HAL
open science

Détection et identification des OGM

Yves Bertheau

To cite this version:

Yves Bertheau. Détection et identification des OGM. Pour, revue du Groupe Ruralités, Éducation et Politiques, 1998, 159, pp.69-77. hal-02695071

HAL Id: hal-02695071

https://hal.inrae.fr/hal-02695071v1

Submitted on 1 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Détection et identification des OGM

Yves BERTHEAU

INRA – Institut national agronomique Paris-Grignon (INA P-G)
Pathologie végétale

Le développement, au cours des années soixante-dix, des techniques de génie génétique aboutit dès 1983 à la création de la première plante transgénique. Les essais au champ commencèrent en 1987 et la première commercialisation débuta aux États-Unis en 1994. Depuis, plus d'une trentaine d'organismes génétiquement modifiés (OGM) sont cultivés et commercialisés, en particulier aux USA, en Chine, en Argentine et au Canada qui représentent les plus grandes surfaces. Soja, maïs, tabac, coton et colza sont les principales espèces concernées par cette première génération d'OGM aux constructions encore relativement frustes.

La culture et la commercialisation de tels produits font l'objet de positions radicalement opposées des deux côtés de l'Atlantique. Outre-Atlantique, les OGM sont considérés selon les mêmes procédures que d'autres produits agricoles ou phytosanitaires. Les décisions de mise en culture et de commercialisation sont obtenues des mêmes instances que celles autorisant la mise sur le marché d'autres produits agricoles. L'étiquetage des aliments issus d'OGM, considérés comme sans effet nocif sur la santé humaine et animale, est illégal aux USA parce que jugé discriminatoire, hormis cas particuliers d'allergies possibles. Par contre, en Europe, les OGM font l'objet de législations et réglementations spécifiques du fait de leur mode d'obtention particulier.

Le cadre réglementaire

Deux directives européennes principales encadrent le développement des OGM de toute nature. Les directives 90/219/CEE et 90/220/CEE ont trait res-

pectivement aux manipulations d'OGM en milieu confiné et à leur dissémination volontaire à titre d'expérimentation et de mise sur le marché. Ces directives ont fait l'objet de nombreuses modifications et compléments réglementaires (91/596/CEE, 92/146/CEE, 93/572/CEE, 93/584/CE, 94/15/CEE, 94/151/CE, 94/211/CEE, 94/730/CEE, 97/35/CEE), tenant compte des évolutions techniques et des connaissances. Ces deux directives « horizontales » font à nouveau l'objet de négociations en vue d'une remise à jour majeure et s'intègrent dans un cadre plus général couvert par diverses autres directives « sectorielles » concernant la protection des travailleurs, les médicaments, les produits phytosanitaires ou les additifs dans l'alimentation animale (91/414/CEE, 93/1141/CEE...).

La mise en culture, dès 1996, sur de grandes surfaces de pays tiers, de certains de ces OGM eut pour corollaire la mise en place d'une nouvelle réglementation (258/97/CE), entrée en vigueur le 15 mai 1997 et communément appelée « *Novel food* », complétée par le règlement 1813/97/CE du 19 septembre 1997. Cette réglementation prévoit l'étiquetage de tous les aliments et ingrédients destinés aux alimentations humaine et animale. Le récent règlement 1139/98/CE, lui aussi directement applicable dans tous les pays de l'Union européenne (UE), prévoit un étiquetage, effectif au 2 septembre 1998, basé sur la présence d'acide nucléique ou de protéine issus de transgènes. Ces règlements concernent les produits actuellement autorisés (juin 1998) à la commercialisation dans l'Union européenne, à savoir le maïs « *Bt176* » de la société *Novartis* (décision 96/281/CE) et le soja « *Roundup Ready* » de la société *Monsanto* (décision 97/98/CE). Certains aspects de cet étiquetage font encore l'objet de négociations. L'encadrement législatif et réglementaire de ces produits est tel qu'on peut se demander si la pomme de terre, la tomate ou le kiwi, soumis à une telle réglementation, seraient aujourd'hui facilement autorisés à la mise en culture dans les pays de l'UE.

Deux cadres complémentaires sont donc en place. Ils visent :

– à ne permettre l'entrée sur le territoire de l'UE que des produits actuellement autorisés, grâce à des contrôles des produits importés ;

– à fournir aux consommateurs les éléments nécessaires à leur libre choix : consommer ou non des aliments contenant ou issus d'OGM. Le seuil à partir duquel la présence d'acides nucléiques ou de protéines impliquera l'étiquetage devrait être très prochainement précisé.

Seuil et étiquetage

Des événements récents (sang et hormone de croissance contaminés, maladie dite de la « vache folle »...) ont induit de nombreuses réactions négatives de la part du public vis-à-vis de nouvelles technologies de même qu'une certaine défiance à l'encontre de l'expertise scientifique. L'ensemble des filières

concernées par les biotechnologies modernes et les pouvoirs publics n'ont également pas suffisamment pris en compte à l'origine l'opinion des consommateurs. En quoi la notion de seuil est-elle pourtant nécessaire dans l'ensemble des procédures d'étiquetage mises en place par les pays de l'UE et certains pays tiers ? En premier lieu, il est totalement illusoire de vouloir certifier l'absence d'un élément, OGM ou autre, dans un ingrédient. On ne peut établir la preuve de l'absence d'un tel élément, dès lors qu'il serait nécessaire d'examiner chaque composant d'un produit commercialisé : il est impossible d'examiner chaque graine d'un chargement circulant au sein de l'UE ou importé. Ce « pragmatisme » se retrouve dans toutes les productions industrielles ou agroalimentaires : seuls un plan d'échantillonnage et des techniques sensibles donnent une certaine probabilité d'absence d'un élément. C'est ainsi que les semences ne sont certifiées qu'avec une pureté de 95 à 99 % selon les espèces végétales. En conséquence, une transaction commerciale est dite « loyale », moyennant une certaine « contamination » possible. En effet, que les produits soient ou non concernés par la présence de produits transgéniques, la récolte, le transport, le stockage et la transformation induisent toujours une certaine contamination des produits agricoles (cailloux et terre, grains de blé dans du maïs, etc.). Cette acceptation d'un certain seuil de « pureté » des produits commerciaux constitue une des bases des échanges commerciaux, même si la valeur de cette contamination varie selon les produits et les contrats.

L'absence de seuil induirait une course technologique effrénée et des coûts de revient sans cesse croissants. La définition d'un seuil acceptable à la fois par les consommateurs et les acteurs des filières de production et de commercialisation évitera donc que chaque laboratoire ne vise un but inaccessible et n'induise des distorsions de concurrence. L'absence de méthodes normalisées de détection des OGM a conduit ces derniers mois à la mise en cause de sociétés et marques et à la destruction de certains produits. Les analyses ultérieures de produits encore disponibles n'ont pu mettre en évidence la présence d'OGM. Rumeur et désir de publicité de certains médias et relais d'opinions ont donc porté gravement préjudice à l'image de certaines sociétés et de leurs produits. Restaurer la confiance des consommateurs nécessite la mise en place de méthodes fiables, rapides et standardisées. Les autorités françaises et européennes ont donc mis en place dès 1996 des programmes de recherche (« *Ring-test* » du centre commun de recherche d'Ispra (Italie), programme DMIF-Gen, etc.) et des réseaux nationaux de laboratoires de détection (coordination du Pr Alain Coleno en France).

Méthodes de détection et d'identification des OGM

Deux objectifs sont poursuivis par le réseau français des laboratoires, Institut national de la recherche agronomique (INRA), Groupement scienti-

fique d'études des variétés et semences (GEVES) et Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF). Il s'agit de contrôler à l'importation de produits en provenance de pays tiers et de mettre en évidence des OGM dans les produits finis et ingrédients, ceci sur la base des deux critères retenus par la réglementation (protéines et acides nucléiques issus des transgènes). Les méthodes développées et mises en jeu dans ces laboratoires serviront également à la certification variétale et au réseau de biovigilance.

✔ *Rappels sur la construction des OGM*

Cet aspect est plus particulièrement abordé dans l'article de Agnès Ricroch.

Rappelons qu'un même plasmide ou un même ensemble de plasmides portant les gènes d'intérêt et les gènes marqueurs utilisés dans les premières générations de produits transgéniques pour la sélection des cellules transformées, aboutit généralement à plusieurs « événements de transformation » caractérisés par une insertion au hasard dans le génome de l'organisme hôte. Chacun de ces OGM potentiels est ensuite régénéré sous forme de plantes appelées « lignées ». Après évaluation par les commissions *ad hoc* nationales et européennes, les instances compétentes autorisent ou non la dissémination pour expérimentation de ces OGM ou l'importation de produits sans mise en culture (cas du soja ou de la tomate à maturation retardée). Pour les mises en culture, une même lignée est utilisée comme base de la production de variétés commerciales adaptées aux conditions agronomiques, pédoclimatiques et organoleptiques locales. Ces cultivars sont ensuite soumis à la procédure habituelle d'inscription au catalogue officiel des variétés. La même lignée ou « événement de transformation » *Bt176* de la société *Novartis* a ainsi donné lieu en 1998 à une première inscription au catalogue officiel français de trois cultivars de maïs.

Chaque lignée est donc caractérisée à la fois : par des gènes, promoteurs et terminateurs, communs ou non à plusieurs « événements de transformation » dans une même espèce ou entre espèces différentes et par un « environnement », constitué de l'ADN de l'organisme hôte, propre à chaque lignée. Parties externes de l'insert et ADN adjacent de l'hôte constituent les « fragments de jonction ». La stabilité de l'insert et de ses jonctions fait partie des caractéristiques étudiées par les sociétés pour les dossiers de dissémination volontaire. Ces fragments de jonction constituent l'outil favori d'identification des OGM par les laboratoires de contrôle de la DGCCRF appuyés par le réseau national.

Une bonne connaissance des lignées, des modalités de leur construction et des résultats de la transformation reste toutefois essentielle pour la détection et l'identification des OGM. Le phénotype de tomate à maturation retardée de la société *Zeneca* a ainsi été obtenu à l'aide de deux plasmides de construction différente (plasmides pJR16S et pJR16A). Les lignées présentées peu-

vent également différer selon les pays (10 lignées dans les dossiers soumis aux autorités britanniques dans le cas de la tomate *Calgene* et 40 lignées aux USA).

Un important travail de veille est donc nécessaire et des recoupements constants d'informations doivent être effectués par les laboratoires de contrôle. Une base de données regroupant ces informations est en cours de constitution au niveau européen.

✔ *La détection basée sur les protéines*

La majorité des constructions actuelles aboutit à la production par la plante génétiquement modifiée d'une ou plusieurs protéines nouvelles. Leur fourniture par les sociétés de biotechnologie ou leur purification dans les laboratoires devrait donc permettre la production d'anticorps en vue de la détection des OGM.

La majorité des laboratoires privilégie pourtant la détection à partir des acides nucléiques pour les raisons résumées ci-dessous. Les techniques de détection basées sur les acides nucléiques sont d'une rapidité de mise en œuvre et d'une sensibilité beaucoup plus grandes que celles basées sur les protéines. Une même protéine peut être présente dans plusieurs lignées (particularité utile pour un criblage mais sans intérêt pour l'identification d'une lignée et des cultivars dérivés). Certaines constructions visent non pas à faire produire une nouvelle protéine, mais au contraire à diminuer la production de protéines endogènes. Les résultats actuels montrent qu'on peut systématiquement détecter de l'ADN dès lors que la protéine est détectable, l'inverse n'étant pas systématique. Enfin, la majorité des sociétés produisant des OGM disposent des anticorps capables de reconnaître tout ou partie des événements de transformation, ne serait-ce que pour s'assurer de la qualité de la production des semences de base. On peut donc logiquement penser qu'elles exploiteront le marché ouvert par la détection en commercialisant à plus ou moins court terme ces anticorps.

✔ *La détection basée sur les acides nucléiques*

Les techniques mises en œuvre visent à l'amplification, la multiplication, en plusieurs millions d'exemplaires, d'une cible constituée de quelques dizaines à quelques centaines de paires de base. Parmi celles-ci, la PCR (*Polymerase Chain Reaction* ou Amplification enzymatique *in vitro* de l'ADN) reste la plus communément utilisée pour sa polyvalence et sa bonne maîtrise par les laboratoires.

Deux types d'approche sont actuellement retenus :

– le « criblage » des OGM par la détection d'éléments communs : promoteurs (« P35S » dérivé du virus de la mosaïque du chou-fleur) et terminateurs (« Tnos » dérivé d'*Agrobacterium tumefaciens*) présents dans la quasi totalité des OGM actuellement cultivés de par le monde, et en particulier dans

ceux autorisés à la commercialisation dans l'UE, gène nptII de résistance à un antibiotique (kanamycine ou néomycine) utilisé comme gène marqueur.

L'amplification de telles séquences permet alors un étiquetage direct, ou plus généralement entraîne une identification de l'OGM ainsi repéré ;

– l'identification d'un OGM. Celle-ci repose sur la recherche d'une « signature » propre à chaque lignée. Elle peut être constituée : d'une séquence particulière au sein d'un événement de transformation (par exemple la jonction entre un promoteur et le gène qui le suit), et/ou du fragment de jonction entre le transgène et l'ADN de la plante hôte, outil de référence confidentiel dont disposent les laboratoires de contrôle. Chaque lignée peut ainsi être identifiée sans aucune ambiguïté.

La combinaison des techniques de criblage et d'identification vise, entre autres, à diminuer les coûts et durées d'analyses, même si le coût n'a jamais constitué d'obstacle au contrôle. Il s'agit par ailleurs de corroborer les résultats et d'apprécier la présence d'OGM inconnus dans un échantillon (par exemple par la recherche combinée des différents types de promoteurs et terminateurs présents dans les événements de transformation).

Si la multiplication des OGM à détecter induit petit à petit une augmentation du nombre d'analyses et donc des coûts (actuellement de l'ordre de 3 F par tonne de CGF[1] importé), diverses approches tentent de les réduire. A titre d'exemple, citons l'extraction automatisée des acides nucléiques, les PCR multiplex (plusieurs PCR sont effectuées dans un même tube), la détection des amplifications à l'aide de « puces à ADN » ou en microplaques de titration (technique dite PCR-ELISA). En outre, une « veille » des productions agricoles des pays tiers et des importations en provenance de ces pays permet de cibler les types d'OGM à rechercher.

Des méthodes fiables de détection et quantification

De récentes affaires médiatiques et une enquête nationale (Associations des industries agroalimentaires) ont révélé des résultats contradictoires entre laboratoires d'analyses privés, français et étrangers, soulignant ainsi l'importance de l'utilisation de divers témoins et du besoin de méthodes de référence. Des méthodes normalisées sont donc en cours d'élaboration au sein du CEN[2] TC/275 WG11. Ce groupe de travail du Comité européen de normalisation regroupe en France sous l'égide de l'AFNOR[3] les laboratoires privés et publics de détection ainsi que les différents acteurs des filières de production et transformation des produits agricoles.

La fiabilité de la détection et la définition du seuil d'étiquetage requièrent en particulier l'utilisation de nombreux témoins tels que des témoins positifs (plantes génétiquement modifiées) et négatifs (cultivar non génétiquement modifié) fournis ou non par les sociétés commercialisant des OGM, un témoin

universel, permettant de s'assurer de la présence d'ADN dans l'échantillon et de sa qualité amplifiable, des témoins plantes, variables selon les espèces végétales recherchées, devant permettre de s'assurer de l'origine de l'OGM et de la quantité de transgène apportée par chaque espèce végétale, et finalement un témoin, dit de « PCR compétitive », permettant de s'assurer de la qualité de l'amplification et surtout de quantifier le transgène.

La quantification du ou des transgènes présents dans un échantillon est évidemment un des aspects les plus travaillés actuellement dans les laboratoires privés et publics. Il est probable que cette quantification fasse référence à la quantité d'ADN transgénique présent par rapport à l'ADN total extractible.

La quantification de la cible initiale est aujourd'hui bien maîtrisée (MPN-PCR, PCR compétitive, déplacement de sondes internes à l'exonucléase, dosage de composé intercalant...). Elle nécessite cependant des appareils coûteux (de 350 kF à 650 kF) ou des développements relativement longs (3 mois environ pour un standard de PCR compétitive). Les coûts d'amortissement ou de développement ont une répercussion évidente sur le prix de revient des analyses.

L'orientation actuellement retenue pour la quantification vise donc à l'utilisation de standards externes calibrés (des produits à teneur certifiée en OGM). Les dosages sont alors effectués par analyses d'images d'électrophorèse ou de densité optique après coloration enzymatique (hybridation sur bandelettes ou en plaques de microtitration).

Plus globalement, comme dans la majorité des secteurs industriels, la traçabilité des ingrédients constituera toujours un facteur important du contrôle et de modération des coûts d'analyses.

La traçabilité

Élément important de l'étiquetage, celle-ci est accessible aussi bien aux petites et moyennes entreprises qu'aux multinationales. Les analyses sont plus faciles et moins chères sur les ingrédients de compositions plus simples. Il sera enfin plus facile pour une entreprise de déterminer l'origine d'éventuelles traces de produits transgéniques.

Traçabilité et assurance qualité sont d'ores et déjà des constituants essentiels dans de nombreux domaines du secteur agroalimentaire, dès lors qu'un « label » ou une appellation (Appellation d'origine contrôlée, Appellation d'origine protégée, Indication géographique protégée...) sont recherchés. Il ne s'agit donc pas d'un élément inconnu et difficile à mettre en place pour ce secteur. Enfin, les travaux en cours sur la mise en place de filières « non-OGM » permettront rapidement de savoir si de tels créneaux de marché, à côté du secteur de l'« agriculture biologique » sont véritablement souhaités par les consommateurs et peuvent par conséquent être développés.

Détection et futures générations d'OGM

Certains observateurs estiment que les futures générations d'OGM seront indistinguables des plantes non transgéniques et donc indétectables, du fait de l'utilisation croissante de séquences d'origine végétale (promoteurs, gènes...).

C'est oublier que les pouvoirs publics disposent des outils législatifs et réglementaires permettant d'obtenir toutes les informations nécessaires à la détection et à l'identification des OGM. En outre, les laboratoires européens suivent l'évolution des connaissances et développent les techniques adaptées.

C'est aussi oublier que les sociétés impliquées dans la production d'OGM ont pris conscience du rejet par certains consommateurs de ces produits, et qu'un « boycott » pourrait toujours suivre un manque de transparence. Une forte pression est également exercée par les grandes sociétés de distribution... Rappelons enfin que les produits « non-OGM » peuvent, à l'instar de l' « agriculture biologique », constituer une filière à valeur ajoutée intéressante. Il n'est pour s'en convaincre qu'à voir l'actuelle demande européenne croissante en produits issus de l'« agriculture biologique » et la mise en place au Japon de filières « non-OGM » à partir de produits américains importés déjà certifiés. Enfin, des discussions informelles permettent de penser que les sociétés impliquées dans la production de produits transgéniques sont de plus en plus favorables à la création, dans un cadre international qui reste encore à définir, de bases de données qui permettront aux acteurs privés de détecter plus facilement les OGM et produits dérivés. Ce type de proposition figure au rang des recommandations retenues à l'occasion de la récente « Conférence de citoyens ». L'intérêt de la mise en place de « signatures » d'acides nucléiques propres aux sociétés et aux produits est également discuté.

En conclusion

Il n'existe pas d'obstacle technique à un étiquetage fiable et peu onéreux des produits issus des biotechnologies modernes de même qu'à la création d'une filière « non-OGM », si celle-ci représente une opportunité de marché. Un défaut d'information et de transparence ainsi que la durée des négociations au niveau de l'UE ont entraîné des réactions de rejet de la part des consommateurs pour des produits dont l'innocuité est démontrée. La nouveauté est toujours facteur de réticence, rappelons-nous celle d'après-guerre relative à l'utilisation des semences de maïs hybrides...

La meilleure prise en compte du « principe de précaution », en particulier au niveau écologique, et l'autorisation au cas par cas des OGM assureront très vraisemblablement dans les prochains temps un développement harmonieux de filières avec ou sans OGM. Comme le soulignait un interlocuteur du séna-

teur J. Bizet, les OGM en sont actuellement au même point que l'électricité à ses débuts dès lors que les consommateurs ne voient pas clairement les bénéfices qu'ils pourraient en attendre.

Les outils de détection et d'identification existent et sont sans cesse améliorés. On peut donc espérer que dans un proche avenir, nous n'assisterons plus à des démonstrations tonitruantes de destruction de produits injustement mis en cause. Le dialogue devrait permettre de trouver une voie consensuelle permettant à chacun de choisir en connaissance de cause les produits correspondant à ses aspirations, à ses goûts et à son pouvoir d'achat. Il s'agit là bel et bien d'un choix de société et de développement. ❐

1. CGF : *Corn Gluten Feed,* produit dérivé du maïs et destiné à l'alimentation animale.
2. Comité européen de normalisation.
3. Association française de normalisation.

Bibliographie

✔ *Biofutur,* 1997, « L'Europe et les technologies végétales », Numéro spécial, novembre 1997.

✔ Bizet J. 1998, « Transgéniques : pour des choix responsables », *Les rapports du Sénat 440,* 224 pages.

✔ Hemmer W. 1997, « Foods derived from genetically modified organisms and detection methods », *Agency for biosafety research and assesment of technology impacts of the Swiss priority programme biotechnnology of the Swiss national science foundation,* Report 2/97, 61 pages.

✔ Hemmer W. et Pauli U. 1998, « Labelling of food products derived from genetically engineered crops », *Europ. Food Law Rev. 8,* p. 27-38.

✔ ILSI Europe, 1998, *Workshop on detection methods for novel foods derived from genetically modified organisms,* Bruxelles, 3-5 juin 1998.

✔ INRA, 1998, *Organismes génétiquement modifiés à l'INRA. Environnement, agriculture et alimentation,* 148 pages.

✔ Clive J. 1997, « Global status of transgenic crops in 1997 », *International service for the acquisition of agri-biotech applications.*

✔ Loi 92-654 du 13 juillet 1992 relative au contrôle de l'utilisation et de la dissémination des organismes génétiquement modifiés et modifiant la loi n° 76-663 relative aux installations classées pour la protection de l'environnement, *Journal officiel* du 16 juillet 1992.

✔ Pietsch K., Waiblinguer H.U., Brodmann P. et Wurz A. 1997, « Screeningverfahren zur Identifierung 'gentechnisch veränderter' pflanzlicher Lebensmittel », *Deutsche Lebensmittel-Rundschau. 93* (2), p. 35-38.

✔ Wollcott M.J. 1996, « Advances in nucleic-acid based detection methods », *Clin. Microbiol. Rev. 5,* p. 370-386.