



# TRAÇAGE ET AUTHENTIFICATION DES PRODUITS A BASE D'ORGANISMES GENETIQUEMENT MODIFIES

G. BERBEN

C.R.A. - Dépt Qualité des Productions agricoles  
Gembloux

Recherche pré-normative dans le secteur alimentaire

07 juin 2001

Palais des Congrès, Bruxelles



## Définition

Un OGM (ou organisme transgénique) est un organisme vivant auquel on a transféré, par les techniques du génie génétique, un gène d'intérêt, identifié sur un organisme donneur. Le gène transféré confère à la plante un nouveau caractère ou une nouvelle propriété qui se transmet à sa descendance.

---

### Premières plantes transgéniques commercialisées dans l'Union européenne :

- |                        |  |              |
|------------------------|--|--------------|
| • Soja (Roundup Ready) | tolérant au glyphosate                           | avril 1996   |
| • Maïs Bt176           | résistant à la pyrale<br>tolérant au glufosinate | janvier 1997 |

# Etiquetage

- **But** : donner aux consommateurs une information claire, honnête et neutre sur la nature des produits.
- **Portée** :
  - OGM vivant,
  - OGM transformé,
  - produit comprenant des ingrédients dérivés d'OGM.
- **Conditions** :
  - uniquement si le produit diffère substantiellement de son homologue traditionnel,
  - la présence d'ADN ou de protéines transgéniques suffit à requérir l'étiquetage.
- **Conséquence** : il faut pouvoir disposer de moyens analytiques de contrôle.

## Moyens de détection

- Détection de protéines : par des techniques immunologique (participation à deux ring tests de validation de trousse de SDI)
- Détection de segments précis d'ADN : par des techniques d'amplification génique (PCR)

# Etapes de l'analyse

**1° Homogénéisation de l'échantillon**



**2° Extraction de l'ADN**



**3° Amplification génique sur les extraits  
(souvent en testant plusieurs dilutions)**



**4° Analyse des produits d'amplification par électrophorèse  
en gel d'agarose**

## Tâches et objectifs (CRA)

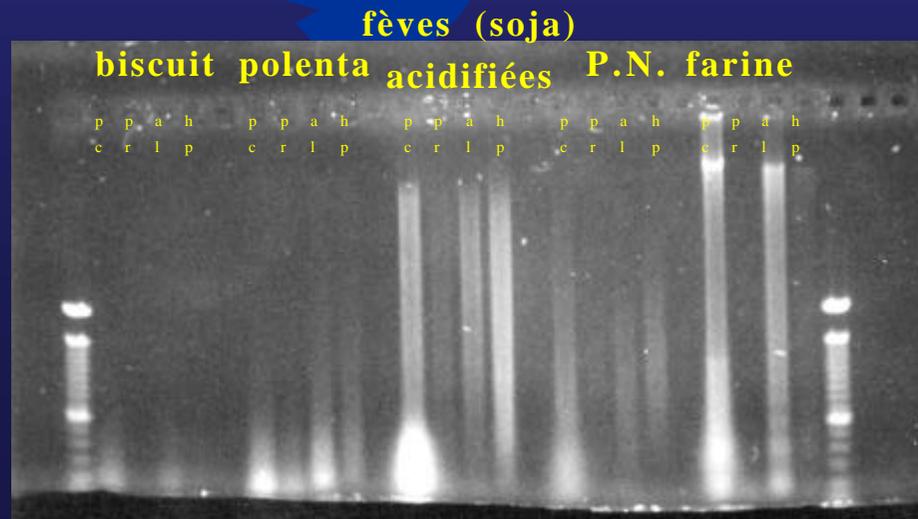
- **Banques de matériel (matériel de référence)**
  - Banque de matériel certifié négatif
  - Banque de matériel positif
  - Banque d'échantillons
- **Comparaison de méthodes d'extraction sur un grand nombre de matrices**
- **Conception et validation d'amorces et validation de conditions de PCR**
- **Traçage des transgènes dans les matières alimentaires**

## **Banques de matériel (matériel de référence)**

- **Banque de matériel certifié négatif : 30 entrées, 18 espèces végétales sous formes de semences ou de graines (poids allant de 50g à 5kg)**
- **Banque de matériel positif: soja Roundup Ready, maïs Bt176, Bt11, MON810, T25, lignées de colza, de betterave et de chicorée**
- **Banque d'échantillons: une bonne centaine d'entrées où prédominent les aliments pour le bétail**

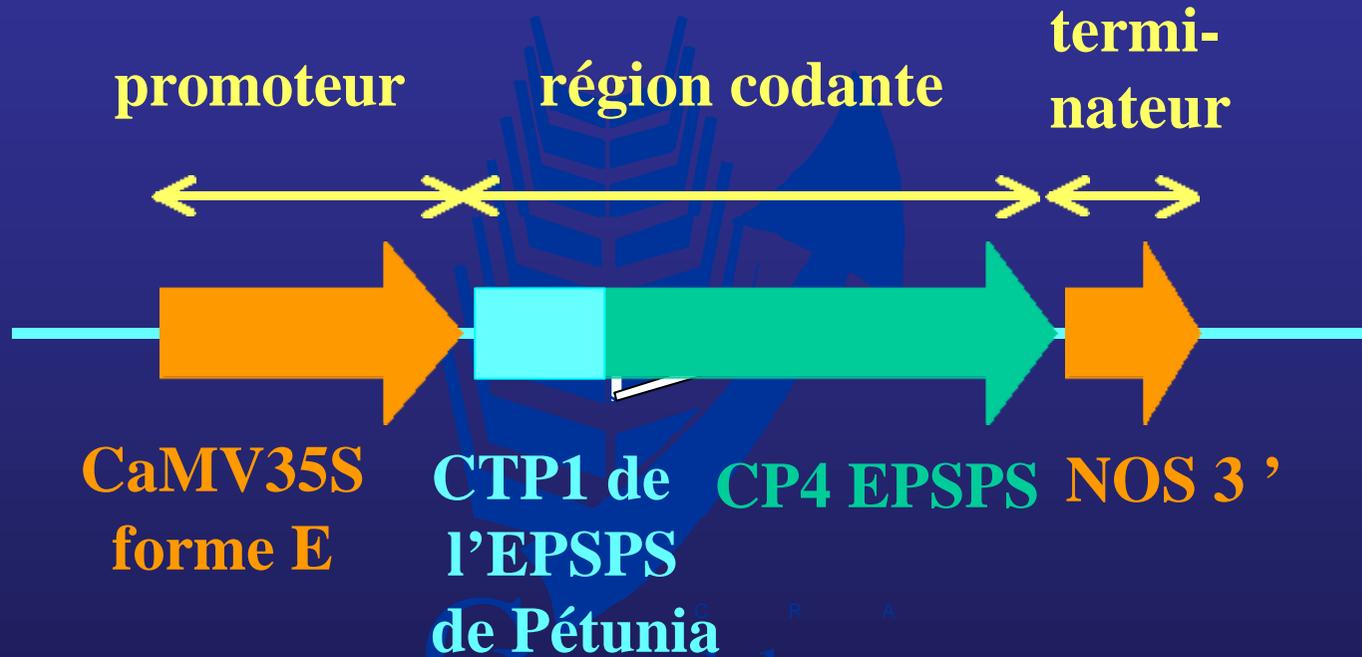
## Comparaison de techniques d'extraction

- méthode au phénol-chloroforme (proposée au CEN comme méthode standardisée) et méthode au CTAB
- méthode pour matières grasses (lécithine et huiles)
- méthodes utilisant des résines (High Pure PCR template, Wizard Clean up, Alcum, D-Genos, ...)
- méthode aux billes magnétiques (kit de Promega)



# Conception et validation d'amorces

Exemple pratique : soja Roundup ready



CaMV35S  
forme E

CTP1 de  
l'EPSPS  
de Pétunia

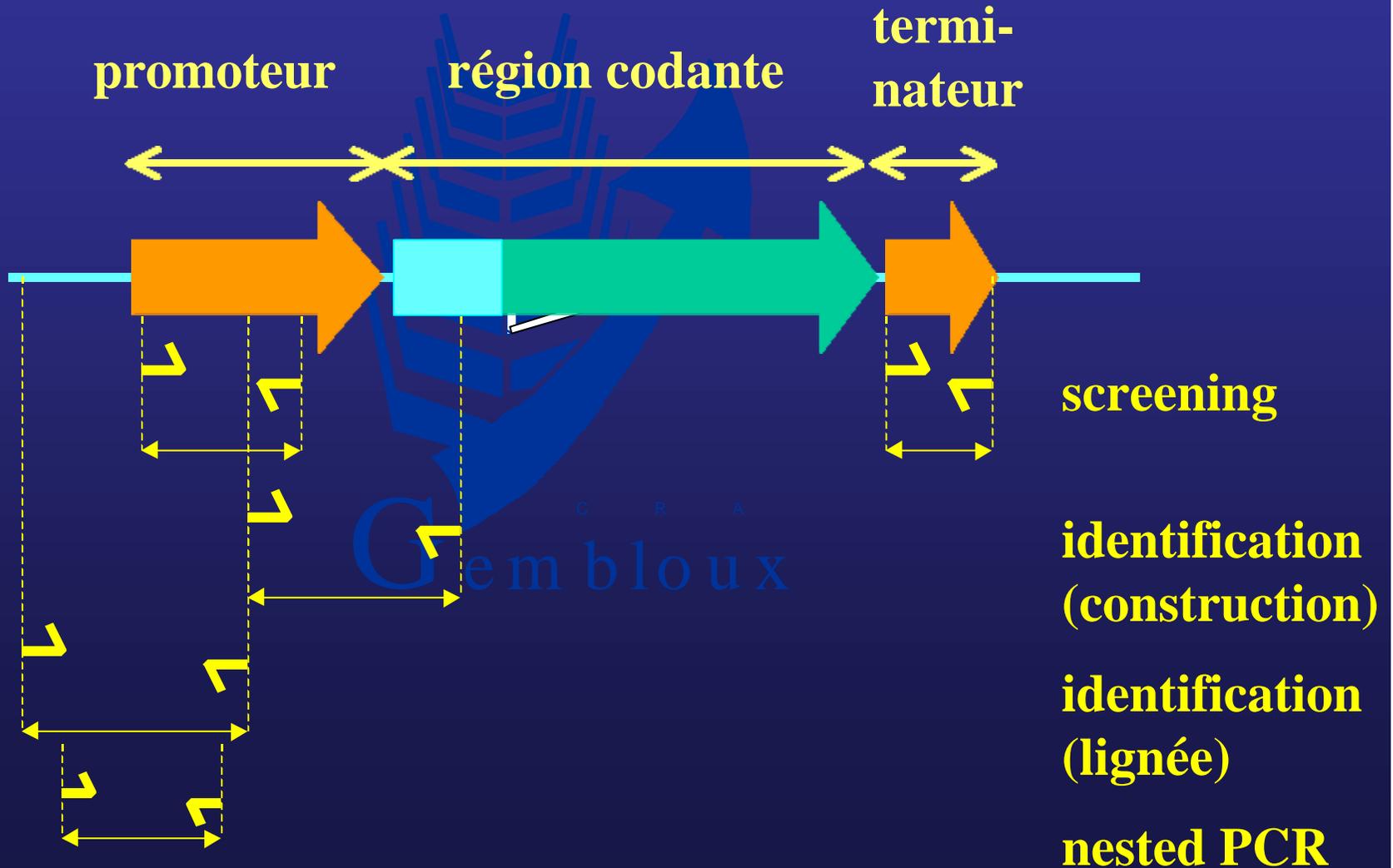
CP4 EPSPS

NOS 3'

Gembloux

# Conception et validation d'amorces

Exemple pratique : soja Roundup ready



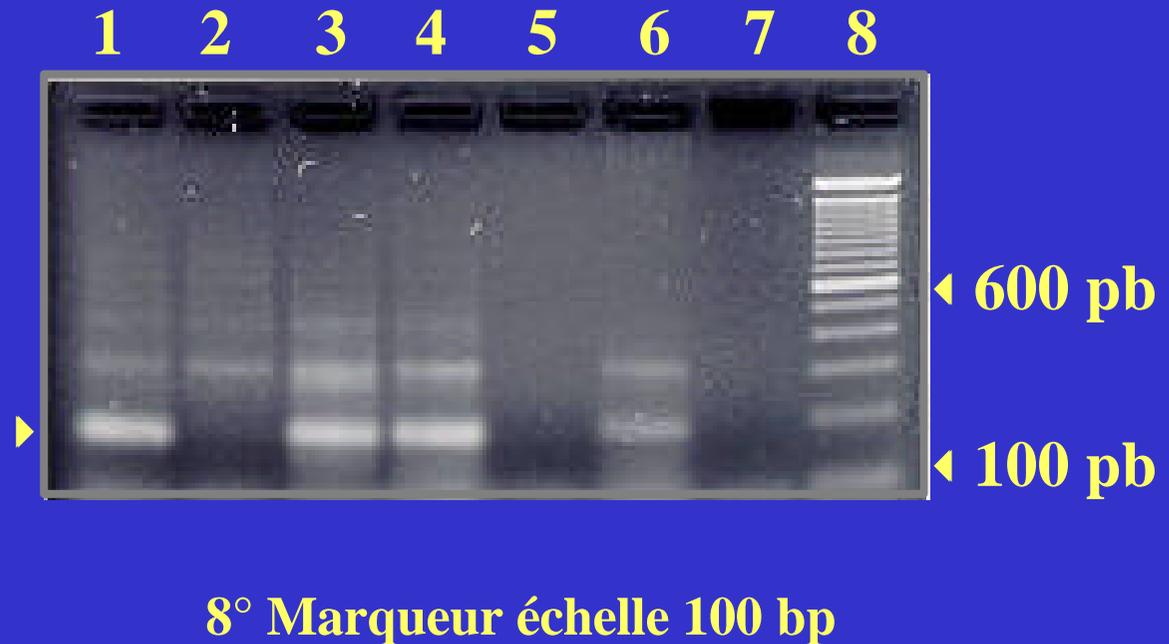
## Conditions de PCR

- travail avec diverses dilutions de l'extrait (inhibiteurs)
- mélange réactionnel :
  - $\text{MgCl}_2$  (2,5 mM),
  - dNTP-U (0,2 mM)
  - amorces (0,5 mM)
  - 0,75 U/20  $\mu\text{l}$  Platinum *Taq* DNA polymérase
- 50 cycles
- témoins:
  - positif, négatif et blanco
  - négatif d'extraction, négatif pour aérosols
- limite de détection (soja) : < 50 pg, < 0,01%
- pour éviter les contaminations : essentiel de séparer les étapes de l'analyse dans l'espace (+ marche en avant)

## Exemples : produits à base de soja

- 1° Fève transgénique
- 2° Fève « classique »
- 3° Farine + graisse
- 4° Tourteau
- 5° Boisson de soja
- 6° « Crème » de soja
- 7° Pas d'échantillon
- 8° Marqueur

### Produits PCR : amorces transgéniques



# Traçage dans les denrées alimentaires

- **Participation à des tests circulaires :**
  - test du JRC (Ispra) - 100% exact
  - test du BgVV (Berlin) - faux positifs
- **Participation aux 7 tours du « proficiency test » de l'IFR (Norwich) - 100% exacts en qualitatif**
- **Analyses comparatives :**
  - CRA/ISP (denrées alimentaires): concordance moyenne
  - CRA/CLO (aliments pour le bétail) : bonne concordance
- **Analyses sur des produits du commerce :**
  - faible occurrence pour denrées alimentaires
  - courant dans l'alimentation pour le bétail

# Traçage dans les denrées alimentaires

Problème de résultats apparemment conflictuels lors de l'usage de multiples paires d'amorce : exemple recherche de soja Roundup Ready

N°	Description	Cible														Conclusion		
		Soja				EPSPS-35S				Soja-35S		Prom.35S		Term.NOS				
		Amorces																
		SL9-SL10		SL11-SL12		S1-S2		S3-S4		So35S-35S12		35Scf3-cr4		HANOS118f/r				
		(178 bp)		(117 bp)		(171 bp)		(129 bp)		(161 bp)		(123 bp)		(118 bp)				
Type d'extraction																		
		Phénol chloro	High Pure	Phénol chloro	High Pure	Phénol chloro	High Pure	Phénol chloro	High Pure	Phénol chloro	High Pure							
1	Substitut végétarien	+	++	+	++	--	--	--	-(As)-	--	-(As)- (As)	--	--	--	--	Soja	Soja	OK NT
2	Substitut végétarien	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	+	--	Soja RR	Soja RR	OK T
3	Légume	--	?(As)	--	--	--	--	--	--	+	--	--	--(As)	--	--	Pas d'ADN	Pas d'ADN	--
4	Biscuit	--	++	--	+	--	--	--	--	--	+	--	--	--	--	Pas d'ADN	Soja + p35S?	NT?
5	Pâtes	+	+	--	--	--	--	+	--	--	+	--	--	--	--	Soja (RR?)	Soja (RR?)	T?
6	Substitut végétarien	+	+-	+	+	-?	++	--	--(As)	--	--(As)-	+	++	?-	--	Soja + p35S	Soja (RR)	OK T
7	Substitut végétarien	+	++	+	++	+	--	+	++	+	++	--	++	?+	+	Soja RR	Soja RR	-OK T
8	Saucisses en conserve	++	++	++	++	--	--(As)	--	?-(as)	++	+	--	--	--	--	Soja (RR?)	Soja (RR?)	NT?
9	Boulettes en conserve	++	++	++	++	--	AsAs	++	+	++	++	--	?	--	--	Soja RR**	Soja RR*	T?
10	Pâtes chinoises	--	--	--	--	--	++	++	++	--	--	--	--	--	--	Pas d'ADN	Pas d'ADN	--
11	Biscuit	--	++	--	+	--	+	--	+	--	--	--	--	--	--	Pas d'ADN	S(CP4- 35S?)	T?
12	Blanco	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--(As)	--	--	--	--			--
13	Substitut végétarien	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	Soja RR	Soja RR	OK T
14	Préparation de viande	++	++	++	++	--	--(As)	++	-(As)- (As)	-(As)- (As)	-(As)- (As)	-(as)- (As)	+	--	--	Soja	Soja	OK NT
15	Substitut végétarien	++	++	++	++	--	+	++	++	--	--	--(As)	--	?-	--	Soja (RR?)	Soja (RR?)	?
	Soja RS	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Soja	Soja	
	Soja RR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Soja RR	Soja RR	
	H2O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			

## Limites des techniques

---

**1° l'amplification génique est sujette à l'inhibition**

**2° risques de contamination**

**3° nécessité de disposer de données pour concevoir les amorces**

**4° impossibilité de détecter de l'ADN dans certaines matrices alimentaires (ex certains tourteaux de germes de maïs)**

---



G e m b l o u x C R A