

7. Evaluación de la posible alergenidad de las proteínas presentes en los alimentos obtenidos de plantas de ADN recombinante

Alergias alimentarias

Las alergias alimentarias son reacciones adversas a un alimento o a un componente de un alimento por lo demás inocuo en las que hay una respuesta anómala del sistema inmunitario del organismo a determinadas proteínas presentes en los alimentos que se denominan “alérgenos”. Las auténticas alergias alimentarias pueden dar lugar a diversos tipos de respuesta inmunológica (Sampson y Burks, 1996).

Los tipos más comunes de alergia alimentaria se producen por mediación de anticuerpos (inmunoglobulina E o IgE)²¹ específicos del alérgeno. Las reacciones mediadas por IgE se denominan reacciones de hipersensibilidad inmediata porque los síntomas aparecen en un período que va de unos minutos a unas pocas horas después de la ingestión del alimento responsable de la alergia. Hay reacciones mediadas por IgE a pólenes, esporas del moho, caspa de animales, veneno de insectos y otros estímulos ambientales, así como a alimentos. Las reacciones mediadas por inmunoglobulina E afectan quizá al 10-25 por ciento de la población de los países desarrollados (Mekori, 1996).

Las alergias alimentarias representan una pequeña parte de las enfermedades alérgicas, y afectan a menos del 2.5 por ciento de la población de los países desarrollados (Anderson, 1996). Las alergias mediadas por inmunoglobulina E afectan más a menudo a lactantes y niños pequeños que a adultos; la prevalencia entre niños menores de 3 años puede llegar hasta el 5-8 por ciento (Bock, 1987; Sampson, 1990).

Las auténticas alergias alimentarias abarcan también reacciones mediadas por células, en las que intervienen linfocitos sensibilizados asociados a los tejidos en lugar de anticuerpos (Sampson, 1990). En las reacciones mediadas por células, los síntomas aparecen más de 8 horas después de la ingestión del alimento responsable. La función de los alimentos en las reacciones mediadas por células sigue siendo incierta (Burks y Sampson, 1993) aunque la enfermedad celíaca²², también llamada enteropatía por sensibilidad al gluten, afecta a un intervalo comprendido entre una de cada 300 y una de cada 3 000 personas, en función de la región geográfica de que se trate. Tanto las alergias alimentarias mediadas por inmunoglobulina E como la enteropatía por sensibilidad al gluten se tratan con dietas de eliminación de ciertos alimentos. Dado que en ambos casos la dosis umbral es bastante baja, hay que tener mucho cuidado al elaborar dietas de eliminación seguras y eficaces.

La Comisión del Codex Alimentarius ha establecido una lista de los alimentos alérgenos más comunes asociados con las reacciones mediadas por inmunoglobulina E a escala mundial, que incluye el maní (cacahuete), la soja, la leche, los huevos, el pescado, los crustáceos, el trigo y las nueces de árbol. Estos alimentos, que son alérgenos habituales, ocasionan más del 90 por ciento de las reacciones alérgicas alimentarias de moderadas a graves, si bien una amplia búsqueda bibliográfica ha revelado que hay más de 160 alimentos asociados con reacciones alérgicas esporádicas (Hefle *et al.*, 1996).

También son muy comunes las reacciones alérgicas a frutas y verduras frescas, incluido el denominado síndrome de alergia oral (Parker *et al.*, 1990), pero estos alimentos no figuran en la

²¹ La inmunoglobulina E es un anticuerpo proteínico que reconoce un alérgeno. Circula en la sangre y se fija en la superficie de determinadas células (basófilos y mastocitos). Cuando la inmunoglobulina E presente en la superficie de una célula se liga a un alérgeno, se desencadena la liberación de mediadores químicos que provocan los síntomas asociados con las reacciones alérgicas.

²² La enteropatía por sensibilidad al gluten es un síndrome de absorción deficiente caracterizado por emaciación, anemia, diarrea y dolores óseos, entre otros síntomas.

Cuadro 7.1. Secuencias de proteínas de origen vegetal que constituyen alérgenos alimentarios¹

Especie	Nombre común	Alérgeno	Sinónimo/función	Número de acceso
Arachis hypogea	Maní (cacahuete)	Ara h 1	Clon P41b	L34402
			Clon 5A1	L33402
			Clon P17	L38853
		Lectina del maní (cacahuete)	Aglutinina	S14765
Bertholletia excelsa	Nuez del Brasil	Ber e 1	2S albúmina (gen BE2S1)	X54490
Brassica juncea	Mostaza de Sarepta	Bra j IE-L	2S albúmina cadena larga	S35592
		Bra j IE-S	2S albúmina cadena corta	S35591
Carica papaya	Papaya	Papaína		M15203
Glycine max	Soja	Glicinina	Subunidad A1aBx	X02985
			Subunidad A2B1a	Y00398
			Subunidad A3B4	M10962
			Subunidad G1	X15121
			Subunidad G2	X15122
			Subunidad G3	X15123
		beta-Conglicinina	alfa-subunidad	X17698
			Subunidad CG4	S44893
		Lectina de la soja	Aglutinina de la soja	K00821
		Inhibidor de la tripsina de Kunitz	Subtipo KTi-s	X80039
Subtipo KTi-a	X64447			
Subtipo KTi-b	X64448			
Hordeum vulgare	Cebada	Hor v 1	alfa-amilasa/ inhibidor de la tripsina	S26197
		Hor v 1	alfa-amilasa/ inhibidor de la tripsina	P32360
Malus domestica	Manzana	Mal d 1	Profilina	X83672
Oryza sativa	Arroz	RAP	Proteína alérgena del arroz	X66257
		RAG 1	Alérgeno del arroz 1	D11433
		RAG 2	Alérgeno del arroz 2	D11434
		RAG 5	Alérgeno del arroz 3	D11430
		RAG 14	Alérgeno del arroz 14	D11432
		RAG 17	Alérgeno del arroz 17	D11431
Phaseolus vulgaris	Frijol	PR-1	Proteína 1 relacionada con la patogénesis	S11929
		PR-2	Proteína 2 relacionada con la patogénesis	S11930
Sinapis alba	Mostaza blanca	Sin a 1.1	Inhibidor de la 2S albúmina/amilasa	S54101
		Sin a 1.2	Inhibidor de la 2S albúmina/amilasa	PC1247
Triticum aestivum		WGA	Aglutinina A del germen de trigo	M25536
		WGA	Aglutinina D del germen de trigo	M25537
Triticum durum	Trigo para pasta	WGA	Aglutinina del germen de trigo	J02961
Triticum turgidum	Trigo poulard	16 K alérgeno	Inhibidor de la alfa-amilasa	S19296

¹ Adaptado de Metcalfe et al. (1996).² Bases de datos de dominio público: GenBank/EMBL/Genpept ver 86.0, SWISSPROT ver 30, PIR ver 41.

lista de la Comisión del Codex Alimentarius porque los síntomas suelen ser leves y se limitan a la zona bucofaríngea, y los alérgenos son inestables frente al calentamiento y la digestión. La lista establecida por la Comisión del Codex Alimentarius también incluye los cereales que contienen gluten (trigo, centeno, cebada, avena y escanda) y que participan en la etiología de la enteropatía por sensibilidad al gluten. En el Cuadro 7.1 se ofrece un resumen de las secuencias de proteínas de alérgenos alimentarios procedentes de alimentos de origen vegetal y sus números de acceso para recuperar los datos de la secuencia de las bases pertinentes.

Casi todos los alérgenos alimentarios son proteínas, aunque es posible que otros componentes de los alimentos actúen como haptenos²³. Del mismo modo, las proteínas del tipo prolamina procedentes del trigo, el centeno, la cebada, etc., participan en el desencadenamiento de la enteropatía por sensibilidad al gluten. Los cultivos de los que se obtienen los alimentos básicos contienen decenas de miles de proteínas diferentes, pero relativamente pocas son alérgenas. La distribución de estas proteínas en la planta varía y puede verse afectada por factores medioambientales como el clima y las enfermedades. La fitogenética convencional elimina o introduce diversidad proteínica en el suministro de alimentos, pero tiene pocos o efectos, caso de que los tenga, en el potencial alérgeno de los principales alimentos.

Posible alergenicidad de los alimentos obtenidos de plantas de ADN recombinante

La posible alergenicidad de las proteínas introducidas en la dieta humana a través de los alimentos obtenidos de plantas de ADN recombinante suscita preocupación, en particular si no existe un historial de su consumo, si la fuente no se puede identificar fácilmente o si existen versiones recombinadas de proteínas procedentes de distintas fuentes. En el Anexo titulado “Evaluación de la posible alergenicidad” de las Directrices del Codex (véase el Apéndice 2) se muestra el enfoque actualmente vigente para la evaluación de la alergenicidad. Dado que no existe una prueba concluyente a la que recurrir para predecir las respuestas alérgicas de los seres humanos a proteínas recientemente expresadas, el Codex recomienda utilizar un enfoque integrado, gradual y específico de cada caso para la evaluación de la posible alergenicidad de estas proteínas. Este enfoque tiene en cuenta las pruebas obtenidas de distintos tipos de información y datos porque ningún criterio tiene por sí solo suficiente capacidad predictiva.

Además del Anexo, en los párrafos 41 a 43 de las Directrices del Codex se resumen los enfoques para la evaluación de la alergenicidad.

PÁRRAFO 41 DE LAS DIRECTRICES DEL CODEX. En todos los casos en que la proteína o proteínas resultantes del gen insertado estén presentes en los alimentos será necesario evaluar su alergenicidad potencial. El enfoque integral y progresivo que ha de aplicarse caso por caso en la evaluación de la alergenicidad potencial de las nuevas proteínas expresadas debe basarse en varios criterios utilizados de forma combinada (puesto que no hay un criterio capaz de predecir por sí solo la presencia o ausencia de alergenicidad). En el anexo se presentan en detalle las cuestiones que han de someterse a examen.

PÁRRAFO 42 DE LAS DIRECTRICES DEL CODEX. Es necesario evaluar las nuevas proteínas expresadas en alimentos derivados de plantas de ADN recombinante para determinar toda función que puedan cumplir en la generación de enteropatía sensible al gluten en caso de que el material genético introducido se haya obtenido de trigo, centeno, cebada, avena o cereales afines.

PÁRRAFO 43 DE LAS DIRECTRICES DEL CODEX. Se deberá evitar la transferencia de genes de alimentos generalmente alérgicos y de aquellos que se sabe que generan enteropatía sensible al gluten en los individuos sensibles, a menos que esté documentado que el gen transferido no forma parte de un alérgeno o proteína responsable de enteropatía sensible al gluten.

Estrategia de evaluación de la alergenicidad

Las primeras etapas de la evaluación de la posible alergenicidad de cualquier proteína recientemente expresada consisten en determinar la fuente de la proteína introducida, cualquier similitud significativa entre la secuencia de aminoácidos de la proteína y la de alérgenos conocidos, y sus propiedades estructurales, incluida, sin limitarse a ello, su susceptibilidad a la degradación enzimática, al calor y al tratamiento ácido y enzimático.

²³ Los haptenos son pequeñas moléculas que pueden interactuar con las proteínas del organismo o las proteínas de los alimentos y hacer que se transformen en alérgenos.

Recuadro 7.1. Parámetros importantes utilizados en la evaluación de la alergenicidad

Fuente de la proteína

Se deberán incluir todos los informes sobre alergenicidad asociada con el organismo donante como parte de la base de datos utilizada para confirmar la inocuidad de los alimentos obtenidos de plantas de ADN recombinante. Se entiende por fuentes alérgicas de genes los organismos para los que existe una prueba razonable de que producen alergia mediada por inmunoglobulina E, ya sea oral, respiratoria o de contacto. El conocimiento de la fuente de la proteína introducida permite identificar instrumentos y datos relevantes que hay que tener en cuenta en la evaluación de la alergenicidad. Entre ellos se incluyen la disponibilidad de sueros para la selección, la documentación del tipo, la gravedad y la frecuencia de las reacciones alérgicas, las características estructurales y la secuencia de aminoácidos de la proteína y las propiedades fisicoquímicas e inmunológicas (si están disponibles) de las proteínas alérgicas conocidas obtenidas de esa fuente.

Homología de la secuencia de aminoácidos

La finalidad de una comparación de la homología de secuencia es evaluar en qué medida una proteína recientemente expresada tiene una estructura similar a un alérgeno conocido. Esta información puede indicar si la proteína tiene potencial alérgico. Se deberán llevar a cabo búsquedas de homología de secuencia para comparar la estructura de todas las nuevas proteínas con todos los alérgenos conocidos. Estas búsquedas se deberán realizar utilizando distintos algoritmos, como FASTA o BLASTP²⁴, para predecir similitudes estructurales generales. También pueden aplicarse estrategias como la búsqueda progresiva de segmentos contiguos idénticos de aminoácidos para identificar secuencias que pueden constituir epítomos lineales. La magnitud de la búsqueda de aminoácidos contiguos deberá basarse en principios científicos justificados para reducir al mínimo las posibilidades de obtener resultados falsos negativos o positivos²⁵. Se deberán utilizar procedimientos validados de búsqueda y evaluación para obtener resultados significativos desde el punto de vista biológico.

Deberá considerarse la posibilidad de que se produzca reactividad cruzada de IgE entre la nueva proteína y un alérgeno conocido cuando hay una identidad de más del 35 por ciento de un segmento de 80 o más aminoácidos (FAO/OMS, 2001) o se cumplen otros criterios basados en principios científicos. Se deberá notificar toda la información obtenida de la comparación de homología de secuencia entre la proteína recientemente expresada y alérgenos conocidos para permitir una evaluación caso por caso basada en principios científicos.

Las búsquedas de homología de secuencia tienen ciertas limitaciones. En particular, las comparaciones se limitan a las secuencias de alérgenos conocidos que figuran en las bases de datos de dominio público y en las publicaciones científicas. Otra limitación afecta a la capacidad de estas comparaciones para detectar epítomos no contiguos que se pueden enlazar de forma específica con anticuerpos de inmunoglobulina E.

Un resultado negativo de la homología de secuencia indica que una proteína recientemente expresada no es un alérgeno conocido

y que es poco probable que dé lugar a una reacción cruzada con alérgenos conocidos. Un resultado que indique la ausencia de homología de secuencia significativa deberá ser tomado en consideración junto con los demás datos reseñados en esta estrategia cuando se evalúa el potencial alérgico de las proteínas recientemente expresadas. Se deberán realizar otros estudios, según proceda (véase también el epígrafe Selección mediante un suero específico, más abajo). Un resultado positivo de la homología de secuencia indica que es probable que la proteína recientemente expresada sea alérgica. Si se va a seguir examinando el producto, deberá evaluarse utilizando suero de individuos sensibilizados a la fuente alérgica identificada.

Resistencia a la pepsina

En varios alérgenos alimentarios se ha observado resistencia a la digestión por pepsina; existe por lo tanto una correlación entre la resistencia a la digestión por pepsina y el potencial alérgico²⁶. Por consiguiente, la resistencia de una proteína a la degradación en presencia de pepsina, en las condiciones adecuadas, indica que se deberán realizar más análisis para determinar la probabilidad de que la proteína recientemente expresada sea alérgica. El establecimiento de un protocolo de degradación por pepsina coherente y correctamente validado puede aumentar la utilidad de este método. Sin embargo, se deberá tener en cuenta que una falta de resistencia a la pepsina no excluye la posibilidad de que la nueva proteína sea un alérgico de interés. Si bien se recomienda el protocolo de resistencia a la pepsina, se reconoce que hay otros protocolos de sensibilidad a las enzimas. Se pueden utilizar protocolos alternativos si se ofrece la correspondiente justificación²⁷.

Selección mediante un suero específico

Las proteínas que se obtienen de una fuente que es un alérgico conocido, o que presentan una homología de secuencia con un alérgico conocido, deberán ser sometidas a pruebas inmunológicas si se dispone de sueros. Se pueden utilizar sueros obtenidos de personas con una alergia clínicamente validada a la fuente de la proteína para probar el enlace específico de los anticuerpos de clase IgE con la proteína en ensayos *in vitro*. La disponibilidad de sueros humanos obtenidos de un número suficiente de personas será fundamental para las pruebas²⁸. Además, habrá que uniformar la calidad de los sueros y el procedimiento de prueba para obtener un resultado válido. Para proteínas obtenidas de fuentes que no son alérgicos conocidos, y que no presentan una homología de secuencia con ningún alérgico conocido, se puede considerar la selección mediante un suero específico si se dispone de pruebas como las descritas a continuación en el último párrafo.

En el caso de una proteína recientemente expresada obtenida de una fuente alérgica conocida, puede que un resultado negativo de los ensayos inmunológicos *in vitro* no se considere suficiente, pero debe inducir a realizar pruebas adicionales como el posible uso de pruebas cutáneas y protocolos *ex vivo*²⁹. Un resultado positivo de estas pruebas indicaría la presencia de un posible alérgico.

²⁴ FASTA es un programa informático, basado en el método de W. Pearson y D. Lipman (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 2444–2448, 1988), que busca similitudes entre una secuencia (la consulta) y cualquier grupo de secuencias (la base de datos) (<http://fasta.bioch.virginia.edu/>). El programa BLAST (instrumento de búsqueda de alineamiento local básico) utiliza una estrategia basada en la correspondencia de fragmentos de secuencia mediante un

potente modelo estadístico elaborado por S. Karlin y S. Altschul (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 2264–2268, 1990), para encontrar los mejores alineamientos locales. BLASTP es el programa BLAST del Centro Nacional de Información Biotecnológica de los Estados Unidos (NCBI) para comparar una consulta sobre la secuencia de una proteína con una base de datos de proteínas. El programa BLAST original fue desarrollado en el NCBI ([http://www.ncbi.](http://www.ncbi.nih.gov/BLAST/)

<http://www.ncbi.nih.gov/BLAST/>). La Universidad de Washington (<http://blast.wustl.edu/>) ofrece una distribución distinta de BLAST denominada WU-BLAST.

²⁵ Se reconoce que la Consulta FAO/OMS de 2001 sugirió pasar de ocho a seis segmentos idénticos de aminoácido en las búsquedas. Cuanto menor sea la secuencia de péptidos utilizada en la comparación por etapas, mayor será la probabilidad de obtener resultados positivos falsos; en cam-

Dado que no hay una única prueba que pueda predecir la respuesta más probable de la IgE a la exposición oral en humanos, la primera etapa de la caracterización de proteínas recientemente expresadas deberá consistir en la comparación de la secuencia de aminoácidos y determinadas características fisicoquímicas de la nueva proteína con las de alérgenos conocidos mediante un enfoque de ponderación de las pruebas disponibles (en el Recuadro 7.1 se ofrece un resumen de algunos de los parámetros importantes utilizados). Para ello será necesario aislar todas las nuevas proteínas obtenidas de la planta de ADN recombinante, o sintetizar o producir la sustancia a partir de una fuente alternativa, en cuyo caso se deberá demostrar que el material es equivalente, desde el punto de vista estructural, funcional y bioquímico, al obtenido de la planta de ADN recombinante. Se deberá prestar especial atención a la selección del hospedador de la expresión, porque las modificaciones postraduccionales que permiten los distintos hospedadores (es decir, sistema eucariótico frente a sistema procariótico) pueden influir en el potencial alérgeno de la proteína.

Es importante determinar si hay conocimiento de que la fuente ocasiona reacciones alérgicas. Debe suponerse que los genes obtenidos de fuentes que son alérgenos conocidos codifican alérgenos a no ser que las pruebas científicas demuestren lo contrario.

El nivel de exposición a la proteína recientemente expresada y los efectos de los procesos pertinentes de elaboración de los alimentos contribuirán a alcanzar una conclusión general sobre el posible riesgo para la salud humana. En este sentido, se deberá tener en cuenta la naturaleza del producto alimenticio destinado al consumo cuando se establezcan los tipos de elaboración a que se someterá y sus efectos en lo relativo a la presencia de la proteína en el producto alimenticio final.

A medida que avancen el conocimiento científico y la tecnología, se podrán examinar otros métodos e instrumentos para evaluar el potencial alérgeno de las nuevas proteínas como parte de la estrategia de evaluación. Estos métodos deberán tener una base científica sólida y podrán incluir la selección mediante un suero específico (es decir, la evaluación del enlace de las IgE con las proteínas en el suero de personas con respuestas alérgicas clínicamente validadas a categorías de alimentos relacionadas de forma general), la creación de bancos de suero internacionales, la utilización de modelos animales y el examen de epítomos de células T y motivos estructurales asociados con alérgenos en las nuevas proteínas.

Referencias

- Anderson, J.A. 1996. Allergic reactions to foods. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 36: S19–S38.
- Astwood, J.D., Leach, J.N. y Fuchs, R.L. 1996. Stability of food allergens to digestion *in vitro*. *Nature Biotech.*, 14: 1269–1273.
- Bock, S.A. 1987. Prospective appraisal of complaints of adverse reactions to foods in children during the first three years of life. *Paediatrics* 79: 683–688.
- Burks, A.W. y Sampson, H. 1993. Food allergies in children. *Curr. Prob. Paediatrics* 23: 230–252.
- FAO/OMS. 2001. *Evaluación de la alergenidad de los alimentos modificados genéticamente*. Informe de una Consulta FAO/OMS de expertos sobre alergenidad de los alimentos obtenidos por medios biotecnológicos. Roma, Italia, 22–25 de enero de 2001. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

bio, cuanto mayor sea la secuencia de péptidos utilizada, mayor será la probabilidad de obtener resultados negativos falsos, lo que reduce la utilidad de la comparación (FAO/OMS, 2001).

²⁶ Para establecer la correlación se utilizó el método que se resume en la Farmacopea de los Estados Unidos (1995) (Astwood *et al.*, 1996).

²⁷ Informe de la Consulta FAO/OMS de expertos sobre alergenidad de los alimentos obtenidos por

medios biotecnológicos (FAO/OMS, 2001): Sección 6.4, Resistencia a la pepsina.

²⁸ Según el informe de la Consulta FAO/OMS de expertos sobre alergenidad de los alimentos obtenidos por medios biotecnológicos (FAO/OMS, 2001), se requieren como mínimo ocho sueros pertinentes para lograr un 99 por ciento de certeza de que la nueva proteína no es un alérgeno, en el caso de un alérgeno importante. Igualmente, en el caso

de un alérgeno secundario, es necesario un mínimo de 24 sueros pertinentes para alcanzar el mismo nivel de certeza. Se reconoce que cabe la posibilidad de que estas cantidades de sueros no estén disponibles para realizar pruebas.

²⁹ Se denomina procedimiento *ex vivo* a las pruebas de alergenidad realizadas con cultivos de células o tejidos obtenidos de personas alérgicas (FAO/OMS, 2001).

- Hefle, S.L., Nordlee, J.A. y Taylor, S.L. 1996. Allergenic foods. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 36: S69–S89.
- Mekori, Y.A. 1996. Introduction to allergic disease. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 36: S1–S18.
- Metcalf, D.D., Astwood, J.D., Townsend, R., Sampson, H.A., Taylor, S.L. y Fuchs, R.L. 1996. Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 36: S165–S186.
- Parker, S.L., Leznoff, A., Sussman, G.L., Tarlo, S.M. y Krondl, M. 1990. Characteristics of patients with food-related complaints. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 86: 503–511.
- Sampson, H.A. 1990. Immunologic mechanisms in adverse reactions to foods. *Immunol. Allergy Clin. N. Am.* 11: 701–706.
- Sampson, H.A. y Burks, A.W. 1996. Mechanisms of food allergy. *Ann. Rev. Nutr.* 16: 161–177.

Otras fuentes

- International Food Biotechnology Council and International Life Sciences Institute Allergy and Immunology Institute. 1996. Allergenicity of foods produced by genetic modification. F.M. Clydesdale, ed. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 36.
- OCDE. 1997. *Safety assessment of new foods: results of an OECD survey of serum banks for allergenicity testing, and use of databases*. Paris, Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). [http://www.oilis.oecd.org/oilis/1997doc.nsf/LinkTo/NT00000C6A/\\$FILE/JT00121603.PDF](http://www.oilis.oecd.org/oilis/1997doc.nsf/LinkTo/NT00000C6A/$FILE/JT00121603.PDF)
- Taylor, S. 2002. *Topic 13: Allergenicity*. Joint FAO/WHO Expert Consultation on foods derived from biotechnology. Geneva, WHO/FAO ●