center, Antonio Pedro University Hospital, Fluminense Federal University, Rua Marques do Paraná, 353 – 3^o. andar – Centro-Niterói – Rio de Janeiro, Brazil
Tel: +55-21-717-0148
Fax: +55-21-717-4459/717-0521
E-mail: ccilqac@vm.uff.br

EGWANG, Thomas, Med Biotech Laboratories, P. O. Box 9364, Kampala, Uganda
Tel: +256-41-268251/266445
Fax: +256-41-268251
E-mail: egwang@imul.com

KUIPER, Harry A., Head, Department of Food Safety and Health, State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT), Wageningen UR, PO Box 230, NL-6700 AE Wageningen, The Netherlands
Tel: + 31 317 475 463
Fax: +31 317 417 717
E-mail: h.a.kuiper@rikilt.wag-ur.nl

LEE, Sang IL, Professor, SungKyunKwan University, School of Medicine, Department of Pediatrics, Samsung Seoul Hospital, #50 Ilwon-dong, Kangnam-ku, Seoul, Republic of Korea
Tel: +82-2-3410-3521
Fax: +82-2-3410-0043
E-mail: silee@smc.samsung.co.kr

MALMHEDEN YMAN, Ingrid, Senior chemist, National Food Administration, Research & Development, P.O.Box 622, SE-751 26 Uppsala, SWEDEN
Tel + 46 18 17 56 82
Fax + 46 18 10 58 48
E-mail: iyma@slv.se

METCALFE, Dean, Chief, Laboratory of Allergic Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health Building 10, Room 11C205, 10 Center Dr. MSC 1881, Bethesda, MD 20892-1881 USA (Chairperson)
Tel: +1-301-496-2165
Fax: +1-301-480-8384

MOUSSA, Amel, Etablissement Publique de Santé, Charle Nicolle, Tunis, Tunisia
Tel: +216-1-575-575
Fax: +216-1-237-076
E-mail: sa.benecib@planet.tn

STEINMAN, Harris, Allergy Clinic, Red Cross Children's Hospital, University of Cape Town, c/o P.O. Box 565, Milnerton, 7435, South Africa
Tel / Fax: +27-21-551-2993
E-mail: harris@zingsolutions.com

TRYPHONAS, Helen, Toxicology Research Division, Bureau of Chemical Safety, Food Directorate, Health Products and Food Branch, Health Canada, Sir Frederick G. Banting Research Center PL2202D1, Ross Avenue, Tunney's Pasture, Ottawa, Ontario, Canada
Tel: +1-613-957-0996
Fax: +1-613-941-6959
E-mail: Helen_Tryphonas@hc-sc.gc.ca

AUTEURS DES DOCUMENTS DE TRAVAIL

AALBERSE, Rob⁴, Department of Immunopathology, CLB, Plesmanlaan 125, 1066 CX Amsterdam, The Netherlands
Tel: +31-20-512-3158
Fax: +31-20-512-3170
E-mail: aalberse@clb.nl

BECKER, Wolf-Meinhard⁵, Division of Allergology, Research Institute Borstel, Parkallee 35, D-23845 Borstel, Germany
Tel: +49-4537-188-337
Fax: +49-4537-188-328
E-mail: wbecker@fz-borstel.de

BINDSLEV-JENSEN, Carsten⁶, Associate professor, Odense University Hospital, Dept. of Dermatology, DK 5000 Odense, Denmark
Tel: +45 65411343, secr +45 65412717
Fax: +45 66123819
E-mail: cbj@imbmed.sdu.dk

HELM, Ricki M.⁷, Associate Professor of Paediatrics, University of Arkansas for Medical Sciences, Arkansas Children's Hospital Research Institute, 1120 Marshall Street, Little Rock, Arkansas, USA,
Tel: +1-501-320-1060
Fax: +1-501-320-3173
E-mail: HelmRickiM@uams.edu

HILL, David J.⁸, Director, Department of Allergy, Royal Children's Hospital, 151 Flemington Road, NORTH MELBOURNE 3051, Australia
Tel: +61-3-9345-5701
Fax: +61-3-9326-6418
E-mail: allergy@cryptic.rch.unimelb.edu.au

PENNINKS, André H.⁹, Department of Experimental Immunology, TNO Nutrition and Food Research Institute, Utrechtweg 48, P.O. Box 360, 3700 AJ Zeist, The Netherlands
Tel: + 31 30 6944564
Fax: + 31 30 6960264
E-mail: Penninks@voeding.tno.nl

⁴ auteur du sujet 3

⁵ auteur du sujet 4

⁶ auteur du sujet 6

⁷ auteur du sujet 5

⁸ auteur du sujet 7

⁹ auteur du sujet 8

TAYLOR, Steve¹⁰, Professor and Head, Department of Food Science and Technology,
University of Nebraska, 143 Food Industry Complex, East Campus
PO Box 830919, Lincoln, NE 68583-0919, USA (Rapporteur)
Tel: +1 402 472 2833
Fax: +1 402 472 1693
E-mail: Staylor2@unl.edu

URISU, Atsuo¹¹, Department of Pediatrics, Fujita Health University, The Second Teaching
Hospital, 3-6-10, Otobashi, Nakagawa-ku, Nagoya, 454-8509 Japan,
Tel: +81-52-323-5670
Fax: +81-52-322-4734
E-mail: urisu@fujita-hu.ac.jp

WAL, Jean-Michel¹², Directeur du Laboratoire d'Immuno-Allergie Alimentaire, Service de
Pharmacologie et Immunologie (SPI), INRA-CEA SACLAY Bât 136,91191 Gif sur Yvette
cedex, France
Tel: +33 1 69 08 92 24
Fax: +33 1 69 08 59 07
E-mail : wal@dsvidf.cea.fr

OBSERVATEURS DES ORGANISATIONS INTERNATIONALES

FERRAILOLO, Giovanni, Programme Officer, Biosafety Unit, International Center for
Genetic Engineering and Biotechnology, Padriciano 99, 34012 Trieste, Italy,
Tel: +39-040-3757364
Fax: +39-040-226555
E-mail: ferraiol@icgeb.trieste.it

MAEKAWA, Tetsuya, Administrateur, OCDE, ENV/EHS
2, rue André Pascal, 75775 Paris Cedex 16, France
Tel: +33-1-45-24-76-19
Fax: +33-1-45-24-16-75
E-mail: Tetsuya.MAEKAWA@oecd.org

PRÉSIDENT DU GROUPE SPÉCIAL INTERGOUVERNEMENTAL DU CODEX SUR LES ALIMENTS DÉRIVÉS DES BIOTECHNOLOGIES

YOSHIKURA, Hiroshi, Food Sanitation Division Environmental Health Bureau
Ministry of Health and Welfare
1-2-2 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8045, Japan
Tel: +81 3 3595 2252
Fax: +81 3 3595 2251
Email: codexj@mhw.go.jp

¹⁰ auteur du sujet 1

¹¹ auteur du sujet 2

¹² auteur du sujet 9

PRÉSIDENT DU COMITÉ DU CODEX SUR L'ÉTIQUETAGE DES DENRÉES ALIMENTAIRES

MACKENZIE, Anne, Associate Vice-President, Science Evaluation Unit, Canadian Food Inspection Agency,
59 Camelot Drive, Nepean, Ontario K1A 0Y9, Canada
Tel: +1-613-225-2342, ext. 4188
Fax: +1-613-228-6638
E-mail: amackenzie@em.agr.ca

SECRÉTARIAT FAO/OMS

BOUTRIF, Ezzeddine, Focntionnaire principal (Contrôle des aliments et protection des consommateurs), Service de la qualité des aliments et des normes alimentaires, FAO
Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy
Tel: +39 06 570 56156
Fax: +39 06 570 54593
E-mail: ezzeddine.boutrif@fao.org

TABATA, Makoto, Chargé des normes alimentaires, Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires, Division de l'alimentation et de la nutrition, FAO
Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy
Tel: +39 06 570 54796
Fax: +39 06 570 54593
E-mail: makoto.tabata@fao.org

LEE, Seoung-Yong, Cadre associé de la FAO, Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires, Division de l'alimentation et de la nutrition, FAO
Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy
Tel: +39 06 570 56243
Fax: +39 06 570 54593
E-mail: SeoungYong.Lee@fao.org

SAHARA, Yasuyuki, Scientist, Programme of Food Safety, WHO, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland
Tel: +41 22 791 4324
Fax: +41 22 791 4807
E-mail: saharay@who.int

EIJKEMANS, Gerry, Medical Officer, Department of Protection of Human Environment, WHO, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland
Tel: +41 22 791 3758
Fax: +41.22.791 4123
E-mail: eijkemansg@who.int

JERMINI, Marco, Acting Director and Food Safety Regional Adviser
WHO Regional Office for Europe - European Centre for Environment and Health
Via Francesco Crispi, 10 I-00187 Rome Italy
Tel: +39-06-487-7525
Fax: +39-06-487-7599
E-mail: maj@who.it

Liste de documents¹³

Biotech 01/01: Ordre du jour provisoire et calendrier

Biotech 01/02: Questions au sujet de l'évaluation de l'allergénicité des aliments issus de la biotechnologie moderne

Biotech 01/03 Sujet 1: Aperçu de la démarche suivie actuellement pour déterminer l'allergénicité des aliments génétiquement modifiés (méthode de l'arbre décisionnel)

Biotech 01/04 Sujet 2: Organismes sources allergisants bien connus (allergènes alimentaires et environnementaux dont le pouvoir allergisant est induit par des IgE et dont le pouvoir allergisant n'est pas induit par des IgE)

Biotech 01/05 Sujet 3: Bases de données sur les allergènes/Groupes de protéines/Fonction allergénique

Biotech 01/06 Sujet 4: Homologie de séquence et structure de l'allergène

Biotech 01/07 Sujet 5: Stabilité des allergènes connus (à la digestion et à la chaleur)

Biotech 01/08 Sujet 6: Immuno-essai en phase solide, immunoréactivité et autres critères

Biotech 01/09 Sujet 7: Fréquence des allergènes dans les denrées alimentaires et seuil de sensibilisation

Biotech 01/10 Sujet 8: Modèles animaux pour l'évaluation de l'allergénicité

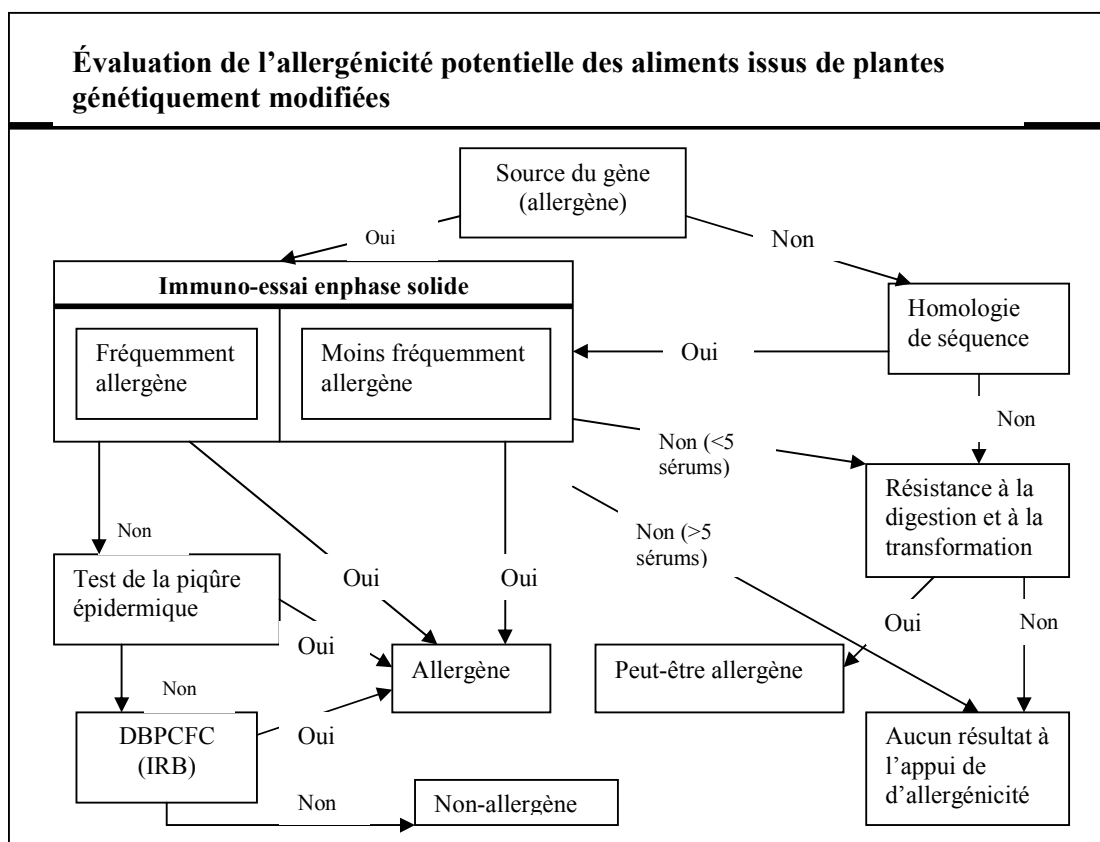
Biotech 01/11 Sujet 9: Surveillance de l'allergénicité après commercialisation

¹³ Les documents de travail sont disponibles (en version anglaise) sur les sites suivants de la FAO et de l'OMS:

FAO: http://www.fao.org/es/esn/food/risk_biotech_allergen_en.stm

OMS: http://www.who.int/fsf/GMfood/Documents_list.htm

Arbre décisionnel FAO/OMS 2000



DBPCFC = Provocations alimentaires en double aveugle incluant 'essai d'un témoin'
 IRB = Commission d'examen interne

Notes de renvoi de ce schéma:

(a) Ce schéma est une adaptation de l'arbre décisionnel créé par le International Food Biotechnology Council et l'Allergy and Immunology Institute de l'Institut international des sciences de la vie (Metcalf et al., 1996)

(b) La combinaison de tests pratiqués sur des personnes allergiques ou sur le sérum sanguin de ces personnes permettrait de s'assurer avec un grand degré de confiance qu'aucun allergène majeur n'a été transféré. La seule incertitude qui subsisterait porte sur la probabilité du transfert d'un allergène mineur affectant un petit pourcentage de la population allergique aux constituants de l'organisme source.

(c) Un résultat positif obtenu à l'issue de tests pratiqués sur des personnes allergiques ou sur le sérum de ces personnes permettrait d'établir avec un grand degré de certitude que la protéine nouvelle est un allergène potentiel. L'étiquetage des denrées renfermant cette protéine devrait avertir les consommateurs allergiques du risque d'allergie.

(d) Une protéine nouvelle qui ne présente pas d'homologie de séquence avec des allergènes connus, ou qui provient d'une source moins fréquemment allergène et qui ne se combine pas aux IgE du sérum de quelques (<5) patients allergiques, mais qui résiste à la digestion et à la transformation devrait être considérée comme un allergène potentiel. La levée de cette incertitude demande des évaluations supplémentaires. La nature des essais doit être déterminée au cas par cas.

(e) Une protéine nouvelle qui ne présente pas d'homologie de séquence avec des allergènes connus et qui ne résiste pas à la digestion et à la transformation ne livre aucun indice d'allergénicité. Il en va de même pour une protéine nouvelle exprimée par un gène obtenu à partir d'une source moins fréquemment allergisante et qui ne se combine pas aux IgE du sérum d'un petit nombre (>5 mais < 14) de patients allergiques. Des essais de stabilité peuvent être inclus dans certains cas. Cependant, le degré de confiance d'une évaluation fondée sur seulement deux critères de décision est faible. Les experts proposent d'inclure d'autres critères, comme le niveau d'expression de la protéine nouvelle.

ARBRE DECISIONNEL FAO/OMS 2001

**Evaluation du potentiel allergène
des aliments issus de Biotechnologies**
FAO/OMS 2001

