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

CAC/GL 68-2008

SECTION 1 - CHAMP D'APPLICATION

1. La présente directive est un complément des Principes pour l'analyse des risques liés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes. Elle traite de la sécurité sanitaire et des aspects nutritionnels des aliments composés ou issus d'animaux possédant un historique d'une utilisation sans risque en tant que source alimentaire et qui ont été modifiés à l'aide de biotechnologies modernes pour exprimer des caractères nouveaux ou modifiés¹.

2. Le développement, l'élevage et l'utilisation des animaux à des fins humaines et en particulier, pour la production d'aliments, soulèvent diverses questions dépassant la sécurité sanitaire des aliments. Sans mettre en doute leur légitimité ou leur importance, et sans examiner si ou comment l'emploi de méthodes fondées sur l'ADN recombiné pour la production d'animaux destinés à l'alimentation pourrait affecter ces questions, la présente directive ne traite que des questions relatives à la sécurité sanitaire des aliments ou à la nutrition. Elle ne porte donc pas sur:

- le bien-être des animaux;
- les aspects éthiques, moraux et socioéconomiques;
- les risques environnementaux liés à la présence d'animaux à ADN recombiné utilisés dans la production alimentaire;
- la sécurité sanitaire des animaux à ADN recombiné utilisés comme aliments pour animaux, ou la sécurité sanitaire des animaux nourris avec des aliments issus d'animaux, de plantes ou de micro-organismes à ADN recombiné.

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 discrètes comme les additifs alimentaires et les résidus de pesticides ou à un contaminant chimique ou microbien spécifique qui présente 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 la 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 des aliments issus de nouvelles lignées animales, y compris les animaux à ADN recombiné, est évaluée par rapport au produit traditionnel de référence ayant un historique d'une utilisation sans danger, 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 modifiés par rapport au produit traditionnel de référence.

5. Cette approche de l'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 pour l'analyse des risques liés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes. Si un danger nutritionnel ou autre problème de sécurité alimentaire, nouveau ou modifié, 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 pour l'analyse des risques liés aux aliments dérivés des biotechnologies modernes avant que sa distribution commerciale ne soit envisagée.

6. Les mesures de gestion des risques telles que la surveillance après la mise sur le marché des effets sur la santé du consommateur peuvent 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. La présente directive décrit l'approche recommandée pour effectuer les évaluations de la sécurité sanitaire des aliments issus d'animaux à ADN recombiné pour lesquels il existe un produit traditionnel de référence, et identifie les données et les informations généralement applicables pour réaliser ces évaluations². En évaluant la sécurité sanitaire des aliments issus d'animaux à ADN recombiné, l'approche devrait tenir compte des éléments suivants:

¹ La présente directive a été élaborée initialement pour les animaux porteurs de gènes hybrides héréditaires provenant d'ADN recombiné.

² L'approche de l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments issus d'animaux à ADN recombiné a été examinée pour la première fois lors de la Consultation mixte FAO/OMS sur les stratégies visant à évaluer la sécurité sanitaire des aliments produits au moyen des biotechnologies (1991). L'approche recommandée a été perfectionnée lors de la Consultation mixte

- A) la nature du gène chimère de l'ADN recombiné et son (ses) produit(s) d'expression, le cas échéant;
- B) l'état sanitaire de l'animal à ADN recombiné;
- C) la composition des aliments produits à partir d'animaux à ADN recombiné, y compris les nutriments essentiels.

Bien que cette directive soit destinée aux aliments issus d'animaux à ADN recombiné, l'approche décrite pourrait plus généralement être appliquée aux aliments issus d'animaux qui ont été modifiés par d'autres techniques³.

8. Une grande variété d'animaux sont utilisés comme aliments ou pour la production alimentaire (par exemple, mammifères, oiseaux, poissons et crustacés) et peuvent être modifiés à l'aide de techniques de manipulation *in vitro* des acides nucléiques. Étant donné les effets combinés de leur diversité génétique, des méthodes d'élevage et des conditions dans lesquelles ils sont élevés, l'évaluation de la sécurité sanitaire doit être considérée au cas par cas, en tenant dûment compte du cadre présenté dans la présente directive.

SECTION 2 – DÉFINITIONS

9. Les définitions ci-après s'appliquent à cette directive:

« **Animal à ADN recombiné** » — animal 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** » — race animale possédant un historique d'utilisation sans risque en tant qu'aliment d'où la lignée animale à ADN recombiné a été tirée, ainsi que le partenaire reproducteur utilisé pour créer les animaux qui seront utilisés comme aliment, et/ou comme aliments issus de ces animaux⁴.

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

10. Traditionnellement, les produits alimentaires issus d'animaux conçus au moyen de la sélection conventionnelle ou obtenus à partir d'espèces sauvages n'ont pas systématiquement été soumis à des évaluations chimiques, toxicologiques ou nutritionnelles approfondies avant d'être commercialisés. Ainsi, si les nouvelles races d'animaux sont souvent évaluées par des sélectionneurs en vue de déterminer leurs caractéristiques phénotypiques, elles ne sont pas soumises aux procédures d'analyse de la sécurité sanitaire, qui sont rigoureuses et approfondies, notamment aux études de toxicité validées chez les animaux d'expérience, qui sont pratiquées couramment pour les produits chimiques comme les additifs alimentaires et contaminants susceptibles de se trouver dans les aliments. Au contraire, les aliments issus d'un animal dont l'état sanitaire est connu et acceptable ont généralement été considérés propres à la consommation humaine.

11. 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 donc relativement simple de donner de tels composés à des animaux d'expérience 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'évaluer 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.

FAO/OMS sur l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés d'animaux génétiquement modifiés, y compris le poisson (2003).

³ L'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés d'animaux porteurs de gènes hybrides non héréditaires peut exiger des considérations supplémentaires, par exemple en ce qui concerne les dangers identifiés lors de la Consultation mixte FAO/OMS d'experts sur l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés d'animaux à ADN recombiné (2007).

⁴ Il est admis que, pour autant qu'on puisse le prévoir, les aliments dérivés des biotechnologies modernes ne seront pas utilisés comme produit traditionnel de référence.

12. Les études sur animaux d'expérience ne peuvent être directement appliquées à l'examen des risques associés à 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 sont 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'aliment 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.

13. Compte tenu des difficultés que présente l'application des procédés traditionnels d'essais toxicologiques et d'évaluation des risques aux aliments entiers, et sur la base de l'expérience acquise en matière d'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments entiers, l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments issus d'animaux, y compris les animaux à ADN recombiné, 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 modifications souhaitées et les modifications involontaires qui peuvent se produire chez l'animal ou dans les aliments dérivés de celui-ci, en utilisant le concept d'équivalence substantielle.

14. Le concept d'équivalence substantielle est une étape clé du processus d'évaluation de la sécurité sanitaire. Cependant, il ne s'agit pas d'une évaluation de la sécurité sanitaire, mais plutôt du point de départ utilisé pour structurer l'évaluation de la sécurité sanitaire d'un nouvel aliment par rapport à son produit traditionnel de référence. Ce concept est utilisé pour identifier les similitudes et les différences entre le nouvel aliment et son produit traditionnel de référence⁵. Il aide à l'identification de problèmes éventuels de sécurité sanitaire ou de nutrition et est considéré comme la stratégie la plus appropriée à ce jour pour évaluer la sécurité sanitaire des aliments issus d'animaux à ADN recombiné. Effectuée de cette façon, l'évaluation de la sécurité sanitaire ne peut garantir la sécurité absolue du nouveau produit. Elle vise plutôt à évaluer la sécurité sanitaire associée à tout écart observé, afin de pouvoir comparer la sécurité sanitaire offerte par le nouveau produit à celle du produit traditionnel de référence.

EFFETS INVOLONTAIRES

15. Lors de la réalisation de l'objectif consistant à conférer un caractère spécifique (effet souhaité) à un animal par l'insertion de séquences d'ADN définies, des caractères additionnels pourraient, 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. Il s'agit d'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 l'animal ou la sécurité sanitaire des aliments issus de celui-ci. Des effets involontaires se produisant chez les animaux à ADN recombiné pourraient être dus à l'insertion de séquences d'ADN et/ou à une sélection classique de l'animal à ADN recombiné. L'évaluation de la sécurité sanitaire devrait inclure des données et des informations pour réduire la possibilité qu'un aliment issu d'un animal à ADN recombiné ait un effet néfaste, involontaire sur la santé humaine.

16. Des effets involontaires peuvent résulter de l'insertion aléatoire de séquences d'ADN dans le génome de l'animal, 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 profils de métabolites nouveaux ou modifiés.

17. Les effets involontaires dus aux techniques de manipulation *in vitro* des acides nucléiques 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 animal et de l'amélioration des connaissances concernant les techniques de manipulation *in vitro* des acides nucléiques, 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. Il faudrait aussi les examiner au cas par cas.

⁵ Le concept d'équivalence substantielle tel que décrit dans le rapport de la consultation FAO/OMS d'experts de 2000 (Document WHO/SDE/PHE/FOS/00.6, OMS, Genève, 2000). Le concept d'équivalence substantielle a fait l'objet d'un nouvel examen dans le cadre d'une évaluation comparative lors de la Consultation mixte FAO/OMS d'experts sur l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments issus d'animaux génétiquement modifiés, y compris le poisson (2003).

18. L'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments issus d'animaux à ADN recombiné fait appel à des méthodes précises pour identifier et détecter de tels effets involontaires et des procédures pour évaluer leur importance 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'élément présente une faible probabilité d'avoir des effets néfastes sur la santé humaine. L'évaluation des effets involontaires prend en compte les caractéristiques phénotypiques de l'animal qui sont communément observées par les sélectionneurs durant le développement et l'amélioration de la population animale. Ces évaluations représentent un premier criblage des animaux à ADN recombiné qui révèlent des aspects indésirables. Les animaux à ADN recombiné qui passent cette sélection sont soumis à une évaluation de la sécurité sanitaire comme décrit aux sections 4 et 5.

CADRE DE L'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS

19. L'évaluation de la sécurité sanitaire suit un processus par étapes au cours duquel sont examinés certains facteurs importants, notamment:

- A) la description générale de l'animal à ADN recombiné;
- B) la description de l'organisme donneur avant la modification⁶ et son utilisation comme aliment ou pour la production alimentaire;
- C) la description de l'organisme donneur ou d'autres sources de l'ADN recombiné introduit;
- D) la description de la (des) modification(s) génétique(s) y compris le (les) gène(s) chimère(s) utilisé(s) pour introduire l'ADN recombiné;
- E) la description des méthodes utilisées pour produire l'animal à ADN recombiné initial⁷ et les processus appliqués pour produire l'animal à ADN recombiné utilisé en définitive comme aliment ou pour la production alimentaire;
- F) la caractérisation de la (des) modification(s) génétique(s) chez l'animal à ADN recombiné utilisé en tant qu'aliment ou pour la production alimentaire;
- G) l'évaluation de la sécurité sanitaire:
 - a. État sanitaire de l'animal à ADN recombiné;
 - b. Substances exprimées (substances autres que des acides nucléiques);
 - c. Analyse de composition en constituants essentiels;
 - d. Stockage et transformation des aliments;
 - e. Modification nutritionnelle prévue;
- H) d'autres considérations.

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

21. Les expériences destinées à l'obtention de données pour les évaluations de la sécurité sanitaire devraient être conçues et conduites en accord avec des concepts et principes scientifiques éprouvés 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 rationnelles, et analysées avec les méthodes statistiques appropriées. Chaque méthode d'analyse devrait être dûment étayée⁸.

⁶ À ne pas confondre avec la mère suppléante.

⁷ Premier animal obtenu grâce à l'introduction du gène chimère à ADN recombiné. Se réfère parfois à l'animal fondateur.

⁸ Renvoi aux Critères généraux pour la sélection de méthodes d'analyse figurant dans le Manuel de procédure du Codex Alimentarius.

22. 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. Les évaluations de la sécurité doivent tenir compte des aspects relatifs à la santé pour l'ensemble de la population, y compris les individus immunocompromis, les nourrissons, les personnes âgées et les individus souffrant d'hypersensibilité. L'objectif souhaité de ce type d'évaluation devrait être de déterminer si le nouvel aliment est aussi sûr 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 devraient être appliquées et, dans l'affirmative, prendre à cet égard des décisions éclairées et appropriées.

SECTION 4 - CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

DESCRIPTION GÉNÉRALE DE L'ANIMAL À ADN RECOMBINÉ

23. Il faudrait fournir une description de l'animal à ADN recombiné pour l'évaluation de la sécurité. Cette description devrait identifier l'ADN recombiné introduit, indiquer la méthode utilisée pour introduire l'ADN recombiné chez l'animal receveur et l'animal à ADN recombiné utilisé comme aliment ou pour la production alimentaire, ainsi que le but de la modification. Il ne faudrait pas négliger le risque potentiel que comporte l'introduction d'éléments pathogènes (par exemple, éléments responsables des encéphalopathies spongiformes transmissibles et autres maladies infectieuses) provenant de matériels biologiques utilisés comme source ou durant la production. La description devrait permettre de mieux comprendre la nature de l'aliment et les types d'aliment soumis à l'évaluation de la sécurité.

DESCRIPTION DE L'ANIMAL RECEVEUR AVANT LA MODIFICATION ET SON UTILISATION COMME ALIMENT OU POUR LA PRODUCTION ALIMENTAIRE

24. Il est conseillé de fournir une description complète de l'animal receveur avant de procéder à la modification. Les données et informations nécessaires devraient comprendre, mais sans nécessairement s'y limiter:

- A) le nom commun ou usuel, le nom scientifique et la classification taxonomique;
- B) un historique de son 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 le génotype et le phénotype concernant sa sécurité, y compris la toxicité ou un pouvoir allergisant connu, la symbiose avec des organismes producteurs de toxines, son potentiel de colonisation par des pathogènes humains;
- D) des informations sur l'effet des aliments pour animaux, de l'exercice et du milieu de croissance sur les produits alimentaires;
- E) un historique d'une utilisation sûre en tant qu'aliment ou pour la production alimentaire.

25. Les informations phénotypiques pertinentes devraient être fournies non seulement pour l'animal receveur avant la modification, mais aussi pour des lignées apparentées et pour des animaux qui ont apporté ou pourraient apporter une contribution importante au patrimoine génétique de l'animal receveur avant la modification, le cas échéant.

26. L'historique d'utilisation peut inclure des informations sur la façon dont l'animal a été sélectionné et élevé, comment ses produits alimentaires sont obtenus (par exemple, récolte, abattage, traite), et les conditions dans lesquelles ces produits sont mis à la disposition du consommateur (par exemple, stockage, transport, transformation). Il faudrait aussi tenir compte de la mesure dans laquelle les produits alimentaires fournissent des éléments nutritifs importants à des sous-groupes particuliers de la population et quels macro- ou micronutriments importants ils fournissent au régime alimentaire.

DESCRIPTION DE L'ORGANISME DONNEUR OU AUTRES SOURCES DE L'ADN RECOMBINÉ INTRODUIT

27. Des informations devraient être fournies sur les points suivants:

- A) si l'ADN recombiné a été synthétisé ou non et s'il ne provient pas d'une source naturelle connue;
- B) s'il provient d'un autre organisme:
 - i. le nom usuel ou courant de cet organisme;
 - ii. le nom scientifique;
 - iii. la classification taxonomique;
 - iv. des informations sur son histoire naturelle en ce qui concerne la sécurité sanitaire de l'aliment;
 - v. des informations sur les toxines existant à l'état naturel, et les allergènes;

- vi. pour les micro-organismes, des informations complémentaires sur la pathogénicité (pour l'homme et pour l'animal) et les relations avec des pathogènes humains ou animaux connus;
- vii. pour les donneurs d'origine animale ou virale, des informations sur le matériel source (par exemple, cultures cellulaires) qui a été utilisé, et ses origines;
- viii. des informations sur des usages passés et présents, dans l'approvisionnement alimentaire et de voie(s) d'exposition autres que l'usage alimentaire prévu (par exemple, présence éventuelle en tant que contaminant).

Il est particulièrement important de déterminer si les séquences d'ADN recombiné provoquent une pathogénicité ou la production de toxines, ou ont d'autres caractères qui affectent la santé humaine (par exemple, l'allergénicité).

DESCRIPTION DE LA OU DES MODIFICATION(S) GÉNÉTIQUE(S), Y COMPRIS LE(S) GÈNE(S) CHIMÈRE(S) UTILISÉ(S) POUR INTRODUIRE L'ADN RECOMBINÉ

28. Des informations suffisantes devraient être fournies au sujet de la modification génétique pour permettre l'identification de tout le matériel génétique potentiellement délivré à l'animal receveur et pour fournir les informations nécessaires à l'analyse des données pour étayer la caractérisation de l'ADN inséré dans l'animal qui sera ensuite utilisé comme aliment ou pour la production alimentaire.

29. La description du processus d'introduction ou d'incorporation (le cas échéant) de l'ADN recombiné dans l'animal receveur devrait inclure:

- A) des informations sur la méthode utilisée pour la transformation;
- B) des informations, le cas échéant, sur l'ADN utilisé pour modifier l'animal (par exemple des gènes codants pour les protéines utilisés pour les vecteurs d'encapsidation), y compris sa source, son identité et ses fonctions attendues dans l'animal:
 - si des vecteurs viraux ou des organismes zoonotiques connus ont été utilisés, des informations sur leurs hôtes naturels, les organes cibles, le mode de transmission, le pouvoir pathogène et le potentiel pour une nouvelle combinaison avec des pathogènes endogènes ou exogènes;
- C) des organismes hôtes intermédiaires, y compris les organismes (par exemple, bactéries) utilisés pour produire ou modifier l'ADN qui a servi à produire ou à produire l'animal à ADN recombiné initial.

30. Des informations devraient être fournies sur l'ADN introduit, notamment:

- A) la séquence d'ADN primaire si l'ADN recombiné a été synthétisé et qu'il ne provient pas d'une source naturelle connue;
- B) la caractérisation de tous les matériels génétiques, comprenant les gènes marqueurs, les éléments régulateurs et les autres éléments affectant l'expression et la fonction de l'ADN;
- C) la taille et l'identité;
- D) la localisation et l'orientation des séquences dans le vecteur ou la construction final(e);
- E) la fonction.

DESCRIPTION DES MÉTHODES UTILISÉES POUR PRODUIRE L'ANIMAL INITIAL À ADN RECOMBINÉ ET DES PROCESSUS MIS EN ŒUVRE POUR PRODUIRE L'ANIMAL À ADN RECOMBINÉ UTILISÉ COMME ALIMENT OU POUR LA PRODUCTION ALIMENTAIRE

31. Il faudrait donner des renseignements sur les diverses techniques et les divers procédés qui sont utilisés pour insérer l'ADN recombiné afin d'obtenir l'animal initial à ADN recombiné. Des exemples de techniques possibles pourraient inclure la transformation des gamètes, la micro-injection d'embryons précoces, le transfert nucléaire de cellules transgéniques.

32. Il faudrait fournir une description des méthodes utilisées pour démontrer l'héritabilité, notamment des descriptions de la manière dont on parvient à l'héritabilité (par exemple, faire s'accoupler des animaux mosaïques pour obtenir de vraies insertions transmissibles de cellules germinales).

33. Bien que les animaux à ADN recombiné initial ne soient généralement pas destinés à être utilisés comme aliments ou pour la production alimentaire, il pourrait être utile de connaître la méthode employée pour créer ces animaux aux fins de l'identification des dangers.

34. Il faudrait aussi fournir des renseignements sur la manière dont l'animal à ADN recombiné initial conduit à la production de l'animal qui sera finalement utilisé comme aliment ou pour la production alimentaire. Ce renseignement devrait, si possible, comprendre des informations sur les couples reproducteurs, ou les mères suppléantes notamment le génotype et le phénotype, les méthodes d'élevage et les conditions dans lesquelles ceux-ci sont élevés.

35. L'historique de l'utilisation des produits alimentaires provenant d'animaux utilisés en définitive pour la production d'aliments depuis l'animal à ADN recombiné initial (par exemple, les couples reproducteurs, les mères suppléantes) pourrait comprendre des renseignements sur la manière dont ces animaux se reproduisent et croissent, comment leurs produits alimentaires sont obtenus (par exemple, récolte, abattage, traite) et les conditions dans lesquelles ils sont mis à la disposition des consommateurs (par exemple, stockage, transport, transformation).

CARACTÉRISATION DES MODIFICATIONS GÉNÉTIQUES CHEZ L'ANIMAL À ADN RECOMBINÉ DESTINÉ À ÊTRE UTILISÉ COMME ALIMENT OU POUR LA PRODUCTION ALIMENTAIRE

36. Afin de bien comprendre l'impact sur la composition et la sécurité sanitaire des aliments issus d'animaux à ADN recombiné, il sera bon de procéder à une caractérisation moléculaire et biochimique détaillée de chaque modification génétique.

37. Les informations devraient porter sur les insertions d'ADN dans le génome de l'animal; elles comprendraient:

- A) la caractérisation et la description des matériels génétiques insérés qui devraient inclure une analyse du potentiel de mobilisation ou de recombinaison de tout matériel de construction utilisé;
- 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'un point de vue scientifique, d'autres informations telles que l'analyse des transcrits ou des produits d'expression, pour identifier toutes nouvelles substances pouvant 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 l'animal, y compris de ceux qui pourraient conduire à la création de protéines fusion.

38. Des informations devraient être fournies sur toutes les substances nouvellement exprimées chez l'animal à ADN recombiné, notamment:

- A) le(s) produit(s) génique(s) (par exemple une protéine ou un ARN non traduit) ou d'autres renseignements tels que l'analyse des transcrits ou les produits d'expression pour identifier toutes nouvelles substances qui peuvent être présentes dans l'aliment;
- B) la fonction du (des) produit(s) génique(s);
- C) la description phénotypique du (des) nouveau(x) caractère(s);
- D) le niveau et le site d'expression chez l'animal du (des) produit(s) génique(s) exprimé(s), et les niveaux de ses (leur) métabolites dans l'aliment; et
- E) si cela est possible, la quantité de produits géniques ciblés si la fonction de la (des) séquence(s) exprimée(s)/gène(s) consiste à perturber l'accumulation d'un ARNm endogène spécifique ou d'une protéine.

39. En outre, des informations devraient être fournies pour:

- A) 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) 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) démontrer si l'effet escompté de la modification a bien été obtenu et que tous les caractères exprimés sont stables et exprimés comme prévu. 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) démontrer si les nouveaux caractères 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) indiquer s'il existe une quelconque preuve qui suggère qu'un ou plusieurs gènes de l'animal à ADN recombiné a (ont) été affecté(s) par le processus de transformation; et
- F) confirmer l'identité et le profil d'expression de toutes nouvelles protéines fusion.

ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE DE L'ANIMAL À ADN RECOMBINÉ DESTINÉ À ÊTRE UTILISÉ COMME ALIMENT OU POUR LA PRODUCTION ALIMENTAIRE

État sanitaire de l'animal à ADN recombiné

40. Contrairement à la situation des plantes, les animaux qui sont connus comme ne présentant aucun risque en tant que sources d'aliments ne contiennent généralement pas de gènes codants pour les substances toxiques. De ce fait, la santé d'un animal conventionnel a traditionnellement été utilisée comme un indicateur utile de la sécurité sanitaire des aliments dérivés. L'habitude de ne faire entrer dans les rations alimentaires que les animaux dont l'état sanitaire est connu et acceptable a été et continue d'être une mesure essentielle pour garantir la sécurité sanitaire des aliments.

41. Évaluer la santé de l'animal est une des mesures essentielles pour assurer la sécurité sanitaire des aliments issus d'animaux à ADN recombiné. En entreprenant cette évaluation, il est important de comparer l'état sanitaire de l'animal à ADN recombiné avec celui du produit traditionnel de référence approprié, en tenant compte du stade du développement.

42. L'évaluation devrait comprendre les éléments ci-après:

- A) Indicateurs de la santé générale et des performances, y compris le comportement, la croissance et le développement, l'anatomie générale et la fonction reproductive, le cas échéant;
- B) Des mesures physiologiques dont des paramètres cliniques et analytiques;
- C) D'autres aspects propres à l'espèce, le cas échéant.

Substances exprimées (substances autres que les acides nucléiques)

Évaluation de la toxicité ou de la bioactivité éventuelle

43. Les techniques de manipulation *in vitro* d'acides nucléiques permettent l'introduction d'ADN qui peut aboutir à la synthèse de nouvelles substances chez l'animal à ADN recombiné. Ces substances peuvent être des composés classiques des aliments d'origine animale, tels que protéines, graisses, hydrates de carbone, vitamines, qui sont nouvelles dans le contexte de cet animal 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.

44. Il est reconnu que l'évaluation de l'état sanitaire des animaux à ADN recombiné peut donner des informations sur la toxicité et la bioactivité éventuelle des substances exprimées. Toutefois, on s'attend en général à ce que l'évaluation de la sécurité sanitaire comprenne l'évaluation de ces substances.

45. L'évaluation de la sécurité sanitaire devrait tenir compte de la nature et de la fonction chimiques de la nouvelle substance exprimée et mesurer la concentration de la substance dans les parties comestibles et d'autres produits alimentaires dérivés de l'animal à ADN recombiné, y compris les variations et les valeurs moyennes. On tiendra compte également de l'exposition par le régime alimentaire actuel et des effets éventuels sur des groupes particuliers de la population.

46. Des informations devraient être fournies pour s'assurer que les gènes d'organismes donneurs codants pour des toxines connues ou des facteurs anti-nutritionnels présents dans les organismes donneurs, le cas échéant, ne sont pas transférés à des animaux à ADN recombiné qui n'expriment pas normalement ces toxines ou caractéristiques antinutritionnelles. Cette garantie est particulièrement importante dans les cas où un aliment issu d'un animal à ADN recombiné est transformé différemment de l'organisme 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.

47. 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 s'avérer nécessaire.

48. Dans le cas de protéines, l'évaluation de la toxicité potentielle devrait se focaliser sur les similitudes des séquences d'acides aminés entre la protéine et les protéines toxiques ainsi que sur la stabilité à la chaleur ou au processus de transformation et à la dégradation dans des modèles de simulation représentatifs des conditions gastriques et intestinales. Il pourrait être nécessaire d'entreprendre des études de toxicité orale⁹ 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 chez l'animal quand elle est connue.

⁹ Les études des directives pour la toxicité orale ont été mises au point lors de forums internationaux, par exemple les Directives OCDE pour la mise à l'essai des substances chimiques.

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

50. Concernant les substances bioactives nouvellement exprimées, il serait bon d'évaluer leur effet potentiel sur les animaux à ADN recombiné dans le cadre d'une évaluation globale de la santé de l'animal. Il est possible que ces substances soient actives chez l'homme. Il faut donc tenir compte de l'exposition alimentaire potentielle à la substance, de la possibilité qu'elle devienne bioactive après consommation et, dans ce cas, de ses effets éventuels sur l'homme.

51. L'évaluation de la toxicité potentielle peut nécessiter l'isolement de la nouvelle substance à partir de l'animal 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 étudié est équivalent sur le plan biochimique, structurel et fonctionnel à celui produit dans l'animal à ADN recombiné.

Évaluation de l'allergénicité potentielle (protéines)

52. Quand une ou plusieurs protéines résultant du gène inséré sont présentes dans les aliments, il faut évaluer son allergénicité potentielle dans tous les cas. Une approche au cas par cas, progressive et intégrée dans l'évaluation de l'allergénicité potentielle des nouvelles protéines exprimées 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 21, les données devraient être obtenues à l'aide de méthodes scientifiques solides. Une présentation détaillée des points à examiner figure dans l'Appendice au présent document¹⁰.

53. On évitera le transfert de gènes issus d'aliments communément allergéniques, à moins que ne soit documenté le fait que le gène en question ne code pas pour un allergène.

Analyse de la composition en composants clés

54. Des analyses de concentrations des composants clés¹¹ des animaux à ADN recombiné et, spécialement ceux caractéristiques de l'aliment, devraient être comparées par une analyse équivalente d'un produit traditionnel de référence élevé et amélioré selon les mêmes techniques d'élevage. Selon l'espèce (et la nature de la modification), il peut être nécessaire de faire des comparaisons entre des produits provenant d'animaux à ADN recombiné et des produits traditionnels de référence appropriés élevés à l'aide de plusieurs méthodes d'élevage. 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. Toutefois, il faudrait reconnaître que, particulièrement dans le cas de certaines espèces animales, le nombre d'échantillons disponibles pourrait être limité et qu'il risque d'y avoir une grande variation entre les animaux, même ceux élevés selon les mêmes méthodes. Les éléments de comparaison utilisés dans cette évaluation devraient idéalement correspondre en ce qui concerne les conditions d'hébergement et d'élevage, la race, l'âge, le sexe, le rang de portée, la lactation, ou le cycle de ponte (le cas échéant). Concrètement, cela pourrait ne pas être réalisable à tout moment, dans ce cas on choisira un produit traditionnel de référence aussi proche que possible. Le but de cette comparaison, conjointement à une évaluation de l'exposition, le cas échéant, 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.

Stockage et transformation des aliments

55. Il faudrait aussi tenir compte des effets potentiels de la transformation des aliments, y compris une préparation à domicile, effectuée sur des aliments issus d'animaux à ADN recombiné. 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. Des informations devraient donc être fournies décrivant les méthodes de transformation utilisées dans la production d'un ingrédient alimentaire provenant de l'animal.

56. Si la modification vise le stockage ou la durée de conservation, son impact sur la sécurité sanitaire de l'aliment et/ou sa qualité nutritionnelle devrait être évalué.

¹⁰ Le rapport de la consultation FAO/OMS d'experts de 2001, qui comprend des références à plusieurs arbres de décision a été utilisé lors de l'élaboration de l'Annexe à ces directives.

¹¹ Les nutriments essentiels sont les composants d'un aliment particulier qui pourraient avoir un impact important dans le régime alimentaire considéré dans son ensemble. Ces composants peuvent être majeurs (graisses, protéines, carbohydrates comme nutriments ou inhibiteurs des enzymes comme anti-nutriments) ou mineurs (minéraux, vitamines). Par substances toxiques essentielles, on entend les composés significatifs d'un point de vue toxicologique dont on sait qu'ils sont intrinsèquement présents dans l'organisme, comme les composés dont la puissance toxique et le niveau peuvent être importants pour la santé et les allergènes. Chez les animaux, la présence de substances toxiques serait rare, tandis que la présence d'allergènes serait commune chez certaines espèces.

Modification nutritionnelle intentionnelle

57. L'évaluation d'une éventuelle modification de composition des nutriments clés, qui devrait être conduite pour tous les animaux à ADN recombiné, a déjà été abordée dans les « Analyses de la composition en composants clés ». Néanmoins, les aliments issus d'animaux 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'aliment dans les rations alimentaires.

58. 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 issus de l'animal à ADN recombiné. 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. Il faudrait porter une attention spéciale aux caractéristiques physiologiques particulières et aux 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 supplémentaires 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.

59. La pratique de l'amélioration génétique des animaux, incluant les techniques de manipulation *in vitro* des acides nucléiques, pour modifier les niveaux de nutriments dans les aliments d'origine animale peut induire des changements importants dans le profil des nutriments de deux manières. La modification intentionnelle des constituants animaux peut changer l'intégralité du profil nutritionnel du produit animal 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 constituants de l'animal à ADN recombiné aient été individuellement évalués comme sûrs, il est conseillé de déterminer l'impact du changement sur le profil général des nutriments.

60. Quand les modifications résultent en un produit alimentaire dont la composition diffère sensiblement de celle du produit traditionnel de référence, il peut être approprié d'utiliser d'autres aliments ou constituants alimentaires traditionnels (c'est-à-dire des aliments ou des constituants alimentaires dont la composition nutritionnelle est la plus proche de celle de l'aliment issu de l'animal à ADN recombiné) comme référentiels appropriés pour évaluer l'impact nutritionnel de l'aliment.

61. 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. Certains aliments d'origine animale servent de source majeure pour un nutriment particulier chez certaines populations. Il faudrait identifier les nutriments et les populations concernées.

62. Certains aliments peuvent nécessiter des tests supplémentaires. Par exemple, des études de l'alimentation animale peuvent être justifiées pour les aliments issus d'animaux 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. Ainsi, des aliments conçus pour améliorer la santé peuvent nécessiter des études nutritionnelles spécifiques, toxicologiques ou autres études appropriées. 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 OU DISTRIBUTION MODIFIÉE POTENTIELLE DE SUBSTANCES OU DE MICRO-ORGANISMES IMPORTANTS POUR LA SANTÉ HUMAINE

63. Certains animaux à ADN recombiné présentent parfois des caractères qui pourraient engendrer des possibilités d'accumulation ou de distribution modifiée des xénobiotiques (par exemple, résidus de médicaments vétérinaires, métaux), susceptibles d'affecter la sécurité sanitaire des aliments. De même, les possibilités de colonisation modifiée par des pathogènes humains, d'excrétion de pathogènes humains ou d'une nouvelle symbiose avec des organismes producteurs de toxines chez l'animal à ADN recombiné pourraient avoir un effet sur la sécurité sanitaire de l'aliment. L'évaluation de la sécurité sanitaire devrait tenir compte de l'éventualité de ces modifications et, lorsque ce type de modification est avéré, il faudrait tenir compte de ses effets potentiels sur la santé humaine en recourant à des procédés traditionnels pour établir la sécurité sanitaire de ces composés.

UTILISATION DE GÈNES MARQUEURS DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

64. D'autres techniques de transformation qui n'entraînent pas de gènes marqueurs de résistance aux antibiotiques dans les aliments devraient être utilisées pour le développement futur d'animaux à ADN recombiné, là où ces techniques sont disponibles et se sont avérées sans danger.

65. Le transfert de gènes à partir d'animaux et de leurs produits alimentaires à des micro-organismes de la flore intestinale ou à des cellules humaines est considéré comme une possibilité rare du fait qu'il implique l'enchaînement de nombreux événements complexes et improbables. Néanmoins, on ne peut écarter complètement cette éventualité¹².

66. En évaluant la sécurité sanitaire des aliments contenant des gènes marqueurs de la résistance à un antibiotique, il faudrait tenir compte des facteurs ci-après:

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

(Certains antibiotiques sont actuellement les seuls médicaments disponibles pour traiter certaines pathologies (par exemple, la vancomycine employée pour le traitement de certaines infections par staphylocoques). Les gènes marqueurs conférant la résistance à ces antibiotiques ne devraient pas être utilisés chez les animaux 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 de l'antibiotique administré par voie orale; et

(Cette évaluation devrait fournir une estimation de la quantité d'antibiotique ingérée 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 (par exemple ATP) pour l'activité enzymatique ainsi que la concentration estimée de ces facteurs dans l'aliment.)

C) L'innocuité du produit génique, comme cela serait le cas pour tout autre produit génique exprimé.

67. Si l'analyse des données et des informations suggère que la présence du gène marqueur de résistance à un antibiotique ou un produit génique présente des risques pour la santé humaine, le gène marqueur ou le produit génique ne devrait pas être présent dans l'aliment. Les gènes de résistance à un antibiotique utilisé dans la production alimentaire qui confèrent une résistance aux antibiotiques utilisés à des fins thérapeutiques ne devraient pas être présents dans les aliments.

RÉVISION DES ÉVALUATIONS DE LA SÉCURITÉ SANITAIRE

68. L'évaluation de la sécurité sanitaire a pour objectif d'établir si le nouvel aliment est ou non aussi sain que son 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.

¹² Dans les cas où les bactéries résistantes à l'antibiotique existent à de hauts niveaux dans la nature, la probabilité qu'elles transfèrent cette résistance à d'autres bactéries sera beaucoup plus élevée que la probabilité de transfert entre aliments ingérés et bactéries.

ANNEXE : ÉVALUATION DE L'ALLERGÉNICITÉ POTENTIELLE

SECTION 1 – INTRODUCTION

1. Toute nouvelle protéine exprimée¹³ chez les animaux à ADN recombiné qui pourrait être présente dans l'aliment final devrait être évaluée sous l'angle de son potentiel à provoquer des réactions allergiques. Il faudrait notamment établir 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. Il est donc recommandé d'utiliser une approche au cas par cas, progressive et intégrée, comme celle décrite ci-dessous, pour évaluer l'allergénicité éventuelle de protéines nouvellement exprimées. Cette approche tient compte des preuves fournies par différents types d'information et de données du fait qu'aucun critère n'est à lui seul suffisamment prédictif.
3. Le résultat final 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 similitude significative entre la séquence d'acides aminés de la protéine et celle des allergènes connus, ses propriétés structurales, y compris, sans s'y limiter, sa sensibilité à la dégradation enzymatique, et sa stabilité à la chaleur et/ou aux traitements acide et enzymatique.
5. Comme aucun test unique ne peut prédire la probabilité d'une réponse IgE humaine 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 physicochimiques de la nouvelle protéine exprimée avec celle d'allergènes connus en suivant une méthode reposant sur le poids de la preuve. Cela nécessitera la purification de toutes nouvelles protéines exprimées chez l'animal 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 chez l'animal à ADN recombiné. On accordera une attention particulière au 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 issus d'animaux à ADN recombiné, l'information devrait décrire tout cas d'allergénicité associée 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. Connaître la source de la protéine introduite permet d'identifier les outils et les données pertinents à considérer pour l'évaluation de l'allergénicité. Ceux-ci comprennent: la disponibilité de sérum à des fins de criblage; le type, la gravité et la fréquence des réactions allergiques documentées; les caractéristiques structurales et la séquence des acides aminés; les propriétés physicochimiques et immunologiques (le cas échéant) des protéines allergéniques connues provenant de cette source.

¹³ Cette stratégie d'évaluation ne s'applique pas à l'évaluation des aliments quand l'expression des produits géniques est réduite à des fins hypoallergéniques.

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. Ces recherches devraient être menées en utilisant différents algorithmes tels que FASTA ou BLASTP, afin de prédire toute similitude 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 recherchée devrait être fondée sur une base scientifique justifiée en vue de minimiser la possibilité d'obtenir de faux négatifs ou de faux positifs.¹⁴ Pour obtenir des résultats biologiquement pertinents, il faudrait adopter des méthodes de recherche et d'évaluation validées.

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 réaction 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 examiné plus avant, il devrait être évalué au moyen de sérum provenant de 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 allergénique¹⁵. 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 faudrait prendre 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 apportées¹⁶.

¹⁴ 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.

¹⁵ La méthode décrite dans U.S. Pharmacopoeia (1995) a servi à établir cette corrélation (Astwood *et al.* 1996).

¹⁶ Rapport de la consultation mixte FAO/OMS d'experts sur l'allergénicité des aliments dérivés des biotechnologies (2001): section "6.4 Résistance à la pepsine".

SECTION 4 – DÉPISTAGE DE SÉRUMS SPÉCIFIQUES

14. Pour les 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 personnes¹⁷. 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 envisagé 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 protocoles¹⁸ *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.

¹⁷ 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 aux fins de tests.

¹⁸ 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).