



ENSP

ÉCOLE NATIONALE DE
LA SANTÉ PUBLIQUE

RENNES

Ingénieur du Génie Sanitaire

Promotion 2004

**RISQUES ET BÉNÉFICES DE LA TRANSGÉNÈSE
VIS-À-VIS DES ALLERGIES ALIMENTAIRES**

- Réflexion sur l'introduction des OGM en Europe -

Présenté par :

Céline LE STUNFF

Ingénieur de l'INSFA de Rennes

Lieu du stage :

**Agence Française de Sécurité
Sanitaire des Aliments, Maisons-
Alfort (94)**

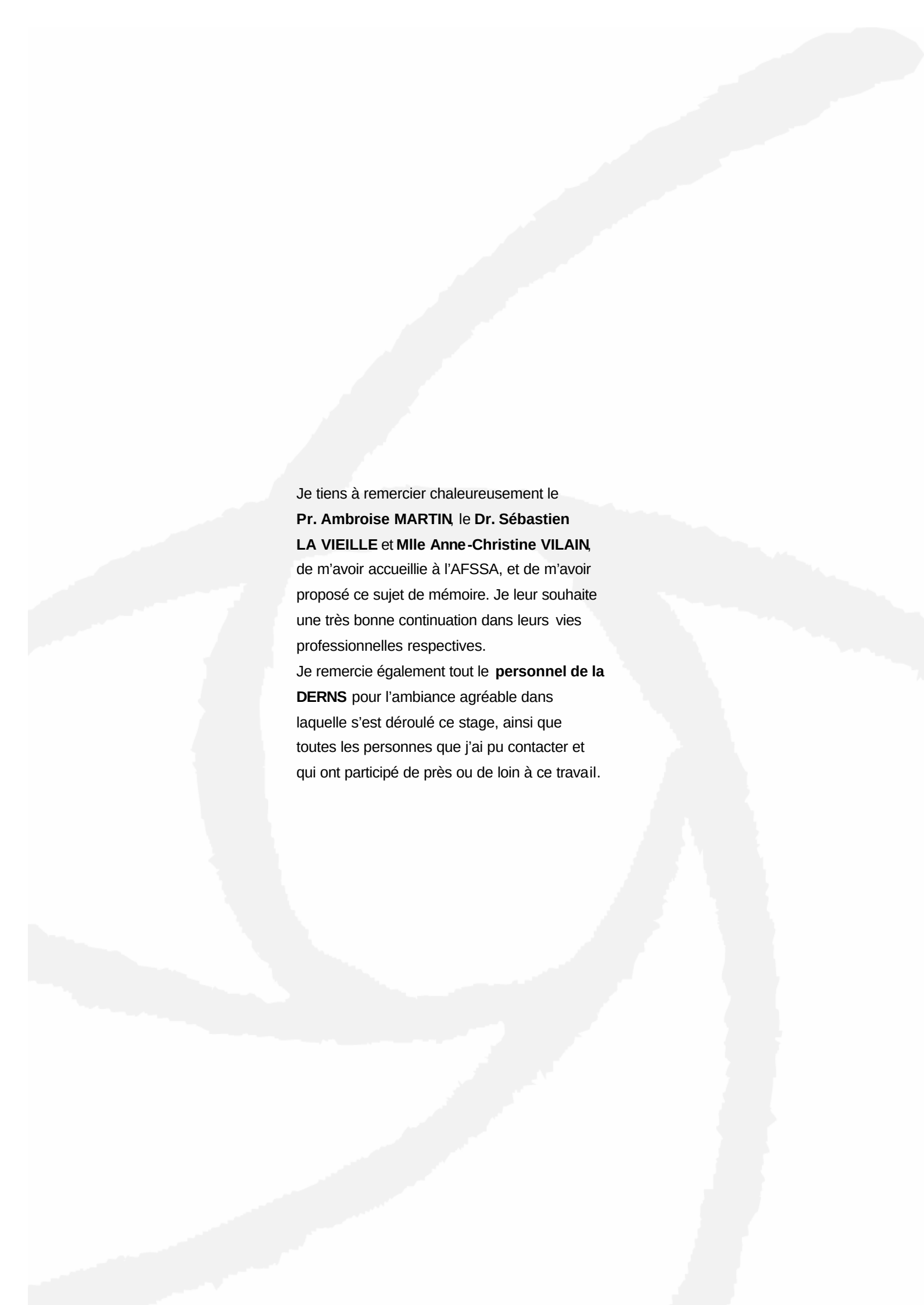
Accompagnant professionnel :

Sébastien LA VIEILLE

Référent pédagogique :

Monique ETIENNE

Date de la soutenance : **22/09/2004**



Je tiens à remercier chaleureusement le **Pr. Ambroise MARTIN**, le **Dr. Sébastien LA VIEILLE** et **Mlle Anne-Christine VILAIN**, de m'avoir accueillie à l'AFSSA, et de m'avoir proposé ce sujet de mémoire. Je leur souhaite une très bonne continuation dans leurs vies professionnelles respectives.

Je remercie également tout le **personnel de la DERNs** pour l'ambiance agréable dans laquelle s'est déroulé ce stage, ainsi que toutes les personnes que j'ai pu contacter et qui ont participé de près ou de loin à ce travail.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS.....	1
RESUME.....	
ABSTRACT	
SOMMAIRE	
LISTE DES SIGLES UTILISES	
INTRODUCTION	1
1 METHODOLOGIE SUIVIE POUR L'ELABORATION DU RAPPORT.....	3
1.1 RECHERCHE ET ANALYSE DOCUMENTAIRE	3
1.2 ENTRETIENS ET REUNIONS.....	4
1.2.1 <i>Les réunions du Programme Hospitalier de Recherche Clinique.....</i>	<i>4</i>
1.2.2 <i>Un équilibre parmi les interlocuteurs.....</i>	<i>4</i>
2 LE RAPPORT DE L'AFSSA	5
2.1 L'ALLERGENICITE DES PROTEINES	5
2.1.1 <i>Pourcentage dans la fraction protéique de l'aliment.....</i>	<i>5</i>
2.1.2 <i>Poids moléculaire.....</i>	<i>5</i>
2.1.3 <i>Modifications post-traductionnelles.....</i>	<i>5</i>
2.1.4 <i>Structure tridimensionnelle</i>	<i>6</i>
2.1.5 <i>Thermostabilité</i>	<i>6</i>
2.1.6 <i>Résistance à la digestion enzymatique.....</i>	<i>6</i>
2.1.7 <i>Stabilité aux pH acides.....</i>	<i>6</i>
2.1.8 <i>Fonction au sein de l'organisme vivant.....</i>	<i>6</i>
2.1.9 <i>Remarque : influence des traitements technologiques</i>	<i>7</i>
2.2 LES CONSEQUENCES POSSIBLES D'UNE MODIFICATION GENETIQUE SUR LA COMPOSITION D'UN ALIMENT.....	7
2.2.1 <i>La modification génétique.....</i>	<i>7</i>
2.2.2 <i>Effets directs de l'insertion de gènes et de leurs produits.....</i>	<i>8</i>
2.2.3 <i>Effets indirects et inattendus de l'expression d'un gène : le pléiotropisme</i>	<i>8</i>
2.2.4 <i>Mutations inattendues résultant de l'insertion au hasard de gènes.....</i>	<i>9</i>
2.2.5 <i>Risques allergiques théoriques liés à la modification génétique.....</i>	<i>9</i>
2.3 LES METHODES D'EVALUATION DE L'ALLERGENICITE D'UN OGM	9
2.3.1 <i>Principe de l'équivalence substantielle</i>	<i>9</i>
2.3.2 <i>Les méthodes actuelles.....</i>	<i>9</i>
2.3.2.1 <i>Allergénicité de la source du gène.....</i>	<i>11</i>
2.3.2.2 <i>Homologie de séquence avec des allergènes connus</i>	<i>11</i>
2.3.2.3 <i>Tests immunologiques</i>	<i>12</i>
2.3.2.4 <i>Digestibilité in vitro.....</i>	<i>13</i>
2.3.3 <i>Les méthodes en développement.....</i>	<i>14</i>
2.3.3.1 <i>Les modèles animaux.....</i>	<i>14</i>
2.3.3.2 <i>La protéomique</i>	<i>14</i>
2.3.3.3 <i>La représentation différentielle</i>	<i>15</i>
2.3.4 <i>Discussion</i>	<i>15</i>
2.4 BENEFICES EVENTUELS POUVANT ETRE APPORTES PAR LES OGM : LES VARIETES HYPOALLERGENIQUES	15
2.4.1 <i>Riz hypoallergénique</i>	<i>16</i>
2.4.2 <i>Soja hypoallergénique</i>	<i>16</i>
2.4.3 <i>Arachide hypoallergénique</i>	<i>17</i>
2.4.4 <i>Conclusion.....</i>	<i>18</i>

2.5	RISQUES POTENTIELS LIES AUX OGM : CAS D'ALLERGIE ALIMENTAIRE RAPPORTES DANS LA LITTÉRATURE	18
2.5.1	<i>Le soja Pioneer Hi-Bred™</i>	18
2.5.1.1	L'article de Nordlee JA et al. (1996)	18
2.5.1.2	Discussion (Nestlé M, 1996)	19
2.5.2	<i>Le maïs Starlink™</i>	20
2.5.2.1	Rappels	20
2.5.2.2	Conclusion	22
2.5.3	<i>Y-a-t-il des OGM à surveiller plus particulièrement ?</i>	22
2.6	PERCEPTION DES RISQUES ET BENEFICES PAR LES CONSOMMATEURS	23
2.6.1	<i>La levée du moratoire sur les OGM</i>	23
2.6.2	<i>Une opinion européenne qui reste à conquérir</i>	23
2.7	MESURES DE GESTION DU RISQUE ALLERGIQUE LIE AUX OGM	24
2.7.1	<i>Etiquetage des ingrédients allergènes</i>	24
2.7.2	<i>Etiquetage et traçabilité des OGM</i>	25
2.7.2.1	Dans l'Union Européenne	25
2.7.2.2	Aux Etats-Unis et au Canada	28
2.7.3	<i>Surveillance épidémiologique</i>	28
2.7.3.1	Le réseau national Allergo-vigilance	28
2.7.3.2	Mise en place de sérothèques	29
2.7.3.3	Mise en place d'une étude épidémiologique	30
2.7.4	<i>Surveillance post-marketing des OGM</i>	30
2.7.4.1	Principe	30
2.7.4.2	L'étude de faisabilité de la FSA sur les données d'exposition	30
2.7.4.3	Surveillance post-marketing et allergies alimentaires	31
3	MISE EN PLACE D'UNE ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE	33
3.1	CONTEXTE	33
3.1.1	<i>La levée du moratoire sur les OGM</i>	33
3.1.2	<i>Exposition de la population française au maïs et au colza GM au 1^{er} juillet 2004</i>	33
3.1.3	<i>Allergies documentées au maïs et au colza en France en 2004</i>	33
3.2	OBJECTIF	34
3.3	METHODE	34
3.4	MATERIEL	35
3.5	ORGANISATION PRATIQUE	35
3.5.1	<i>Mobilisation des allergologues du réseau Allergo-vigilance</i>	35
3.5.2	<i>Echéancier</i>	35
3.6	HYPOTHESES CONCERNANT LES RESULTATS	35
3.7	LIMITES DE L'ETUDE	36
3.7.1	<i>Biais de sélection</i>	36
3.7.2	<i>Biais de classement</i>	37
3.7.3	<i>Biais de confusion</i>	37
	CONCLUSION	39
	LISTE DES ANNEXES	I
	BIBLIOGRAPHIE	XV

LISTE DES SIGLES UTILISES

Int : international, *EU* : européen, *F* : français, *US* : américain, *UK* : britannique, *Can* : canadien

ADN	Acide Désoxyribo Nucléique
ACIA	Agence Canadienne d'Inspection des Aliments (Can)
AESA	Autorité Européenne de Sécurité des Aliments = EFSA (EU)
AFSSA	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (F)
Ala	Alanine
ARN	Acide Ribo Nucléique
Bt	<i>Bacillus Thuringensis</i>
CDC	Centers for Disease Control and prevention (US)
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CICBAA	Centre d'Investigations Cliniques et Biologiques en Allergologie Alimentaire (F)
Cys	Cystéine
DERNS	Direction de l'Evaluation des Risques Nutritionnels et Sanitaires (AFSSA)
EAST®	Enzyme Allergo Sorbent Test®
EFSA	European Food Safety Agency = AESA (EU)
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
EPA	Environmental Protection Agency (US)
ESPCI	Ecole Supérieure de Physique et Chimie Industrielles de Paris (F)
FALCPA	Food Allergen and Consumer Protection Act (US)
FAO	Food and Agriculture Organization (Int)
FAARP	Food Allergy Research and Resource Program (US)
FDA	Food and Drug Administration (US)
FD&C Act	Federal Food, Drug and Cosmetic Act (US)
FSA	Food Standards Agency (UK)
Gly	Glycine
GM	Génétiquement Modifié
IFBC	International Food Biotechnology Council (Int)
IgE	Immunoglobulines de type E
IgG	Immunoglobulines de type G
ILSI	International Life Science Institute (Int)
IRI	Information Resources, Inc. (UK)
kDa	KiloDalton
LERHQA	Laboratoire d'Etudes et de Recherches sur la Qualité des Aliments (AFSSA)
MG	Modification Génétique
NCFST	National Center for Food Safety and Technology (US)
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Economiques (Int)
OGM	Organisme Génétiquement Modifié
OMC	Organisation Mondiale du Commerce (Int)
OMS	Organisation Mondiale pour la Santé, = WHO (Int)
PAD	Protein Allergen Database (US)
PCR	Polymerase Chain Reaction
PHRC	Programme Hospitalier de Recherche Clinique (F)
PIR	Protein Information Resource (US)
RAST®	Radio Allergo Sorbent Test®
RC	Réactions Croisées
TNS	Taylor Nelson Sofres (UK)
TPODA	Test de Provocation Oral en Double Aveugle (contre placebo)
UE	Union Européenne (EU)
USDA	United States Department of Agriculture (US)
VCN	Végétal / Végétaux à Caractères Nouveaux (Can)
WHO	World Health Organization, = OMS (Int)

INTRODUCTION

La levée du moratoire sur les OGM par la Commission européenne

Le moratoire sur les OGM (Organismes Génétiquement Modifiés), en vigueur depuis juin 1999, va progressivement être levé par la Commission européenne : le 19 mai 2004, l'autorisation de mise sur le marché du maïs doux Bt11 a amorcé le processus. Cet OGM était déjà autorisé depuis 1998 pour l'alimentation animale et l'utilisation dans des produits dérivés tels que l'huile ou le sirop de maïs. Si son importation et sa commercialisation sont aujourd'hui autorisées, sa semence et sa culture sur le territoire européen restent interdites.

La levée du moratoire n'est pas une surprise dans la mesure où l'UE (Union Européenne) est désormais dotée d'une réglementation stricte en matière d'étiquetage et de traçabilité des OGM (Règlement CE n°1830/2003). Par ailleurs, un certain nombre d'états faisaient pression pour que l'Europe sorte du moratoire : les Etats-Unis, ainsi que le groupe de Cairns, coalition de 18 pays exportateurs de produits agricoles¹, ont déposé une procédure de plainte devant l'OMC (Organisation Mondiale du Commerce) il y a quelques mois.

Cette décision ne va pas vraiment dans le sens des souhaits des citoyens européens : selon l'Eurobaromètre effectué par la Commission Européenne en 2002 (21), l'utilisation des biotechnologies à des fins médicales (tests génétiques, xénotransplantation) est jugée utile pour la société, et est encouragée par les citoyens. Ce n'est pas le cas des aliments GM (Génétiquement Modifiés), mal acceptés sur le plan moral, et perçus comme étant risqués et peu utiles. La levée du moratoire relance donc encore une fois le débat au sein de l'opinion, et la question des risques sanitaires et environnementaux liés à ces OGM revient au premier plan.

La surveillance et l'évaluation sanitaire des OGM sont pourtant très strictes, si on les compare aux produits plus conventionnels. Ceci s'explique en grande partie par l'appréhension sociale qui accompagne le développement de ces technologies, où l'on manipule les gènes des organismes vivants, et plus précisément les gènes des aliments.

Parmi les risques sanitaires liés aux OGM, le risque d'allergie

Les maladies allergiques sont aujourd'hui une préoccupation sanitaire majeure, notamment dans les pays les plus développés. Alors qu'elles concernent actuellement 10 à 40 % de la population, selon l'âge et le pays, en 2010 elles pourraient toucher la moitié de la population mondiale, la prévalence des allergies respiratoires augmentant de 50 % tous les 10 ans (40). L'allergie alimentaire est observée chez 3,24 % de la population française (29). L'augmentation de prévalence des allergies alimentaires semble tout aussi préoccupante puisque le pourcentage d'admissions aux urgences dans les hôpitaux français pour choc anaphylactique d'origine alimentaire, aurait quintuplé en dix ans (35).

Parmi les risques sanitaires liés aux OGM, le problème des allergies est souvent évoqué :
- d'une part, des allergies respiratoires pourraient survenir si la modification génétique augmentait le potentiel allergène des pollens.

¹ Australie, Nouvelle Zélande, Canada, Argentine, Brésil, Bolivie, Chili, Colombie, Costa Rica, Guatemala, Indonésie, Malaisie, Paraguay, Philippines, Afrique du Sud, Thaïlande, Uruguay, Fidji.

- d'autre part, le pollen pourrait sensibiliser des individus par dissémination aérienne, avec la conséquence potentielle d'induire des allergies alimentaires. L'impact sur la santé publique pourrait être important dans un pays très agricole comme la France.
- enfin, les OGM pourraient favoriser le développement de certaines allergies alimentaires,
- ... et induire des accidents allergiques en introduisant dans les aliments des allergènes insoupçonnés par les consommateurs.

Le risque allergique alimentaire est bien particulier : il ne concerne qu'une fraction de la population. Cependant, il s'agit peut-être du seul risque sanitaire potentiel que l'on est en mesure de détecter. En effet, étant donné le caractère immédiat des manifestations allergiques qui se produisent suite à l'ingestion d'un aliment, il est relativement facile d'identifier l'agent qui en est la cause. Ce n'est pas du tout le cas lorsque l'on observe un cancer par exemple.

Le point sur les risques et bénéfices de la transgénèse vis-à-vis des allergies alimentaires

Ce mémoire, effectué à l'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), vise à faire le point sur les risques et les bénéfices de la transgénèse par rapport au problème de santé publique que sont les allergies alimentaires. Il faut en effet mettre en balance le risque allergique potentiel, et le bénéfice éventuel que pourraient apporter les OGM avec la mise au point de variétés hypoallergéniques, consommables par les patients allergiques aux variétés disponibles actuellement.

Après avoir présenté quelques aspects méthodologiques ayant servi à l'élaboration de ce document, l'allergénicité des protéines sera d'abord évoquée. Elle peut être évaluée en étudiant certaines caractéristiques de la protéine. La démarche d'évaluation de l'allergénicité repose essentiellement sur la comparaison de la structure de la protéine avec celle d'allergènes connus et la stabilité à la digestion gastrique.

Il existe bien sûr des limites à cette approche, principalement en raison du manque de connaissances scientifiques sur les allergènes, et de la difficulté à obtenir des modèles expérimentaux pertinents. Des propositions seront faites afin d'améliorer la pertinence de la démarche d'évaluation.

Les risques et bénéfices de la transgénèse seront ensuite discutés : la littérature scientifique fait en effet mention d'OGM ayant pu induire des allergies alimentaires chez des consommateurs. Parallèlement, plusieurs publications expliquent l'obtention de plantes GM théoriquement moins allergisantes que les variétés conventionnelles. A partir de ces données, nous tenterons d'identifier les OGM les plus susceptibles de déclencher des réactions allergiques, et essaierons de comprendre comment les consommateurs perçoivent les différents arguments avancés.

En dernier lieu, les mesures de gestion du risque, à savoir principalement la réglementation et la mise en place d'une surveillance épidémiologique, seront abordées. Dans le cadre de cette surveillance, un protocole d'étude de la sensibilisation de la population française aux plantes potentiellement transgéniques (OGM amenés à être prochainement cultivés et /ou consommés) sera proposé.

1 Méthodologie suivie pour l'élaboration du rapport

La première partie du travail effectué à l'AFSSA consistait à collecter des informations de diverses natures, puis à les analyser et les restituer de façon synthétique dans un rapport. Celui-ci pourrait être soumis prochainement aux Comités d'Experts Spécialisés (CES) de l'AFSSA intéressés par la problématique soulevée. En l'occurrence, les comités *Biotechnologies*, *Nutrition*, et *Additifs* seraient les plus concernés.

La collecte des informations s'est organisée autour de deux grands axes :

- une recherche bibliographique "classique",
- des entretiens et réunions avec divers professionnels travaillant sur la question.

1.1 Recherche et analyse documentaire

• Les publications scientifiques

Les références et résumés des publications scientifiques sur le sujet ont été obtenues via le moteur de recherche *Pubmed*², en utilisant des mots clés tels que *allergenicity*, *genetically modified food*, etc., ainsi que des noms de scientifiques connus pour leurs publications sur ce thème : *Astwood*, *Bucchini*, *Helm*, *Moneret-Vautrin*, *Taylor* entre autres.

Les publications non disponibles sur Internet ont été obtenues grâce au centre de documentation de l'AFSSA.

• Les sites Internet thématiques

Des sites Internet concernant les OGM d'une part, et les allergies d'autre part, ont été consultés :

www.allergique.org : site généraliste sur les allergies,

www.cicbaa.org : site du CICBAA, Centre d'Investigations Cliniques et Biologiques en Allergologie Alimentaire de Nancy,

<http://ogm.agriculture.gouv.fr> : site interministériel sur les OGM,

<http://gmoinfo.jrc.it/> : site du Joint Research Centre de la Commission Européenne,

www.infogm.org : site de veille citoyenne sur les OGM,

en sont quelques exemples.

• Législation

Les législations internationale (*Codex alimentarius*³), européenne (*EUR-lex*⁴) et française (*Légifrance*⁵) ont été étudiées. Les législations américaine (*FDA*⁶) et canadienne (*Santé Canada*⁷) étaient également intéressantes à consulter à titre de comparaison : les OGM sont en effet très répandus dans ces pays.

• Autres

- Livres et monographies du centre de documentation,
- Rapports et actes de colloques sur le site de l'AFSSA,
- Articles de presse (Le Monde, Yahoo! News),
- Rapports de stage, thèses.

Le moteur de recherche *Google* a aussi permis d'obtenir des informations de diverses natures : articles sur des sites grand public (www.doctissimo.fr, www.caducee.net), avis d'experts (www.inra.fr), échanges d'informations entre professionnels (www.liste-hygiene.org/arcogmallergies.html) par exemple.

² <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>

³ <http://www.codexalimentarius.net>

⁴ <http://europa.eu.int/eur-lex/fr/index.html>

⁵ <http://www.legifrance.gouv.fr/>

⁶ <http://fda.gov>

⁷ <http://www.hc-sc.gc.ca>

Remarques :

La recherche d'informations ne s'est pas limitée exclusivement à la thématique scientifique "allergie et OGM". Il était en effet nécessaire d'étudier le contexte politico-économique et sociologique dans lequel s'inscrit ce mémoire.

Il est également important de noter qu'une part importante des publications scientifiques utilisées émane de scientifiques rattachés à des sociétés de biotechnologie. Une attention particulière a donc été portée à la provenance des études mentionnées.

Enfin, il a été tenu compte des *impact factors* des revues citées. Ce chiffre traduit la cote d'une revue scientifique, indexée sur le nombre de citations qu'elle représente dans la littérature scientifique. A titre d'exemples, des revues très réputées comme *The Lancet*, *Science*, ou *Nature*, ont des *impact factors* très élevés.

1.2 Entretiens et réunions

1.2.1 Les réunions du Programme Hospitalier de Recherche Clinique

Depuis 1993, un Programme Hospitalier de Recherche Clinique (PHRC) est mis en œuvre annuellement dans les établissements publics de santé. Il permet, après sélection, de soutenir et de financer des projets de recherche clinique, en fonction des thématiques de santé publique prioritaires.

La thématique allergies alimentaires / OGM bénéficie d'un tel programme. Des crédits ont été accordés :

- à l'AFSSA : un poste à la Direction de l'Evaluation des Risques Nutritionnels et Sanitaires (DERNS), ainsi qu'une aide au financement des travaux de recherche du Laboratoire d'Etudes et de Recherches sur l'Hygiène et la Qualité des Aliments (LERHQA) ;
- au laboratoire de recherche en Allergie et Environnement de l'Ecole Supérieure de Physique et Chimie Industrielles de Paris (ESPCI), dirigé par le Dr Gabriel Peltre ;
- au réseau Allergo-vigilance, piloté par le CICBAA de Nancy.

Les acteurs de ce programme se réunissent régulièrement à l'AFSSA pour s'informer de l'avancement de leurs recherches et travaux. Les échanges ont été fructueux puisqu'ils ont notamment conduit au lancement d'une étude épidémiologique, dont les détails seront donnés en troisième partie de ce mémoire.

1.2.2 Un équilibre parmi les interlocuteurs

Afin de compléter les données bibliographiques par des informations plus concrètes et "appliquées", il était souhaitable de rencontrer des professionnels d'horizons variés, susceptibles d'apporter un nouvel éclairage sur la question posée. Sur un sujet aussi polémique que les OGM, il était essentiel d'écouter les arguments de tous. Aussi a-t-on recherché un certain équilibre entre les différents interlocuteurs rencontrés :

- sociétés de biotechnologie (Monsanto, Bayer Cropscience),
- CRII-GEN (Comité de Recherche et d'Information Indépendantes sur le génie Génétique), Inf'OGM (Veille citoyenne sur les OGM),
- scientifiques "indépendants" (Dr G. Peltre de l'ESPCI, Pr D.-A. Moneret-Vautrin du CHU de Nancy).

Les entretiens ont débuté après un mois et demi de recherche bibliographique, afin de pouvoir poser des questions plus précises et plus pertinentes aux interlocuteurs. Avant chaque entretien, une fiche d'interview a été réalisée. Elle comportait de façon ordonnée les questions à poser, et éventuellement une contre-argumentation (sommaire) qui pouvait être avancée en cas de réponse trop "prévisible". Un compte-rendu a systématiquement été rédigé à l'issue de chacun des entretiens.

2 Le rapport de l'AFSSA

Cette seconde partie du mémoire est une adaptation du rapport rédigé pour l'AFSSA. Elle synthétise, analyse et discute des informations obtenues par les méthodes exposées précédemment.

2.1 L'allergénicité des protéines

Les allergènes sont très généralement des protéines, qui résultent de l'expression de gènes. On trouve dans les aliments un très grand nombre de protéines différentes, mais seules quelques unes d'entre elles sont allergisantes.

L'allergénicité est la capacité d'induire une réponse immunitaire caractérisée par la synthèse d'IgE⁸ spécifiques. Les épitopes, aussi appelés déterminants antigéniques, sont des fragments limités de la protéine qui déclenchent cette réponse immunitaire.

Un épitope comporte le plus souvent 8 à 12 acides aminés. On distingue les épitopes conformationnels, détruits en cas de perte de la structure tertiaire de la protéine, et les épitopes séquentiels, qui dépendent de l'enchaînement des acides aminés (structure primaire).

Certaines caractéristiques et propriétés physico-chimiques sont considérées comme des éléments favorables ou défavorables au caractère allergène d'une protéine :

2.1.1 Pourcentage dans la fraction protéique de l'aliment

Les allergènes représentent souvent une quantité importante de la fraction protéique de l'aliment. Mais ceci n'est pas toujours vrai : des protéines présentes seulement à l'état de traces dans un aliment (quelques µg/kg) peuvent se révéler très allergisantes.

Ex : la pêche ne contient que 0,05% de protéine, or l'allergie à ce fruit est bien connue.

Inversement, des protéines présentes en quantités élevées (plusieurs grammes) ne sont pas forcément allergisantes (ex : actine musculaire présente dans la viande).

2.1.2 Poids moléculaire

La plupart des allergènes ont un poids moléculaire compris entre 10 et 70 kDa⁹ : 10 kDa est la limite inférieure probable pour que la molécule soit immunogène, 70 kDa est la limite supérieure liée à la capacité d'absorption intestinale (36).

2.1.3 Modifications post-traductionnelles

Les allergènes sont souvent des protéines à point isoélectrique acide, généralement hydrosolubles (albumines) ou solubles en solution saline (globulines) (36).

Souvent, on trouve dans l'aliment un groupe d'allergènes isoformes d'une même protéine : celle-ci peut subir des modifications post-traductionnelles, intervenant après la synthèse de la chaîne polypeptidique d'après le gène. Des modifications telles que la glycosylation, la méthylation, l'acylation, etc., pourront donc donner lieu à des protéines différentes, alors que la protéine "de départ" était la même. Les allergènes sont souvent, mais pas exclusivement, des protéines glycosylées.

Ces modifications post-traductionnelles manquent au niveau des allergènes recombinants correspondants (allergènes synthétiques obtenus chez les procaryotes), qui n'ont donc pas exactement la même structure que les allergènes naturels.

⁸ Immunoglobulines E

⁹ kiloDalton

2.1.4 Structure tridimensionnelle

La connaissance actuelle de la structure primaire (enchaînement des acides aminés) des trophallergènes ne permet pas de dégager des caractéristiques communes d'allergénicité. Bien que l'on connaisse encore mal la structure spatiale des protéines, certaines données expérimentales suggèrent la présence de particularités conformationnelles à la surface des allergènes (5), et mettent plus ou moins en évidence un point commun qui serait la forme sphérique de ces protéines.

2.1.5 Thermostabilité

On peut définir des plages de température dont les effets sur les protéines sont connus (54) :

- de 55 à 70°C, les chaînes polypeptidiques se déplient et on perd la structure tridimensionnelle ;
- de 70 à 80°C, les ponts disulfure se rompent ;
- de 80 à 90°C, tous les ponts disulfure se désorganisent ;
- de 90 à 100°C, les protéines s'agregent ;
- de 100 à 125°C, des liaisons covalentes se créent avec des lipides oxydés ou des produits dérivés des sucres.

La résistance à la dénaturation thermique joue un rôle important dans l'allergénicité. Elle rend compte de la stabilité des épitopes et confère à certains aliments, comme l'arachide, le soja, la crevette, le poisson ou l'œuf, une allergénicité constante, quelles que soient les modalités culinaires.

Certains allergènes sont en revanche très labiles et ne sont plus réactogènes lorsque le produit est cuit (ex : pomme, pêche).

Des allergènes thermostables et thermolabiles coexistent dans un même aliment. Les variations interindividuelles de sensibilisation expliquent que certains patients tolèrent un aliment lorsqu'il est cuit, alors que d'autres ne le tolèrent ni cru ni cuit.

Dans certains cas, le chauffage peut augmenter l'allergénicité de l'aliment, en conduisant à la formation de nouveaux allergènes ou en démasquant des épitopes allergènes normalement inaccessibles pour les anticorps. C'est par exemple le cas du lait chauffé, qui contient des composés de Maillard, protéines glyquées allergisantes qui n'étaient pas présentes dans le produit au départ.

2.1.6 Résistance à la digestion enzymatique

La plupart du temps, les allergènes sont résistants à la digestion enzymatique. Il est possible d'évaluer expérimentalement la résistance à la protéolyse dans les modèles de digestion artificielle, qui recréent les conditions de digestion gastro-intestinale (Cf. 2.3.2.4).

De petits peptides peuvent toutefois conserver une certaine immunogénicité, comme le montrent les allergies aux hydrolysats poussés de protéines de lait (11).

2.1.7 Stabilité aux pH acides

Les protéines allergènes supportent la plupart du temps une acidité modérée. On peut noter que l'ovalbumine et un des allergènes majeur de l'arachide ne sont pas dénaturés à pH 3 (59).

2.1.8 Fonction au sein de l'organisme vivant

Il n'y a pas de lien étroit entre la fonction d'une protéine et son caractère allergisant. Cependant, il a été constaté que les allergènes ont souvent une activité enzymatique (5). Par ailleurs, on peut remarquer que les allergènes végétaux sont situés aussi bien dans les fruits et légumes aqueux que dans les graines et oléagineux. Les allergies croisées entre des fruits et des légumes phylogénétiquement éloignés sont nombreuses. Ceci

laisse supposer que les allergènes sont souvent des protéines fonctionnellement indispensables, conservées à quelques modifications près au cours de l'évolution. Les panallergènes végétaux peuvent être divisés en plusieurs groupes. Il existe par exemple :

- *Les profilines* : protéines contrôlant la polymérisation de l'actine dans les cellules eucaryotes, présentes partout (fruits, graines, feuilles, tiges, racines, pollen...)
Ex : Gly m 3 du soja, Lyc e 1 de la tomate, Api g 4 du céleri
- *Les protéines de stockage des graines* : 2S-albumines, 7S-globulines, 11S-globulines
Ex : Ara h 1, 2, 3, 4, 6, 7 de l'arachide, Ses i 1, 2, 3 du sésame, Fag e 1 du sarrasin
- *Les protéines de transfert des lipides*
Ex : Pru p 3 de la pêche, Jug r 3 de la noix, Mal d 3 de la pomme

2.1.9 Remarque : influence des traitements technologiques

Il est important de tenir compte des traitements technologiques (physico-chimiques, mécaniques ou thermiques), qui interviennent après la récolte. Ceux-ci peuvent contribuer à augmenter ou diminuer l'allergénicité des aliments.

On peut par exemple observer une réduction de l'allergénicité :

- lors de la fabrication d'une huile ou d'un amidon hautement purifiés (élimination presque totale des protéines) ;
- lors de l'hydrolyse des protéines pour la fabrication de formules infantiles hypoallergéniques : les protéines dénaturées ont perdu beaucoup de leur immunogénicité.

Inversement, l'allergénicité peut augmenter avec certains facteurs. Les risques sont principalement liés à :

- **L'ajout d'additifs et d'auxiliaires de fabrication**, qui peuvent être eux-mêmes allergisants (ex : caséinates employés comme texturants), ou interagir avec les protéines de l'aliment et modifier son allergénicité (on parle alors "d'adjuvant" à l'allergénicité) ;
- **Le stockage** : le taux de certains allergènes peut augmenter, et de nouveaux allergènes peuvent apparaître. Par exemple, de nouveaux déterminants allergisants apparaissent lors du stockage de la noix de pécan (31) ;
- **Le chauffage** des aliments (Cf.2.1.5).

Il est donc important, lors de l'évaluation de l'allergénicité d'un OGM, de tenir compte de ses futures utilisations, et des traitements technologiques qui lui seront appliqués.

2.2 Les conséquences possibles d'une modification génétique sur la composition d'un aliment

2.2.1 La modification génétique

La MG¹⁰ consiste à transférer dans le patrimoine génétique d'un organisme vivant un gène provenant d'un autre organisme, afin d'améliorer ses qualités agronomiques ou nutritionnelles. Pour cela, on identifie la ou les protéines responsables du caractère d'intérêt, ainsi que le gène qui en est à l'origine. Une construction génétique est réalisée, qui comporte :

- un promoteur : séquence d'ADN¹¹ qui va permettre d'amorcer la lecture du gène d'intérêt,
- le gène d'intérêt,

¹⁰ Modification Génétique

¹¹ Acide Désoxyribo Nucléique

- un gène marqueur : gène de résistance à un antibiotique ou gène de fonction métabolique définie, qui va permettre d'identifier les organismes pour lesquels la MG a fonctionné,
- un terminateur : séquence qui va stopper la lecture du gène.

Cette construction génétique est insérée dans un plasmide bactérien afin d'être multipliée. Elle est ensuite transférée dans le génome de l'organisme hôte au moyen d'une bactérie, ou par projection de microbilles métalliques sur lesquelles on a fixé les copies de la construction génétique. Celles-ci s'intègrent dans le génome de façon aléatoire.

Les plantes pour lesquelles la MG a fonctionné sont sélectionnées : elles expriment le gène marqueur introduit dans la construction génétique.

Actuellement, les transgènes sont des constructions relativement simples (un gène codant une protéine d'intérêt). On sait aujourd'hui combien de copies s'insèrent et où elles s'insèrent dans le génome de l'organisme hôte.

Cependant, si l'on sait "techniquement" ce que l'on fait, les effets de la MG sur l'expression de l'ensemble du génome sont mal connus. Les gènes fonctionnent en effet en réseau, sont en interaction les uns avec les autres, peuvent devenir silencieux ou être réactivés suite à une MG. C'est pourquoi il ne faut pas s'intéresser uniquement aux effets directs de la MG (synthèse d'une protéine transgénique d'intérêt), mais bien aux effets sur l'organisme hôte dans son ensemble.

2.2.2 Effets directs de l'insertion de gènes et de leurs produits

L'introduction de matériel génétique nouveau ne constitue pas en soi un risque, car tous les gènes, quel que soit l'organisme vivant dont ils proviennent, sont composés des mêmes bases azotées. La MG peut modifier l'ordre de ces unités, mais leur structure chimique reste la même : ce n'est pas l'ADN inséré en tant que tel qu'il faut considérer pour évaluer le risque allergique, mais les protéines codées par cet ADN (52).

L'objectif est de limiter l'insertion au gène codant la protéine désirée, afin d'éviter le transfert d'ADN dont la fonction n'est pas connue. Le risque se situe donc :

- au niveau du gène codant la protéine désirée : celle-ci peut présenter un caractère allergène. Ex : introduction par MG de l'albumine 2S de la noix du Brésil dans le soja (44) ;
- au niveau de l'ADN introduit "en trop" qui ne code pas la protéine désirée, mais d'autres protéines pouvant elles-mêmes être des allergènes.

Les méthodes de sélection traditionnelle peuvent elles aussi conduire, entre espèces et même entre genres, au transfert de vastes portions d'ADN non caractérisées, qui peuvent être supérieures de plusieurs ordres de grandeur à celles transférées par MG (52). Des changements au niveau des caractéristiques nutritionnelles, de la toxicité et du potentiel allergénique peuvent donc survenir quel que soit le mode d'obtention de la nouvelle plante.

2.2.3 Effets indirects et inattendus de l'expression d'un gène : le pléiotropisme

Les mécanismes par lesquels les voies biochimiques sont contrôlées dans les plantes et les micro-organismes ne sont pas complètement élucidés ; il existe par ailleurs une grande variation entre les espèces conventionnelles et entre les lignées d'une même espèce.

De nombreux gènes introduits par MG codent des enzymes qui catalysent des réactions biochimiques, le but d'une MG étant en général d'augmenter le produit particulier d'une réaction. Par perturbation de certaines voies métaboliques, on peut modifier le niveau d'expression d'autres produits de réaction et obtenir des augmentations ou des diminutions inattendues de ces produits. Ce phénomène, appelé pléiotropisme, est préoccupant car il peut conduire à l'apparition ou à l'augmentation du taux de certains allergènes dans l'aliment.

2.2.4 Mutations inattendues résultant de l'insertion au hasard de gènes ou du réarrangement de gènes

L'insertion au hasard d'un gène peut inactiver ou modifier l'expression de gènes déjà présents, voire même activer certains gènes qui sont normalement "silencieux". Les mécanismes par lesquels les gènes sont inhibés ne sont généralement pas caractérisés : il est possible que certains gènes codant pour des allergènes soient involontairement réactivés suite à une modification génétique.

Le risque de réactiver un gène existe également avec les méthodes de sélection conventionnelles.

2.2.5 Risques allergiques théoriques liés à la modification génétique

En conclusion, si l'on considère les risques théoriques d'allergie qui pourraient résulter d'une MG, on peut identifier :

- Le risque d'une **nouvelle sensibilisation** au sein de la population, du fait de la présence de nouveaux allergènes dans les aliments et/ou dans le pollen :
 - o protéine transgénique,
 - o protéine "de fusion" résultant de la traduction du transgène avec une partie du génome hôte qui l'entoure,
 - o protéine nouvelle résultant de l'expression d'un gène involontairement réactivé par la MG ;
- Le risque d'**allergies croisées** de ces protéines avec des allergènes existants, auxquels certains individus sont déjà sensibilisés ;
- Le risque de **sur-expression d'allergènes** existants en faible quantité dans la plante non GM.

2.3 Les méthodes d'évaluation de l'allergénicité d'un OGM

2.3.1 Principe de l'équivalence substantielle

L'évaluation sécuritaire d'un OGM est basée sur la comparaison avec l'aliment conventionnel le plus proche : c'est le concept d' "équivalence substantielle". Le but de l'évaluation ne peut pas être d'établir une sécurité absolue, il est de montrer que l'OGM est équivalent en substance, c'est-à-dire "aussi sûr" que l'aliment conventionnel correspondant (52).

La comparaison entre l'OGM et l'aliment conventionnel est précise ; elle porte sur des points multiples, dont la présence éventuelle d'allergènes.

Le principal inconvénient de cette méthode est lié à la grande variabilité des aliments (52). En effet, il peut y avoir d'importantes différences de composition entre deux variétés d'une même plante. Des variations dues aux conditions de culture, de récolte et de stockage des plantes existent également. La transformation augmente ou diminue souvent la complexité chimique des aliments. La cuisson, notamment, génère toujours de nouvelles substances.

2.3.2 Les méthodes actuelles

Les recommandations du Comité d'experts FAO/WHO¹² concernant l'évaluation du risque allergénique d'un OGM ont été publiées en janvier 2001 (15).

Une approche par arbre de décision, en quatre étapes, a été proposée (Figure 1). D'autres arbres de ce type avaient déjà été établis auparavant : l'IFBC¹³/ILSI¹⁴ en 1996 (33) avait imaginé un processus décisionnel basé sur les mêmes tests, mais dont le

¹² Food and Agriculture Organization / World Health Organization

¹³ International Food Biotechnology Council

¹⁴ International Life Science Institute

cheminement était différent (Cf. Annexe 3). La FAO/WHO elle-même en 2000 avait établi un arbre (Cf. Annexe 4), qui a donc évolué pour donner celui présenté en Figure 1.

Ce dernier n'a cependant pas été repris par le Codex Alimentarius dans l'avant-projet d'annexe sur l'évaluation de l'allergénicité potentielle, annexe figurant dans le Projet de directives régissant la conduite de l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés de plantes à ADN recombiné (8). L'EFSA¹⁵ n'a pas non plus retenu l'arbre décisionnel dans son rapport sur l'évaluation des risques liés aux OGM mis en consultation en avril 2004 (12).

En effet, dans la pratique, les sociétés de biotechnologie réalisent tous les tests disponibles (digestion pepsique, homologie de séquence...) quels que soient les résultats obtenus pour l'un ou l'autre des tests. L'allergénicité est évaluée à partir de l'ensemble des résultats produits. C'est pourquoi l'approche par arbre décisionnel n'a pas été reprise par le Codex ni par l'EFSA.

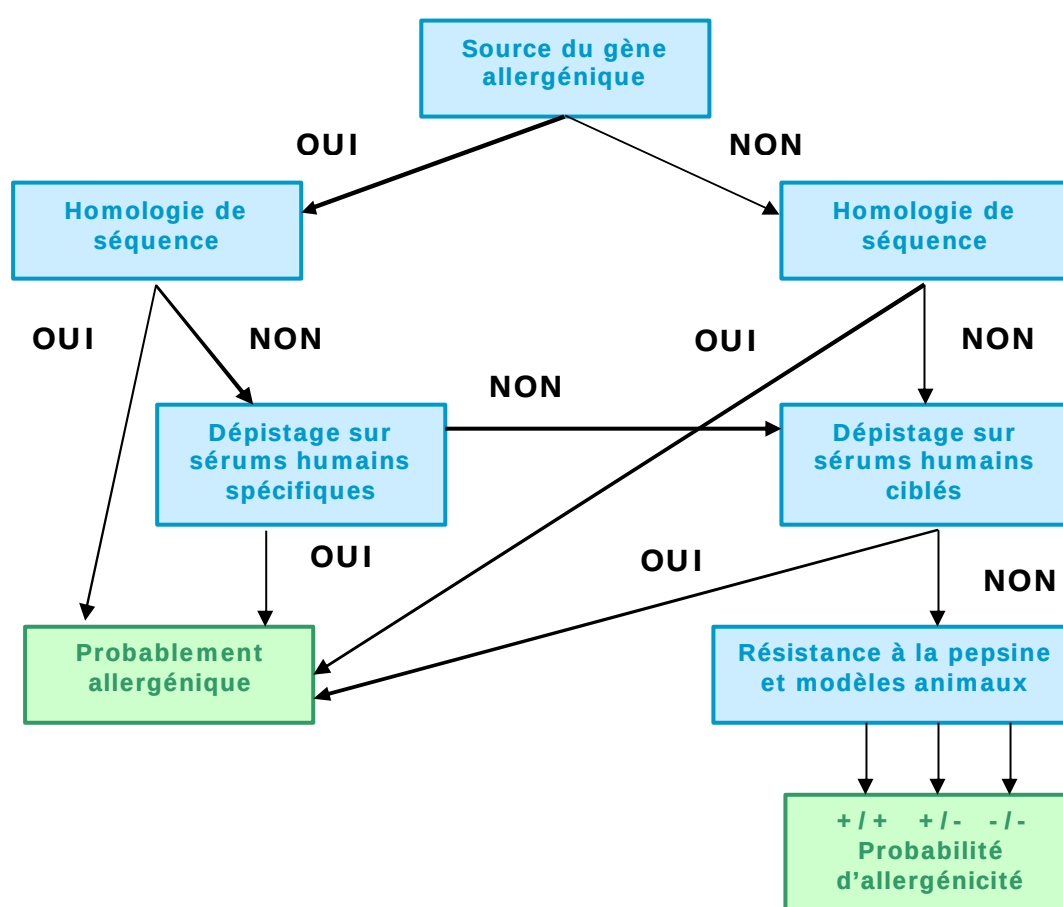


FIGURE 1 : Arbre de décision pour évaluer le potentiel allergène d'aliments dérivés d'OGM (15).

Cet arbre reste intéressant car il permet de visualiser les tests dont on dispose pour évaluer l'allergénicité d'une protéine. Dans les paragraphes qui suivent, l'intérêt et les limites de ces tests seront discutés.

¹⁵ EFSA : European Food Safety Agency = AESA : Autorité Européenne de Sécurité des Aliments

2.3.2.1 Allergénicité de la source du gène

Principe

La première étape consiste à se renseigner sur l'allergénicité de l'organisme source du transgène : celui-ci a-t-il déjà été à l'origine de réactions allergiques suite à une exposition orale, respiratoire ou cutanée ?

Tous les cas documentés d'allergie doivent être répertoriés, avec des informations sur le type, la gravité et la fréquence des réactions. Lorsqu'elles sont disponibles, la caractérisation structurelle, la séquence en acides aminés, les propriétés immunologiques et physicochimiques des protéines allergènes impliquées doivent être renseignées.

Pour ce faire, une revue de la littérature scientifique et une recherche dans les bases de données regroupant les allergènes connus est nécessaire. Il existe un certain nombre de base de données : Gen Bank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>), UniProt/Swiss-Prot (<http://www.ebi.ac.uk/swissprot/>), PIR¹⁶ (<http://pir.georgetown.edu/>) sont des exemples. La PAD¹⁷ issue du NCFST¹⁸ (<http://www.iit.edu/~sgendel/fa.htm>), et la quatrième version de la base de données du FARRP¹⁹ (<http://allergenonline.com>) seraient les plus efficaces (Moneret-Vautrin (39) citant Gendel (22) et Hileman (26)).

Limites

Tous les aliments contenant des protéines peuvent potentiellement être allergéniques. Il n'est pas impossible de découvrir après coup que les protéines introduites dans un OGM sont allergisantes pour un certain nombre de consommateurs. Ceci est d'autant plus vrai qu'actuellement, un grand nombre de protéines transférées provient de microorganismes dont le potentiel allergène est mal connu, ou d'organismes n'ayant jamais été intégrés au régime alimentaire de l'homme.

2.3.2.2 Homologie de séquence avec des allergènes connus

Principe

Des banques de données répertoriant les allergènes connus et leur séquence sont disponibles sur Internet (Cf. 2.3.2.1). Connaissant la séquence de la protéine introduite dans l'OGM, il est possible, grâce à des programmes informatiques de comparaison (algorithmes FASTA, BLASTP), d'identifier des fragments identiques ou homologues plus ou moins longs présents à la fois dans la protéine introduite et dans un ou plusieurs allergènes connus.

NB : on peut distinguer l'« homologie » de l'« identité » :

- il y a identité lorsque des fragments de protéines peuvent se superposer :

Ala – Pro – Met – Lys – Cys – Met – His – Thr – Ala – Leu – Asp – Val – Gln – Asn – Tyr
Lys – Ala – Leu – Lys – Cys – Met – His – Thr – Ala – Leu – Asp – Val – Gln – Thr – Cys

- il y a homologie lorsqu'un acide aminé a été remplacé par un acide aminé chimiquement proche :

Ala – Pro – Met – Lys – Cys – Met – His – Thr – Ala – Leu – Asp – Val – Gln – Asn – Tyr
Lys – Ala – Leu – Lys – Cys – Met – His – Thr – Gly – Leu – Glu – Val – Gln – Thr – Cys

Les experts de la consultation FAO/WHO de 2001 estiment qu'une succession d'au moins six acides aminés identiques ou chimiquement proches est potentiellement allergénique (15). Cependant, ce nombre semble ne pas être assez discriminant car beaucoup de "faux positifs" sont retrouvés (26). La recherche d'une succession de 8 acides aminés serait peut-être plus pertinente.

¹⁶ Protein Information Resource

¹⁷ Protein Allergen Database

¹⁸ National Center for Food Safety and Technology

¹⁹ Food Allergy Research and Resource Program

Une autre approche consiste à observer le pourcentage d'identité sur un fragment de plus de 80 acides aminés. Si celui-ci est supérieur à 35%, la protéine est "à risque allergénique" (15). S'il dépasse les 60%, il y a de bonnes chances de pouvoir observer des RC (réactions croisées). Il reste toutefois difficile de généraliser, car parfois aucune RC ne sera observée avec 75% d'homologie, alors que des RC se produiront avec seulement 45%.

Limites

L'absence de séquences communes ou voisines ne constitue pas une garantie formelle d'innocuité : peu d'informations sont actuellement disponibles dans les banques de données, et trop peu d'allergènes y sont répertoriés.

D'autre part, la comparaison ne porte que sur des épitopes linéaires, puisque l'on se contente d'observer des similitudes au niveau de la séquence des acides aminés. Or beaucoup de RC sont dues à des épitopes conformationnels (63,65) : de petites séquences homologues (de moins de six acides aminés) peuvent se rapprocher lors du repliement tertiaire de la molécule, ce qui peut conduire à la formation d'entités immunoréactives. L'observation du pourcentage d'homologie sur plus de 80 acides aminés donne cependant une indication sur la présence éventuelle d'épitopes discontinus.

Perspectives

Sur l'initiative de plusieurs sociétés de biotechnologie, une base de données en accès libre sur Internet, regroupant toutes les bases précédemment citées devrait être créée. Elle rassemblerait entre 2000 et 3000 allergènes connus, soit environ 800 séquences si l'on tient compte des redondances.

2.3.2.3 Tests immunologiques

Principe

Lorsque la source du transgène est allergénique, des tests immunologiques doivent être pratiqués, afin d'évaluer le potentiel de liaison de la protéine transférée avec des IgE de patients allergiques à la source du transgène.

Il est nécessaire de disposer d'un maximum de sérums spécifiques pour réaliser cette évaluation : 14 sérums sont statistiquement suffisants pour prédire qu'une protéine n'est pas un allergène majeur²⁰, avec une probabilité de détection de 99,9% (6 sérums assurant une probabilité de 95%). La détection d'un allergène mineur réagissant avec 20% de sérums spécifiques nécessite 24 sérums pour une probabilité de 99% et 17 pour une probabilité de 95%.

Lorsque le gène provient d'un organisme sans potentiel allergénique connu, des tests immunologiques peuvent également être pratiqués. Ils doivent être réalisés avec des sérums ciblés, qui proviennent de patients allergiques à des "grandes familles" d'allergènes. On peut ainsi mettre en évidence une éventuelle réactivité croisée de la protéine transgénique avec d'autres allergènes. Six séries de sérums ciblés sont nécessaires :

- monocotylédones (pollens de graminées, riz...)
- dicotylédones (pollens d'arbres, d'herbacées, fruits secs oléagineux, latex...)
- moisissures (*Alternaria*, *Aspergillus*, ...)
- invertébrés (acariens, crevette, ...)
- vertébrés (épithelia d'animaux, protéines sériques de lait, ...)

²⁰ Un allergène majeur est un antigène purifié contre lequel au moins 50% des patients testés présentent des IgE spécifiques. Il donne aussi des tests cutanés immédiatement positifs chez au moins 90% des sujets ayant la maladie allergique en relation avec cet allergène.

Dans chaque groupe, il est recommandé la mise à disposition de 25 sérums spécifiques de pneumallergènes et 25 sérums spécifiques de trophallergènes.

La qualité des sérums et la procédure de mise à l'essai doivent être normalisées pour donner des résultats de tests valides.

Limites

Les sérums nécessaires à la mise en œuvre de ces tests immunologiques ne sont pas toujours disponibles, et lorsque l'on en dispose, les quantités ne sont pas toujours suffisantes : la plupart du temps, il est techniquement impossible de réaliser ces tests. Dans le rapport de L'EFSA (12), les exigences concernant ces tests sont d'ailleurs moins importantes que dans le rapport FAO/WHO (15). Pour l'instant, il paraît difficile d'exiger réglementairement de tels tests dans le dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché d'un OGM : cela revient pratiquement toujours à refuser d'emblée l'autorisation. D'autre part, les tests sur sérums ciblés peuvent mettre en évidence des réactions croisées, mais en général celles-ci ont déjà été observées lors de la recherche de séquences homologues : les résultats obtenus ont, dans ce cas, un intérêt limité. Enfin, des auteurs américains mettent en doute la bonne caractérisation des sérums nécessaires, qui dépendrait des banques de sérums privées (58).

Un résultat négatif lors des tests immunologiques ne devrait pas être considéré comme suffisant ; des essais complémentaires doivent être menés, tels que le recours à des tests cutanés et à des protocoles *ex vivo*²¹.

2.3.2.4 Digestibilité *in vitro*

Principe

Les protéines transgéniques sont également étudiées dans des modèles de digestion artificielle. La résistance à la digestion pepsique a été observée pour différents allergènes alimentaires ; il y a donc une corrélation entre la résistance à la digestion pepsique et le potentiel allergénique (2).

Les protéines non allergéniques sont en général rapidement détruites. Si après incubation de une heure avec de la pepsine, on constate la présence résiduelle de fragments de plus de 3,5 kDa, on estime que la protéine est à risque allergénique (15).

Un protocole de dégradation par la pepsine standardisé, validé par une étude inter-laboratoires (9 au total) a récemment été publié (60). Cependant les experts FAO/WHO s'accordent à dire qu'il existe d'autres protocoles de sensibilité aux enzymes, qui peuvent être utilisés si de bonnes justifications sont invoquées (15).

Limites

Les modèles de digestion artificielle n'approchent pas encore la complexité de la réalité. En particulier, le système artificiel de digestion intestinale a été peu appliqué. Certaines protéines se sont pourtant révélées très résistantes aux enzymes intestinales. Leur mauvaise dégradabilité *in vivo* dans les cas d'achylie²², d'agastrie chirurgicale et de vidange accélérée lors de gastro-entérites pourrait poser problème (39).

²¹ Test de l'allergénicité à l'aide de cultures de cellules ou de tissus provenant de sujets humains allergiques (FAO/WHO, 2001).

²² Syndrome caractérisé chimiquement par l'absence, dans le suc gastrique, de la pepsine et de l'acide chlorhydrique libre et combiné.

2.3.3 Les méthodes en développement

2.3.3.1 Les modèles animaux

Il existe beaucoup de modèles animaux : les principaux sont le rat, la souris, le cobaye, le chien, le veau, le porcelet, le cheval. On dispose de tous les outils immunologiques pour le rat et la souris. Mais certains symptômes ne sont pas observables sur ces animaux (ex : rhinite). Le chien est un bon modèle pour étudier l'anaphylaxie, tandis que le cobaye est intéressant pour étudier les relations dose/réponse (Dr G.Peltre, communication personnelle).

Cependant, actuellement, aucun de ces modèles ne s'avère vraiment pertinent pour évaluer l'allergénicité d'une protéine. Idéalement ils devraient être aptes à mimer la gradation de la réponse immunitaire observée chez l'homme, selon que le potentiel allergénique est fort (ex : allergènes de l'arachide), moyen (lait) ou faible (épinard). Mais ces modèles sont totalement artificiels et ne peuvent être considérés comme prédictifs. En effet, le recours aux adjuvants (afin d'amplifier la réponse immunitaire) fait que l'on s'écarte de la réalité. De plus, les épitopes réactogènes pour les animaux ne sont pas forcément les mêmes que ceux qui le sont pour l'homme.

2.3.3.2 La protéomique

Un phénomène de pléiotropie (Cf. 2.2.3, 2.2.4) peut se produire suite à une modification génétique. Un des points clés de l'évaluation de l'allergénicité d'un OGM devrait donc être l'étude et la comparaison de son profil protéique avec celui de l'aliment conventionnel correspondant. Les expériences précédemment décrites ne permettent pas de prendre en compte l'aliment dans sa globalité : elles sont focalisées sur l'allergénicité de la protéine introduite dans l'OGM. Or les OGM dits de "deuxième génération", dont la modification vise une amélioration de la valeur nutritionnelle, ont vraisemblablement un profil protéique modifié de façon conséquente. Il faut donc s'intéresser à l'allergénicité des protéines nouvelles et des protéines surexprimées.

La protéomique est une technique combinant la séparation des protéines et leur caractérisation grâce à un outil bioinformatique.

Les protéines sont d'abord préparées "sur mesure" selon le problème étudié (extraction, purification, fractionnement). Elles sont ensuite séparées par électrophorèse (une dimension, deux dimensions, quantitative, en conditions natives...).

Une fois séparées, les protéines sont caractérisées par spectrométrie de masse. Leur structure moléculaire peut ainsi être identifiée, les spectres de masse étant informatiquement analysés, comparés et archivés dans des bases de données.

L'électrophorèse bi-dimensionnelle permet d'obtenir en quelque sorte une cartographie des protéines de l'aliment étudié (Cf. Annexe 1). Certaines zones du gel peuvent être considérées comme plus "allergéniques", en fonction du poids moléculaire, de la charge, de la glycosylation des protéines... Si des spots apparaissent ou sont surexprimés lorsque l'on étudie le profil protéique d'un OGM, il faut s'intéresser à l'allergénicité des protéines représentées par ces spots, tout autant qu'à l'allergénicité de la protéine volontairement introduite dans l'OGM.

L'interprétation d'un protéome est cependant très difficile, du fait du grand nombre de protéines qui y sont représentées. Dans le cadre de l'évaluation de l'allergénicité d'un OGM, il est sans doute plus pertinent de ne révéler que les protéines allergènes. On peut réaliser, à la suite d'une électrophorèse bidimensionnelle, un immunoblot avec un sérum de patient allergique à l'aliment conventionnel. Le sérum sera choisi de façon à ce qu'il réagisse fortement avec le plus grand nombre d'allergènes possible. Cette technique, qui permet d'obtenir un "allergome", ne mettra pas en évidence d'éventuels nouveaux

allergènes, mais pourra montrer que certains allergènes existant dans l'aliment conventionnel sont sur-exprimés (ou sous-exprimés) dans l'OGM.

2.3.3.3 La représentation différentielle

La technique dite de "differential display", ou représentation différentielle, développée par Liang et Pardee en 1992 (30) est l'une des méthodes de choix pour identifier et isoler rapidement des gènes différentiellement exprimés dans plusieurs systèmes expérimentaux. La méthode est puissante en raison de sa simplicité inhérente et permet la comparaison simultanée, avec de petites quantités de matière première, des gènes sur- et sous-exprimés. Le principe de cette méthode est de comparer des niveaux d'expression génique dans deux conditions physiologiques ou physiopathologiques distinctes. Pour cela, des amplifications aléatoires après transcription inverse (RT-PCR²³) sont réalisées à partir des ARN²⁴ messagers, permettant ainsi d'obtenir des profils d'expression génique spécifiques de chaque situation, dont l'analyse comparative permet la mise en évidence de gènes d'expression différentielle (Cf. Annexe 2).

Cette méthode pourrait permettre, dans le cas des OGM, de détecter des changements d'expression au niveau de l'ARN messager (pour des gènes autres que le transgène) entre la plante sauvage et la plante génétiquement modifiée.

2.3.4 Discussion

Au regard de tous les effets potentiels que peut avoir une modification génétique sur un organisme, il apparaît que les méthodes actuellement utilisées dans l'évaluation de l'allergénicité d'un OGM ne prennent pas assez en compte l'organisme dans sa globalité : on évalue le potentiel allergène de la protéine issue du transgène, mais on ignore si d'autres allergènes sont apparus dans la fraction protéique, ou si des allergènes existant au départ en faibles quantités sont surexprimés.

Il faut donc encourager le développement des nouvelles méthodes permettant de considérer l'OGM dans son ensemble et non plus seulement la ou les protéines transgéniques. Ces méthodes se trouvant encore à un stade de développement relativement précoce, des recherches complémentaires, ainsi que des travaux de validation sont encore nécessaires pour pouvoir les utiliser systématiquement dans l'évaluation sanitaire, et/ou à des fins réglementaires.

2.4 Bénéfices éventuels pouvant être apportés par les OGM : les variétés hypoallergéniques

La seule solution disponible pour prévenir les réactions allergiques est d'éliminer du régime alimentaire du patient l'aliment qui est en cause. Ceci n'est pas sans conséquences lorsque l'aliment est présent dans de nombreux produits transformés : le patient se retrouve avec un choix diététique réduit, ce qui peut engendrer des carences. Sa qualité de vie en est aussi affectée : difficultés pour effectuer ses achats alimentaires, problème d'intégration à la cantine pour les enfants...

Les OGM pourraient bien être une solution à ces problèmes. En effet, la transgénèse peut également être conçue, au moins en théorie, comme un moyen de diminuer l'allergénicité d'un aliment. Des recherches ont été menées, en particulier au Japon sur le riz et aux Etats-Unis sur le soja, afin de diminuer, voire éliminer les principaux allergènes de ces espèces. Qu'en est-il exactement du bénéfice sanitaire que peuvent apporter ces nouvelles variétés aux consommateurs allergiques ?

²³ Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction

²⁴ Acide Ribo Nucléique

2.4.1 Riz hypoallergénique

Des scientifiques japonais ont tenté de mettre au point un riz transgénique hypoallergénique. Ils ont inséré dans le génome du riz un ADN anti-sens de l'ADN codant pour une globuline considérée comme allergène majeur (57). Ce riz contient effectivement moins de globuline que le riz conventionnel (le contenu en allergène passe de 300 µg/grain à 60-70 µg/grain), mais :

- La globuline en question, ainsi que les protéines présentant une forte homologie avec la globuline, reste toujours présente en petite quantité dans le grain. Etant donné qu'une quantité infime de protéine allergène peut induire des réactions chez les personnes sensibilisées, le riz hypoallergénique n'est probablement pas toléré par certains patients allergiques.
- D'autres allergènes dits mineurs, présentant une homologie moindre avec les allergènes majeurs, n'ont pas été éliminés.

L'article de Nakamura (42) n'apporte pas de preuve quant au bénéfice sanitaire apporté par ce riz transgénique. La publication de Tada (57) annonçant la mise au point du riz hypoallergénique a d'ailleurs bien mentionné qu'aucun test médical n'avait été effectué avec ce riz.

Tada, dans un courrier adressé à Meyer (34), admet que la réduction de toutes les protéines allergènes par la technologie anti-sens est techniquement impossible. On se heurte inévitablement à la diversité de sensibilité des patients allergiques, tant du point de vue du nombre de protéines allergisantes, que des quantités susceptibles de déclencher une réaction chez les patients allergiques.

Par ailleurs, la stabilité du phénotype n'était pas optimale : les plantes de deuxième et troisième génération ne présentaient qu'une réduction de 20 à 30% du taux de globuline.

La littérature scientifique présumait déjà de la complexité d'une telle approche pour réduire l'allergénicité du riz. Urisu et al. (61) avaient mis en évidence 22 allergènes dans le riz. Les protéines de 14 à 16 kDa (globuline et protéines homologues) étaient apparues comme étant les plus allergènes. Cependant, seuls 22% des sérums ont réagi uniquement avec ces protéines : 41% des sérums ont réagi avec six protéines ou plus.

2.4.2 Soja hypoallergénique

L'utilisation accrue de protéines de soja dans les produits alimentaires industrialisés (sauces, produits à base de viande, formules infantiles etc.) pose problème à de nombreux consommateurs allergiques aux protéines de soja. Si la sécurité passe avant tout par l'étiquetage rigoureux des produits, la mise au point d'une variété de soja hypoallergénique peut apparaître comme une solution complémentaire.

Des chercheurs américains ont cherché à éliminer de la graine la protéine *P34*, de 30 kDa, appartenant à la famille des papaines protéases (25). Celle-ci, bien que représentant moins de 1% de la fraction protéique totale, est un des trois allergènes majeurs de la graine de soja (47).

Bien que plusieurs protéines soient allergisantes, il semble que pour un certain nombre de patients allergiques au soja, Gly m Bd 30 kDa soit la seule protéine responsable de l'allergie (45,46,23,24) .

Une équipe de l'université de Kyoto avait déjà mis au point une lignée hypoallergénique de soja, le *Tohoku 124*, par sélection génétique. Les deux autres allergènes majeurs étaient éliminés, mais Gly m Bd 30 kDa était toujours présent. Il ne pouvait être retiré que par des procédés limitant l'utilisation du produit par la suite (53,47).

L'introduction dans le génome du soja d'un transgène inhibant l'expression du gène codant Gly m Bd 30 kDa a permis d'éliminer de la graine cet allergène. Il n'a pas été constaté de différences – dans la composition, le développement, la reproduction notamment – entre la plante transgénique et la plante conventionnelle. L'analyse protéomique a montré la suppression de l'allergène, mais aussi l'absence de toute autre modification significative dans le profil protéique de la graine. Ceci laisse supposer que la

protéine éliminée n'a pas de rôle dans la synthèse des protéines de la graine et dans la maturation de celle-ci. La substitution d'un acide aminé Cys²⁵ par un Gly²⁶ au niveau du site catalytique peut expliquer qu'aucune activité enzymatique n'ait été observée. Selon les auteurs, il y a équivalence substantielle entre la plante transgénique et la plante conventionnelle (25).

La combinaison de cette variété transgénique exempte de Gly m Bd 30 K avec la lignée hypoallergénique *Tohoku 124* mise au point par Samoto et son équipe, pourrait bien donner lieu à une variété de soja ne comportant aucun des trois allergènes majeurs.

L'hypoallergénicité de la variété transgénique a été confirmée *in vitro* par une électrophorèse SDS-PAGE suivie d'un immunoblotting, en utilisant des IgG²⁷ spécifiques provenant de lapins et des IgE spécifiques contenus dans le sérum de sujets sensibilisés au soja. Le statut "hypoallergénique" doit cependant être confirmé par d'autres expériences :

- un test *in vivo* sur des animaux sensibilisés (expériences en cours) ;
- un test cutané sur des sujets sensibilisés ;
- et enfin, un test de provocation oral chez des sujets sensibilisés.

Ce n'est qu'une fois que toutes ces conditions seront remplies, que l'on pourra éventuellement envisager l'utilisation de ce soja en substitution du soja conventionnel dans l'alimentation de certains patients allergiques.

2.4.3 Arachide hypoallergénique

Deux axes de recherche existent : l'un vise à dénaturer les allergènes de l'arachide afin de diminuer leur caractère allergène, l'autre cherche à éliminer les allergènes en inhibant l'expression des gènes qui les codent.

Dénaturation des allergènes majeurs de l'arachide et immunothérapie

↳ Substitution d'un acide aminé au niveau des épitopes immunogènes

Une arachide transgénique hypoallergénique a été mise au point en dénaturant trois des allergènes majeurs de l'arachide, Ara h 1, Ara h 2 et Ara h 3 (3). La capacité de liaison de ces protéines avec les IgE a été réduite en substituant l'acide aminé Ala²⁸ au niveau des épitopes immunogènes. Des essais ont été réalisés sur des souris, qui ont été sensibilisées à Ara h 2 par la lignée conventionnelle, et désensibilisées grâce à la protéine Ara h 2 GM : les taux d'IgE et d'IgG2 augmentaient quand on leur administrait la protéine Ara h 2 non modifiée, et diminuaient lorsqu'elles recevaient la protéine Ara h 2 GM. Par ailleurs, la libération d'histamine était plus faible et l'anaphylaxie moins importante sur le plan clinique avec Ara h 2 GM.

L'interaction avec les lymphocytes T reste effective, ce qui permet, chez les souris, une immunothérapie efficace. Ce système pourrait bien être transposable à l'homme étant donné que les épitopes réactogènes d'Ara h 2 sont les mêmes chez l'homme et la souris.

Inhibition du gène codant les allergènes majeurs de l'arachide

↳ Technologie antisens

Cette technologie consiste à insérer dans le génome, dans une direction antisens, une copie du gène que l'on veut inactiver. Ce gène antisens va conduire à la synthèse d'ARN antisens, qui va inhiber l'expression du gène codant pour l'allergène que l'on souhaite éliminer, et donc empêcher la synthèse de celui-ci dans l'OGM.

Pour chaque gène codant un allergène majeur de l'arachide, un gène antisens a été introduit dans l'arachide GM. Ceci a conduit à l'élimination de trois allergènes majeurs dans l'arachide GM. Cependant, des réserves ont été émises, étant donné que ces trois

²⁵ cystéine

²⁶ glycine

²⁷ Immunoglobulines G

²⁸ Alanine

allergènes sont des protéines de stockage qui représentent une fraction importante de la graine. S'ils ne sont plus présents, l'arachide pourrait bien ne plus être une arachide ! Il faudrait, en plus de l'introduction de gènes antisens, inclure des gènes codant pour des protéines de stockage non allergéniques.

2.4.4 Conclusion

Pour être considéré comme "hypoallergénique", un OGM devrait subir différents tests *in vitro* et *in vivo* :

- *In vitro* :
 - o RAST²⁹ ou EAST³⁰,
 - o ELISA³¹,
 - o Électrophorèse SDS-PAGE et immunoblot.
- *In vivo*, chez l'animal puis chez l'homme :
 - o Tests cutanés : prick-tests, patch-tests,
 - o Tests de provocation orale.

On peut s'interroger sur le réel avenir de ces lignées hypoallergéniques.

Elles pourront être cultivées spécifiquement pour les consommateurs allergiques. Dans ce cas, une traçabilité extrêmement rigoureuse sera requise afin d'éviter tout mélange et tout accident allergique qui pourrait en découler.

On peut aussi imaginer qu'à plus long terme, ces lignées remplaceront les lignées traditionnelles. En effet, les OGM hypoallergéniques peuvent également être conçus comme un moyen de prévenir la sensibilisation des individus atopiques.

Mais dans un premier temps, plus que la création d'aliments, il s'agira sans doute de la création de variétés pouvant servir de base à des extraits pharmaceutiques permettant des immunothérapies efficaces et dénuées de risque (39). Malgré toutes les limites que nous avons mis en évidence, l'approche est donc intéressante et reste à encourager.

2.5 Risques potentiels liés aux OGM : cas d'allergie alimentaire rapportés dans la littérature

2.5.1 Le soja Pioneer Hi-Bred™

2.5.1.1 L'article de Nordlee JA et al. (1996)

La qualité nutritionnelle du soja (*Glycine max*) est altérée par une déficience de la fraction protéique en acides aminés soufrés : méthionine, cystéine. Afin de palier cette déficience, la société *Pioneer Hi-Bred International*, a introduit dans le génome du soja un gène de la noix du Brésil (*Bertholletia excelsa*) codant une albumine 2S riche en acides aminés soufrés.

Cette protéine s'est avérée être un allergène majeur de la noix du Brésil, comme l'ont confirmé des études postérieures (49). Nordlee et son équipe de l'Université du Nebraska ont cherché à savoir si l'albumine 2S exprimée par le soja transgénique pouvait se lier aux anticorps de sujets allergiques à la noix du Brésil, et donc présenter un risque allergique pour ces sujets (44). Trois types de tests ont été menés :

- RAST : pour les quatre sérums de patients allergiques à la noix du Brésil testés, l'extrait protéique de soja transgénique a inhibé la liaison des IgE aux protéines de noix du Brésil.
- Électrophorèse SDS-PAGE suivie d'immunoblotting : pour huit des neuf sérums de patients allergiques à la noix du Brésil testés, les IgE se sont liées à la fois à

²⁹ Radio Allergo Sorbent Test

³⁰ Enzyme Allergo Sorbent Test

³¹ Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

l'albumine 2S de noix du Brésil purifiée, et à une protéine de soja transgénique de même poids moléculaire.

- Test cutanés : les trois patients testés ont eu des tests positifs avec les extraits de noix du Brésil et de soja transgénique, et des tests négatifs avec l'extrait de soja.

Cette étude illustre donc la possibilité de transférer par MG un gène codant un allergène, en l'occurrence *Ber e 1*, dans un autre aliment. Il a d'autre part été montré qu'une modification du métabolisme de la protéine introduite par MG conduisait à l'accumulation d'un allergène mineur quasi inexistant dans la noix du Brésil, d'où la nécessité de faire porter l'évaluation de l'allergénicité non seulement sur les allergènes majeurs mais aussi sur les allergènes mineurs, d'autant plus lorsque la source du transgène est d'origine allergénique.

Comme le commente Nestlé M (43) dans un article paru le même jour dans le *New England Journal of Medicine*, il s'agit en quelque sorte d'un "cas d'école" : l'espèce source du transgène était connue pour être allergénique et des sérums de patients allergiques à la source du transgène étaient disponibles.

Pioneer Hi-Bred, au vu de ces résultats, interrompit son programme de recherche en avril 1993. Selon la firme (50), tout le matériel végétal concerné a été détruit, et ce soja transgénique n'a jamais été commercialisé, que ce soit pour l'alimentation animale ou humaine.

2.5.1.2 Discussion (Nestlé M, 1996)

Le soja entre dans la composition de très nombreux produits transformés de notre alimentation : produits à base de viande, sauces, mais aussi formules infantiles hypoallergéniques, substituts aux produits laitiers, etc. Etant donné les qualités nutritionnelles de cette graine et son rôle protecteur dans les maladies cardiovasculaires et dans le cancer, sa consommation est en augmentation dans les pays occidentaux.

La réglementation américaine de l'époque (16) aurait simplement obligé la société à étiqueter la présence de l'allergène de la noix du Brésil dans le soja transgénique. Cependant *Pioneer Hi-Bred* a choisi de mettre un terme à son programme de recherche. M.Nestlé (43) l'a souligné plus ou moins clairement : il s'agissait d'un choix stratégique. En effet, en prenant les devants par rapport à une réglementation insuffisante, la société a mis en avant :

- *Sa capacité à évaluer l'allergénicité du produit qu'elle souhaitait mettre sur le marché.*

Or, dans ce cas précis, toutes les conditions étaient réunies pour que l'allergénicité du produit puisse être démontrée : la noix du Brésil, source du transgène, était connue pour être allergénique, et l'on disposait de sérums pour effectuer les tests immunologiques. C'est loin d'être toujours le cas. L'industrie biotechnologique utilise très souvent des transgènes provenant de microorganismes. Le potentiel allergénique des protéines codées par ces gènes est encore mal connu.

Par ailleurs, on peut noter que les essais menés sur les souris afin d'évaluer l'allergénicité des protéines de la noix du Brésil (32) n'avaient pas identifié l'albumine 2S comme étant un allergène majeur : la capacité à induire une réponse IgG1 chez l'animal n'est pas toujours un bon indicateur de la capacité à induire une réponse IgE chez l'homme. Dans le cas où des sérums humains ne sont pas disponibles, l'évaluation de l'allergénicité basée sur un ou des modèles animaux peut donc se révéler insuffisante.

- *Le souci de protection de la santé des consommateurs.*

Ce souci devrait avant tout être celui des pouvoirs publics. M.Nestlé met l'accent sur le fait que la responsabilité de protection des consommateurs passe en premier lieu par la réglementation, et ne doit pas reposer sur la seule volonté des industriels. Cette affaire a

donc enclenché un processus de “durcissement” de la réglementation aux Etats-Unis concernant les tests précédant la mise sur le marché des OGM.

2.5.2 Le maïs Starlink™

2.5.2.1 *Rappels*

La société Aventis a mis au point le maïs *Starlink™*, dans lequel un gène codant la protéine insecticide Cry9c a été introduit. Ce gène provient d'une bactérie vivant dans le sol, *Bacillus Thuringensis* (Bt). Ce maïs a été autorisé aux Etats-Unis par l'EPA³² en 1998 uniquement pour l'alimentation animale, en raison d'un doute quant à son caractère allergène pour l'homme (dégradation lente en milieu gastrique).

Le “scandale” *Starlink™* a éclaté en septembre 2000, lorsque des traces de maïs Bt ont été retrouvées dans plus de 300 produits destinés à la consommation humaine, notamment des chips et des corn-flakes vendus aux Etats-Unis, ainsi que des gâteaux de la marque *Homemade Baking* vendus au Japon. Cette présence peut être expliquée par un mélange accidentel fait après récolte entre le maïs Bt et les maïs conventionnels. Cette épisode a été largement couvert par les médias. Dans ce contexte, plusieurs cas d'allergie, survenus chez des personnes ayant consommé des produits susceptibles de contenir du maïs Bt, ont été rapportés à la FDA³³ et à l'EPA (deux cas, en particulier, ont été rapportés avant que l'épisode ne soit rendu publique par la presse).

La FDA a alors décidé de mener des recherches, dont les résultats principaux sont explicités ci-dessous.

Aventis a pour sa part été contraint de racheter la totalité du maïs *Starlink™* aux agriculteurs, et de dédommager les industriels agroalimentaires pour un montant de plusieurs centaines de millions de dollars. La quantité précise de maïs *Starlink™* entrée dans l'alimentation humaine reste inconnue.

- ***Evaluation de l'allergénicité de la protéine Cry9C en vue d'une utilisation du maïs Bt pour l'alimentation humaine***

Quatre critères ont été pris en compte par l'EPA pour évaluer le potentiel allergène de la protéine Cry9C (7) :

- l'homologie de séquence avec des allergènes connus,
- la résistance à la dégradation enzymatique en milieu acide (digestion gastrique),
- la résistance et la stabilité à la chaleur,
- le poids moléculaire.

Deux autres critères ont également été pris en compte, en considérant une utilisation de l'OGM en alimentation animale :

- le pourcentage de la fraction protéique représenté par cette protéine dans l'OGM,
- l'exposition professionnelle à l'OGM³⁴

La protéine Cry9C est apparue comme potentiellement allergène selon au moins deux de ces quatre critères :

- résistance à la dégradation *in vitro* et partiellement à la digestion *in vivo*,
- stabilité à la chaleur (90°C, sur de longues durées³⁵)

Il n'a pas été trouvé d'homologie de séquence avec des allergènes connus, mais cela ne démontre pas l'absence de risque sanitaire. Par ailleurs, le poids moléculaire de 68 kDa, faisait partie des valeurs “possibles” pour un allergène (compris entre 10 et 70 kDa), et la protéine pouvait être dégradée en une forme de 55 kDa.

³² Environmental Protection Agency

³³ Food and Drug Administration

³⁴ Inhalation de l'OGM par des personnes très exposées de part leur profession (agriculteurs, personnes travaillant dans les usines d'aliments pour animaux). L'EPA a cherché à savoir si des réactions allergiques s'étaient manifestées chez ces personnes.

³⁵ La durée précise n'est pas mentionnée dans l'article consulté (7).

L'étude déterminant la quantité de protéine exprimée au niveau de la plante concluait à de "faibles quantités". Cependant, le seuil à partir duquel on peut parler de "faibles quantités" n'a pas été défini, et ne l'est toujours pas aujourd'hui. De plus, dans un autre contexte (capacité de résistance du maïs Cry9C aux attaques d'insectes), l'EPA et Aventis (ex-AgrEvo) ont argumenté sur le fait que le maïs exprimait "une forte dose de toxine", la toxine étant exprimée dans tous les tissus de la plante excepté le pollen. Mais, nous l'avons vu, la quantité de protéine exprimée ne peut pas être considérée comme un critère d'allergénicité, étant donné que des protéines présentes en très petites quantités peuvent se révéler très allergisantes (Cf. 2.1.1).

Par ailleurs, si l'on considère la quantité de protéine exprimée, il est indispensable de mettre en face de celle-ci une valeur d'exposition, évaluée pour les personnes ayant de multiples voies d'exposition (alimentaire, professionnelle) ou étant particulièrement à risque (enfants avec des antécédents familiaux d'allergie).

Selon l'EPA, l'exposition professionnelle était négligeable car la protéine Cry9C n'est pas toxique pour l'homme. Cependant, cela n'a pu être étayé par aucune étude scientifique. Un certain nombre d'auteurs ont décrit des allergies professionnelles à la poussière de graine (62). L'asthme du boulanger en est l'exemple le plus classique. Il n'est donc pas impossible que la protéine Bt, potentiellement allergène, soit véhiculée par la poussière de maïs. Une étude de Berstein et al. (4) soutient cette hypothèse en montrant que l'exposition professionnelle des agriculteurs à la toxine Bt conduit à la synthèse d'IgE et d'IgG spécifiques. Le protocole de cette étude est cependant discutable.

La seule information concernant l'exposition professionnelle qu'a pu fournir la firme Aventis consiste en des lettres d'employés ayant manipulé beaucoup de maïs Bt, et attestant qu'ils n'ont pas eu de réaction adverse directement attribuable à ces manipulations.

Ces deux "critères" additionnels (quantité de protéine exprimée et exposition professionnelle), tels qu'ils ont été argumentés, ne semblent pas vraiment pertinents pour évaluer l'allergénicité de la protéine Cry9C.

- ***Recherche de maïs Bt dans les produits incriminés par les patients***

Selon le rapport du CDC³⁶ sur l'épisode Starlink (9), 28 personnes (cas définis par le CDC) auraient développé une réaction allergique suite à l'ingestion de produits à base de maïs : corn flakes, tortillas, tacos... 11 échantillons de produits ont pu être collectés par la FDA (18). Sur les 11 échantillons analysés par PCR et ELISA, aucun ne s'est révélé strictement positif à la présence de maïs Bt. Il faut cependant noter que les produits tels que les corn flakes ou les chips de maïs sont très transformés, et cela complique notablement la détection de l'ADN et des protéines.

Un des échantillons n'a pas pu être analysé par ELISA, la quantité de produit disponible pour l'analyse étant insuffisante. Pour un autre échantillon, la FDA ne disposait pas du produit du consommateur : la FDA a analysé le même produit qu'elle s'est procuré en magasin, mais le n° de lot était différent. Enfin, pour un autre échantillon, l'analyse ELISA n'a pas permis de conclure étant donné que la valeur obtenue était trop proche de la limite de détection du kit.

- ***Recherche d'IgE spécifiques de la protéine Cry9C dans le sérum des patients***

Le CDC a analysé par ELISA le sérum de 17 patients ayant déclaré à la FDA une réaction allergique suite à l'ingestion de produits à base de maïs. Aucun de ces sérums ne contenait d'IgE spécifiques de la protéine Cry9C. Malgré ces résultats négatifs, la possibilité que ces réactions allergiques soient associées à la consommation de maïs Bt

³⁶ Centers for Disease Control and prevention

ne peut pas être écartée, car des réactions peuvent se produire sans pour autant que des IgE ne soient détectables dans le sérum des patients (48).

La méthodologie du laboratoire de la FDA a été contestée aussi parce que seule la protéine recombinante non glycosylée a fait l'objet d'une recherche d'IgE spécifiques, alors que l'ingestion concernait la protéine glycosylée : la possibilité d'une sensibilisation *de novo* à des épitopes carbohydre ne peut donc être exclue (39).

L'utilisation d'une protéine Cry9c purifiée et produite à partir d'une bactérie, et non pas d'un extrait de protéines totales de l'OGM, est justifiée : l'extraction à partir de l'OGM ne permettait pas d'obtenir une quantité suffisante de protéine transgénique. Mais des réactions allergiques ont pu se produire, dues à la glycosylation de la protéine transgénique, à la présence d'une nouvelle protéine allergène dans le maïs GM, ou à la surexpression d'une protéine allergène, ceci en raison de la MG effectuée : un extrait protéique total aurait peut-être dû être également testé.

2.5.2.2 Conclusion

Les investigations menées par la FDA, l'EPA et le CDC n'ont pas permis d'associer la consommation de maïs Bt aux accidents allergiques rapportés aux autorités américaines. Cependant, les limites des études menées (sensibilité des tests immunologiques, recueil des échantillons, définition de la période "cas") ne permettent pas d'exclure totalement cette possibilité. L'épisode Starlink, au travers des difficultés que les autorités américaines ont eu à mener leurs investigations, aura montré l'importance que représente l'évaluation de l'allergénicité des OGM avant leur commercialisation.

Cette affaire explique aussi qu'en Europe, on ne différencie pas dans l'évaluation des risques, les OGM destinés à l'alimentation humaine ("food") de ceux destinés à l'alimentation animale ("feed") (12).

2.5.3 Y-a-t-il des OGM à surveiller plus particulièrement ?

L'évaluation de tous les effets non intentionnels sur l'allergénicité du matériel hôte n'a pas été considérée, par les experts de la consultation FAO/WHO de 2000 (14), comme étant nécessaire, sauf si l'on peut prédire que la concentration de la protéine dans le produit hôte sera modifiée de façon significative.

Pour les OGM dits "de première génération", modifiés essentiellement pour améliorer leurs caractéristiques agronomiques, les modifications du profil protéique sont *a priori* mineures : chez le soja, l'introduction du gène de résistance au glyphosate n'aurait pas entraîné de modifications visibles, tant qualitatives que quantitatives, dans la composition en allergènes de différentes variétés commerciales (56), même si la technique utilisée était peu discriminante (64).

Lorsqu'il s'agit d'OGM "de deuxième génération", modifiés pour améliorer leur valeur nutritionnelle, des bouleversements non négligeables au sein de la fraction protéique de la plante sont prévisibles. L'étude de l'allergénicité de l'aliment entier, et non plus seulement de la (des) protéine(s) transférée(s), est dans ce cas pleinement justifiée.

Il faudra aussi porter particulièrement attention aux aliments GM à base de graines comportant une surexpression d'enzymes, car de nombreux allergènes présentent une activité enzymatique (Cf. 2.1.8). Compte tenu du fait qu'une très petite quantité de protéines peut être allergisante, les huiles transgéniques provenant de graines surexprimant quantitativement et qualitativement leurs acides gras devraient être particulièrement surveillées (38). Le potentiel allergisant des huiles a en effet été démontré, et ce pour des quantités très faibles de protéines (20).

Enfin, l'existence de réactions croisées entre pollens et graines (panallergènes végétaux, Cf. 2.1.8) fait craindre un risque de sensibilisation aérienne par le pollen, qui pourrait induire par la suite une allergie respiratoire et/ou alimentaire. L'étude du potentiel

allergénique des pollens est donc à prendre en compte dans l'évaluation de l'allergénicité d'un OGM, à plus forte raison lorsqu'il existe des cas rapportés de pollinose dans la littérature.

2.6 Perception des risques et bénéfices par les consommateurs

2.6.1 La levée du moratoire sur les OGM

La majorité des citoyens européens est défavorable à la mise sur le marché d'OGM agricoles (21). Ceci a pour conséquence directe le refus de la commercialisation d'OGM pour l'alimentation humaine par les industriels de l'agroalimentaire, qui craignent de ne pas trouver de débouchés pour leurs produits.

La commission européenne a pourtant décidé de lever le moratoire sur les OGM le 19 mai 2004, moratoire qui était en vigueur depuis plus de cinq ans (10). L'importation et la commercialisation de maïs doux Bt11 est désormais autorisée. David Byrne, le commissaire européen chargé de la protection des consommateurs, a déclaré que « l'évaluation avant la mise sur le marché du maïs OGM a été on ne peut plus rigoureuse », et que les scientifiques jugeaient le maïs OGM « aussi sûr » que le maïs traditionnel. Le maïs GM en question était déjà autorisé depuis 1998 pour l'alimentation animale et l'utilisation dans des produits dérivés tels que l'huile ou le sirop de maïs.

Seuls la France, l'Autriche, la Grèce, le Portugal, le Danemark et le Luxembourg ont voté contre l'autorisation. L'AFSSA avait émis des réserves sur la consommation par l'homme du maïs Bt11 : les tests de toxicité et de tolérance étaient jugés insuffisants (1). L'autorisation a malgré tout été prononcée.

On peut s'étonner d'une telle décision : si celle-ci va dans le sens des experts, elle ne va pas dans le sens de la majorité des citoyens. *Les Amis de la Terre*, l'un des plus importants groupes de pression, estiment que cette décision est prématurée, et que « la commission joue avec la santé des consommateurs ». Ils craignent que cela ne fasse qu'accroître la méfiance vis-à-vis des OGM, et que la confiance dans le processus de décision de l'UE n'en soit affectée.

Pour *Les Verts*, il s'agit littéralement d'un « coup d'état de la Commission, qui a profité de la vacance du Parlement européen [ayant cessé de siéger en attendant les élections du 13 juin 2004] pour imposer la levée du moratoire sur les OGM ».

Selon *Greenpeace* enfin, « la Commission a choisi dans ce cas de défendre les agriculteurs américains et d'étroits intérêts agroalimentaires ».

2.6.2 Une opinion européenne qui reste à conquérir

Du point de vue des consommateurs européens, les OGM n'apportent de réels bénéfices qu'aux sociétés qui détiennent les brevets sur les semences GM, et aux agriculteurs dont les rendements sont meilleurs. Pour les consommateurs, le prix et la qualité des produits ne sont pas plus intéressants. Le seul moyen d'améliorer l'acceptation des OGM est de créer des produits qui leur apportent de véritables avantages par rapport aux produits conventionnels (41) : la mise au point de variétés hypoallergéniques en est un exemple.

On peut imaginer qu'en se dirigeant de plus en plus vers des cultures hypoallergéniques, à défaut de pouvoir faire consommer les produits qui en découlent par des consommateurs d'ores et déjà allergiques, la sensibilisation générale de la population pourrait diminuer. Pour que cela soit observable, il faudrait probablement que ces aliments soient consommés par une très large part de la population étudiée, et que par ailleurs les autres facteurs favorisant l'allergie ne soient pas aggravés. Mais une diminution de la sensibilisation de la population à certaines plantes serait déjà, en soi, un véritable progrès.

Il convient d'émettre des réserves, en revanche, sur le réel intérêt de ces OGM pour les consommateurs allergiques. A partir du moment où un aliment contient des protéines, il

peut être allergisant. Il est donc difficile d'employer le terme "hypoallergénique" – bien qu'à l'heure actuelle il ne soit pas clairement défini – dans la mesure où l'on ignore le pourcentage de consommateurs allergiques qui pourront consommer sans risque ces produits.

Enfin, il faut reconnaître que pour un patient qui se sait allergique à un aliment, l'ingestion de ce dernier, si hypoallergénique soit-il, ne va pas sans poser problème. La consommation de l'aliment devra nécessairement être effectuée une première fois en milieu hospitalier, surtout si le patient a des antécédents d'allergie grave. En outre, l'acceptabilité "psychologique" – on pourra faire le parallèle avec les tests de provocation orale – est rarement évidente pour certains patients qui suivent un régime d'éviction depuis de nombreuses années et qui ont une grande appréhension de l'aliment allergène. Pour reprendre les termes du Pr Moneret-Vautrin, les bénéfices d'OGM spécifiquement conçus pour minimiser les allergies sont donc « davantage attendus que réels ».

2.7 Mesures de gestion du risque allergique lié aux OGM

Parmi les mesures de gestion du risque allergique lié aux OGM, l'étiquetage des ingrédients allergènes et celui des OGM sont deux choses différentes. L'ensemble est nécessaire pour garantir un niveau de sécurité élevé aux consommateurs par rapport au risque allergique potentiel lié aux OGM.

2.7.1 Etiquetage des ingrédients allergènes

La **Directive 2003/89/CE** du 10 novembre 2003³⁷ a modifié la directive 2000/13/CE en ce qui concerne l'indication des ingrédients présents dans les denrées alimentaires.

Une liste de 12 allergènes a été créée : *céréales contenant du gluten, crustacés, œufs, poissons, arachides, soja, lait, fruits à coques, céleri, moutarde, graines de sésame, sulfites (>10mg/kg)*. Ces ingrédients doivent figurer sur l'étiquetage lorsqu'ils sont volontairement introduits dans les produits alimentaires. La liste est révisable par ajout ou suppression à chaque progrès scientifique.

Le régime de l'ingrédient composé a par ailleurs été redéfini : le pourcentage de l'ingrédient composé dans le produit fini à partir duquel la déclaration de tous les composants devient obligatoire (sauf liste positive) est passé de 25% à 2%.

L'étiquetage des ingrédients dérivés de substances allergènes n'étant plus susceptibles de déclencher des réactions contraires peut être dispensé : des études doivent être menées, et sur cette base, une liste d'ingrédients non soumis à l'étiquetage obligatoire sera arrêtée par la Commission, après consultation de l'EFSA. Une décision définitive doit régler leur situation dans un délai expirant au plus tard quatre ans après l'entrée en vigueur de la directive, soit en novembre 2007.

Cette disposition devrait permettre à la fois :

- un étiquetage plus adapté à la réalité des risques encourus par le consommateur allergique : celui-ci ne se privera plus de certains produits inutilement.
- un étiquetage moins "pénalisant" pour certains industriels, qui ne souhaitent pas voir des ingrédients très purifiés étiquetés en tant qu'allergènes.

↳ Les principaux allergènes seront donc désormais étiquetés, que les ingrédients utilisés soient issus d'OGM ou non. Le risque d'accident allergique est diminué par ces nouvelles règles d'étiquetage.

³⁷ Journal Officiel des Communautés européennes n° L 308 du 25/11/2003 p. 0015 – 0018.

Remarque : le projet d'étiquetage des aliments élaboré par les Etats-Unis, s'il est signé par le président américain, devrait entrer en application en janvier 2006, soit un an après le projet européen. Si la législation est acceptée en l'état, la présence de lait, d'œuf, d'arachide, de noix, de poisson, de mollusques/crustacés, de blé et de soja devra être obligatoirement mentionnée. Le FALCPA³⁸ (nom de l'article de loi) devrait aussi rendre obligatoire le signalement des allergènes principaux contenus dans les épices, arômes, additifs et colorants, jusque là épargnés par l'étiquetage.

2.7.2 Etiquetage et traçabilité des OGM

2.7.2.1 Dans l'Union Européenne

Afin de protéger la santé des consommateurs, et compte tenu de l'appréhension sociale qui accompagne la mise sur le marché des OGM en Europe, il apparaît essentiel, que ceux-ci soient l'objet d'un étiquetage rigoureux. Si des individus s'avèrent être allergiques au soja GM par exemple, ils doivent pouvoir gérer le risque d'ingérer ce soja à travers les nombreux produits transformés susceptibles de le contenir. Seul l'étiquetage, nécessairement associé à une traçabilité rigoureuse, le leur permettra. Les exigences de traçabilité et d'étiquetage pourront aussi faciliter le retrait de produits au cas où seraient constatés des cas d'allergie (et plus généralement, des effets nuisibles imprévus sur la santé humaine, la santé animale ou l'environnement).

La **Directive 2001/18/CE**³⁹ du 12 mars 2001, relative à la dissémination d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement, spécifie en Annexe IV les exigences en matière d'étiquetage d'un produit contenant des OGM. L'étiquetage doit être proposé sur une étiquette ou dans un document accompagnant le produit. L'information doit inclure, au moins sous une forme résumée, un nom commercial du produit, la mention «Ce produit contient des Organismes Génétiquement Modifiés », ainsi que les nom et adresse complète de la personne établie sur le territoire de la communauté qui est responsable de la mise sur le marché (fabricant, importateur ou distributeur). L'étiquetage doit enfin indiquer comment accéder aux informations dans la partie du registre qui est accessible au public.

Le **Règlement (CE) n°1829/2003**⁴⁰ du 22 septembre 2003 fixe des procédures communautaires pour l'autorisation et la surveillance des denrées alimentaires GM et des aliments GM destinés aux animaux, ainsi que des dispositions concernant leur étiquetage. L'objectif est de garantir un niveau élevé de protection de la santé humaine, animale et environnementale, tout en assurant le bon fonctionnement du marché intérieur.

L'étiquetage s'applique aux denrées (Art.12) :

- qui consistent en OGM (ex : maïs en boîte),
- qui contiennent des OGM (ex : pop corn),
- qui sont produites à partir d'OGM (ex : sirop de glucose de maïs)
- qui contiennent des ingrédients produits à partir d'OGM (ex : confiserie contenant du sirop de glucose de maïs).

La présence fortuite ou techniquement inévitable d'OGM dans une proportion inférieure à 0,9% de chaque ingrédient de la denrée alimentaire n'est pas soumise à l'étiquetage. Le caractère fortuit ou techniquement inévitable doit être démontré par les exploitants aux autorités compétentes (prise de mesures adéquates pour éviter la présence d'OGM). Le seuil de 0,9% peut être abaissé pour certaines denrées par le moyen d'une procédure spécifique⁴¹.

³⁸ Food Allergen and Consumer Protection Act (Title II of Senate Bill 741)

³⁹ Journal Officiel des Communautés européennes n° L 106 du 17/04/2001 p. 0001 – 0039.

⁴⁰ Journal Officiel des Communautés européennes n° L 268 du 18/10/2003 p. 0001 – 0023.

⁴¹ Cf. articles 5 et 7 de la Décision 1999/468/CE.

Remarque : les mesures transitoires, applicables dans les trois ans suivant la date d'application de ce règlement, considèrent qu'une présence fortuite de matériel GM inférieure à 0,5% dans les produits n'est pas une infraction, à condition que l'OGM ait obtenu un avis favorable du ou des comités scientifiques de la Communauté ou de l'EFSA avant la date d'application du règlement. Par ailleurs, la demande d'autorisation ne doit pas avoir été rejetée, et des méthodes de détection de l'OGM doivent être accessibles au public.

Lorsque la denrée contient plusieurs ingrédients, la mention « *génétiquement modifié* » ou « *produit à partir de [nom de l'organisme] génétiquement modifié* » doit figurer entre parenthèses, immédiatement après le nom de l'ingrédient (Art.13). De même pour les ingrédients désignés par un nom de catégorie. En l'absence d'une liste d'ingrédients, la mention « GM » ou « *produit à partir de [...] GM* » doit apparaître clairement sur l'étiquetage.

Ces mentions peuvent également figurer dans une note au bas de la liste d'ingrédients, dans une police de caractère ayant au moins la même taille que celle de la liste. Lorsque la denrée n'est pas préemballée, l'information requise doit être affichée sur le présentoir ou à proximité de la denrée, ou sur le matériau d'emballage.

L'étiquetage doit aussi mentionner la composition, la valeur nutritive ou les effets nutritionnels, l'usage auquel l'aliment est destiné, les implications pour la santé de certaines populations, lorsque ceux-ci diffèrent du produit conventionnel de référence. Il doit préciser toute caractéristique pouvant susciter des préoccupations d'ordre éthique ou religieux.

En l'absence de produit conventionnel de référence, l'étiquetage doit préciser les informations adéquates sur la nature et les caractéristiques de la denrée alimentaire GM.

Les aliments génétiquement modifiés pour animaux sont également soumis à autorisation. Les exigences sont, à quelques détails près, les mêmes que pour les denrées alimentaires. L'expérience montre en effet qu'il est difficile de garantir l'imperméabilité des filières pour l'alimentation animale et l'alimentation humaine : en ayant les mêmes niveaux d'exigence pour les deux filières, les risques sanitaires potentiels sont moindres en cas de contamination.

Il est possible d'obtenir une autorisation seulement pour l'alimentation humaine (Art.4) ou seulement pour l'alimentation animale (Art.16). Cependant, dans la majorité des cas, les produits sont susceptibles d'être utilisés à la fois comme denrées alimentaires et comme aliments pour animaux. Une demande d'autorisation unique est alors déposée. Elle donne lieu à un avis unique de l'EFSA et à une décision unique de la Communauté (Art.27).

Le **Règlement (CE) n°641/2004**⁴² du 6 avril 2004 fixe des modalités d'application du règlement (CE) n°1829/2003. Lorsque la demande d'autorisation est limitée à l'alimentation humaine ou à l'alimentation animale, elle doit comporter une justification vérifiable expliquant pourquoi l'autorisation ne doit pas couvrir les deux utilisations (Art.2).

Le **Règlement (CE) n°1830/2003**⁴³ du 22 septembre 2003 modifie la Directive 2001/18/CE. Il concerne la traçabilité et l'étiquetage des OGM et la traçabilité des produits destinés à l'alimentation humaine ou animale produits à partir d'OGM.

Au premier stade de la mise sur le marché, y compris en vrac, d'un produit contenant des OGM, les opérateurs doivent transmettre par écrit à l'opérateur recevant le produit (Art.4) :

- l'indication que le produit contient des OGM,
- le ou les identificateurs uniques attribués à ces OGM (Cf. Règlement (CE) n°65/2004 ci-après).

⁴² Journal Officiel des Communautés européennes n° L 102 du 07/04/2004 p. 0014 – 0025.

⁴³ Journal Officiel des Communautés européennes n° L 268 du 18/10/2003 p. 0024 – 0028.

De même, à tous les stades ultérieurs de mise sur le marché de ce produit, ces informations doivent être transmises par écrit aux opérateurs recevant le produit.

Les opérateurs disposent de systèmes et de procédures normalisées leur permettant de conserver les informations et d'identifier, pendant une période de cinq ans après chaque transaction, l'opérateur dont ils ont obtenu le produit, et celui à la disposition duquel ils l'ont mis.

Ces mesures de traçabilité ne s'appliquent pas aux traces fortuites d'OGM présentes dans les produits à des seuils inférieurs à ceux définis précédemment.

Dans le cas des denrées alimentaires et des aliments pour animaux produits à partir d'OGM, les informations transmises par écrit sont (Art.5) :

- une indication de chaque ingrédient alimentaire produit à partir d'OGM,
- une indication de chaque matière première ou additif pour aliments pour animaux produits à partir d'OGM,
- une indication que le produit est élaboré à partir d'OGM pour les produits n'ayant pas de liste d'ingrédients.

Les traces fortuites d'OGM présentes dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux produits à partir d'OGM dans une proportion n'excédant pas les seuils établis pour ces OGM ne sont pas soumises à de telles mesures de traçabilité.

Lorsque la législation communautaire prévoit des systèmes d'identification spécifiques (ex : numérotation par lot pour les produits préemballés), les opérateurs ne sont pas tenus de conserver les informations spécifiées précédemment, à condition que celles-ci figurent clairement sur l'emballage avec le numéro de lot. Ces informations doivent également être conservées pendant cinq ans. Ce type de dérogation ne peut cependant pas s'appliquer au premier stade de la mise sur le marché d'un produit, ni à la production proprement dite ou au reconditionnement d'un produit (Art.6).

Le **Règlement (CE) n°65/2004**⁴⁴ du 14 janvier 2004 a instauré un système pour l'élaboration et l'attribution d'identificateurs uniques pour les OGM. Nous avons vu que l'opérateur qui met sur le marché un produit contenant des OGM est tenu de mentionner l'identificateur unique qui a été attribué à chaque OGM. L'autorisation de mise sur le marché d'un OGM doit toujours spécifier cet identificateur. Celui-ci est élaboré selon un format précis, après avoir consulté la base de données BioTrack Product de l'OCDE⁴⁵ et le centre d'échange pour la prévention des risques biotechnologiques (mis en place par le protocole de Cartagena), qui ont peut-être déjà généré un identificateur pour l'OGM en question (Art.2).

Le format de l'identificateur unique est décrit en Annexe du Règlement. Il comprend 9 caractères alphanumériques, et se compose de 3 éléments :

- le demandeur / titulaire de l'autorisation (2 ou 3 caractères),
- l'événement de transformation (5 ou 6 caractères),
- un caractère numérique final servant à la vérification (il correspond à la somme des caractères alphanumériques de l'identificateur).

Exemple :

C	E	D	-	A	B	8	9	1	-	6
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Équivalent numérique: 3 5 4 1 2 8 9 1 6*

* = 3+5+4+1+2+8+9+1 = 33 et 3+3 = 6

↳ L'ensemble de ces règlements européens, établissant des mesures strictes en matière d'étiquetage et de traçabilité, permet donc d'informer les consommateurs sur les produits qu'ils achètent, et facilite le retrait éventuel de produits pouvant poser problème.

⁴⁴ Journal Officiel des Communautés européennes n° L 10 du 16/01/2004 p. 0005 – 0010.

⁴⁵ Organisme de Coopération et de Développement Économique

2.7.2.2 Aux Etats-Unis et au Canada

A titre de comparaison, il est intéressant de se pencher sur la réglementation outre-Atlantique concernant l'étiquetage et la traçabilité des OGM.

Aux Etats-Unis (6), trois organismes réglementent les OGM : l'USDA⁴⁶, l'EPA et la FDA. La FDA doit s'assurer de la sécurité sanitaire des aliments pour l'homme et les animaux. D'après le FD&C Act⁴⁷ (19), les sociétés sont tenues de s'assurer que chaque produit mis sur le marché respecte les normes de sécurité établies par la loi. Ces normes sont les mêmes pour les aliments GM et les aliments conventionnels. En cas de non respect de ces normes, la FDA a la possibilité de retirer les produits du marché.

L'étiquetage n'est nécessaire que lorsque le produit alimentaire GM lui-même (et non pas le processus de transformation qui lui est appliqué) présente une différence tangible avec le produit conventionnel. La FDA considère qu'il n'existe pas d'informations comme quoi les aliments GM constitueraient une classe d'aliments particuliers en termes de qualité, sécurité sanitaire ou autre : rendre obligatoire l'étiquetage de la présence de matériel GM ne se justifie pas. Si toutefois des différences existaient, du point de vue de la composition nutritionnelle, de la présence d'allergènes, ou d'autres propriétés qui nécessiterait un stockage ou un mode de cuisson inhabituels, ces différences devraient être signalées sur l'étiquetage du produit GM.

La FDA a émis des lignes directrices concernant l'étiquetage volontaire des denrées alimentaires GM et des aliments GM pour animaux (17). Les industriels restent libres de signaler ou pas la présence de matériel GM dans leurs produits, tant que cela n'induit pas le consommateur en erreur. Par ailleurs, la mention « GMO free »⁴⁸ présente sur certains produits est discutée : il semble difficile de pouvoir garantir qu'un aliment ne contient pas de matériel GM, dans la mesure où aucun seuil de tolérance n'a été fixé, et que des méthodes de détection fiables ne sont pas toujours disponibles. La filière « Organic »⁴⁹, dont les approvisionnements sont contrôlés et exempts de produits issus de plantes GM, devrait répondre à l'exigence « GMO free » (National Organic Program final rule ;65 FR 80548).

Au Canada (55), les VCN⁵⁰ sont réglementés par l'ACIA⁵¹. La réglementation est différente selon qu'il s'agisse d'un VCN destiné à l'alimentation animale ou humaine : dans le premier cas, il faut se référer à la Directive de Réglementation 95-03 et à la loi et aux règlements sur les aliments du bétail. Dans le second cas, il faut consulter le règlement sur les aliments nouveaux établi en vertu de la loi sur les aliments et drogues.

La séparation de la filière alimentation animale et de la filière alimentation humaine est discutable, dans la mesure il est encore difficile, à l'heure actuelle, de s'assurer de l'imperméabilité de ces filières l'une par rapport à l'autre. C'est pourquoi, par prudence, la réglementation européenne ne fait pas cette distinction.

👉 La réglementation en matière de traçabilité et d'étiquetage des produits GM est donc beaucoup plus stricte en Europe qu'aux Etats-Unis ou au Canada.

2.7.3 Surveillance épidémiologique

2.7.3.1 Le réseau national Allergo-vigilance

L'accroissement probable de la prévalence des allergies alimentaires en France et l'apparition d'allergies à de nouveaux aliments ont motivé la création du Réseau National

⁴⁶ United States department of Agriculture

⁴⁷ Federal Food, Drug and Cosmetic Act

⁴⁸ Ne contient pas d'OGM

⁴⁹ Biologique

⁵⁰ Végétaux à Caractères Nouveaux

⁵¹ Agence Canadienne d'Inspection des Aliments

Allergo-vigilance en janvier 2001. Ce réseau, créé par le CICBAA, fonctionne en étroite collaboration avec l'AFSSA. Ses objectifs sont (37) :

- de référencer les cas d'anaphylaxie alimentaire létale ou pré-létale (choc anaphylactique, angio-œdème laryngé, asthme aigu grave, réaction systémique sévère),
- de référencer les autres cas d'anaphylaxie grave (allergies médicamenteuses, allergies graves aux hyménoptères),
- de réaliser des études coopératives de courte durée sur certaines allergies alimentaires (ex : étude sur la sensibilisation à l'arachide parue en 1998),
- d'évaluer le risque allergique des *novel foods* (dont les OGM).

En février 2004, ce réseau recensait la participation de 305 allergologues déclarants répartis sur tout le territoire français, y compris les DOM-TOM (40). Des membres des pays européens avoisinants (Belgique, Luxembourg, Finlande, Grèce, Italie, Pologne, Portugal, Suisse), du Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie) ainsi que d'Argentine, du Chili et des Etats-Unis, participent à la déclaration régulière de nouveaux cas grâce à une correspondance via email ou fax (Cf. Annexe 5 : formulaire électronique de déclaration)

Les cas déclarés répondent à deux conditions :

- information précise de l'accident ayant entraîné la consultation chez l'allergologue, avec description clinique détaillée,
- détails cliniques de la réaction allergique et traitement, permettant de juger la sévérité du diagnostic.

Pour être inclus, le cas doit avoir nécessité une injection d'adrénaline (épinéphrine) ou le recours à une unité de réanimation ou une hospitalisation.

Chaque cas fait l'objet d'une validation par les coordinateurs du réseau qui, par échange avec l'allergologue déclarant, cherchent à cerner le plus précisément possible l'origine de l'accident et tous les éléments utiles au diagnostic. Tous les cas sont diffusés à l'ensemble des membres du réseau par email dans un délai de sept jours, ainsi que dans la revue bimestrielle *Alim'Inter* tous les deux mois.

✎ L'existence d'un tel réseau permettra donc une grande réactivité face à l'émergence éventuelle de nouvelles allergies, qu'elles soient dues ou non aux OGM.

2.7.3.2 Mise en place de sérothèques

La mise en place de sérothèques, c'est-à-dire de banques de sérums de patients allergiques, va permettre de recueillir de précieuses informations sur la nature et la prévalence des sensibilisations existant au sein de la population. Les sérums disponibles proviennent des analyses réalisées pour le diagnostic et le suivi des patients allergiques : le sérum non utilisé est conservé au cas où une contre-analyse serait demandée. Passé le délai légal pendant lequel le laboratoire est tenu de conserver l'échantillon, le laboratoire peut destiner celui-ci à des activités de recherche. Les données médicales concernant le patient sur lequel le prélèvement a été effectué (âge, sexe, provenance) sont communiquées, mais l'anonymat du patient est préservé.

Grâce à de telles banques de sérums informatisées, il sera possible de connaître le pourcentage de patients sensibilisés à tel ou tel allergène, quelles sont les sensibilisations croisées les plus fréquentes, etc. On pourra aussi rechercher et utiliser des sérums pour mener des études sur l'allergénicité de certains aliments, dans le but par exemple de comparer l'allergénicité d'une plante GM à son équivalent non-GM. Enfin, ces banques de sérums sont aussi un outil de surveillance sanitaire : tout comme avec le réseau Allergo-vigilance, si l'on constatait dans les années à venir une augmentation des sensibilisations au maïs ou au colza par exemple, cela inciterait à mener des recherches pour essayer d'en comprendre les raisons.

2.7.3.3 Mise en place d'une étude épidémiologique⁵²

En collaboration avec le Pr Moneret-Vautrin du CHU de Nancy, et avec l'appui du réseau Allergo-Vigilance, l'AFSSA examine actuellement la faisabilité d'une étude sur la sensibilisation de la population française aux plantes "potentiellement transgéniques"⁵³.

Cette étude devrait permettre d'**estimer les niveaux de sensibilisation** à ces plantes avant (c'est-à-dire en 2004), et après l'introduction de leurs versions GM dans le régime alimentaire des français et/ou en agriculture.

Une grande partie des OGM pour lesquels une demande d'autorisation de mise sur le marché communautaire a été déposée sont des colzas et des maïs transgéniques. La sensibilisation actuelle de la population française sera donc étudiée au moyen de **tests cutanés au colza (graine et pollen) et au maïs (graine et pollen)**.

Ces tests devraient débuter en septembre/octobre 2004 chez tous les allergologues qui auront répondu positivement à la demande de participation lancée sur le réseau Allergo-vigilance au mois de juillet 2004.

L'expérience devra être renouvelée d'ici quelques années, afin de permettre la **comparaison des résultats avant et après l'introduction des OGM en France**.

On ne pourra pas tirer de conclusions très précises de cette étude étant donné le nombre et l'importance des biais (représentativité, imputabilité en particulier). L'objectif serait de dégager une tendance à la stabilisation, à l'augmentation ou à la diminution des allergies liées au maïs et au colza. Si une augmentation était constatée, des recherches plus poussées devraient être envisagées concernant l'allergénicité de ces OGM (études sur les sérums des patients allergiques par exemple).

2.7.4 Surveillance post-marketing des OGM

2.7.4.1 Principe

La demande d'autorisation d'un OGM contient soit une proposition de surveillance de l'utilisation dans la consommation humaine de la denrée alimentaire (ou de l'aliment pour animaux) à la suite de sa mise sur le marché, soit une justification vérifiable de l'inutilité d'une surveillance consécutive à la mise sur le marché (Art.3 f/ du Règlement (CE) n° 641/2004).

La surveillance post-marketing des aliments nouveaux, et des OGM en particulier, consiste en la collecte et l'analyse de données sanitaires et de données de consommation, afin de mettre en évidence un lien éventuel entre celles-ci. Elle semble appropriée dans les cas où les études précédant la mise sur le marché de l'OGM n'ont pas permis d'évaluer assez précisément l'exposition et/ou les conséquences nutritionnelles (risques et/ou bénéfiques) de l'introduction de cet OGM dans l'alimentation. La surveillance post-marketing vient donc compléter l'évaluation sanitaire effectuée avant la mise sur le marché de l'OGM.

2.7.4.2 L'étude de faisabilité de la FSA sur les données d'exposition

Deux éléments sont essentiels pour obtenir des données d'exposition fiables (28) :

- la traçabilité : données sur la provenance, la distribution, l'utilisation du produit, etc.

⁵² Le pré-protocole de cette étude est détaillé en troisième partie du mémoire.

⁵³ Plantes susceptibles d'arriver sur le marché en tant qu'aliments ou ingrédients alimentaires dérivés d'OGM, et/ou plantes OGM susceptibles d'être cultivées en France.

- les données de consommation : études nutritionnelles au niveau individuel ou à l'échelle du ménage, données sur les achats alimentaires, autres études, permettant d'évaluer de façon probabiliste et/ou déterministe l'exposition.

Au Royaume-Uni, la FSA⁵⁴ a émis un rapport (13) concernant la faisabilité d'études post-marketing. Les données de consommation (données d'exposition) utilisées étaient issues :

- d'une enquête menée par la TNS⁵⁵ sur les achats alimentaires de 10.000 ménages britanniques de 1991 à 2000,
- des ventes alimentaires de sept grands supermarchés britanniques pour l'année 2000, fournies par l'IRI⁵⁶.

Les données de vente se sont avérées inutilisables dans le cadre d'études post-marketing, pour diverses raisons (informations insuffisantes sur les produits notamment). Les données sur les achats des ménages seraient exploitables mais présentent des limites : par exemple, elles ne prennent en compte qu'environ 70% de la consommation alimentaire des ménages, les repas pris hors du foyer n'étant pas comptabilisés.

Quatre produits alimentaires avaient été définis *a priori* comme étant des "marqueurs". L'objectif était de voir si l'on pouvait évaluer la consommation de produits spécifiques dans le régime alimentaire. Cela serait envisageable si l'on se limitait à « a consommé » / « n'a jamais consommé » le produit (exposé / non exposé).

A condition d'apporter quelques améliorations (échantillonnage, informations sur la composition des produits...), les auteurs concluent qu'il serait possible d'utiliser la base de données de la TNS sur les consommations alimentaires à l'échelle du ménage, dans l'optique d'évaluer l'exposition de la population à des nouveaux aliments.

Cette étude de faisabilité ne concernait que les données d'exposition : pour mettre en place un système de surveillance post-marketing, celles-ci doivent être reliées à des données sanitaires. Différentes approches sont possibles :

- utiliser (avec leur consentement) les numéros de sécurité sociale des individus faisant partie des ménages, et suivre d'un point de vue sanitaire ces individus sur le court, le moyen et le long terme.
- mener des études écologiques⁵⁷ lorsque des clusters temporels surviennent dans la population : il faudra comparer le niveau d'exposition dans la région des cas, avec le niveau d'exposition dans d'autres régions.

2.7.4.3 Surveillance post-marketing et allergies alimentaires

L'évaluation de l'allergénicité effectuée au préalable de la commercialisation d'un OGM, permet raisonnablement de penser que, si aucun test ne s'est révélé positif (stabilité à la digestion gastrique, homologie avec des allergènes connus par exemple), il y a très peu de chances pour que la protéine soit un allergène majeur. La surveillance post-marketing ne devrait donc pas être nécessaire. Cependant nous avons vu que la démarche d'évaluation était très focalisée sur la protéine transgénique et ne prenait pas vraiment en compte l'ensemble de la fraction protéique de l'OGM : une surveillance post-marketing pourrait éventuellement mettre en évidence des réactions allergiques dues à la présence d'une protéine nouvelle ou d'une protéine surexprimée qui serait allergisante.

Il faut aussi tenir compte du fait que les allergies alimentaires ne concernent qu'une minorité de la population. Une surveillance post-marketing passive, qui consisterait à recueillir les signalements effectués spontanément par les consommateurs ou les médecins, semble être la meilleure approche.

⁵⁴ Food Standards Agency

⁵⁵ Taylor Nelson Sofres

⁵⁶ Information Resources, Inc.

⁵⁷ Études dont l'unité d'observation n'est pas l'individu mais un groupe d'individus tels qu'une classe, une usine, un quartier, une communauté, une ville, etc.

Il faudra confronter les données sanitaires récoltées avec des éléments concernant l'évaluation de l'exposition (estimations précises des quantités consommées, traçabilité notamment). Cependant, chaque patient allergique a un seuil réactogène qui lui est propre : certains réagiront à des quantités relativement importantes d'aliment, et d'autres à de simples traces. Autrement dit, il n'existe de relation dose/réponse qu'au niveau individuel. Cet élément risque de compliquer notablement l'interprétation des résultats.

3 Mise en place d'une étude épidémiologique

La seconde partie du travail effectué à l'AFSSA était de mettre en place, en collaboration avec le réseau Allergo-Vigilance, une étude épidémiologique. Pour des raisons de temps, nous n'en sommes actuellement qu'à l'élaboration du protocole de cette étude, dont différentes composantes sont présentées ci-dessous.

3.1 Contexte

3.1.1 La levée du moratoire sur les OGM

L'AFSSA, de par la loi n°98-535 du 1^{er} juillet 1998 relative au renforcement de la veille sanitaire et du contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme, doit procéder à l'évaluation des risques sanitaires relatifs à la consommation de produits alimentaires composés ou issus d'OGM.

Dans le contexte actuel de levée progressive du moratoire sur les OGM par la Commission Européenne, l'AFSSA et le Pr. Moneret-Vautrin du CHU de Nancy, ont souhaité mettre en place, en collaboration avec le réseau Allergo-vigilance, une étude sur la sensibilisation de la population française aux plantes "potentiellement transgéniques"⁵⁸. Une grande partie des OGM pour lesquels une demande d'autorisation de mise sur le marché communautaire a été déposée sont des colzas et des maïs transgéniques (Cf. Annexe 6). Cette étude portera donc sur la sensibilisation au maïs et au colza.

3.1.2 Exposition de la population française au maïs et au colza GM au 1^{er} juillet 2004

- **Maïs**

Au 1^{er} juillet 2004, la population française est exposée à du maïs GM uniquement sous forme d'ingrédients, donc par l'intermédiaire de denrées transformées.

L'autorisation de commercialisation du maïs doux GM (maïs Bt11) date du mois de juin 2004 : la population française n'est donc pas encore directement exposée à du maïs GM à la date du 1^{er} juillet 2004. Cette exposition sera cependant progressive dès lors que ce maïs sera distribué. Cette distribution sera accompagnée d'un étiquetage signalant qu'il s'agit d'un maïs issu d'une production GM. De même pour l'étiquetage des ingrédients issus de maïs GM.

- **Colza**

Sept huiles de colza issues d'OGM sont actuellement commercialisées en France. L'exposition au colza OGM n'existe actuellement que sous cette forme (cependant ces huiles peuvent se retrouver en tant qu'ingrédients dans les margarines, sauces, etc.).

3.1.3 Allergies documentées au maïs et au colza en France en 2004

- **Allergies alimentaires** (Cf. Annexes 8 & 9, *Prévalence de l'allergie alimentaire*)

A l'heure actuelle, il n'existe pas de données de prévalence de l'allergie alimentaire au colza et au maïs en France ; il semble que ces cas d'allergies soient relativement rares ou en tous cas peu rapportés par les allergologues. F.Rancé et *al.* (51) ont étudié les aliments les plus fréquemment impliqués dans l'allergie alimentaire de l'enfant (544 enfants et 813 aliments) : le colza et le maïs ne sont à l'origine d'aucune observation clinique d'allergie. L'expérience du CICBAA n'a pas non plus mis en évidence d'accident

⁵⁸ Plantes susceptibles d'arriver sur le marché en tant qu'aliments ou ingrédients alimentaires dérivés d'OGM, et/ou plantes OGM susceptibles d'être cultivées en France.

allergique lié à ces deux aliments en 2002 (sur un total de 107 observations) et en 2003 (85 observations) (40).

Quelques données sur le maïs existent mais elles proviennent des Etats-Unis, où cet aliment est plus consommé que chez nous : elles ne sont pas vraiment utilisables.

- **Pollinoses** (Cf. Annexes 8 & 9, *Prévalence de la pollinose*)

L'allergie au pollen de maïs est étroitement liée à l'allergie aux pollens de graminées. Cependant le pollen de maïs serait moins allergisant que celui des graminées sauvages ou celui d'autres céréales.

Les données de prévalence sur la pollinose au colza sont plutôt divergentes. Elle est observée la plupart du temps chez des sujets atopiques polysensibilisés aux pollens ; très peu d'individus seraient sensibilisés uniquement au pollen de colza.

3.2 Objectif

L'objectif de cette étude est **d'estimer les niveaux de sensibilisation** au maïs et au colza en 2004, c'est-à-dire avant l'introduction de leurs versions GM dans le régime alimentaire des français et/ou en agriculture. Il s'agira ensuite de comparer ces niveaux de sensibilisation à ceux qui existeront plusieurs années plus tard, c'est-à-dire après une exposition probablement beaucoup plus importante aux variétés GM. Deux enquêtes transversales doivent être donc mises en place : la première en 2004, et une seconde enquête au plus tôt dans trois ou cinq ans.

Rappel : La sensibilisation à un allergène donné signifie que pour un individu, le test cutané (ou *prick-test*) à cet allergène est positif. Cela ne signifie pas que le patient soit allergique à cet allergène : un patient sensibilisé ne présente pas forcément de symptomatologie clinique. Autrement dit, le nombre de personnes sensibilisées au colza et au maïs en France est plus important que le nombre de patients allergiques à l'une ou l'autre de ces deux plantes.

3.3 Méthode

Il est proposé d'étudier la sensibilisation actuelle de la population française au moyen de tests cutanés (Cf. Annexe 7) :

- o au colza (graine et pollen),
- o au maïs (graine et pollen).

Chaque allergologue souhaitant participer à cette étude devrait tester au total entre 20 et 40 patients, sur une durée d'environ un mois (soit un à deux patients par jour).

Il serait souhaitable de disposer d'autant d'individus féminins que masculins, et d'autant d'enfants (moins de 15 ans) que d'adultes.

Les résultats des tests seront communiqués sous la forme d'un tableau qui sera fourni (Tableau 1).

Individu	Date	Sexe (F / M)	Age (A / E)	Colza pollen (+/-)	Colza graine (+/-)	Maïs pollen (+/-)	Maïs graine (+/-)
1							
2							
...							
39							
40							

Tableau 1 : présentation des résultats des tests cutanés

3.4 Matériel

Deux laboratoires proposent actuellement 3 des 4 extraits allergéniques nécessaires à la réalisation de cette étude : Allerbio et Stallergènes. L'allergologue sera libre de choisir les extraits de son choix ; ceux-ci pourront lui être fournis gratuitement sur demande. Il devra cependant mentionner quels extraits ont été utilisés pour les tests lorsqu'il communiquera ses résultats au réseau.

Les pollen de maïs, pollen de colza et farine de maïs existent dans les deux laboratoires, mais tester la graine de colza nécessitera l'aliment natif réduit en poudre

3.5 Organisation pratique

3.5.1 Mobilisation des allergologues du réseau Allergo-vigilance

Les test cutanés nécessaires à la réalisation de cette étude basée sur le volontariat, seront pratiqués par les allergologues collaborant au réseau Allergo-vigilance coordonné par le CHU de Nancy. Ce réseau d'allergologues, à défaut d'être représentatif de l'ensemble des allergologues de France, comprend au total 326 membres (au 1^{er} juillet 2004) répartis en 198 allergologues exclusifs, 10 internistes, 41 pédiatres allergologues, 43 pneumo-allergologues, 12 dermato-allergologues et 10 biologistes. 60 % d'entre eux ont une pratique clinique en médecine de ville et 40 % en médecine hospitalière. Leur répartition géographique couvre l'ensemble du territoire français.

Une étude de faisabilité est actuellement en cours (les allergologues ont été contactés fin juin 2004) afin de définir le nombre d'allergologues du réseau souhaitant participer à cette étude, et d'estimer ainsi le nombre de patients pouvant intégrer ce protocole.

Dans un second temps, une fois ces résultats connus, une seconde version du présent protocole sera élaborée. La définition des sujets éligibles (critères d'inclusion et de non inclusion) sera alors précisée avec un bilan biologique initial détaillé ainsi que l'organisation pratique plus détaillée de l'étude.

3.5.2 Echancier

Le lancement des tests (chez les allergologues qui auront répondu positivement) devrait avoir lieu début septembre.

	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.
Elaboration du protocole						
Contact des allergologues						
Etude des réponses reçues						
Envoi des extraits						
Lancement / Tests						
Recueil des résultats						
Traitement des résultats						
Rédaction du rapport						
Com. des résultats / publi						

3.6 Hypothèses concernant les résultats

Si cette étude est menée à bien, deux situations peuvent se produire :

On ne constate pas d'augmentation ni de diminution significative de la sensibilisation au colza et au maïs de la population étudiée entre les deux périodes d'observations.

↳ l'introduction de maïs et de colza GM dans le régime alimentaire de la population étudiée ne semble pas avoir *a priori* modifié le nombre d'accidents allergiques en rapport

avec ces deux aliments, bien que la sensibilisation et l'allergie vraie chez le patient ne soient pas distinguées par le test utilisé.

Il existe une augmentation significative de la prévalence de la sensibilisation au colza ou au maïs entre les deux périodes observées pour la population étudiée.

↳ on peut penser que l'introduction de maïs et de colza GM dans le régime alimentaire de la population étudiée a pu modifier le nombre d'accidents allergiques en rapport avec ces deux aliments. Il n'est pas pour autant possible de relier l'augmentation de la prévalence à une exposition aux OGM, en raison des biais liés à cette étude (Cf. 3.7). Une recherche plus approfondie sur les sérums des patients allergiques pourra être mise en œuvre pour essayer de comprendre ce résultat.

3.7 Limites de l'étude

3.7.1 Biais de sélection

Les biais liés à cette étude sont nombreux et importants. Les biais de sélection, tout d'abord, résultent de la façon dont l'échantillonnage est réalisé au sein de la population.

La population étudiée n'est pas représentative *stricto sensu* de la population française. En effet, il s'agit de la population consultant en allergologie : celle-ci sera donc en grande partie atopique, c'est-à-dire qu'elle présentera une prédisposition génétique à développer des allergies.

Par ailleurs, la population urbaine sera probablement sur-représentée par rapport à la population rurale, puisqu'une grande partie des spécialistes allergologues affiliés au réseau Allergo-vigilance exercent en ville ou à hôpital. Il est possible aussi que le recrutement s'effectue davantage dans le cadre d'une pratique médicale de ville (60%) qu'une pratique médicale hospitalière (40%) en raison de l'organisation du réseau Allergo-vigilance (Cf. 3.5.1).

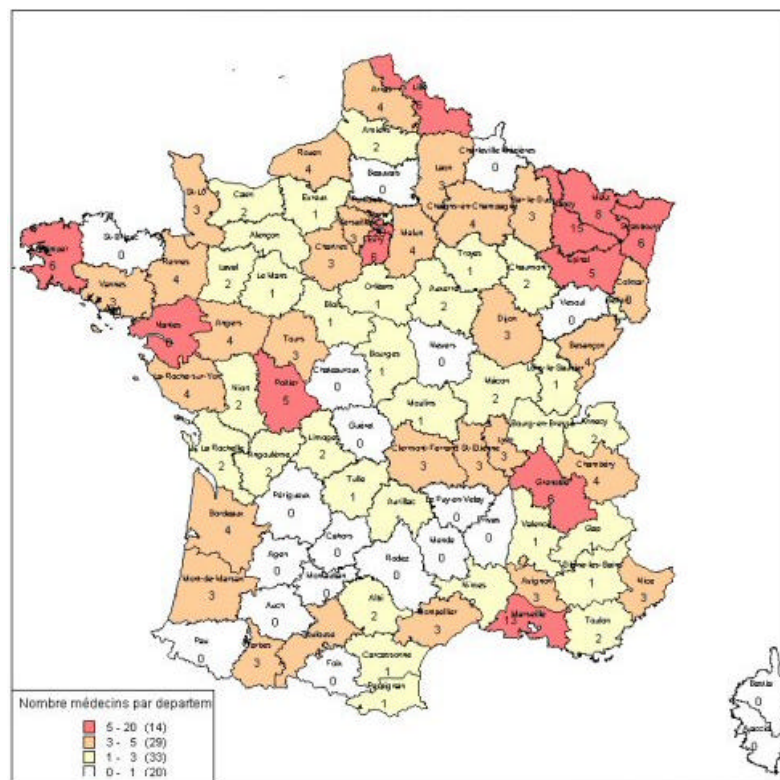


Figure 2 : carte des membres du réseau Allergo-vigilance au 15 avril 2004
(Source : <http://allergique.org>)

3.7.2 Biais de classement

Les biais de classement ont pour origine des erreurs de mesure sur l'exposition et/ou la maladie.

Afin de ne pas "favoriser" l'un des laboratoires proposant les extraits allergéniques nécessaires à la réalisation de l'étude, nous laissons les allergologues libres de choisir les extraits qu'ils souhaitent utiliser. Cependant, la qualité de ceux-ci peut varier. Il se peut très bien que l'un des deux extraits de colza soit plus allergisant que l'autre, voire même que l'allergénicité des extraits d'un même laboratoire varie selon le lot et la matière première utilisée.

De plus, étant donné que l'extrait allergénique de graine de colza n'est pas disponible, il faudra utiliser l'aliment natif réduit en poudre : il n'y aura donc aucune standardisation effectuée sur le produit.

Des réactions croisées peuvent se produire entre les pollens et graines de colza et maïs, et d'autres pollens et aliments.

Exemple : un patient allergique aux pollens de graminées sauvages (phléole, dactyle...) pourra réagir au pollen de maïs, alors qu'il ne sera pas sensibilisé spécifiquement à celui-ci. Cela s'explique par la présence de protéines allergènes dans le pollen de maïs, qui présentent une homologie avec les protéines allergènes des graminées.

Les réactions croisées documentées avec le maïs et le colza sont détaillées dans les annexes 8 et 9.

Enfin, on peut aussi rappeler que la sensibilisation et l'allergie vraie chez le patient ne sont pas distinguées par le test cutané (Cf. 3.2). Etant donné que notre étude vise à établir des niveaux de sensibilisation, cela n'est donc pas considéré comme un biais de classement. Mais il faut bien garder à l'esprit que le problème de santé publique est l'allergie, et non pas la sensibilisation, bien que ces deux phénomènes soient très étroitement liés.

3.7.3 Biais de confusion

Les biais de confusion sont liés à l'influence de tiers facteurs sur l'association entre l'exposition (consommation d'OGM) et la maladie (allergie alimentaire).

La consommation de maïs et de colza, GM ou non, peut très bien augmenter dans les années qui viennent. Le simple fait de consommer d'avantage d'un aliment peut entraîner une augmentation de la prévalence de l'allergie à cet aliment. Il existe en effet, aussi bien sur le plan collectif qu'individuel, un lien évident entre la fréquence et la quantité des consommations alimentaires, et la fréquence des allergies correspondantes : l'allergie alimentaire au riz est particulièrement fréquente au Japon, celle à l'arachide fréquente aux Etats-Unis, celle au blé fréquente en Italie...

En toute rigueur, on peut aussi penser que certains facteurs diminuent la prévalence d'une allergie (ex : consommation moindre de l'aliment), mais que d'autres l'augmentent (ex : allergénicité accrue de l'aliment due à l'emploi d'activateurs de résistance, ou due à une modification génétique). Au final, les facteurs peuvent s'équilibrer et l'on ne constatera aucune augmentation ou diminution de l'allergie.

Les biais de confusion sont très importants dans cette étude. Nous manquons encore de connaissances sur les facteurs qui conduisent à l'augmentation de la prévalence des allergies en général. Beaucoup d'hypothèses existent : théorie hygiéniste (un "excès" d'hygiène conduirait au déséquilibre du système immunitaire), rôle de la pollution, délaissement de l'allaitement maternel, diversification alimentaire trop précoce pour les nourrissons, stress lié aux nouveaux modes de vie...

Dès lors que l'on ne connaît pas précisément l'influence de tous ces facteurs, comment attribuer une éventuelle augmentation de la prévalence de l'allergie au colza, à la mise

sur le marché de colza GM ? C'est pour cette raison que nous n'attendons pas de cette étude un résultat précis : si une augmentation significative était constatée, il faudrait conduire de nouvelles recherches du côté de l'allergénicité des OGM, tout en sachant que de nombreux autres facteurs pourraient expliquer un tel résultat.

CONCLUSION

Aujourd'hui, les citoyens européens sont en majorité défavorables à la culture et à la commercialisation des OGM agricoles en Europe. Cette mauvaise acceptation sociale, mais aussi le fait que les mécanismes de la transgénèse ne sont qu'imparfaitement maîtrisés, font que les OGM sont aujourd'hui très surveillés d'un point de vue sanitaire, comparativement aux autres plantes élaborées par des techniques plus conventionnelles.

L'évaluation de l'allergénicité d'un OGM se focalise particulièrement sur la ou les protéines introduites volontairement dans l'OGM, mais le nouvel organisme n'est pas suffisamment pris en compte dans sa globalité. L'étude du profil allergénique et l'analyse de toute protéine nouvelle ou surexprimée par rapport à l'aliment conventionnel devraient être effectuées. Ceci est particulièrement important pour les plantes GM de deuxième génération (Cf. 2.5.3) : des modifications génétiques plus complexes pourraient entraîner un bouleversement important des voies métaboliques, et donc de la fraction protéique.

- La recherche sur de nouveaux outils analysant l'ensemble de la composition de l'OGM (étude du protéome, du transcriptome, du profil métabolique),
 - l'élaboration d'une base de données la plus exhaustive possible pour la recherche de séquences homologues, et recensant les structures tridimensionnelles des protéines,
 - la mise au point de modèles animaux pertinents,
 - l'organisation de sérothèques, prévue par la FAO et réalisée notamment par le réseau Allergo-Vigilance en France,
- ne peuvent être qu'encouragées.

Les OGM hypoallergéniques, qui sont étudiés principalement dans les laboratoires universitaires, ne sont pour l'instant pas au point. Il n'est pas dit que les sociétés de biotechnologie s'y intéressent fortement, car ces "aliments" ne seraient utiles qu'à une minorité de la population. La séparation des filières et la sécurisation nécessairement plus poussée pour ces produits, engendreraient un surcoût, que le consommateur allergique n'est pas forcément prêt à payer. Cependant, la création de variétés pouvant servir de base à des extraits allergéniques pharmaceutiques permettant de mener des immunothérapies efficaces et moins risquées, serait d'un grand intérêt.

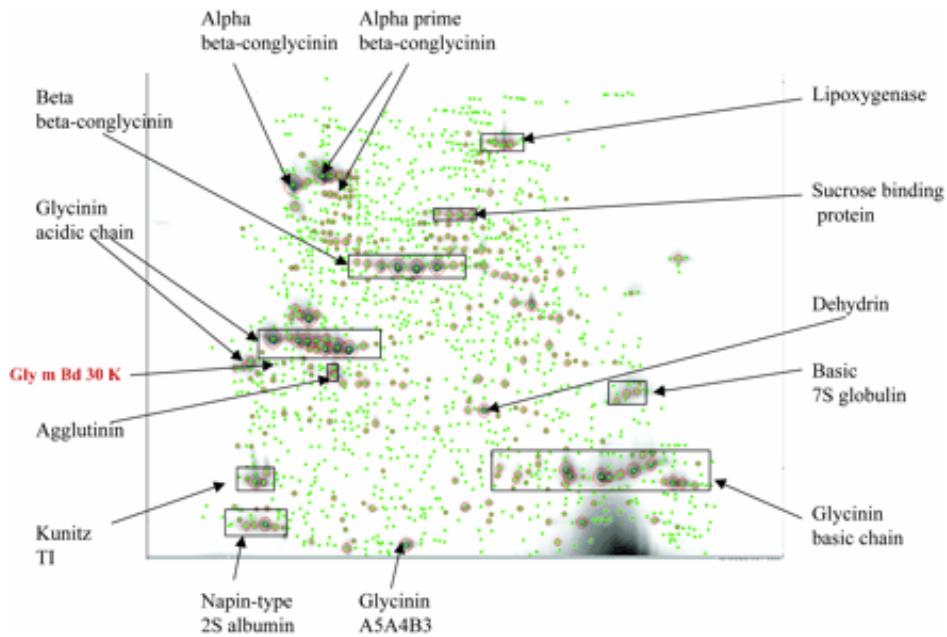
Bien que l'on puisse aller plus loin dans l'évaluation du risque, en l'état actuel des connaissances, les aliments transgéniques ne semblent ni plus ni moins dangereux que les autres en ce qui concerne le potentiel allergénique. Il est important de rappeler que d'autres techniques de culture et de sélection que la modification génétique peuvent contribuer à augmenter le potentiel allergène de nos aliments. Ainsi, l'emploi de produits activateurs de résistance et la sélection d'espèces végétales à haut rendement en raison de leur aptitude à synthétiser des protéines de stress (protéines PR, Pathogenesis-Related), qui leur permettent de résister à des agressions fongiques ou virales, pourraient bien participer à l'accroissement de la prévalence des allergies alimentaires : les protéines PR forment en effet une grande famille d'allergènes (27).

En mettant en balance les risques potentiels encourus, qui restent pour l'instant hypothétiques, et les bénéfices que pourraient apporter les OGM, c'est probablement le débat social qui permettra de trancher.

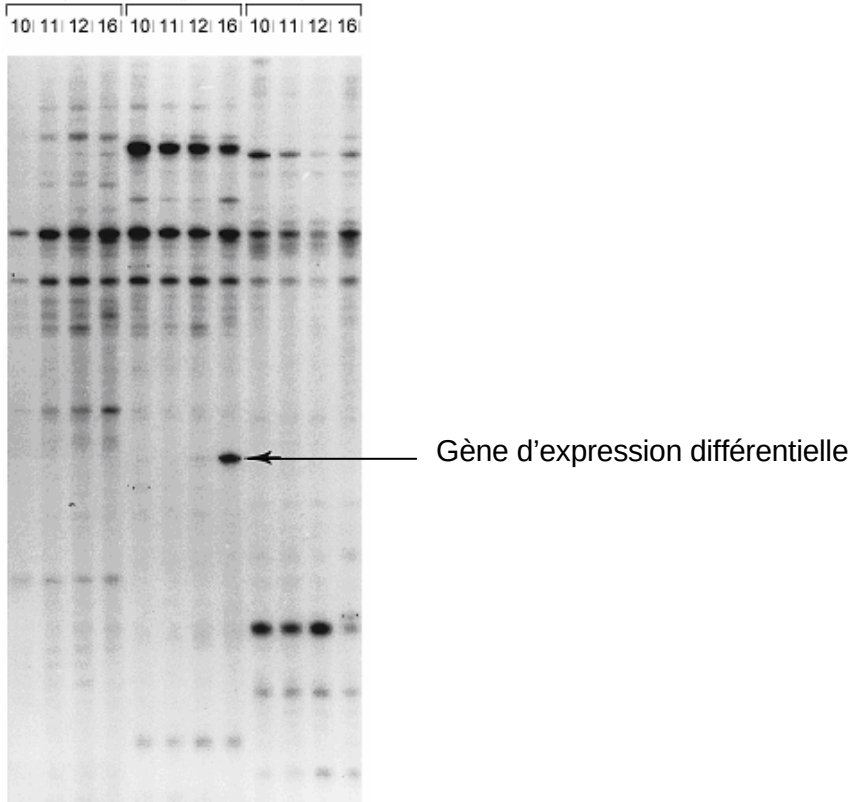
LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 : électrophorèse bi-dimensionnelle de la fraction protéique d'une graine de soja	III
ANNEXE 2 : exemple de « Differential display »	III
ANNEXE 3 : arbre de décision IFBC/ILSI (1996)	IV
ANNEXE 4 : arbre de décision FAO/WHO (2000).	V
ANNEXE 5 : formulaire de déclaration d'un accident allergique grave	VI
ANNEXE 6 : demandes d'autorisations à la commission européenne pour la mise sur le marché d'OGM	VII
ANNEXE 7 : réalisation des tests cutanés	VIII
ANNEXE 8 : fiche de synthèse sur l'allergie au colza	IX
ANNEXE 9 : fiche de synthèse sur l'allergie au maïs	XI

ANNEXE 1 :
électrophorèse bi-dimensionnelle de la fraction protéique d'une graine
de soja (Source : Herman et al., 2003) (25)

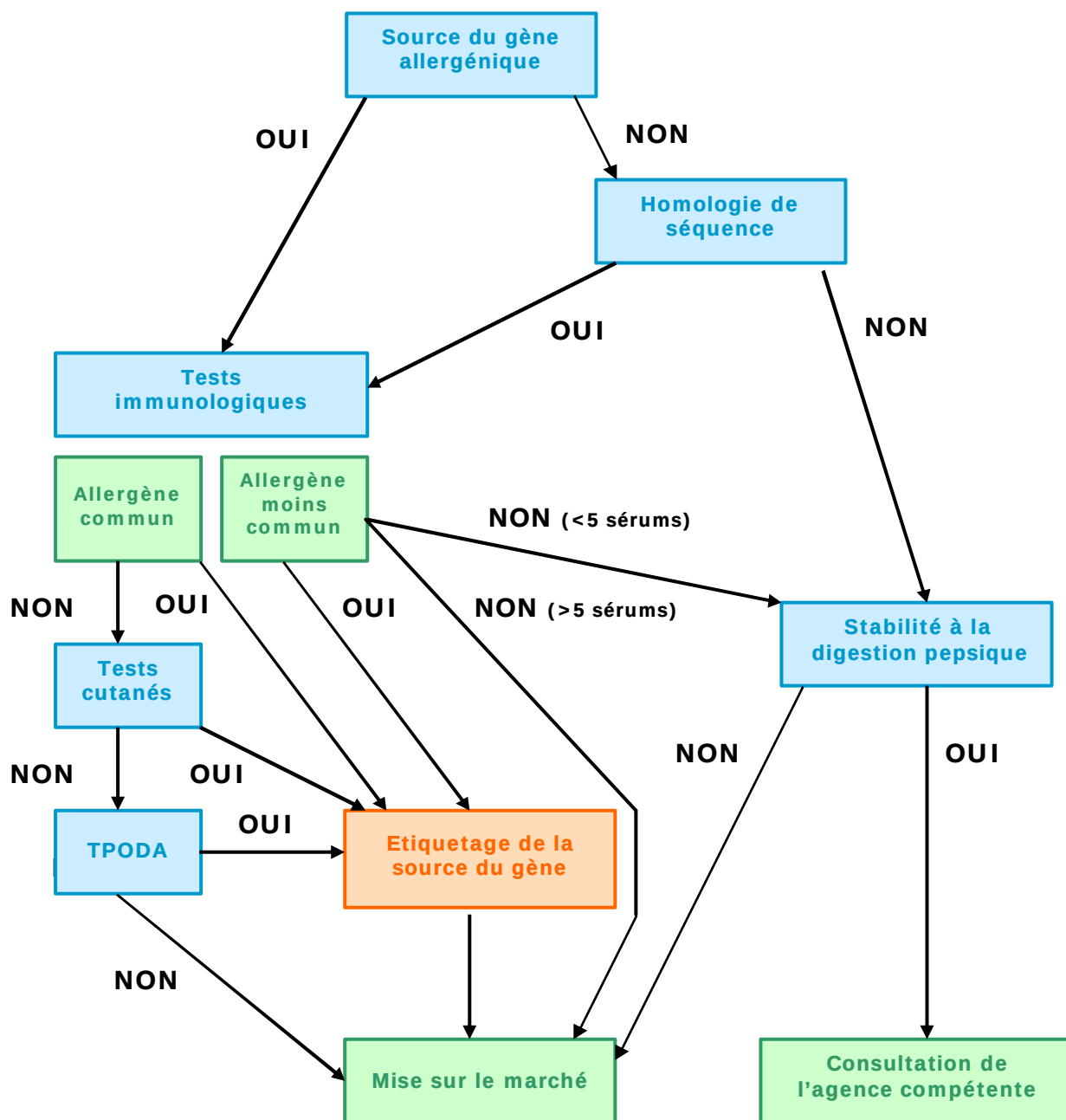


ANNEXE 2 :
exemple de « Differential display » (Source : Université de Liège,
disponible sur <http://www.fmv.ulg.ac.be>)

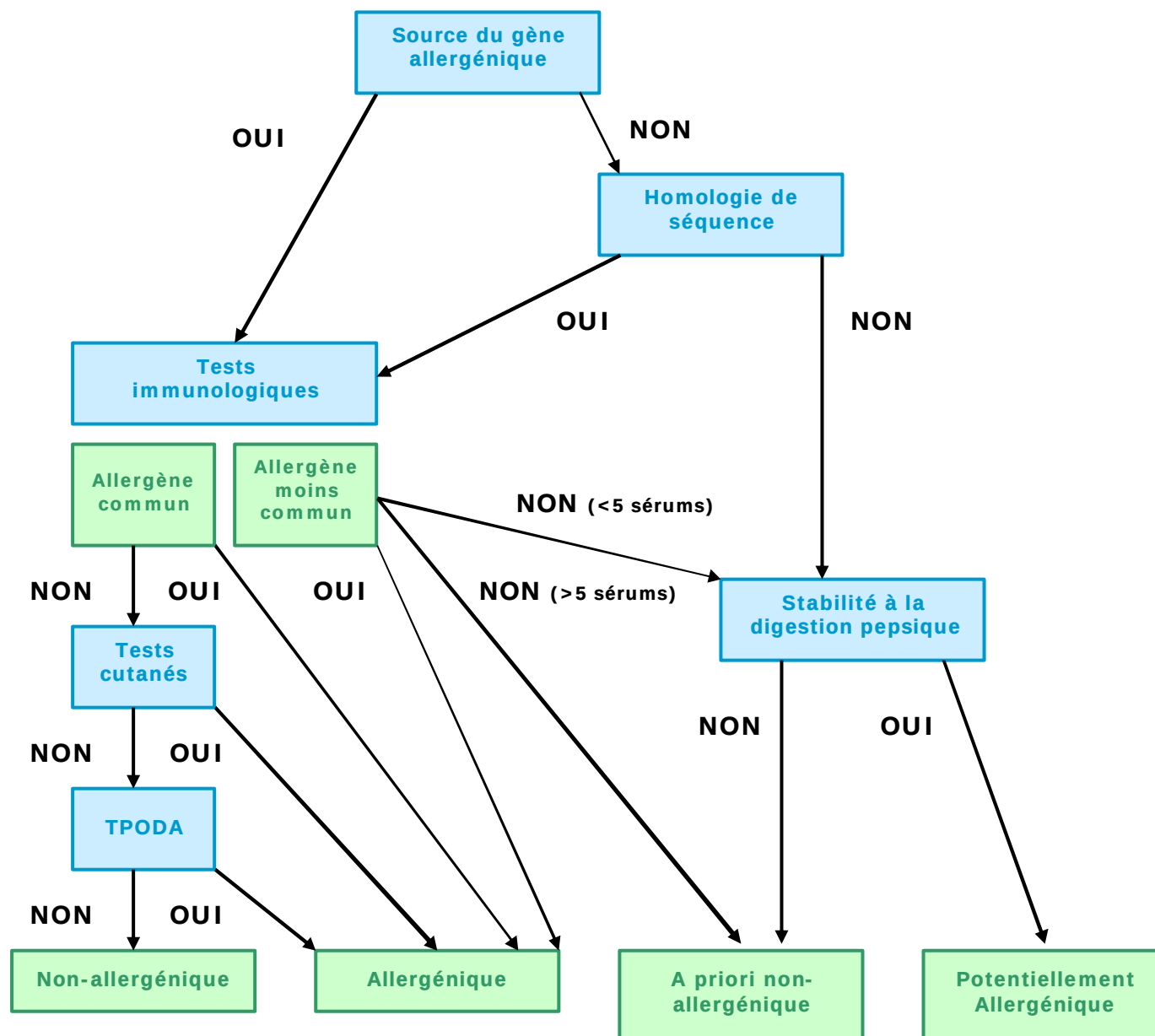


ANNEXE 3 : arbre de décision IFBC/ILSI (1996)

TPODA : Test de Provocation Oral en Double Aveugle



**Annexe 4 :
arbre de décision FAO/WHO (2000).**



ANNEXE 5 :
formulaire de déclaration d'un accident allergique grave (Disponible sur les sites <http://www.cicbaa.org> et <http://www.allergique.org>)

RECUEIL D'EVENEMENTS ALLERGIQUES GRAVES

Réseau d'allergo-vigilance (aliments, médicaments, hyménoptères, idiopathiques)

IDENTIFICATION DU MEDECIN (ces données sont à usage interne et n'apparaîtront pas lors de la diffusion du cas clinique) :

Votre nom :
Votre prénom :
Votre adresse email :
Votre ville :
Votre code postal :

DESCRIPTION DU CAS CLINIQUE :

Réaction clinique : Choc anaphylactique – Angioœdème laryngé – Asthme aigu grave – Réaction systémique sérieuse – Autres (remplir alors les commentaires)

Commentaires de la réaction clinique :

Facteurs associés : Effort physique – Prise d'alcool – Prise de médicaments aggravants – Aucun ou autre (remplir alors les commentaires)

Commentaires des facteurs associés :

Conduite tenue :

Antécédents :

Sexe : M – F

Age :

Bilan allergologique effectué : Prick-tests – IgE spécifiques – Intra-dermo réaction – Test labial – Test de provocation oral – Dosage de tryptase – Autre bilan (préciser les résultats dans le champ commentaires)

Commentaires du bilan :

Diagnostic retenu : Anaphylaxie à agent identifié – Anaphylaxie idiopathique

Commentaires du diagnostic :

PRECISIONS ALIMENTAIRES :

Circonstances alimentaires : à domicile – au restaurant – chez des amis – cantine d'école – cantine d'entreprise – au sport

Aliment préemballé ? Oui – Non

Aliment en vrac ? Oui – Non

Lieu d'achat : sur un marché – chez un artisan – don de nourriture – dans un supermarché – dans un commerce de proximité

Produit consommé habituellement ? Oui – Non

Est-ce une nouvelle recette ? Oui – Non

ANNEXE 6 :
demandes d'autorisations à la commission européenne pour la mise
sur le marché d'OGM (Source : Site du Joint Research Centre de la
Commission européenne, <http://gmoinfo.jrc.it/gmc/browse.asp>)

Notification Number	Member State	Notifier(s)	Name of the product (commercial and other names)	Date of publication*
C/GB/04/M5/4	United Kingdom	Bayer CropScience;	Glufosinate Tolerant oilseed rape T45	3/30/2004
C/ES/04/02	Spain	Bayer CropScience;	Glufosinate tolerant Cotton Transformation event LLCotton25	3/29/2004
C/NL/04/01	Netherlands	Dow AgroSciences; Agrigenetics;	Insect resistant cotton events 281-24-236 and 3006-210-23.	2/23/2004
C/ES/04/01	Spain	Monsanto;	Genetically modified maize NK603 × MON 810 (for import and use, including cultivation)	1/14/2004
C/GB/03/M5/3	United Kingdom	Bayer CropScience;	Glufosinate -tolerant Rice , LLRICE62	9/4/2003 1/28/2004
C/ES/03/01	Spain	Monsanto;	Roundup Ready maize line NK603 for cultivation in the EU	7/22/2003
C/ES/99/01	Spain	Stoneville Pedigreed Seed Company;	Genetically modified BROMBXNNIL-tolerant cotton	7/21/2003
C/FR/96/05/10	France	Syngenta Seeds;	Insect resistant Bt11 maize	6/30/2003 7/29/2003
C/DK/97/01	Denmark	DANISCO Seed; DLF Trifolium A/S; Monsanto;	Roundup Ready fodder beet derived from line A5/15	3/3/2003
C/DE/98/6	Germany	Bayer CropScience;	Glufosinate tolerant Oilseed Rape Liberator pHoe6/Ac	2/17/2003
C/DE/02/9	Germany	Monsanto;	Insect-protected maize line MON 863 and maize hybrid MON 863 x MON 810	2/17/2003 5/6/2003
C/ES/99/02	Spain	Monsanto;	MaisGard/Roundup Ready maize GA21 x MON810	2/17/2003 Withdrawn
C/ES/98/01	Spain	Monsanto;	Roundup Ready maize line GA21	2/17/2003 Withdrawn
C/ES/01/01	Spain	Dow AgroSciences; Mycogen Seeds; Pioneer Hi-Bred;	Lepidopteran resistant and glufosinate tolerant 1507 Maize	2/17/2003 8/20/2003
C/ES/96/02	Spain	Monsanto;	Insect-Protected cotton line derived from Event 531	2/14/2003

C/ES/97/01	Spain	Monsanto;	Roundup Ready cotton line derived from Event 1445	2/14/2003
C/DE/96/5	Germany	Bayer CropScience;	Glufosinate tolerant Oilseed Rape Falcon, GS40/90pHoe6/Ac	2/14/2003
C/DE/00/8	Germany	KWS SAAT; Monsanto;	Roundup Ready Sugar Beet (Beta Vulgaris) Derived from Event H7-1	2/14/2003
C/NL/00/10	Netherlands	Mycogen Seeds; Pioneer Hi-Bred;	Lepidopteran resistant and glufosinate tolerant 1507 Maize	2/14/2003 9/1/2003
C/GB/99/M5/2	United Kingdom	Bayer CropScience;	Glufosinate Tolerant oilseed rape T45	2/10/2003 Withdrawn
C/BE/96/01	Belgium	Bayer BioScience;	Oilseed rape Ms8xRf3	2/7/2003 2/25/2004
C/BE/98/01	Belgium	Bayer BioScience;	Glufosinate tolerant soybeans A 2704-12 and A5547-127	2/7/2003
C/BE/99/01	Belgium	Monsanto; Syngenta Seeds;	Roundup Ready sugar beet	2/7/2003 Withdrawn
C/SE/96/3501	Sweden	Amylogene HB;	Potato variety EH92-527-1 with modified starch content	2/3/2003 5/4/2004
C/GB/02/M3/03	United Kingdom	Monsanto;	Genetically modified maize NK603 × MON 810 (for import and use, NOT including cultivation)	1/22/2003 3/19/2004
C/NL/98/11	Netherlands	Monsanto;	Roundup Ready (glyphosate tolerant) oilseed rape , event GT73	1/22/2003 1/22/2003
C/ES/00/01	Spain	Monsanto;	Roundup Ready (glyphosate tolerant) maize , event NK603	1/22/2003 1/22/2003

* 1st date : summary notification 2nd date: assessment report

ANNEXE 7 :

réalisation des tests cutanés (Source : <http://www.splf.org/bbo/revues-articles/pdfs/Testscutanes.pdf>)

L'allergologue devra demander aux patients qu'il souhaite tester de ne pas prendre leur traitement antihistaminique dans les 7 jours précédant le rendez-vous.

Après avoir désinfecté, il déposera une goutte de chaque extrait allergénique (4 au total) sur la face antérieure du bras ou dans le dos du patient, et procèdera à une micro-piqûre de la peau au niveau des gouttes déposées. Deux piqûres supplémentaires seront pratiquées pour les témoins positif (chlorhydrate d'histamine) et négatif (diluant sans allergène).

Le test est positif lorsqu'une papule prurigineuse apparaît autour de la piqûre au bout de 15 minutes, et que son diamètre est au moins égal à la moitié de celui du témoin positif.

Certains sujets, notamment ceux qui présentent un terrain allergique marqué et une peau très réactive (dermatite atopique), peuvent avoir des tests positifs à certains aliments sans pour autant faire de réaction allergique à ces aliments (faux positifs). Inversement, un patient qui aurait continué à prendre son traitement antiallergique avant le rendez-vous est théoriquement susceptible de ne pas réagir aux extraits testés alors qu'il présente une allergie à ces aliments (faux négatifs).

Le résultat des tests dépend aussi largement de la qualité des extraits allergéniques utilisés.

ANNEXE 8 : fiche de synthèse sur l'allergie au colza (*Brassica napus*)

Nom français: colza

Nom scientifique : *Brassica napus* (spp. *oleifera*)

Traductions étrangères :

En : rapeseed **All :** Raps **Esp :** colza **It :** colza

Classification botanique :

Famille : Brassicacées/Crucifères **Sous-famille :** Brassicoidae



Prévalence de l'allergie:

Pollinose

Les données sur la prévalence de l'allergie au pollen de colza sont assez divergentes (18).

0,2% (population normalement exposée, allergies professionnelles exclues) (16).

Sur 4468 patients présentant une allergie respiratoire, des tests cutanés ont été pratiqués, révélant une sensibilisation au pollen de colza chez 7,1% des patients allergiques au pollen en général (17). Seuls 7 patients étaient uniquement sensibilisés au pollen de colza.

La pollinose est essentiellement observée chez des sujets atopiques polysensibilisés aux pollens (16,18).

Exposition :

- dissémination aérienne du pollen des terres cultivées,
- exposition professionnelle à la poussière de graine de colza (agriculture, industrie de l'alimentation animale) (10,11,16),
- graine de colza consommée.

Seuil réactogène : pas de données

Sources : huile de colza, margarine

Protéines allergéniques identifiées :

Allergènes majeurs :

- complexe de 6 peptides (27- 69 kDa), reconnu par 80% des sérums, impliquant des déterminants carbohydrate (7). Allergènes de 33, 42, 51, 58/61 et 70 kDa (17)
- protéine de 6-8 kDa reconnue par 50% des sérums (7,17)
- protéine de 12-14 kDa reconnue par 34% des sérums (7,17)

Autres allergènes :

- Protéine liant le calcium = panallergène (1)
- Polygalacturonase (pectinase), hydrosoluble, 2 isoformes, PM d'env. 43 kDa, pI entre 6,5 et 8,5 (2)
- 2S albumine (napine). L'isoforme la plus abondante, BnIII, est constituée de deux chaînes de 4,5 et 9,5 kDa (8)
- profiline (18)

Influence des procédés de transformation : pas de données

Réactions croisées connues :

Pollen :

- avec Che a 3 (*Chenopodium album*), protéine liant le calcium (1)
- pas de réaction croisée *in vitro* avec les pollens de graminées, même si une co-sensibilisation est souvent observée, et que certains allergènes ont des poids moléculaires similaires (3). L'étude ayant abouti à cette conclusion est cependant discutée (4,5,7).

- pollen de seigle, de bouleau (7,17)

Graine :

- 2S albumine (napine) qui croise avec les 2S albumines d'autres graines dont la moutarde (8)

Remarque :

Certaines publications mentionnent la présence d'irritants des voies respiratoires émis lors de la floraison du colza. 22 composés organiques volatils ont été identifiés (8). Ceux-ci pourraient conduire à des symptômes proches de l'allergie.

BIBLIOGRAPHIE:

1. Barderas R, Villalba M, Pascual CY, Batanero E, Rodriguez R. *Profilin (Che a 2) and polcalcin (Che a 3) are relevant allergens of Chenopodium album pollen: isolation, amino acid sequences, and immunologic properties.* J Allergy Clin Immunol. 2004 Jun;113(6):1192-1198.
2. Chardin H, Mayer C, Senechal H, Poncet P, Clement G, Wal JM, Desvaux FX, Peltre G. *Polygalacturonase (pectinase), a new oilseed rape allergen.* Allergy. 2003 May;58(5):407-411.
3. Welch J, Jones MG, Cullinan P, Coates OA, Newman Taylor AJ. *Sensitization to oilseed rape is not due to cross-reactivity with grass pollen.* Clin Exp Allergy. 2000 Mar;30(3):370-375.
4. Galloway D. *Oilseed rape - allergen or irritant?* Clin Exp Allergy. 2000 Mar;30(3):308-309.
5. Murphy DJ. *Is rapeseed really an allergenic plant? Popular myths versus scientific realities.* Immunol Today. 1999 Nov;20(11):511-514.
6. Jones MG, Welch J, Cullinan P, Newman Taylor AJ, Coates OA. *Allergenicity of grass and oil seed rape pollen.* Immunol Today. 2000 Mar;21(3):155-156.
7. Focke M, Hemmer W, Hayek B, Gotz M, Jarisch R. *Identification of allergens in oilseed rape (Brassica napus) pollen.* Int Arch Allergy Immunol. 1998 Oct;117(2):105-112.
8. Monsalve RI, Gonzalez de la Pena MA et al. *Detection, isolation and complete amino acid sequence of an aeroallergenic protein from rapeseed flour.* Clin Exp Allergy. 1997 Jul;27(7):833-841.
9. Butcher RD, MacFarlane-Smith W, Robertson GW, Griffiths DW. *The identification of potential aeroallergen/irritant(s) from oilseed rape (Brassica napus spp. oleifera): volatile organic compounds emitted during flowering progression.* Clin Exp Allergy. 1994 Dec;24(12):1105-1114.
10. Alvarez MJ, Estrada JL, Gozalo F, Fernandez-Rojo F, Barber D. *Oilseed rape flour: another allergen causing occupational asthma among farmers.* Allergy. 2001 Feb;56(2):185-188.
11. Di Giacomo GR, Boschetto P, Maestrelli P, Moro G. *Asthma and rhinoconjunctivitis caused by rape flour: description of a clinical case.* Med Lav. 1998 May-Jun;89(3):226-231.
12. Bucur I, Arner B. *Rape pollen allergy.* Scand J Resp Dis. 1978;59:222-227.
13. MRC Institute for Environment and Health. *Oilseed rape: allergenicity and irritancy.* Southampton, 1997.
14. Parrat D, Thomson G, Saunders C, McSharry C, Cobb S. *Oilseed rape as a potent antigen.* Lancet. 1990;335:121-122.
15. Ninan TK, Milne V, Russell G. *Oilseed rape not a potent allergen.* Lancet. 1990;336:808.
16. Fell PJ, Soulsby S, Blight MM, Brostoff J. *Oilseed rape: a new allergen?* Clin Exp Allergy 1992; 22:501-505.
17. Hemmer W, Focke M, Wantke F, Jäger S, Götz M, Jarisch R. *Oilseed rape pollen is a potentially relevant allergen.* Clin Exp Allergy. 1997;27:156-161.
18. Hemmer W. *The health effects of oilseed rape: myth or reality? No clear evidence that it has adverse effects on health.* BMJ. 1998 May 2;316(7141):1327-1328.

ANNEXE 9 : fiche de synthèse sur l'allergie au maïs (*Zea mays*)

Nom français : maïs

Nom scientifique : *Zea mays*

Traductions étrangères :

En : corn **All :** Mais **Esp :** maíz **It :** granoturco

Classification botanique :

Famille : Graminées/Poacées **Sous-Famille :** Panicoïdés



Prévalence de l'allergie:

Pollinose :

Beaucoup de graminées sont impliquées dans la sensibilisation au pollen qui provoque rhume des foins et asthme. Certaines études montrent que la fréquence de la sensibilisation au pollen de *Zea mays* peut être aussi élevée, voire même plus, que celle aux graminées sauvages communes (1, 2, 3). Mais une autre étude décrit un taux d'IgE spécifiques chez des patients allergiques aux graminées 5 fois moindre pour le maïs que pour les espèces *Festuca rubra*, *Phleum pratense*, et *Dactylis glomerata* (14). Dans une autre étude, sur 80 enfants présentant des symptômes de rhume de foins et ayant des tests cutanés positifs aux graminées sauvages (*Dactylis*, *Phleum*, *Lolium*) et/ou aux céréales (Blé, avoine, orge, seigle et maïs doux), l'orge et le seigle sont les céréales qui donnent le plus de tests positifs, le maïs est celle qui en donne le moins (22).

Allergie alimentaire :

Le réseau d'allergo-vigilance du CHU de Nancy n'a pas relevé de cas d'allergie alimentaire au maïs en 2003 (sur un total de 85 observations), ni en 2002 (107 observations) (23). L'étude de Rancé et al. de 1999 (544 enfants et 813 aliments) (24) ne mentionne pas non plus le maïs comme ayant été à l'origine d'allergie alimentaire chez les enfants.

Une étude de 2001 dont l'objectif était de déterminer la prévalence de l'allergie alimentaire au maïs par TPODA (20), a recensé 207 patients aux Etats-Unis présentant des symptômes suite à l'ingestion de maïs. Parmi eux, seuls 59 patients ont répondu au questionnaire et seulement 26 étaient éligibles pour l'étude. Sur les 17 patients qui ont finalement été testés, 5 ont eu un test de provocation positif.

Exposition :

- par dissémination aérienne du pollen des terres cultivées,
- professionnelle (poussière de graine dans l'industrie pour l'alimentation animale),
- plus forte dans les pays consommateurs de maïs (Mexique, Etats-Unis, Canada notamment).

Sources :

Pop corn, maïs doux en boîte, épis de maïs en conserve ou surgelés, farine de maïs (Maïzena), poêlées mexicaines, salades, tortillas, chips taco, corn flakes, céréales petit déjeuner, polenta...

Source cachées :

Amidon de maïs, sirop de glucose de maïs, dextrose, etc. se trouvant dans les biscuits, sauces, formules infantiles (12).

Amidon de maïs utilisé pour lubrifier les gants de latex.

Seuil réactogène :

Pas de données.

Protéines allergéniques identifiées :

On a montré l'existence d'allergènes spécifiques du pollen de Zea par blot inhibition (5), et par cartographie peptidique (7).

Allergènes majeurs :

- Zea m 14: LTP (Lipid Transfer Protein) (11), protéine PR-14 (Pathogenesis-Related), faisant partie de la fraction des zéïnes (8).

PM = 9,047 kDa, pI > 9, non glycosylée (11)

Autres allergènes :

- Zea m 13, présente dans le pollen de maïs (16),
- Protéine de 50 kDa, soluble en solution saline (9),
- Protéine de 16 kDa, inhibiteur de trypsine du maïs (11),
- Dix allergènes de 9 à 140 kDa ont été identifiés par électrophorèse + immunoblot avec le sérum d'un patient présentant un asthme professionnel à la poussière de maïs (15).

Influence des procédés de transformation :

Le chauffage à 100°C diminue globalement l'allergénicité (8).

En revanche, malgré l'altération de sa structure secondaire, l'allergène majeur Zea m 14 conserve toutes ses capacités de liaison aux IgE après un chauffage à 100°C (8).

La protéine de 50 kDa est stable à la cuisson, ainsi qu'à la digestion pepsique et pancréatique (après cuisson) (9).

Réactions croisées connues :

Pollen

Il pourrait exister des réactions croisées avec des espèces voisines. Les genres les plus courants comprennent les graminées sauvages (*Lolium*, *Dactylus*, *Phleum*...) et d'autres céréales cultivées (*Triticum*, *Secale*...) appartenant à la sous-famille des Pooideae des régions tempérées, ainsi que celles appartenant à la sous-famille des Panicoïdées (*Sorghum*, *Panicum*, *Paspalum*,...) (11)

On sait, d'après des études réalisées sur des patients vivant dans des zones tempérées, qu'il n'existe qu'une similitude partielle entre les allergènes de pollen de graminées communes des régions tempérées et ceux de *Zea mays* (4). Cela a été par la suite confirmé par des études, portant sur les similitudes existant entre les allergènes de Zea et les allergènes de *Phleum* recombinants (5) et les allergènes purifiés de *Lolium* (6).

Zea m 13 présente une homologie de séquence avec des allergènes présents dans d'autres pollens de mono- et dicotylédones. Il s'agirait d'un panallergène (protéine conservée au cours de l'évolution) (15).

Graine

Des réactions croisées sont également possibles :

- avec les rosacées (18) : LTP de pêche (19), de cerise...(11)

Ex : 59% d'homologie entre Zea m 14 et une LTP de la cerise (10)

- avec le riz (11, 13, 21)

Mais aucune réaction croisée n'est observée avec les LTP de blé et d'orge (11).

En revanche, l'inhibiteur trypsique (16 kDa) croise avec les inhibiteurs trypsiniques du riz, du blé, de l'orge (11).

Remarque :

Le maïs contiendrait une substance bioactive antiallergique. Cette découverte, brevetée en 1977, a été commentée dans plusieurs publications et rapports parus entre 1974 et 1986 (17).

BIBLIOGRAPHIE:

1. Guneser S, Atici A, Cengizler I, Alparslan N. *Inhalant allergens: as a cause of respiratory allergy in east Mediterranean area, Turkey*. Allergol Immunopathol (Madr) 1996;24(3):116-119.
2. Green R, Luyt D. *Clinical characteristics of childhood asthmatics in Johannesburg*. S Afr Med J 1997;87(7):878-882.
3. Freeman GL. *Oral corn pollen hypersensitivity in Arizona Native Americans: some sociologic aspects of allergy practice*. Ann Allergy 1994;72(5):415-417.
4. Kalveram KJ, Forck G. *Cross-reactivity between grass and corn pollen antigens*. Int Arch Allergy Appl Immunol 1978;57(6):549-553.
5. Niederberger V, Laffer S, Froschl R, et al. *IgE antibodies to recombinant pollen allergens (Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5, and Bet v 2) account for a high percentage of grass pollen-specific IgE*. J Allergy Clin Immunol 1998;101(2 Pt 1):258-264.
6. Van Ree R, Driessen MN, Van Leeuwen WA, Stapel SO, Aalberse RC. *Variability of crossreactivity of IgE antibodies to group I and V allergens in eight grass pollen species*. Clin Exp Allergy 1992;22(6):611-617.
7. Suphioglu C, Singh MB, Knox RB. *Peptide mapping analysis of group I allergens of grass pollens*. Int Arch Allergy Immunol 1993;102(2):144-151.
8. Pastorello EA, Pompei C, Pravettoni V, et al. *Lipid-transfer protein is the major maize allergen maintaining IgE-binding activity after cooking at 100 degrees C, as demonstrated in anaphylactic patients and patients with positive double-blind, placebo-controlled food challenge results*. J Allergy Clin Immunol. 2003 Oct;112(4):775-783.
9. Pasini G, Simonato B, Curioni A et al. *IgE-mediated allergy to corn: a 50 kDa protein, belonging to the Reduced Soluble Proteins, is a major allergen*. Allergy. 2002 Feb;57(2):98-106.
10. Scheurer S, Pastorello EA, Wangorsch A, Kastner M, Haustein D, Vieths S. *Recombinant allergens Pru av 1 and Pru av 4 and a newly identified lipid transfer protein in the in vitro diagnosis of cherry allergy*. J Allergy Clin Immunol. 2001 Apr;107(4):724-731.
11. Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V et al. *The maize major allergen, which is responsible for food-induced allergic reactions, is a lipid transfer protein*. J Allergy Clin Immunol. 2000 Oct;106(4):744-751.
12. Frisner H, Rosendal A, Barkholt V. *Identification of immunogenic maize proteins in a casein hydrolysate formula*. Pediatr Allergy Immunol. 2000 May;11(2):106-110.
13. Lehrer SB, Reese G, Malo JL et al. *Corn allergens: IgE antibody reactivity and cross-reactivity with rice, soy, and peanut*. Int Arch Allergy Immunol. 1999 Feb-Apr;118(2-4):298-299.
14. van Ree R, van Leeuwen WA, Aalberse RC. *How far can we simplify in vitro diagnostics for grass pollen allergy?: A study with 17 whole pollen extracts and purified natural and recombinant major allergens*. J Allergy Clin Immunol. 1998 Aug;102(2):184-190.
15. Park HS, Nahm DH. *Identification of IgE-binding components in occupational asthma caused by corn dust*. Ann Allergy Asthma Immunol. 1997 Jul;79(1):75-79.
16. Heiss S, Flicker S, Hamilton DA, Kraft D, Mascarenhas JP, Valenta R. *Expression of Zm13, a pollen specific maize protein, in Escherichia coli reveals IgE-binding capacity and allergenic potential*. FEBS Lett. 1996 Mar 4;381(3):217-221.
17. Al-George DS. *The antiallergic action of some bioactive maize extracts and their possible effects on the immune response*. Med Interne. 1989 Jul-Sep;27(3):237-240.
18. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S, Caldironi G, Barocci F, van Ree R. *Immunological cross-reactivity between lipid transfer proteins from botanically unrelated plant-derived foods: a clinical study*. Allergy. 2002 Oct;57(10):900-906.
19. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S, van Ree R. *A case of allergy to beer showing cross-reactivity between lipid transfer proteins*. Ann Allergy Asthma Immunol. 2001 Jul;87(1):65-67.
20. Tanaka L, Aresery M, Olmos C, McCants M, Wild L, El-dahr J, Lehrer S. *Prevalence of corn allergy determined by Double-Blind Placebo-Controlled (DBPC) study*. 2001 IFT Annual Meeting – New Orleans, Louisiana. Session 44G, Toxicology & Safety Evaluation. Disponible sur : http://ift.confex.com/ift/2001/techprogram/paper_8617.htm
21. Urisu A, Yamada K, Masuda S, et al. *16-kilodalton rice protein is one of the major allergens in rice grain extract and responsible for cross-allergenicity between cereal grains in the Poaceae family*. Int Arch Allergy Appl Immunol. 1991;96:244-252.
22. Lelong M, Thibaudon M, Thelliez PH. *Is it necessary to test children having summer respiratory problems with cereal pollens?* Allerg Immunol (Paris). 1989 Dec;21(10):394-395.
23. Morisset M, Parisot L. *Réseau National d'Allergovigilance: comparaison des relevés des années 2002 et 2003*. Allim'inter. Mars 2004 ;10(2) :68-72. Disponible sur : http://www.cicbaa.org/pages_fr/allergovigilance/Reseau_Aliminter.pdf
24. Rance F, Kanny G, Dutau G, Moneret-Vautrin DA. *Food hypersensitivity in children: clinical aspects and distribution of allergens*. Pediatr Allergy Immunol. 1999 Feb;10(1):33-38

BIBLIOGRAPHIE

- (1) AFSSA (2004). Avis de l'AFSSA du 15 avril 2004 relatif aux compléments d'information concernant le dossier de mise sur le marché du "Maïs doux Bt 11 (pZO1502)" au titre du règlement 258/97/CE. Saisine n° 2004-SA-0147.
Disponible sur : <http://www.afssa.fr>
- (2) ASTWOOD JD, LEACH JN, FUCHS RL (1996). *Stability of food allergens to digestion in vitro*. Nat Biotechnol. 1996 Oct;14(10):1269-1273.
- (3) BANNON GA et al. (2001). *Engineering, characterization and in vitro efficacy of the major peanut allergens for use in immunotherapy*. Int Arch Allergy Immunol. 2001;124:70-72.
- (4) BERNSTEIN IL et al. (1999). *Immune responses in farm workers after exposure to Bacillus thuringiensis pesticides*. Environ Health Perspect. 1999 Jun;111(8):1114-1121.
Disponible sur: <http://ehp.niehs.nih.gov>
- (5) BREDEHORST R, DAVID K (2001). *What establishes a protein as an allergen?* J Chromatogr B Biomed Sci Appl. 2001;756:33-40.
- (6) BREN L (2003). *Genetic Engineering : the future of foods ?* FDA Consumer magazin, Nov-Dec 2003.
Disponible sur : <http://www.fda.gov>
- (7) BUCCHINI L, GOLDBURG R (2000). *Comments from Environmental Defense on EPA's "Cry9C Food Allergenicity Background Document"*. 2000 Feb 29.
Disponible sur: <http://www.biotech-info.net>
- (8) CCA (Commission du Codex Alimentarius) (2002). *Avant-projet d'annexe sur l'évaluation de l'allergénicité potentielle au projet de directives régissant la conduite de l'évaluation de la sécurité sanitaire des aliments dérivés de plantes à ADN recombiné*. Rapport de la 3^{me} session du groupe spécial intergouvernemental du Codex sur les aliments dérivés des biotechnologies. Alinorm 03/34.
Disponible sur : <http://www.codexalimentarius.net>
- (9) CDC (Centers for Disease Control and prevention) (2001). *Investigation of human health effects associated with potential exposure to genetically modified corn*. Report to the U.S. FDA. 2001 June 11.
Disponible sur: <http://www.cfsan.fda.gov>
- (10) CLARISSE Y (2004). *La commission européenne lève le moratoire sur les OGM*. 19 mai 2004.
Disponible sur : <http://fr.news.yahoo.com>
- (11) DUPONT C, DE BOISSIEU D (2003). *Formula feeding during cow's milk allergy*. Minerva Pediatr. 2003 Jun;55(3):209-216.
- (12) EFSA (2004). *Risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed*. 2004 June.
Disponible sur : <http://www.efsa.eu.int>

(13) ELLIOTT P et al. (2003). *Surveillance and Post Market Monitoring of Potential Health Effects of Novel (Including GM) Foods: Feasibility Study*. Final report, FSA project code: GO1021.

Disponible sur: <http://www.foodstandards.gov.uk/>

(14) FAO/WHO (2000). *Aspects de la salubrité des aliments génétiquement modifiés d'origine végétale*. Rapport d'une consultation conjointe d'experts FAO/WHO sur les aliments produits par biotechnologie, 29 Mai-2 Juin 2000, Genève.

Disponible sur : <http://www.who.int>

(15) FAO/WHO (2001). *Evaluation of allergenicity of Genetically Modified foods*. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on allergenicity of foods derived from biotechnology , 22-25 Jan. 2001, Rome, FAO/WHO.

Disponible sur : <http://www.fao.org>

(16) FDA (1992). *Statement of policy : foods derived from new plant varieties*. Notice, Federal Register. 1992 May 29;57(104):22984-23005.

Disponible sur: www.cfsan.fda.gov

(17) FDA (2001). *Guidance for industry – Voluntary labeling indicating whether foods have or have not been developed using bioengineering*. Center for Food Safety and Applied Nutrition. 2001 Jan.

Disponible sur: <http://www.cfsan.fda.gov>

(18) FDA (2001). *FDA cover letter [to US EPA] regarding their findings concerning StarLink™ Corn*. Center for Food Safety and Applied Nutrition. 2001 June 12.

Disponible sur : <http://www.cfsan.fda.gov>

(19) FDA (2004). *Laws Enforced by the FDA and Related Statutes*. Federal Food, Drug and Cosmetic Act and additional laws.

Disponible sur : <http://www.fda.gov/opacom/laws>

(20) FREMONT S et al. (2002). *Allergenicity of oils*. Allerg Immunol (Paris). 2002 Mar;34(3):91-94.

(21) GASKELL G, ALLUM N, STARES S (2003). *Europeans and biotechnology in 2002*. Eurobarometer 58.0, 2nd Edition : 2003 Mar 21.

Disponible sur : http://europa.eu.int/comm/public_opinion/archives/eb_special_fr.htm

(22) GENDEL SM (2002). *Current approach for assessing potential allergenicity of proteins - Sequence Analysis For Assessing Potential Allergenicity*, Ann NY Acad Sci. 2002;964:87-98.

(23) HELM RM et al. (1998). *Cellular and molecular characterization of a major soybean allergen*. Int Arch Allergy Immunol. 1998;117:29-37.

(24) HELM RM et al. (2000). *Mutational analysis of the IgE-binding epitopes of P34/Gly m 1*. J Allergy Clin Immunol. 2000;105:378-384.

(25) HERMAN EM et al. (2003). *Genetic modification removes an immunodominant allergen from soybean*. Plant Physiol. 2003 May;132(1):36-43.

Disponible sur: <http://www.plantphysiol.org>

(26) HILEMAN RE et al. (2002). *Bioinformatic methods for allergenicity assessment using a comprehensive allergen database*. Int Arch Allergy Immunol 2002;128:280-291.

- (27) HOFFMANN-SOMMERGRUBER K (2002). *Pathogenesis-related (PR)-proteins identified as allergens*. Biochem Soc Trans. 2002 Nov;30(Pt 6):930-935.
- (28) ILSI (2004). *Nutritional and safety assessment of foods and feeds nutritionally improved through biotechnology*. Institute of Food Technologists' Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 2004.
Disponible sur: <http://www.ift.org>
- (29) KANNY G et al. (2001). *Population study of food allergy in France*. J Allergy Clin Immunol 2001;108:133-140.
- (30) LIANG P, PARDEE AB (1992). *Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction*. Science. 1992 Aug 14;257(5072):967-971.
- (31) MALANIN K, LUNDBERG M, JOHANSSON SG (1995). *Anaphylactic reaction caused by neoallergens in heated pecan nut*. Allergy. 1995 Dec;50(12):988-991.
- (32) MELO VMM et al. (1994). *Allergenicity and tolerance to proteins from Brazil nut (Bertholletia excelsa)*. Food Agri Immunol. 1994;6:185-195.
- (33) METCALFE DD et al. (1996). *Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants*. Crit Rev Food Sci Nut 1996;36(S):S1-18
- (34) MEYER H (1998). *In search for the benefit*. AG Biologische Vielfalt. 1998.
Disponible sur: <http://www.forumue.de>
- (35) MONERET-VAUTRIN DA, KANNY G (1995). *Food-induced anaphylaxis. A new French multicenter survey*. Bull Acad Natl Med. 1995;179:161-184.
- (36) MONERET-VAUTRIN DA (1997). *Les allergènes alimentaires et leurs modifications par les technologies agroalimentaires*. Cahiers « Agriculture » 1997 Jan.-Fev.;6(1):21-29.
- (37) MONERET VAUTRIN DA (2001). *The members of the Network. Presentation of the Anaphylaxis Vigilance Network*. Rev Fr Allergol Immunol Clin. 2001;41:685-690.
- (38) MONERET-VAUTRIN DA (2001). *Risques et bénéfices de la transgénèse vis-à-vis de l'allergie*. Actes du colloque de l'AFSSA « OGM et alimentation : peut-on évaluer les bénéfices pour la santé ? », 17-18 Déc. 2001.
Disponible sur : <http://www.afssa.fr>
- (39) MONERET-VAUTRIN DA (2003). *The allergic risk of transgenic foods strategy for prevention*. Ann Pharm Fr. 2003 Mar;61(2):96-102.
- (40) MORISSET M, PARISOT L (2004). *Réseau National d'Allergovigilance : comparaison des relevés des années 2002 et 2003*. Alim'Inter. 2004 Mar;10(2):68-72.
Disponible sur: <http://www.cicbaa.org>
- (41) MOSELEY BEB (2001). *How to make foods safer - genetically modified foods*. Allergy. 2001;56(Suppl67):61-63.
- (42) NAKAMURA R, MATSUDA T (1996). *Rice allergenic protein and molecular-genetic approach for hypoallergenic rice*. Biosci Biotech Biochem. 1996;60(8):1215-1221.
- (43) NESTLE M (1996). *Allergies to transgenic foods – Questions of policy*. N Engl J Med. 1996 Mar 14;334(11):726-728.
Disponible sur : <http://organicconsumers.org>

- (44) NORDLEE JA et al. (1996). *Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybeans*. N Engl J Med. 1996 Mar 14;334(11):688-692.
Disponible sur: <http://content.nejm.org>
- (45) OGAWA T et al. (1991). *Investigation of the IgE-binding proteins in soybeans by immunoblotting with the sera of the soybean-sensitive patients with atopic dermatitis*. J Nutr Sci Vitaminol. 1991 ;37 :555-565.
- (46) OGAWA T et al. (1993). *Identification of the soybean allergenic proteins, Gly m Bd 30 K, with the soybean seed 34 kDa oil-body-associated protein*. Biosci Biotech Biochem. 1993;57;1030-1033.
- (47) OGAWA T, SAMOTO M, TAKAHASHI K (2000). *Soybean allergens and hypoallergenic soybean products*. J Nutr Sci Vitaminol.2000;46:271-279.
- (48) OGURA Y et al. (1993). *The usefulness and limitations of the radioallergosorbent test in diagnosing food allergy in atopic dermatitis*. Arerugi. 1993 Jun;42(6):748-756.
- (49) PASTORELLO EA (1998). *Sensitization to the major allergen of Brazil nut is correlated with the clinical expression of allergy*. J Allergy Clin Immunol. 1998 Dec;102(6 Pt 1):1021-7.
- (50) PIONEER HI-BRED (2003). *Biotechnology – Biotech soybeans and Brazil nut protein*. Pioneer Hi-Bred. 2003 July 23.
Disponible sur : <http://www.pioneer.com>
- (51) RANCE F et al. (1999). *Food hypersensitivity in children: clinical aspects and distribution of allergens*. Pediatr Allergy Immunol. 1999 Feb;10(1):33-38.
- (52) ROBINSON C (2003). *Modification génétique et alimentation – Santé et sécurité du consommateur*. ILSI Europe concise monograph series, ILSI Press (Bruxelles).
- (53) SAMOTO M et al. (1997). *Substantially complete removal of three major allergenic soybeans proteins (Gly m Bd 30 K, Gly m Bd 28 K, and the alpha-subunit of conglycinin) from soy protein by using a mutant soybean, Tohoku 124*. Biosci Biotech Biochem. 1997;61:2148-2150.
- (54) SANCHEZ C, FREMONT S (2003). *Conséquences des traitements thermiques et de la formulation sur la structure et l'allergénicité des protéines alimentaires*. Rev Fr Allergol Immunol Clin. 2003;43(1):13-20.
- (55) SANTE CANADA (2002). *Réglementation des végétaux à caractères nouveaux au Canada*. Agence canadienne d'inspection des aliments – Direction des produits végétaux – Bureau de la biosécurité végétale.
Disponible sur : <http://www.inspection.gc.ca>
- (56) STEN E et al. (2004). *A comparative study of the allergenic potency of wild-type and glyphosate-tolerant gene-modified soybean cultivars*. APMIS. 2004 Jan;112(1):21-28.
- (57) TADA Y et al. (1996). *Reduction of 14-16 kDa allergenic proteins in transgenic rice plants by antisense gene*. FEBS Lett. 1996 Aug 12;391(3):341-345.
- (58) TAYLOR SL, HEFLE S (2001). *Will genetically modified foods be allergenic?* J Allergy Clin Immunol. 2001;107:765-771.

- (59) TAYLOR SL, LEHRER SB (1996). *Principles and characteristics of food allergens*. Crit Rev Food Sci Nutr. 1996;36:S91-118
- (60) THOMAS K et al. (2004). *A multi-laboratory evaluation of a common in vitro pepsin digestion assay protocol used in assessing the safety of novel proteins*. Regul Toxicol Pharmacol. 2004 Apr;39(2):87-98.
- (61) URISU A et al. (1991). *16 kDa rice protein is one of the major allergens in rice grain extract and responsible for cross allergenicity between cereal grains in the poaceae family*. Int Arch Allergy Appl Immunol. 1991;96:244-252.
- (62) VAN KAMPEN V, MERGET R, BAUR X (2000). *Occupational airway sensitizers: an overview on the respective literature*. Am J Ind Med. 2000 Aug;38(2):164-218.
- (63) WAL JM (1997). *Evaluation de l'innocuité des aliments issus d'organismes génétiquement modifiés*. Rev Fr Allergol. 1997;37:326-333.
- (64) WAL JM (2004). Gènes, transgènes, allergènes.
Disponible sur : <http://www.caducee.net>
- (65) WAL JM, PASCAL G (1998). *Benefits and limits of different approaches for assessing the allergenic potential of novel foods*. Allergy. 1998;53:98-101.