

Boutique des Sciences

**Document de travail pour la réalisation d'un guide
destiné aux agriculteurs et coopératives dans le
cadre de la coexistence des filières OGM-non
OGM**

Clara Bourbousse

2005/2006

*Travail réalisé dans le cadre des Projets Personnels Encadrés
ENS Cachan – département Biochimie et Génie Biologique
Université Paris XI
En collaboration avec l'INRA Versailles*



**UNIVERSITÉ
PARIS-SUD 11**



Table des matières

Avant propos.....	4
Remerciements.....	5
1 Pourquoi ce guide ?.....	5
2 Contexte juridique.....	6
2.1 Système d'autorisation de mise sur le marché.....	6
2.1.1 Cultures OGM.....	6
2.1.2 Aliments OGM.....	7
2.2 Traçabilité.....	7
2.3 Étiquetage.....	7
2.4 Recommandations permettant d'assurer la co-existence.....	8
2.5 Le projet de loi présenté au Conseil des Ministres le 08 février 2006	8
3 Les OGM.....	9
3.1 Définition.....	9
3.2 Construction d'un OGM.....	9
3.3 Implications en ce qui concerne la détection.....	10
4 Les différentes méthodes de détection.....	11
4.1 Principes communs aux méthodes de détection.....	11
4.1.1 Échantillonnage.....	11
4.1.2 Envoi de l'échantillon.....	11
4.1.3 Broyages, homogénéisation.....	11
4.1.4 Extraction de l'analyte.....	11
4.1.5 Analyse.....	11
4.2 La détection des protéines.....	12
4.2.1 Méthodes.....	12
4.2.2 Cibles.....	13
4.2.3 Champ d'application.....	14
4.2.4 Performances.....	14
4.2.5 Plan de contrôle multiple par attribut.....	14
4.2.6 Coûts.....	14
4.2.7 Avantages et inconvénients.....	15
4.3 La détection d'ADN.....	15
4.3.1 Méthodes.....	15
4.3.2 Cibles.....	18
4.3.3 Champ d'application.....	18
4.3.4 Performances.....	18
4.3.5 Principe des analyses.....	18
4.3.6 Coût.....	19
4.3.7 Avantages et inconvénients.....	19
4.4 Les biodosages.....	19
4.4.1 Méthode.....	19
4.4.2 Cibles.....	19
4.4.3 Champ d'application.....	19
4.4.4 Performances.....	19
4.4.5 Coûts.....	19
4.4.6 Avantages et inconvénients.....	20
4.5 Les méthodes physiques.....	20
4.6 Problèmes rencontrés lors de la quantification.....	20
4.6.1 Empilages de gènes.....	20

4.6.2 Unités utilisées pour calculer le pourcentage en OGM.....	20
4.7 En clair.....	21
5 Comment évaluer les risques de mélange ?.....	22
5.1 Étude des semences.....	23
5.1.1 Cas des semences de ferme.....	23
5.1.2 Semences commerciales certifiées.....	24
5.2 Contamination en culture.....	24
5.3 Facteurs de risques.....	24
5.3.1 Décalage de la floraison.....	24
5.3.2 Distance entre parcelles OGM et conventionnelle.....	25
5.3.3 Forme des parcelles.....	25
5.4 Arbre de décision.....	27
6 L'échantillonnage.....	28
6.1 Échantillonnage au champ.....	28
6.2 À la benne, au silo.....	29
Adresses utiles.....	29
Liste des laboratoires pouvant fournir des analyses de détection OGM.....	29
Laboratoires de contrôle pouvant fournir des informations générales.....	31
Bibliographie.....	31
Lexique.....	33
Liste des abréviations.....	33
Annexe 1 : Liste des OGM autorisés en France.....	34
Annexe 2 : Quelques Strip Tests actuellement commercialisés.....	36

Avant propos

Le présent document est un rapport de Magistère et ne saurait être utilisé tel quel comme guide pratique destiné aux agriculteurs.

Tant la forme que le fond doivent encore être améliorés.

Remerciements

Je remercie Eric Meunier et Jacques Testard de Inf'OGM qui, en proposant ce sujet à la Boutique des Sciences, m'ont donné l'occasion de mettre au service d'une catégorie socioprofessionnelle qui m'est chère ma culture scientifique et de m'avoir ainsi fait toucher du doigt les relations science-société.

Ce sujet d'études n'aurait pu avoir lieu sans la mobilisation de Marine Soichot de la Boutique des Sciences de l'ENS Cachan.

Je tiens à exprimer tous mes remerciements pour son encadrement et tout le temps qu'il a décidé de passer sur ce sujet, à Yves Bertheau, directeur de recherches à l'INRA de Versailles, et coordinateur, entre autres, du projet intégré européen Co-Extra. Je n'aurai pu mener ce projet sans les nombreux contacts et documents qu'il m'a procuré ainsi que ses conseils quant aux axes de travail.

Une bonne partie de ce travail n'aurait pu se faire sans Florence Benetrix et Xavier Foueillassar, chercheurs à Arvalis-Institut du Végétal que je remercie pour leur écoute, leur disponibilité et leur partage des connaissances qu'ils ont accumulé sur la co-existence des cultures OGM et non-OGM en particulier au travers des programmes POECB et PACB.

Je remercie enfin Michel Dron, Enseignant Chercheur à l'Université Paris Sud 11 et responsable de l'encadrement de ce projet dans le cadre du Magistère de Biotechnologies, pour ses conseils et son soutien tout au long de ce projet.

À tous, un grand merci...

1 Pourquoi ce guide ?

Le développement de la biologie moléculaire dans les années 70 a permis la création des premiers OGM (organismes génétiquement modifiés) : des microorganismes, rapidement passés du laboratoire à la production industrielle. Cette avancée méthodologique induisit entre temps le moratoire d'Asilomar qui permit aux scientifiques de réfléchir aux conséquences de telles technologies.

La découverte au début des années 1980 de la transformation naturelle des plantes par *Agrobacterium tumefaciens*, agent de la galle du collet, permis la création en 1983 de la première plante génétiquement modifiée. Celle-ci fut suivie dès 1993 de la première plante génétiquement modifiée commercialisée : une tomate. Commercialisée en Europe, elle fut rapidement retirée du commerce pour ses mauvaises qualités organoleptiques : le programme d'amélioration visant à produire des variétés adaptées au goût des consommateurs n'avait pas été assez poussé alors que s'amplifiaient les polémiques en Europe.

En 1996, les premières cultures aux USA, sur de grandes surfaces, de maïs génétiquement modifié "Bt" aboutissaient à l'arrivée dans les ports européens des premiers OGM et à leurs premiers contrôles visant à n'autoriser l'importation que de produits autorisés, c'est-à-dire aucun à l'époque.

La saga des OGM importés ou européens, de leur autorisation et de leur étiquetage pouvait commencer...

En Europe, comme dans de nombreux pays tiers, les OGM font l'objet de législations spécifiques pour leur autorisation, mais aussi en Europe visant à assurer le libre choix des consommateurs par apposition d'un étiquetage au-delà d'un seuil de présence fortuite. L'Europe se caractérise en effet, comme un certain nombre d'autres pays tiers tels le Japon et la Corée, par un refus persistant des citoyens de consommer des OGM.

Dans une Europe cultivant peu d'OGM (quelques dizaines de milliers d'hectares de maïs Bt destinés à l'alimentation animale), ce libre choix des consommateurs pouvait être assuré relativement facilement.

Le récent développement dans d'autres états membres de l'UE, et en particulier en France, de cultures OGM (au moins 500 ha déclarés en France en 2005 au ministère de l'Agriculture) et leur extension prévisible (près de 5 000 ha sont attendus en 2006 en France) amène à se poser la question de la co-existence des cultures, sachant que chacun des types d'agriculteurs doit pouvoir exercer son libre choix, OGM ou non-OGM, comme rappelé dans une récente recommandation européenne.

Divers travaux de recherche nationaux et européens visent donc à assurer la co-existence pacifique des filières OGM et non OGM, au travers de divers types d'études, que ce soit sur la modélisation des flux de pollen, l'organisation des espaces agricoles, la logistique et la traçabilité des filières ou le développement de méthodes fiables de détection des OGM pour les contrôles.

Il est rapidement apparu qu'il n'existait aucun document simple permettant aux agriculteurs de s'orienter dans le dédale des réglementations européennes, et de mettre en pratique un certain nombre de règles permettant la co-existence. Par exemple, aucun document pratique n'explique de manière simple où un agriculteur peut faire contrôler sa production ou ses semences, ce qu'il peut attendre d'un test de détection et quels sont les facteurs qui peuvent influencer ces résultats.

Ce document se propose d'aiguiller les agriculteurs et coopératives souhaitant avoir recours à des analyses ayant pour but de détecter d'éventuelles contaminations OGM de leurs cultures ou de leurs semences, de ferme ou certifiées. Il vise également à fournir un certain nombre de précisions permettant de comprendre les résultats d'analyses et de prendre des décisions en connaissance de cause. Ce document devrait donc s'appliquer aux cas d'une co-existence OGM-conventionnel au sein de la même exploitation, entre exploitations, mais également dans le cas de détection de contaminations lors du stockage, transport, par les semences ou entre agriculteurs de l'Agriculture biologique et leurs voisins ne participant pas à ce type de production.

En Europe, le maïs est la seule espèce végétale pour laquelle des variétés OGM sont autorisées actuellement, c'est pourquoi ce document est axé principalement sur l'exemple du maïs. Cependant, il devrait être une source d'information pour tous les agriculteurs.

2 Contexte juridique

2.1 Système d'autorisation de mise sur le marché

2.1.1 Cultures OGM

Deux directives européennes principales encadrent le développement et la commercialisation des OGM.

La directive 90/219/CEE concerne les manipulations OGM en milieu confiné (microorganismes en laboratoires, en fermenteurs, plantes en culture dans des serres de niveau S2).

La directive 90/220/CEE, amendée par la directive 2001/18/CE, a trait à la dissémination volontaire d'OGM, appelé également évènement de transformation, à titre d'expérimentation en milieu ouvert et à leur mise sur le marché (ex : importation de soja GM pour trituration). La mise en culture nécessite en plus l'inscription au catalogue européen des variétés. Ainsi le maïs T25 bénéficie d'une autorisation de mise en culture, mais n'est en fait pas cultivé en raison de l'absence de variétés au catalogue européen.

En 2003, la réglementation a été renforcée par deux nouveaux règlements européens : 1829/03/CE et 1830/03/CE. Le dossier déposé pour les autorisations de mise sur le marché doit contenir la description de la construction génétique, les risques environnementaux et sanitaires. Les autorisations d'OGM sont désormais limitées à dix ans, avec possible renouvellement. Les

autorisations se font sur le principe "une porte une clé" : pour un événement génétique donné, l'ensemble des utilisations potentielles est pris en compte (alimentation humaine, animale...). Les sociétés sont tenues de fournir des méthodes d'échantillonnage et de détection des OGM validées par le LRC (Laboratoire de Référence Communautaire) ainsi que le matériel de contrôle. À ce jour 17 autorisations de dissémination d'OGM ont été délivrées en Europe, concernant essentiellement le maïs et le colza.

La liste de tous les OGM autorisés à ce jour en France est annexée à la fin de ce guide.

2.1.2 Aliments OGM

Les OGM font partie des produits dits "nouveaux aliments et nouveaux ingrédients" couverts par le règlement européen 258/97/CE de 1997. Ce règlement, qui n'est pas spécifique aux OGM, couvre par exemple les aliments irradiés et oblige à un étiquetage de tous ces "nouveaux aliments et nouveaux ingrédients".

Par ailleurs, le règlement 178/02/CE, entré en vigueur en janvier 2005, oblige l'ensemble des aliments vendus dans l'UE à une traçabilité "une étape avant, une étape après". Ce règlement couvre donc également les OGM et produits dérivés.

Le règlement 1829/2003/CE décrit la procédure de mise sur le marché d'aliments GM. Les autorisations sont accordées pour 10 ans sur le principe "une clé une porte". Les sociétés sont tenues de fournir des méthodes d'échantillonnage et de détection des OGM validées par le LRC (laboratoire de référence communautaire). Les aliments autorisés sont essentiellement des huiles et des farines.

2.2 Traçabilité

La directive 2001/18/CE régit la traçabilité des OGM en tant que tels, le règlement 1830/2003/CE établit plus particulièrement la traçabilité des produits OGM "de la fourche à la fourchette". Elle s'intègre dans le dispositif général de traçabilité de l'ensemble des produits alimentaires mis en place par le règlement 178/02/CE.

Les objectifs de la traçabilité sont la fiabilité de l'étiquetage, la mise en place de dispositifs de surveillance et le retrait des produits en cas de risque avéré et une réduction des coûts de contrôle par diminution des analyses nécessaires.

2.3 Étiquetage

L'application du règlement 258/97/CE dit "nouveaux aliments et nouveaux ingrédients" rend obligatoire l'étiquetage des OGM. Ce règlement est actuellement en cours de discussion pour modification (http://ec.europa.eu/food/food/biotechnology/novelfood/initiatives_en.htm).

Plus spécifiquement, tout ingrédient destiné à l'alimentation animale ou humaine et dérivé d'OGM n'est dispensé d'étiquetage qu'en deçà d'un seuil de présence fortuite ou techniquement inévitable. Cette définition exacte est en soit très importante et souvent mal interprétée (étiquetage au-delà d'un seuil de contamination).

En ce qui concerne la présence accidentelle d'OGM autorisés dans un produit alimentaire, l'étiquetage est obligatoire à partir du taux de 0,9% d'OGM par ingrédient (ce qui a été traduit en termes analytiques par espèce végétale puis « taxon » pour prendre en compte la taxonomie souvent plus compliquée de certaines plantes).

Un seuil intermédiaire de 0,5% par ingrédient est temporairement autorisé (3 ans) pour les OGM dont l'évaluation des risques par les autorités européenne et nationale est positive.

Dans le cas de la présence d'OGM non autorisés et non évalués pour ces risques alimentaires et environnementaux, toute commercialisation est interdite. C'est pourquoi on a assisté dès 2000 en France et en Italie à de nombreuses destructions de centaines d'hectares de champs issus de semences contenant des OGM non autorisés à la culture. De même, le contrôle des semences,

importées ou non, a abouti à de très coûteux retraits du marché de quantités de lots de semences.

Il est important de remarquer d'ores et déjà que les directives et règlements européens parlent de pourcentages sans aucune précision sur les unités qui doivent permettre de calculer ces teneurs. Un avantage d'un tel système est la liberté laissée aux opérateurs économiques d'utiliser les unités (graine, teneur en protéine, teneur en ADN) qu'ils veulent. Le principal inconvénient est que l'agriculteur achète des semences généralement certifiées pour leur teneur en graines OGM (qui sont donc représentatives de la capacité d'une semence à produire du pollen qui va contaminer la culture ou les cultures environnantes) alors que l'industrie se base sur la teneur en ADN, un des analytes suffisamment résistants aux transformations industrielles ultérieures. La biologie des graines ne permet malheureusement pas de transformer aisément une teneur en graine en une teneur en ADN (effet de la ploïdie des tissus des graines, effet des teneurs en ADN différentes des différents tissus d'une graine : tégument, endosperme, embryon ; teneurs relatives en chacun de ces tissus dans les graines ; effet de l'origine mâle ou femelle de l'ADN OGM, etc.).

2.4 Recommandations permettant d'assurer la co-existence

Des recommandations de la Commission des Communautés Européennes ont été établies en 2003. Elles stipulent que la co-existence des cultures doit permettre à l'ensemble des agriculteurs de choisir le type de produits qu'il souhaite cultiver.

Ces recommandations se basent sur le fait que des systèmes de co-existence fonctionnent déjà sans problème dans l'UE, que ce soit pour produire des maïs waxy ou des colza 00, ou pour produire des semences de degrés élevés de pureté certifiée.

Diverses recommandations concernent la dispersion du pollen dans les champs limitrophes : distances d'isolement entre parcelles OGM et non OGM dépendant du potentiel d'allogécondation, aménager des zones tampons, installer des pièges à pollen (haies), utiliser des variétés à mâles stériles ou à faible production de pollen...

Pendant et après la récolte, il est recommandé de réduire au maximum les pertes de semences (époque de récolte) et d'effectuer un nettoyage approfondi des machines.

Pendant le transport et le stockage, une séparation physique des deux types de culture doit être maintenue et les pertes de récolte doivent être réduites au maximum.

Une coopération entre exploitations voisines doit être initiée, ce qui peut limiter les problèmes de co-existence : il conviendra de notifier les plans d'ensemencement de la campagne suivante aux exploitations situées dans le périmètre concerné, d'utiliser des variétés ayant des périodes de floraison différentes...

Une cartographie des cultures OGM pourrait être mise en place, accompagnée d'un système d'identification des parcelles OGM et de la tenue d'un registre par leurs exploitants. Les Etats membres sont invités à organiser des cours de formation pour sensibiliser les agriculteurs.

Il est à noter que la CE n'a pas voulu définir des règles strictes applicables dans l'ensemble des pays de l'UE, ces recommandations sont donc très générales et doivent être adaptées par les états membres aux particularités locales. Certains états membres, comme la France, refusent ces règles jugées trop générales et demandent à la CE de définir des règles communes à l'ensemble de l'UE. En parallèle, certains pays ont déjà établi des règles de co-existence, avec des valeurs plus ou moins drastiques (ainsi la distance d'isolement entre parcelles peut varier de 20m à 300m pour le maïs selon le pays concerné). Ces projets de règles nationales sont à l'étude par la CE.

2.5 Le projet de loi présenté au Conseil des Ministres le 08 février 2006

La France n'a pas transposé dans son droit national la directive 2001/18/CEE et a, pour cette raison, été condamnée par la cour de Justice Européenne.

Le projet de loi vise à mettre en application les recommandations de la Commission

Européenne. Il instaure l'obligation de déclaration des cultures OGM. Un registre national des communes accueillant des cultures transgéniques sera normalement rendu public. La co-existence sera détaillée au cas par cas par le ministère de l'Agriculture, qui déterminera les distances d'isolement entre parcelles, la création ou non de zones tampons. Les exploitants mettant en culture des OGM devront souscrire une garantie financière destinée à compenser l'éventuelle dépréciation économique pouvant résulter du transfert fortuit d'OGM dans la production d'autres exploitants.

3 Les OGM

3.1 Définition

Les OGM sont des organismes dont le génome a été volontairement modifié par les techniques de la biologie moléculaire. Les techniques utilisées permettent de transférer dans le génome d'un organisme un ou plusieurs gènes apportant une caractéristique nouvelle. En ce qui concerne les plantes, on introduit une séquence d'ADN n'appartenant généralement pas à l'espèce hôte par divers moyens. Cette séquence d'ADN supplémentaire, ou insert, code pour des protéines qui confèrent à la plante, ainsi modifiée, des propriétés telles que la tolérance à certains herbicides ou la résistance à des insectes. Aujourd'hui, en Europe, les OGM les plus cultivés sont le maïs résistant à la pyrale et le soja et colza résistants à un herbicide, ce qui facilite le désherbage.

3.2 Construction d'un OGM

Le transfert d'un gène à la plante peut se faire grâce à une bactérie : *Agrobacterium tumefaciens* ou par biolistique (ex : un canon à particules). Nous détaillerons l'exemple du maïs Bt qui a été la première application pratique à grande échelle du génie génétique en protection des cultures. Ce maïs, résistant à la pyrale, exprime une protéine (CryIAb) issue d'un gène de la bactérie *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) et utilisée par ailleurs dans l'agriculture biologique¹. Il a été créé grâce à la méthode du canon à particule (Figure 1).

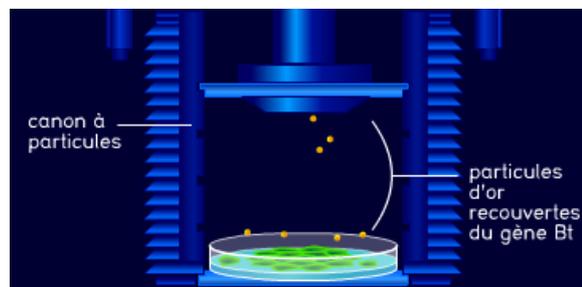


Figure 1. Principe d'un canon à particules

Des particules d'or recouvertes par le plasmide contenant le gène *Bt* de *Bacillus thuringiensis* sont projetées sur les tissus de maïs. Certaines particules parviennent au noyau des cellules (Figure 2).

¹ Signalons à ce propos que plusieurs sociétés européennes et de pays tiers utilisent des bactéries génétiquement modifiées pour produire la toxine Bt, utilisée en agriculture biologique.

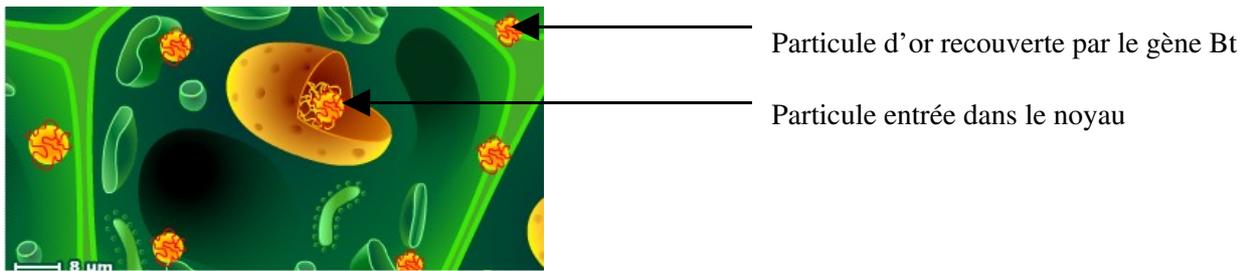


Figure 2. Cellule de maïs traitée avec le canon à particules

Le gène *Bt* s'intègre de manière permanente dans le génome de diverses cellules du maïs, on obtient des cellules de maïs *Bt*. Ces cellules modifiées sont placées en culture *in vitro*, on obtient alors des plantules puis un ensemble de plantes adultes qui possèdent dans toutes leurs cellules le gène *Bt*, sous forme d'un seul insert (comme vérifié par diverses techniques comme la méthode de Southern). Ne sont ensuite retenues que les plantes résistantes à la pyrale (Figure 3), comme cela est ensuite vérifié par des essais en chambres climatisées ou serres.



Figure 3. Obtention de plant de maïs *Bt*

La même protéine peut donc être produite par plusieurs OGM (ou évènements de transformation). Ainsi Bt176, Mon810 et Bt11 produisent tous les 3 la même protéine. En conséquence, une méthode de détection basée sur la détection de cette protéine ne permettra pas de différencier des OGM autorisés d'OGM non autorisés. C'est ce qui explique que Bt10, un évènement de transformation obtenu à partir du même plasmide que Bt11, et ne bénéficiant d'aucune autorisation de culture dans le monde, ait pu être mis en culture sur des milliers d'hectares pendant plusieurs années. En effet, la société semencière utilisait un test immunologique (des anticorps détectant la protéine produite, la même pour Bt10 et Bt11) pour certifier ses semences, méthode incapable de différencier les 2 OGM.

3.3 Implications en ce qui concerne la détection

Une plante OGM se distingue d'une plante non OGM par la séquence génétique introduite appelée insert et la ou les protéines synthétisées à partir de cette séquence. La plupart des méthodes de détection OGM consistent donc à détecter l'insert ou la protéine associée.

De plus, il est souvent nécessaire de quantifier le pourcentage d'OGM dans un échantillon afin de se positionner par rapport au seuil de présence fortuite autorisé par la réglementation européenne. Pour cela, dans le cas d'une analyse ADN, il faut pouvoir déterminer le rapport :

$$\frac{\text{Nombre de copies de l'insert}}{\text{Nombre de génomes haploïdes de l'espèce}}$$

Le nombre de génomes haploïdes est déterminé en quantifiant un gène caractéristique de l'espèce végétale étudiée. Ceci peut poser problème dans le cas d'un empilage de gènes, c'est-à-dire quand une plante contient deux inserts (cf. 4.6.1).

La quantification peut également se faire avec des analyses concernant les protéines, dans ce cas, il faut procéder à un plan de contrôle multiple par attribut (cf. 4.2.5).

4 Les différentes méthodes de détection

Il existe différentes méthodes de détection d'OGM : basées majoritairement sur les protéines et sur l'ADN, mais également des biodosages et des techniques physiques. Ci-dessous est détaillé le principe de chaque méthode, leurs cibles, leurs domaines d'application, leurs performances, leur coût autant qu'il est possible de l'apprécier, et enfin leurs avantages et inconvénients.

Les méthodes de détection se distinguent par la valeur de leurs critères de performance, soit principalement la limite de détection, la spécificité (dépend du nombre de faux-positifs), la précision (reproductibilité) et la robustesse. Pour des analyses quantitatives, il faut ajouter l'exactitude, la limite de quantification et la gamme dynamique (intervalle de valeurs où le signal mesuré est proportionnel à la quantité de cible).

Un certain nombre de ces critères ont été fixés par le réseau ENGL pour les méthodes que doivent fournir les sociétés pétitionnaires. Les valeurs de ces critères sont ensuite affinées lors des validations interlaboratoires organisées par le LCR.

4.1 Principes communs aux méthodes de détection

4.1.1 Échantillonnage

Pour toute analyse concernant la détection d'OGM, il est nécessaire de procéder à un échantillonnage. Tout d'abord il faut réaliser un échantillon de l'entité à analyser : champ, récolte, contenu d'une benne ou d'un silo. Cet échantillon doit être représentatif, c'est-à-dire que le pourcentage d'OGM dans l'échantillon doit être le plus proche possible du pourcentage d'OGM présent dans le lot de départ.

Des procédés d'échantillonnage sont détaillés dans le chapitre 6.

Il faut ensuite réaliser des sous-échantillons sur lesquels l'analyse pourra être menée. En effet, l'échantillon initial est trop important, par exemple dans le cas du maïs, l'échantillon initial pour une analyse pèse 3kg. Plusieurs sous-échantillons sont réalisés et analysés séparément.

4.1.2 Envoi de l'échantillon

Dans le cas d'une analyse en laboratoire, il faut envoyer l'échantillon. Il faut en général l'envoyer dans des doubles sacs étanches. L'échantillon peut-être conservé à température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de la lumière en attendant l'envoi.

4.1.3 Broyages, homogénéisation

Pour tous les types d'analyse, exceptés les biodosages, une étape de broyage est nécessaire. Il faut en effet extraire les protéines ou l'ADN. Il est donc indispensable de broyer les grains, feuilles... Pour que l'analyse soit fiable, il est également extrêmement important d'homogénéiser le broyat afin d'avoir le même pourcentage d'OGM partout.

4.1.4 Extraction de l'analyte

L'étape suivante est l'extraction de l'analyte : protéine ou ADN. La qualité de l'analyse dépend fortement de l'efficacité d'extraction des protéines ou de l'ADN.

4.1.5 Analyse

L'analyse peut être qualitative ou quantitative. On peut ne retenir pour chaque sous-échantillon que l'aspect qualitatif, appelé attribut du sous-échantillon. On peut également comparer

le signal obtenu à une gamme de référence. Dans ce cas, il est possible de mener une analyse quantitative. Il est également possible de positionner le pourcentage d'OGM de l'échantillon par rapport à un seuil en n'observant uniquement les attributs des sous-échantillons : c'est le plan de contrôle multiple par attribut. Ce procédé est détaillé dans le paragraphe 4.4.

4.2 La détection des protéines

Si l'on possède des anticorps dirigés contre la protéine d'intérêt, il est possible d'utiliser des méthodes immunologiques pour détecter voire quantifier les OGM.

4.2.1 Méthodes

La révélation de la présence d'OGM peut s'effectuer par la détection des protéines issues du gène introduit dans la plante, appelé transgène. Hormis quelques cas de dosages d'activité enzymatique, quasiment plus employés, il s'agit de méthodes immunologiques, c'est-à-dire basées sur l'utilisation d'anticorps dirigés contre les protéines codées par le transgène. Différentes étapes sont nécessaires : échantillonnage, broyage, extraction des protéines, analyses immunologiques, interprétation des résultats (comparaisons aux standards de références, évaluation des incertitudes de mesure...) et enfin prise de décision.

4.2.1.1 Test ELISA

L'ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) repose sur l'interaction spécifique entre la protéine codée par le transgène et la révélation de l'interaction par une réaction colorimétrique proportionnelle, dans une certaine gamme, avec le nombre d'anticorps présents et donc la quantité de protéines du transgène présente. Il existe diverses variantes : comme, par exemple, le système, en « sandwich », souvent utilisé pour ses meilleures spécificité et sensibilité mais donc plus sensible aux artefacts.

Les protéines extraites sont disposées sur des plaques à 96 puits (Figure 4), l'hybridation entre protéine et anticorps est réalisée sur ces plaques. Les mesures de quantité d'anticorps retenus sur cette plaque, par une réaction fluorométrique ou colorimétrique directe ou par l'ajout d'un autre système (ex : biotine - streptavidine), permet de mesurer la quantité initiale de protéines retenues et donc présente. Ces analyses ne peuvent se faire qu'en laboratoire.



Figure 4. Plaque ELISA à 96 puits

4.2.1.2 Strip test

Le principe de base est le même que celui du test ELISA (réaction entre antigènes et anticorps) mais il se réalise sur des bandelettes, avec une migration d'une partie des composants et de l'échantillon le long de la bandelette. La partie inférieure est trempée dans la solution préparée avec le broyat de l'échantillon à analyser, les protéines de l'échantillon de plantes remontent le long de la bandelette. Elles rencontrent tout d'abord les anticorps spécifiques avec qui elles forment un complexe, ces anticorps sont liés à de l'or colloïdal (couleur rouge en cas de grande quantité). Ce

complexe continue de migrer et rencontre alors une deuxième série d'anticorps qui l'immobilise au niveau d'une ligne sur laquelle l'or colloïdal est visible. Ainsi, si cette ligne est colorée cela signifie que la protéine cible est présente, le test est positif. (Figures 5 et 6).

La seconde ligne constitue un contrôle de bon fonctionnement du strip-test. Il doit toujours être rouge après utilisation. Ce contrôle sert à éliminer, ou minimiser le nombre de faux négatifs.

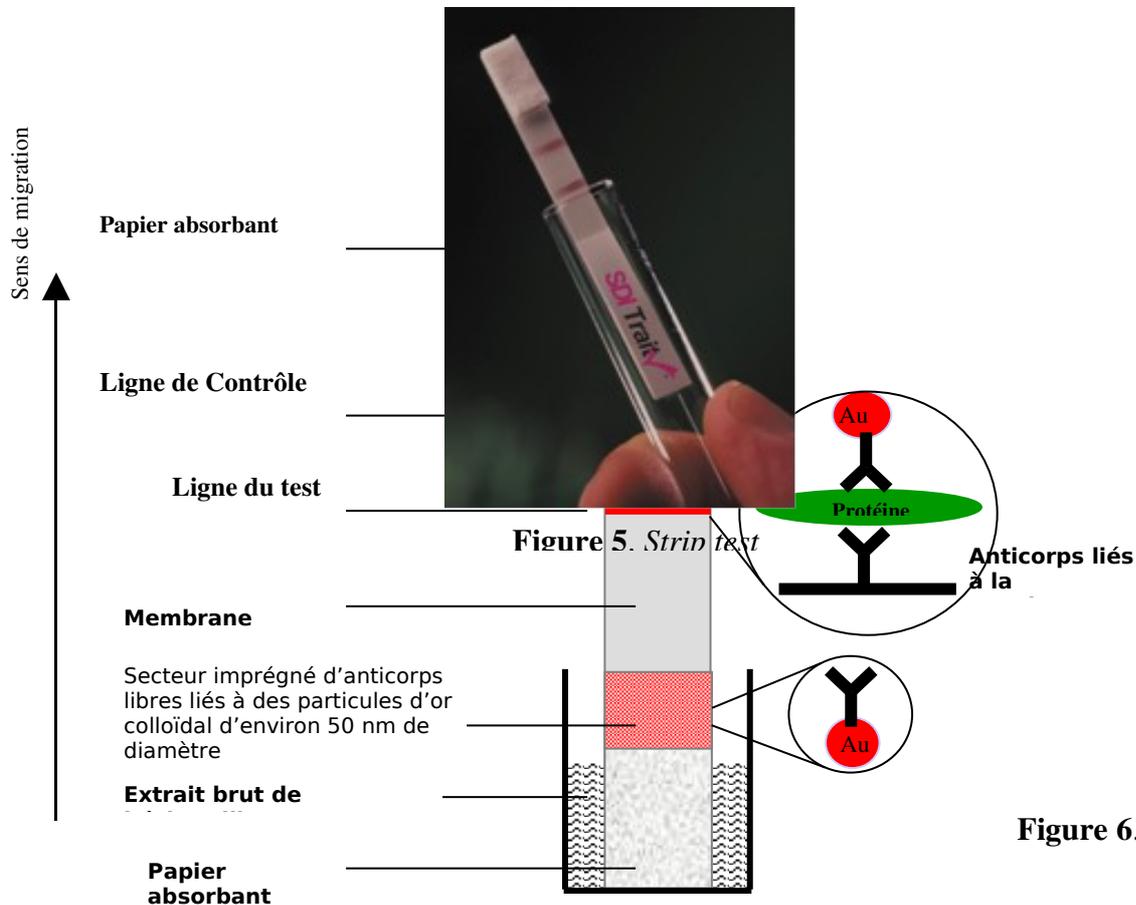


Figure 6. Strip test

Ce test très rapide, environ 20 min du prélèvement de l'échantillon de feuille aux résultats sur bande, peut se faire directement au champ, ou en coopérative (par exemple juste avant ou pendant le déchargement), avec très peu de formation préalable. En effet, il suffit de broyer les feuilles ou les grains de maïs avec le liquide fourni dans le kit et de tester le broyat obtenu avec les bandelettes.

Il est à noter que ces tests sont qualitatifs mais peuvent être utilisés avec des plans de contrôles multiples par attributs pour connaître avec précision (si l'échantillonnage est, évidemment, correctement effectué et est représentatif du lot) la position du lot par rapport à un seuil prédéterminé.

4.2.2 Cibles

La plupart des variétés transgéniques cultivées actuellement sont des variétés résistantes aux insectes exprimant des protéines de type Cry ou des variétés tolérantes à des herbicides exprimant les protéines ESPS ou PAT. La plupart des variétés transgéniques expriment également des protéines codées par des gènes marqueurs de résistance aux antibiotiques comme *nptII* ou enzymatique comme *uidA*. Il existe des tests immunologiques pour chaque type de protéine ci-dessus.

Les tests ELISA et les *strip tests* ont été développés par diverses entreprises comme Strategic Diagnostics Inc. (Newark, DE, U.S.A.), Envirologix (Portland, ME, U.S.A.), Agdia (Elkhart, IN, U.S.A.) et Neogen Corporation (Lansing, MI, U.S.A.).

Une liste des sociétés avec leurs types de tests et adresses de contact est fournie en annexe.

4.2.3 Champ d'application

Les méthodes basées sur les protéines s'adressent aux produits peu transformés : plante, semences, graines, tourteaux et farines, car les protéines sont fragiles et donc facilement altérées par les traitements thermiques et chimiques.

Néanmoins, comme dans le cas du prion, des anticorps dirigés contre des épitopes résistants aux procédés industriels sont en cours de développement. Certains tests commerciaux annoncent déjà couvrir des produits quelque peu transformés.

4.2.4 Performances

Aujourd'hui trois méthodes immunologiques d'analyse OGM sont été acceptées par l'ISO (International Standards Organization), concernant le soja round up ready (Monsanto), le maïs Mon810 Yield Gard (Monsanto) et le maïs StarLink (CBH351, Aventis interdit de culture et de commercialisation depuis 4 ans).

Un test en bandelette permet en général de repérer un grain OGM parmi 800 (à vérifier selon les kits). Ces tests sont généralement utilisés avec des plans de contrôle multiple par attribut.

4.2.5 Plan de contrôle multiple par attribut

Le principe du plan de contrôle multiple par attribut consiste à étudier statistiquement à l'aide de tests qualitatifs la présence-absence d'un OGM par sous échantillon. Si, pour du maïs, on prend 10 000 graines (env. 3 kg) ou 3 000 graines comme recommandé selon les cas, le protocole préconisera de décomposer cet échantillon en X sous échantillons qui tiendront compte à la fois de la sensibilité du strip test, du seuil auprès duquel se positionner et de l'intervalle de confiance choisi (généralement 95 voire 99%).

Ce test basé sur des calculs statistiques est, s'il est correctement utilisé, très "robuste". Mais il donne un résultat en graines, qui peut différer de celui en ADN (généralement en raison de la biologie du maïs, des variétés à un seul insert donnent un résultat en graine supérieur à celui en ADN, le producteur est donc "couvert").

Number of 800- Kernel Sub-samples	At 95% Confidence Level	At 99% Confidence Level
1	0.37	0.57
2	0.19	0.29
3	0.12	0.19
4	0.09	0.14
5	0.07	0.12
6	0.06	0.10

Figure 7. *pourcentage maximum d'OGM dans l'échantillon*

ont été testés et sont tous négatifs alors nous sommes sûrs à 99% que le pourcentage d'OGM maximum présent dans l'échantillon est 0,19%. Ceci est évidemment valable pour le (ou les) OGM pour lequel (ou lesquels) ce test a été optimisé. C'est ainsi qu'un test pour Mon810 détecterait difficilement des graines Bt176, car les teneurs en protéines diffèrent énormément entre les graines de ces OGM.

En ce qui concerne les tests ELISA, une analyse peut détecter un grain OGM dans 70 à 1000 grains conventionnels. Il faut faire particulièrement attention au fait que certains tests faisaient jusqu'à peu référence à des concentrations en protéines, ce qui ne donne généralement pas d'information sur les teneurs en graines).

4.2.6 Coûts

Pour un test bandelette, il faut compter en général entre 10 et 40 euros pour tester 125

Le vendeur du kit fournit en général un tableau fournissant le taux d'OGM maximum trouvé dans un échantillon si tous ou un certain nombre d'échantillons testés sont négatifs. Un exemple est présenté figure 7.

Ce qui s'interprète comme suit : si 3 sous échantillons de 800 grains

grains.

Pour un test ELISA, il faut compter entre 30 et 70 euros pour analyser 200 à 400 grains.

4.2.7 Avantages et inconvénients

Les tests immunologiques permettent de :

- détecter et de quantifier les OGM (technique ELISA)
- de détecter et déterminer de manière très fiable la "position" d'un échantillon quant à sa teneur en OGM.

Ils sont rapides, assez peu coûteux et sont fiables. Les *strip tests* permettent des analyses au champ, sur feuille ou graines, ou en laboratoire (coopératives).

En revanche, ces tests ont un champ d'application restreint :

- aux produits bruts ou peu transformés
- aux OGM produisant une protéine non synthétisée par la plante non OGM (donc pas de détection des tomates actuelles à maturation retardée ou des papayes résistantes à un virus)
- à un "criblage" des OGM sans identification, hormis quelques cas (ex : Starlink car seul OGM ayant été autorisé avec le gène Cry9C)

Les limites de détection sont liées à l'expression du transgène qui dépend de l'environnement, des conditions de cultures, du tissu analysé, ce qui rend parfois ce type d'analyse difficile, notamment en ce qui concerne la certification des graines si la variété n'a pas été étudiée par le fournisseur de kit, ce qui est fort probable.

4.3 La détection d'ADN

Dans le génome de la plante OGM n'est normalement inséré, après diverses sélections au laboratoire, qu'un seul fragment d'ADN exogène appelé insert. Cet insert contient pratiquement toujours un ou plusieurs gènes, avec chacun au moins un promoteur et un terminateur pour la régulation de l'expression des gènes (Figure 8).

Pour beaucoup d'OGM de première génération, le promoteur est le *P35S* et le terminateur le *Tnos*. Ces deux cibles à forte occurrence sont souvent utilisées pour cribler la présence d'OGM, si les contrôles des organismes donneurs (le virus CaMV pour le *P35S* et *Agrobacterium tumefaciens* pour le *Tnos*) sont utilisés pour éliminer les faux positifs.

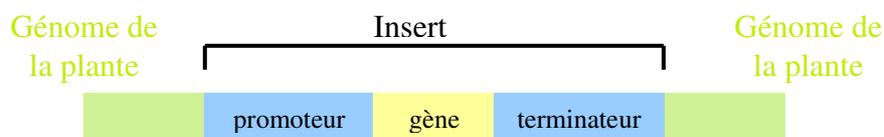


Figure 8. Schéma de génome d'une plante génétiquement modifiée

4.3.1 Méthodes

Les séquences d'ADN insérées dans les OGM permettent de les détecter, la jonction entre l'ADN de la plante et l'insert permet de les identifier. Une seule séquence par génome étant difficile à détecter, il est généralement fait appel à des méthodes d'amplification de l'ADN cible, des sortes de systèmes de photocopies, pour améliorer la sensibilité de la détection.

La méthode d'amplification la plus utilisée concernant les acides nucléiques est la PCR (Polymerase Chain Reaction). C'est une technique d'amplification génique : elle permet de repérer un fragment d'ADN précis même lorsque celui-ci est présent en très faible quantité dans un mélange

(Figure 9). La PCR consiste à amplifier un fragment d'ADN *in vitro* grâce à une enzyme d'origine bactérienne thermorésistante et thermostable : la Taq Polymérase (P sur la figure). Cette réaction nécessite pour s'initier des fragments d'ADN double brin. Pour cela, de petits fragments d'acides nucléiques, appelés amorces (en rouge sur la figure), sont ajoutés au milieu réactionnel pour qu'ils s'associent à l'ADN extrait de l'échantillon (en bleu). Ce double brin (ADN extrait + amorces doit encadrer la région à amplifier).

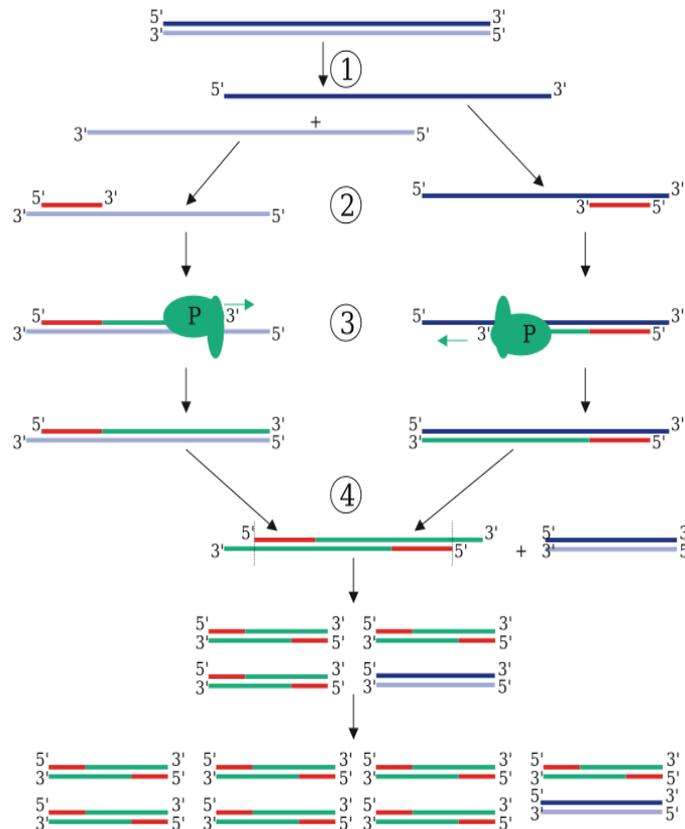


Figure 9. PCR : Polymerase Chain Reaction

Ils permettent d'initier la réaction. En choisissant correctement la séquence de ces fragments (séquence, taille, T_m ...), il est possible d'amplifier uniquement la portion d'ADN souhaitée. Selon les cibles de la PCR, on peut différencier

- le criblage des OGM par la détection d'éléments présents dans la majorité des OGM actuels : *P35S*, *Tnos*
- l'identification d'un insert (issu d'un même plasmide, obtenu généralement par la jonction entre un promoteur ou un promoteur et le gène, l'ensemble n'existant pas dans la nature) : par exemple la différenciation de Bt10 et Bt11 de Mon810, mais pas de différenciation entre Bt10 et Bt11 tous deux événements de transformation issus du même plasmide
- l'identification univoque d'un OGM particulier à simple insert (et donc pas de ceux résultants d'empilages de gènes car ils sont équivalents à plusieurs OGM différents) : détection d'un élément présent uniquement dans l'OGM recherché (la zone de jonction insert-génome de la plante car l'insertion se fait dans l'état actuel des techniques de manière aléatoire). On dispose alors d'une signature univoque de chaque événement de transformation.

Comme pour les techniques immunologiques, il faut tout d'abord extraire l'analyte, ici l'ADN, de l'échantillon avant de procéder à l'amplification. Les PCR sont effectuées dans des thermo-

cycleurs capables de réaliser rapidement les variations de températures nécessaires à la réaction (3 étapes par cycle : dénaturation de l'ADN, hybridation des amorces et élongation des chaînes double brin). Plusieurs cycles (généralement 45) de réaction sont effectués pour avoir une très grande quantité d'ADN. Il faut ensuite détecter les produits de l'amplification, appelés amplicons. Ceci se fait par diverses méthodes, les normes concernant la détection des OGM préconisant l'identification de l'amplicon. Cette identification peut être assurée par hybridation avec une sonde fluorescente ou non, migration sur gel et détermination de la taille et du T_m , séquençage ou profil de restriction de l'amplicon.

La PCR peut être qualitative (avec ou sans plan de contrôle multiple par attributs comme pour les méthodes immunologiques pour connaître la position d'un échantillon par rapport à un seuil) ou quantitative (par PCR compétitive ou PCR quantitative en « temps réel », la méthodologie actuellement la plus employée).

4.3.1.1 La PCR qualitative

Pour un criblage, la PCR est réalisée à partir d'amorces de séquences cibles non spécifiques d'un OGM comme *P35S* et *Tnos*. Un résultat négatif indique l'absence d'un grand nombre d'OGM, mais pas, par exemple, l'absence du maïs GA21. En revanche, en cas de résultat positif, il faut s'assurer que les séquences *P35S* et *Tnos* ne sont pas présentes en raison de la présence des organismes donneurs dont ils sont issus : *Agrobacterium tumefaciens* et le virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV).

Pour une identification, la PCR est réalisée avec des amorces "événement spécifique" (amorces à cheval sur l'ADN génomique et l'ADN de l'insert) et quelquefois avec des amorces "construit spécifique" (amorces à l'intérieur de l'insert) (Figure 10).

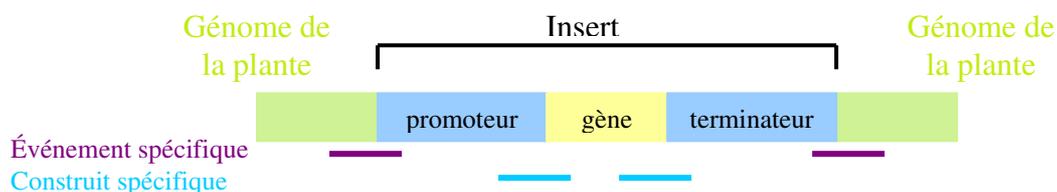


Figure 10. localisation d'amorces PCR en vue de la détection d'OGM de niveaux différents de spécificité

Ce dernier système ne donne pourtant pas une spécificité univoque (ex : pas de différenciation de Bt10 et Bt11, deux maïs OGM, c'est-à-dire deux événements de transformation, issus de la transformation par le même plasmide).

4.3.1.2 La PCR quantitative

La PCR quantitative consiste à quantifier le nombre de molécules d'ADN initiales. Plusieurs méthodes existent, la PCR quantitative en « temps réel » étant actuellement la plus « à la mode » et la plus utilisée.

La quantification absolue vise à déterminer le nombre de copies et utilise des standards ou "matériel de référence" généralement achetés auprès d'un fournisseur.

La quantification relative cherche à déterminer la quantité relative de deux cibles. C'est celle qui est utilisée majoritairement pour déterminer la teneur relative en OGM d'un échantillon. Cette quantification relative peut être effectuée grâce à l'utilisation de standards, certifiés ou non, ou à l'aide de la méthode dite des $\Delta\Delta C_t$ qui implique que les PCR aient des efficacités semblables.

Globalement, déterminer la teneur en OGM revient à comparer l'amplification du fragment

caractérisant l'OGM à l'amplification d'un gène ou séquence spécifique à l'espèce végétale à laquelle appartient l'OGM et à les ramener aux nombres initiaux de copies initiales.

$\%OGM = \text{quantité d'ADN des évènements OGM} / \text{quantité ADN de l'espèce végétale} \times 100$

La PCR se fait en point final (quantitative à semi-quantitative par PCR compétitive) ou en temps réel (quantitative, [24]). La quantification en point final s'effectue selon les appareils au cours de l'amplification ou à la fin des cycles de PCR. La quantification du nombre croissant d'amplicons au cours de la PCR en temps réel se fait généralement par une sonde fluorescente, pour la technique Taqman®, dégradée au fur et à mesure de l'amplification de l'ADN. La fluorescence émise est mesurée tout au long de la réaction. La PCR en point final est commercialisée à un coût inférieur à celui de la PCR en temps réel. Cette dernière donne une quantification aussi précise mais plus facile à utiliser et demandant moins de précaution.

4.3.2 Cibles

La PCR permet d'identifier tous les OGM autorisés et peut permettre de détecter, selon les stratégies utilisées, la présence d'OGM non autorisés.

4.3.3 Champ d'application

La PCR peut se faire sur des produits bruts (semences, grains, tissus de la plante) ou transformés. La difficulté, d'extraction de l'ADN en particulier, croît avec le degré de transformation. Certains produits, comme les huiles raffinées, n'ont que peu voire plus d'analyte (ADN dans ce cas).

4.3.4 Performances

Une analyse PCR peut détecter la présence d'OGM jusqu'au seuil de 0,1%. Pour quantifier la présence d'OGM par une analyse PCR, il faut un échantillon représentatif du lot à analyser. Selon le degré de confiance (95 ou 99%) recherché, la quantité varie de 1 (3 000 graines) à 3kg (10 000 graines) de grains de maïs. Une analyse PCR peut généralement quantifier la présence d'OGM à partir du seuil de 0,1%, mais seules les valeurs obtenues lors des tests inter-laboratoires de validation permettent de savoir quelle est la valeur utilisable pour comparer les résultats entre laboratoires.

4.3.5 Principe des analyses

Le schéma suivant récapitule les analyses pouvant être faites sur un échantillon (ici destiné à l'alimentation).

Une analyse d'échantillon commence donc généralement par un criblage (*P35S* et *Tnos* en particulier). Si les résultats sont positifs, le contrôle des organismes donneurs (virus CaMV, et/ou bactérie *Agrobacterium tumefaciens*) doit être effectué pour éviter les faux positifs.

Dans le cas du soja et du colza, ces tests sont, dans l'état actuel des autorisations de l'UE, suffisants pour détecter les OGM autorisés.

Dans le cas du maïs, la détection du GA21 doit également être effectuée. Cet OGM ne comportant ni *P35S* et *Tnos*.

Selon les résultats des tests de criblage, généralement qualitatifs, le client peut demander à faire effectuer des analyses quantitatives. Le coût sera alors fonction du nombre d'analyses PCR à effectuer.

Figure 11. *Analyses sur un échantillon destiné à l'alimentation*

4.3.6 Coût

Au prix catalogue, il faut compter environ 90 euros par analyse PCR quantitative pour tester 3 000 grains. Le prix est du même ordre pour 10 000 graines. Les analyses sont effectuées en « duplicate ». Pour une analyse comportant une identification le prix s'élève à 120 euros.

Il est difficile, pour ne pas dire quasiment impossible, de fournir un coût d'analyse par échantillon. En effet, le coût total dépend des analyses initiales, généralement qualitatives, suivies ou non d'analyses quantitatives. La détection d'OGM maïs peut nécessiter actuellement jusqu'à 17 analyses PCR.

4.3.7 Avantages et inconvénients

Ces techniques sont plus sensibles que les méthodes basées sur les protéines. Leur domaine d'application (des matrices brutes à de nombreuses matrices issues de transformation) est également plus étendu. L'ADN étant plus résistant aux processus de transformation (thermique et chimique) que les protéines, il est donc souvent plus avantageux d'utiliser la technique PCR.

De plus elles permettent l'identification d'un OGM, au moins pour ceux avec un seul insert, contrairement aux méthodes immunologiques car une protéine peut être présente dans deux OGM différents. Certaines constructions ne visent pas à faire produire une nouvelle protéine mais à diminuer la production d'une protéine endogène (ex : tomate à maturation retardée), ces OGM ne peuvent être détectés que par PCR.

Cette méthode est par contre plus difficile à mettre en œuvre que les méthodes immunologiques : les laboratoires doivent être organisés selon le principe de "la marche en avant" pour éviter toute contamination, l'ADN extrait doit être de très bonne qualité, le laboratoire doit plus encore que pour les méthodes immunologiques disposer de matériel de référence pour l'étalonnage. Enfin c'est une technique assez coûteuse.

4.4 Les biososages

4.4.1 Méthode

Cette méthode s'applique particulièrement aux OGM résistants aux herbicides. Cela consiste à faire germer des graines sur un milieu contenant l'herbicide ou à pulvériser les plantules issues des graines. Seules les plantes provenant de graines OGM pousseront normalement, les autres meurent ou ne se développent pas normalement.

Un comptage peut alors être effectué.

4.4.2 Cibles

Les biososages ne concernent que les OGM résistants aux herbicides, comme les sojas et maïs Round up Ready™ et Liberty Link™.

4.4.3 Champ d'application

Cette méthode se réalise uniquement sur des plantules d'OGM tolérants à des herbicides.

4.4.4 Performances

Il faut tester 400 à 2 000 grains selon la taille du lot initial à analyser. Ce test permet une quantification de la présence d'OGM, mais si des grains sont positifs, il est préférable de vérifier ensuite par une analyse sur ADN ou protéine.

4.4.5 Coûts

Un biososage coûte environ 30€ pour tester 400 graines.

4.4.6 Avantages et inconvénients

Les biososages sont extrêmement simples à réaliser, très peu coûteux. Ils peuvent permettre d'éviter de s'adresser à un laboratoire. Il s'agit d'une méthode non destructive, qui pourrait également devenir la seule méthode à "haut débit" du domaine de la détection des OGM.

En revanche ils ne permettent pas d'identifier un OGM, seulement son phénotype de tolérance à un herbicide. Son domaine d'application est donc assez restreint. De plus, il faut au moins une semaine pour avoir les résultats et ces tests ne concernent que les OGM Round up Ready™ et Liberty Link™. Il est probable que les OGM tolérants aux oxyl-urées seront également incorporés dans ces types de tests.

4.5 Les méthodes physiques

Il s'agit plus particulièrement d'une méthode basée sur les différences de spectre proche infrarouge (NIR pour Near InfraRed spectroscopy), elle permet de distinguer des grains OGM des grains non-OGM par spectroscopie proche infrarouge.

Les deux types de grains doivent avoir une distinction biochimique ou structurale qui affecte les propriétés spectroscopiques NIR. Cette méthode est couramment utilisée dans d'autres domaines pour estimer les pourcentages de protéines, huile, fibres et graisse saturée. Elle est encore au stade de développement dans le cas des OGM

Cette méthode n'est donc pas encore utilisée en routine dans les laboratoires d'analyse.

4.6 Problèmes rencontrés lors de la quantification

4.6.1 Empilages de gènes

Des problèmes se posent lorsqu'un OGM contient plusieurs inserts, en particulier dans le cas des OGM à empilages de gènes. La réglementation européenne actuelle considère ces OGM, issus du croisement de deux OGM autorisés, comme un nouvel OGM qui doit être identifiable et quantifiable.

Il n'existe actuellement aucun moyen bon marché de différencier dans un lot de graines l'ADN venant de graines de chaque OGM parent de l'ADN de l'OGM résultant de leur empilage.

Dans ce cas, le rapport

$$\frac{\text{Nombre de copies de l'insert}}{\text{Nombre de génomes haploïdes de l'espèce}}$$

sera doublé puisque l'échantillon contient deux fois plus d'inserts. Un échantillon contenant par exemple 0,6% de grains de maïs OGM à double insert sera analysé comme un échantillon contenant 1,2% de grains OGM. Il devra alors être étiqueté alors qu'en réalité, il ne dépasse pas le seuil réglementaire, en termes de graines.

La différence entre graines et teneurs en ADN résultante s'accroît avec le nombre de gènes empilés.

Des OGM avec 3 gènes empilés sont actuellement en cours d'autorisation pour les utilisations dans les agro-industries dans l'UE. Aux USA les autorisations, dont celles de culture, portent sur des empilages de 4 gènes et plus.

4.6.2 Unités utilisées pour calculer le pourcentage en OGM

Un deuxième problème vient de l'absence de définition dans la réglementation européenne des unités à utiliser pour le calcul du pourcentage d'OGM. Certains utilisent donc les teneurs en ADN (dite "unité de traçabilité" au sein du réseau européen ENGL) tandis que d'autres utilisent le nombre de graines, ou la masse assez directement liée.

Les sociétés semencières utilisent en certification généralement le nombre de grains, ce qui intéresse l'agriculteur et l'agronome qui s'intéressera au pollen produit par chaque plante. Alors que les industriels de l'agro-alimentaire s'intéressent à la teneur en ADN des produits. L'agriculteur devient donc l'interface qui va devoir gérer des graines et devoir produire en deçà d'une certaine teneur en ADN.

Or, il n'existe pas de corrélation simple entre la masse de matériel végétal et un pourcentage d'ADN comme le rappelle le schéma ci-dessous.

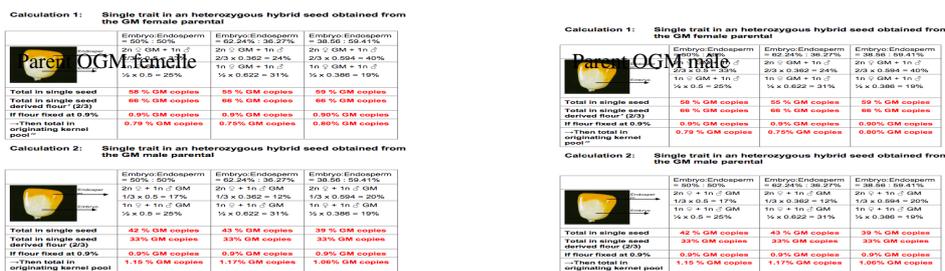


Figure 12. Pourcentage d'ADN OGM dans un grain selon l'origine mâle ou femelle de l'OGM

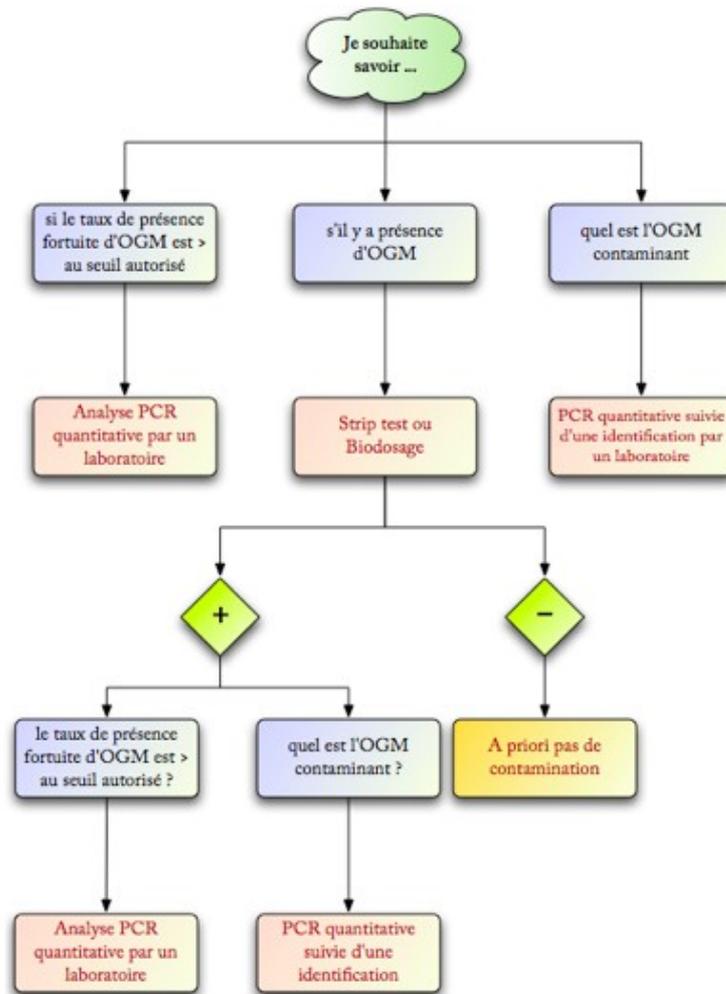
La plupart des laboratoires pratiquent des analyses ADN et fournissent donc un résultat délivrant le pourcentage d'ADN provenant de plantes OGM. La biologie des graines ne permet malheureusement pas de transformer aisément une teneur en graine en une teneur en ADN (effet de la ploïdie des tissus des graines, effet des teneurs en ADN différentes des différents tissus d'une graine : tégument, endosperme, embryon ; teneurs relatives en chacun de ces tissus dans les graines ; effet de l'origine mâle ou femelle de l'ADN OGM, etc.).

4.7 En clair

Le tableau ci-dessous récapitule très schématiquement les caractéristiques des méthodes disponibles :

NIR	1 grain	probablement	Selon limite et intervalle de confiance définis	?	Quelques heures
Biodosage	1 grain / plantule	oui	400 à 2000	20 à 30 €	6 à 7 jours
Strip test	1 grain parmi 100 à 800 selon les kits	non	600 à 3000	10 à 40 €	Env. 20 minutes
Test ELISA	1 grain parmi 1000	oui	200 à 400	200 à 350 €	1 à 2 jours
PCR	0,1%	oui	3000	200€	1 à 5 jours selon les analyses demandées

Arbre de décision très simplifié.



5 Comment évaluer les risques de mélange ?

Les mélanges peuvent survenir par le biais des semences (impuretés constituées par des semences OGM dans les lots de semences commerciales conventionnelles), des fécondations croisées au champ (pollen), et également lors de la récolte, du transport ou du stockage ou encore lors de processus de transformation. Certains de ces points peuvent être étudiés par l'agriculteur cherchant à qualifier sa production.

En ce qui concerne les semences, l'achat de semences commerciales certifiées non OGM, dans le cas d'un agriculteur en agriculture conventionnelle ou en agriculture biologique, suffit normalement à supprimer cette origine de contamination. Pourtant le seuil de présence fortuite dans les semences n'a pas encore été fixé. Le lecteur de ce rapport est donc renvoyé à la future réglementation qui devrait être publiée par la CE pour savoir quel est le seuil de présence fortuite autorisée selon l'espèce végétale et donc ce qu'il peut avoir comme OGM dans ses semences commerciales.

En ce qui concerne la récolte, il est demandé soit d'utiliser un matériel propre à l'exploitation soit, dans le cas de matériel commun à plusieurs exploitations de procéder à un nettoyage poussé du matériel, surtout si du matériel OGM a été récolté auparavant. Il est recommandé dans le cas de matériel mis en commun de procéder au début de la récolte à un « nettoyage » par la récolte de bordures qui seront mises à part, surtout si l'exploitation est en agriculture biologique.

Pour ce qui est du transport et du stockage, il faut s'assurer de même que les bennes de tracteurs, camions et silos, soit sont dédiés aux cultures conventionnelles, soit ont subi un nettoyage minutieux.

Le plus grand risque de contamination se situe au champ, lors de pollinisations croisées.

5.1 Étude des semences

Il est illusoire de chercher à détecter à la ferme, en raison du grand nombre de maïs OGM autorisés de par le monde, des OGM non autorisés dans le cas du maïs. Il faut donc dès lors faire confiance aux contrôles de la DGCCRF (répression des fraudes) et de la DGAL/SDQPV (ministère de l'Agriculture).

Par contre à la date de rédaction du présent document, aucun OGM n'est autorisé à la culture pour le soja et la betterave à sucre. Cette situation peut évoluer et il est recommandé de vérifier sur le site Web de la CE, et dans le catalogue européen des variétés autorisées si des variétés sont autorisées à la culture, ce qui augmenterait les "risques" pour ces cultures.

5.1.1 Cas des semences de ferme

La semence de ferme est une source particulièrement importante de contamination. Il est fortement recommandé dans ce cas de procéder à divers tests de présence d'OGM.

Il est recommandé de

- procéder à des tests immunologiques sur feuilles en végétation (ex : test "Bt " bien qu'il n'y ait malheureusement pas, à la date de rédaction de ce document, de plan d'échantillonnage normalisé). Il est, dès lors, recommandé de tester les bordures du champ choisi pour la production de semences de ferme, mais aussi de tester des feuilles au-delà de la distance d'isolement : généralement 20 m à partir de la bordure pour du maïs, plus pour le colza, moins pour le soja. Ces deux dernières plantes n'ayant pas encore de variétés autorisées à la culture, il ne devrait normalement pas y avoir de plantes contaminées. Tout doute sérieux devrait conduire à faire effectuer un test PCR. Pour une proposition de plan d'échantillonnage voir les recommandations de contrôles au champ d'Arvalis - Institut du végétal (6.1).
- recueillir comme source de semences de ferme les graines à l'intérieur de parcelles particulièrement isolées des champs avoisinants, possiblement contaminants
- procéder à des tests immunologiques, voire PCR, en cas de doute après avoir effectué un échantillonnage approprié de préférence sur graines en mouvements (chargement ou déchargement), après une première homogénéisation, par exemple dans la benne du tracteur.

Il est à noter que l'industrie, et probablement certaines coopératives, effectue des tests PCR. Il peut dès lors y avoir une discordance entre les résultats des tests immunologiques et ceux des tests PCR.

5.1.2 Semences commerciales certifiées

Normalement, le GNIS SOC effectue des contrôles tant sur des lots que sur la qualité des méthodes de certification des semences. Ce travail sera effectué pour le compte du SOC par le laboratoire du BioGeves, dès que des seuils réglementaires de présence fortuite auront été décidés. En cas de doute, des tests immunologiques de détection des OGM autorisés sont disponibles. Mais les récentes condamnations de sociétés ayant fait de la publicité sur le caractère sans OGM de semences contenant de faibles taux d'OGM permettent de penser que les sociétés effectuent des tests corrects, et donc que l'étiquetage est fiable.

NB : les sociétés certificatrices tierces parties, comme Ecocert, Qualicert, etc, se chargent généralement de vérifier la qualité de ces contrôles pour l'agriculture biologique.

5.2 Contamination en culture

Comme toutes les cellules d'une plante, le pollen contient aussi le transgène. Une culture transgénique peut donc transmettre, par fécondation, le transgène (ou plusieurs dans le cas d'empilages de gènes) à des parcelles avoisinantes ou à des plantes sauvages apparentées. Dans le cas du maïs, le risque de féconder des plantes sauvages est nul car en Europe il n'y a pas de plantes apparentées, ce qui n'est pas le cas pour le colza ou la betterave à sucre par exemple. Toujours en ce qui concerne le maïs, les flux de pollen n'ont lieu que par le vent (pollinisation anémophile), contrairement à d'autres plantes comme le colza chez lesquelles la pollinisation se fait aussi grâce à des insectes (pollinisation entémophile). Une contamination OGM peut alors avoir lieu si un grain de pollen d'un plant de maïs OGM parvient à féconder un plant de maïs conventionnel, c'est la pollinisation croisée.

5.3 Facteurs de risques

Le risque de contamination dépend de plusieurs facteurs : le premier facteur est le type de pollinisation de l'espèce végétale concernée (le vent, direction et force dans le cas du maïs), les autres facteurs sont la possibilité ou non de décalage des périodes de floraison des cultures OGM et conventionnelles, la distance entre les deux parcelles et la forme respective des deux parcelles.

Dans le cas du pollen, le risque de contamination par des cultures avoisinantes est plus ou moins grand selon le type de pollinisation, la viabilité du pollen et sa forme.

Des études portant sur les contaminations au champ ont été réalisées en conditions de contamination facilitée [31] (vent dominant, floraison synchrone...) afin de maximiser le taux de fécondation croisée. Elles ont montré qu'à 100m d'un champ de maïs OGM on trouve 2 grains de pollen de maïs OGM viables pour 4000 grains de pollen non OGM, soit un taux de 0,05%. La fécondation croisée n'est donc pas un phénomène fréquent à cette distance, il faut cependant en tenir compte dans l'évaluation du risque de contamination.

5.3.1 Décalage de la floraison

Dans le cas de plantes dites "autogames", comme le soja, c'est-à-dire dont les ovules sont majoritairement fécondés par le pollen du même plant, il y a peu d'intérêt à se préoccuper de ce genre de technique. Les études actuelles portent sur le taux d'autogamie effectif de ces espèces (autogames à 90 ou 95 ou 99% ?).

Dans le cas du maïs, plante à fécondation dite allogame, le risque de pollinisation croisée est accru lorsque les plants de maïs OGM et non OGM fleurissent en même temps (floraison synchrone). Des études tendent à montrer qu'à partir de 10 jours de décalage entre la floraison des plantes OGM et conventionnelles le risque de fécondation croisée peut être considéré comme nul. Il est cependant parfois difficile d'évaluer ce temps de décalage si au sein du même champ tous les plants de maïs ne fleurissent pas simultanément.

Il est donc recommandé aux agriculteurs voisins choisissant des variétés OGM et non OGM de s'entendre pour choisir des variétés à floraison décalées ou de décaler d'au moins un ou deux jours, voire plus, les dates de semis.

Il est possible que les règles de co-existence françaises, inexistantes à la date de rédaction du présent document, diffèrent de ces valeurs. Il est recommandé de se renseigner auprès des conseillers agricoles.

5.3.2 Distance entre parcelles OGM et conventionnelle

Dans le cas du maïs, les règles de co-existence établies par la profession prévoient une distance de sécurité de 25m au-delà de laquelle le risque est estimé comme minime. Dans le cas d'une distance inférieure, la création de bordures tampons est alors nécessaire. Les bordures

tampons entourent le champ OGM, elles sont composées en général de 12 rangs de maïs conventionnel. Cela permet de gérer les flux de pollen dans les cas étudiés (empilages de gènes).

Il est possible que les règles de co-existence françaises, inexistantes à la date de rédaction du présent document, diffèrent de ces valeurs. Il est recommandé de se renseigner auprès des conseillers agricoles.

Dans certains pays comme l'Argentine, les bordures tampon requises pour le maïs sont de 300m. En cas de contrôles positifs en culture plus fréquents que prévus, la zone tampon peut être étendue à 600m. Il est vrai que les cahiers des charges des sociétés contractant les agriculteurs demandent un taux maximum de présence fortuite de 0,1%, ceci pour éviter tout problème de contrôle en Europe où le seuil d'étiquetage est de 0,9%. Les sociétés de certains pays de l'UE, comme la Hongrie, ont également proposé des règles de co-existence avec des distances tampon de 200m. La CE étudie actuellement ces dispositions pour déterminer si elles ne contreviennent pas à l'esprit de la recommandation sur la co-existence et à la législation européenne, en empêchant de facto les producteurs d'OGM de choisir leurs cultures.

5.3.3 Forme des parcelles

Lors d'études du programme POECB, il a été montré que les résultats de fécondation croisée au champ dépendent de la longueur en vis-à-vis (l/L) des parcelles OGM et conventionnelles et de la profondeur du champ conventionnel (P) (Figure 13).

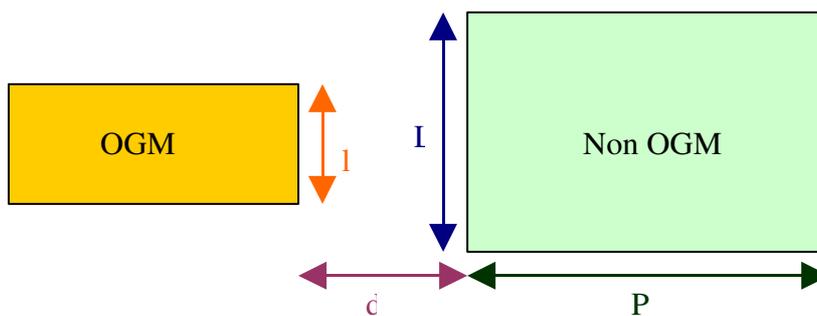


Figure 13. Parcelle conventionnelle et parcelle OGM

Si l'on évalue le risque sur une échelle de 0 (risque minimal) à 3 (risque maximal) on parvient au tableau suivant (le risque est indiqué par les chiffres rouges), dans la situation extrêmisée de situation de la parcelle conventionnelle située sous vent dominant :

	$d < 25$	$l > L$	$l < L$	$d > 25$	$l > L$	$l < L$
$P < 20$	3	2	2	2	1	1
$P > 20$	2	1	1	1	0	0

Figure 5. Évaluation du risque de contamination en fonction de d , P , l , et L

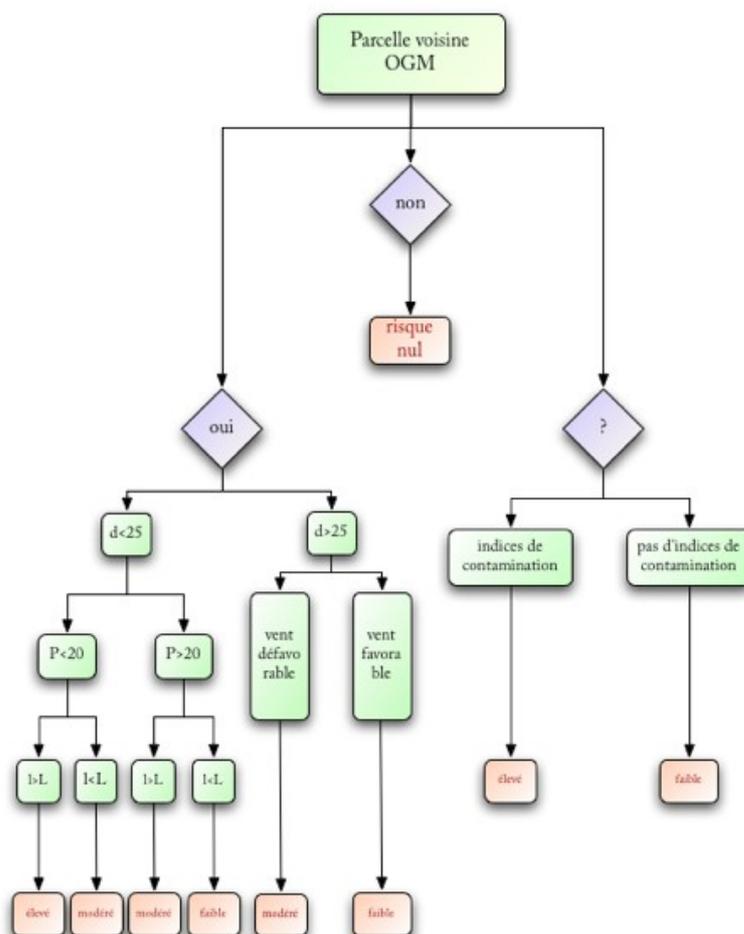
Figure 14. Évaluation du risque de contamination en fonction de d , l , L , P

Ainsi, selon le décalage de floraison et la configuration des parcelles OGM et non OGM les

risques différents. Avant de se décider à procéder à des analyses de détection de contamination, il convient de se demander si une telle démarche est vraiment nécessaire. C'est-à-dire si les risques sont assez élevés pour justifier les coûts d'analyse.

5.4 Arbre de décision

Afin de synthétiser les informations relatives à l'évaluation des risques de contamination, voici un arbre de décision très simplifié est proposé ci-dessous.



6 L'échantillonnage

L'échantillonnage est une étape clé de la détection OGM. En effet, celui-ci doit absolument être représentatif de la parcelle, du contenu d'un camion ou d'un silo. Ci-dessous sont décrites les méthodes d'échantillonnage au champ et du chargement d'un camion.

6.1 Échantillonnage au champ

Le taux de fécondation croisée d'une parcelle conventionnelle par un maïs OGM varie selon l'endroit où l'on se place au sein de cette parcelle. En effet, près d'un champ OGM, le taux de fécondation croisée est normalement beaucoup plus élevé que loin de ce champ. Lors de la récolte, tout est mélangé. Il s'agit donc de déterminer le taux de contamination moyen de la parcelle conventionnelle pour le comparer au seuil des 0,9% de présence fortuite autorisée. Il n'est donc pas du tout judicieux de ne réaliser des prélèvements qu'en bordure du champ OGM, car dans ce cas nous avons de fortes chances de rejeter une parcelle qui présente, en apparence lors du test, une présence fortuite d'OGM supérieure au seuil. Ce qui est faux si l'on considère l'ensemble de la parcelle. Inversement des vents tournoyants peuvent augmenter les taux de fécondation croisée sur une autre bordure.

Il n'existe pas de normalisation des méthodes d'échantillonnage au champ en ce qui concerne les OGM, ni d'ailleurs de prélèvements au champ en général. Cependant des méthodes sont utilisées dans les cahiers des charges des parties tierces certificatrices (ex : Bunge et Toepfer en Argentine) ou bien ont été testées par des organismes comme l'IRTA (Espagne). La procédure d'échantillonnage qui suit est proposée par Arvalis-Institut du Végétal, c'est une méthode qui dérive des travaux de Henry et al. (2003). Ce n'est pas une méthode normalisée.

Tout d'abord, neuf points de prélèvement sont déterminés : ils doivent être répartis sur la parcelle comme sur la figure 15.

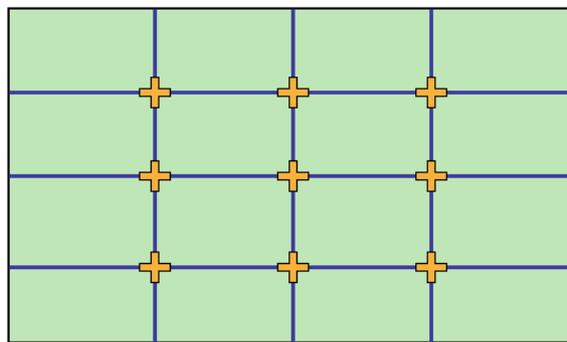


Figure 15. 9 points de prélèvements

Puis, 3 épis sont prélevés au niveau de chacun des 9 points. Les 3 épis doivent être pris sur 3 plants différents. Ceci permet donc de constituer un échantillon de 27 épis. Il faut ensuite égrainer tous les épis, bien mélanger tous les grains pour avoir un échantillon homogène. Il faut ensuite prélever la quantité dont on a besoin au sein de ce mélange : en général 3 kg pour une analyse PCR et 1 kg en ce qui concerne un *Strip test*.

6.2 À la benne, au silo

Il existe des procédures d'échantillonnage réglementaires pour le contrôle des mycotoxines [26]. Elles peuvent parfaitement être utilisées en ce qui concerne la détection de contamination OGM. Ces protocoles sont cependant très lourds techniquement et économiquement, les filières céréalières proposent des protocoles d'échantillonnage alternatifs, plus facilement réalisables et moins coûteux [17].

Sur camion, le protocole prévoit 3 ou 5 prélèvements, avec une sonde mécanique si possible, répartis comme suit :

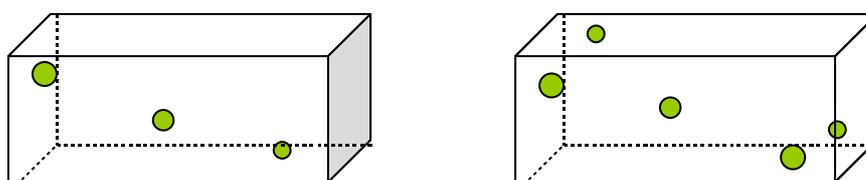


Figure 16. Prélèvements à la benne

Un kg de grains est pris au niveau de chaque point de prélèvement. L'idéal est de réaliser ce prélèvement grâce à une sonde pour pouvoir puiser les grains en profondeur. Puis, comme lors de l'échantillonnage au champ, les 3 ou 5 kg de grains ainsi obtenus sont soigneusement mélangés afin d'obtenir un échantillon homogène. Enfin, il faut prélever 1kg pour un *Strip test* ou 3 kg pour une analyse PCR dans l'échantillon.

Adresses utiles

Liste des laboratoires pouvant fournir des analyses de détection OGM.

LABORATOIRES PRIVÉS	
Adgène	19 rue de Beauvoir 14 220 THURY-HARCOURT Tel : 02 32 15 62 80 Fax : 02 32 15 62 85 Mail : info@adgenelab.com
AdourBioConseil	Route de Samadet 64410 ARZACQ Tél. : 05 59 04 49 20 Fax : 05 59 04 49 30 Mail : abioc@labo-abioc.fr
AGPM-GERM Services	21 chemin de Pau 64 121 MONTARDON Tel : 05 59 12 67 96 Mail : pilar.cambet@agpm.com
Ampligène	321 avenue Jean Jaurès 69362 LYON CEDEX 07 tel: +33 (0)4 72 76 16 00 fax: +33 (0)4 78 72 12 11 Mail : carso@carso.fr
Atlangène	Atlangene Applications 9 rue du Chêne Lassé BP273 F-44818 Saint Herblain Cedex Tel : +33 (0) 240 921 414 Fax : +33 (0) 240 920 506 info@atlangene.com
CAR Larebron	76, route du Rhin BP 70321 67411 Illkirch cedex Tél. 03 88 65 37 39 Fax. 03 88 65 37 40 email : larebron@car-analyse.com
Eurofins	Rue Pierre Adolphe Bobierre BP 42301 44323 Nantes Cedex 3 - France Tél. : + 33 (0)2 51 83 21 00 Fax : + 33 (0)2 51 83 21 11 e-mail : eurofinsFr@eurofins.com
IFRA	Laboratoire IFRA 38, rue de l'industrie BP 192, 67405-ILLKIRCH Cedex Tel: 03 88 66 77 70 Fax : 03 88 66 37 90 Mail : ifra@lemlabo.com

Lareal	Lareal BP 234 56 006 VANNES Cedex Tel : 02 97 48 49 80 Fax : 02 97 48 49 81
LCA Bordeaux	LCA Bordeaux 39 rue Michel Montaigne 33290 Blanquefort Tel : 05 56 35 58 60 Fax : 05 56 35 58 69 Mail : info-bordeaux@laboratoirelca.com
Phylogene	PHYLOGENE Espace innovation 2 Parc Georges Besse 110 allée Charles Babbage 30035 Nîmes Cedex tel : 04.66.04.77.99 fax : 04.66.04.77.97 Mail : contact@phylogene.com
Qualtech	Qualtech 7, rue du bois de la champelle BP 86 54 503 Vandoeuvre tel : 03 83 44 88 00
Silliker	SILLIKER SAS Immeuble le Mercury 1 rue de la croix des Maheux 95031 CERGY PONTOISE cedex Tél : 01 34 41 13 00 FAX : 01 34 41 13 11
SGS	SGS Multilab UT Biologie A l'attention de K. Lacotte-Bothelo ZI St Guemault 7 rue Jean Mermoz 91 031 EVRY COURCOURONNES tel : 01 69 36 68 71

Laboratoires de contrôle pouvant fournir des informations générales

DGCCRF	Trouver la DDCCRF de son département sur le site : http://www.finances.gouv.fr/DGCCRF/06_infospratiques/ddccrf.htm?ru=06
DGAL LNPV	251, rue de Vaugirard 75732 PARIS CEDEX 15 Tél. : 01-49-55-81-55 Fax : 01-49-55-59-49
BioGeves	Les différentes implantations du GEVES sont sur le site : http://www.geves.fr/rubrique.php?rub_id=84

Bibliographie

1. Brevet, NIR spectroscopy system and method for the identification of genetically modified grain
2. Conventional and GM Maize co-existence management from field to silo : a French initiative, F. Bénétrix, X. Foueillassar, B. Naïbo, Arvalis-Institut du Végétal
3. Des agriculteurs français cultivent du maïs OGM, PACB, AGPM Maiz'Europ'
4. Détection des OGM dans les produits alimentaires et normalisation, P. Philipp, J.F. Seyler, Y. Bertheau, 2000
5. Détection des OGM : du libre choix des consommateurs aux études de biovigilance, Y. Bertheau, A. Diolez, OCL Vol. 7, 2000
6. Détection des OGM, Manuel d'aide aux utilisateurs, H. ORSAT, ANIA, 2003
7. Détection et identification des OGM, Y. Bertheau, 1999
8. Detection Methods and Performance Criteria for Genetically Modified Organisms, Y. Bertheau, A. Diolez, Journal of AOAC International Vol. 85, No. 3, 2002
9. Detection of transgenes in GMOs, Y. Bertheau, A. Kobilinsky, Main features of viruses and the diseases they induce, 2005
10. Directive 2001/18/CE du Parlement Européen et du Conseil, 12 mars 2001
11. Figure 1, 2 et 3 : <http://education.assemblee-nationale.fr/site-jeunes/ogm/science/animation.asp>
12. Figure 4 : <http://www.managingdesire.org/gettingtested.html>
13. Figure 5 : Strip test commercialisé par la société américaine de diagnostic Strategy Diagnostics Incorporated (SDI, Newark, DE, USA)
14. Figure 9 : http://en.wikipedia.org/wiki/Polymerase_chain_reaction
15. Figure 12 : ENGL Explanatory Document in the use of "percentage of GM-DNA copy numbers in relation to target taxon specific DNA copy numbers calculated in terms of haploid genome" as a general unit to express the percent of GMOs, European Commission, ENGL
16. Guide de bonne conduite pour la culture du maïs Bt, AGPM
17. L'échantillonnage des céréales et des produits céréaliers, IRTAC, G. Véron-Délor, Stéphane Ardoli
18. Les organismes génétiquement modifiés risques et enjeux, Y. Bertheau, Colloque International Tunis 2003
19. OGM une nouvelle réglementation européenne, Y. Bertheau, Universalis, 2004
20. Organisation and costs of co-existence, F. Bénétrix, X. Foueillassar, A. Fabié, GMCC, 2005
21. Organismes génétiquement modifiés, C. Collonier, A. Kobilinsky, Y. Bertheau, 2005
22. Programme de recherche : Pertinence économique et faisabilité d'une filière « sans utilisation d'OGM », Y. Bertheau,
23. Questions and answers on the regulation of GMOs in the european union
24. Real Time Quantitative PCR, C.A. Heid, J. Stevens, K.J. Livak, P.M. Williams, Genome Res., 1996
25. Recommandation de la commission des communautés européennes du 23 juillet 2003
26. Règlement (CE) N° 401/2006 DE LA COMMISSION du 23 février 2006 portant fixation de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en mycotoxines des denrées alimentaires
27. Régulation No 178/2002 du Parlement Européen et du Conseil, 28 juin 2002
28. Régulation No 258/97 du Parlement Européen et du Conseil, 27 janvier 1997
29. Régulation No 1829/2003 du Parlement Européen et du Conseil, 22 septembre 2003

30. Régulation No 1830/2003 du Parlement Européen et du Conseil, 22 septembre 2003
31. Variation of viability and fecundation capacity of maize pollen with transport distance, X. Foueillassar, A. Audran, L. Tardieu, B. Loubet, Y. Brunet
32. Waxy maize production, an experiment evaluating the co-existence of GM and conventional maize, X. Foueillassar, A. Fabié, Arvalis-Institut du Végétal

Lexique

Amplicon : produit (fragment d'ADN) résultant d'une PCR

Biolistique : Technique de transformation génétique directe faisant appel à un canon à particules

Criblage : Tri ou sélection grâce à un critère spécifique d'individus au sein d'une population

Directive européenne : En droit communautaire (droit de l'Union européenne), la directive lie tout Etat membre destinataire quant au résultat à atteindre, tout en lui laissant la compétence quant à la forme et aux moyens; en d'autres termes, la directive est un texte adopté au niveau de l'Union européenne qui fixe des règles que les États membres doivent inclure dans leur législation interne (on parle de « transposition » en droit national).

Gène : Élément d'information héréditaire situé sur un chromosome en un locus donné

Insert : séquence d'ADN étranger introduite dans une molécule d'ADN donnée

Plasmide :

Promoteur : Courte séquence d'ADN nécessaire à l'initiation de la transcription, le plus souvent située en amont de la partie transcrite des gènes et sur lequel vont venir se fixer les facteurs de transcription

Règlement européen : Le règlement est un acte juridique communautaire. De portée générale, il est obligatoire dans toutes ses dispositions : les États membres sont tenus de les appliquer telles qu'elles sont définies par le règlement. Le règlement est donc directement applicable dans l'ordre juridique des États membres. Seules les mesures prévues par le règlement peuvent être prises par les autorités des États membres.

Termineur : séquence d'ADN, le plus souvent en aval d'un gène, permettant la fin de la transcription

Transgène : un gène transféré dans le génome d'un organisme vivant, il lui est étranger et lui permet d'exprimer dans son phénotype un caractère particulier

Liste des abréviations

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

DGAL : Direction générale de l'alimentation

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ENGL : European Network of GMO Laboratories

ESPS : 5-pyruvylshikimate-3-phosphate synthase

GNIS : Groupement National Interprofessionnel des Semences

IRTA : Institut de Recerca y Tecnologia Agralimentàries

ISO : International Standards Organization

NIR : Near InfraRed spectroscopy

OGM : Organisme Génétiquement modifié

PAT : phosphinothricin N-acétyltransférase

PCR : Polymerase Chain Reaction

SDQPV : sous direction de la qualité et de la protection des végétaux

SOC : Service Officiel de Contrôle

Annexe 1 : Liste des OGM autorisés en France

Vous pouvez trouver cette liste, régulièrement mise à jour, à l'adresse suivante :

http://ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm

Newly authorised products, entered in the Community Register of GM Food and Feed.

Transformation event	Authorisation holder	Date of authorisation	Designation	Unique ID
Bt11	Syngenta Seeds BV	19-05-2004	Sweet maize, fresh or canned	SYN-BT 011-1
NK603	Monsanto Europe S.A.	26-10-2004	Foods and food ingredients derived from genetically modified maize	MON-00603-6
MON863	Monsanto Europe S.A.	13-01-2006	Foods and food ingredients derived from genetically modified maize	MON-00863-5
GA21	Monsanto Europe S.A.	13-01-2006	Foods and food ingredients derived from genetically modified maize	MON-00021-9
DAS1507	Pioneer Overseas Corporation	03-03-2006	Foods and food ingredients containing, consisting, or produced from genetically modified maize	DAS-01507-1

Transformation event	Notifier	Date of notification	Designation	Unique ID
MON810	Monsanto Services International S.A./N.V.	12-07-2004	Insect-protected maize line MON 810	MON-00810-6
MON 863	Monsanto Services International S.A./N.V.	12-07-2004	Rootworm resistant maize MON 863 generated by transformation of <i>Zea mays</i>	MON-00863-5
MON 40-3-2	Monsanto Services International S.A./N.V.	13-07-2004	Glyphosate-tolerant soyabean 40-3-2	MON-04032-6
NK 603	Monsanto Services International S.A./N.V.	14-07-2004	Glyphosate tolerant NK 603 maize	MON-00603-6
NK 603 X MON 810	Monsanto Services International S.A./N.V.	15-07-2004	Hybrid maize NK603 X MON810 tolerant to glyphosate (NK603) and resistant to lepidopteran larvae of <i>Sesamia</i> spp. and <i>Ostrinia nubilalis</i> (MON810)	MON-00603-6 x MON-00810-6
DAS1507	Pioneer Overseas Corporation	19-08-2004	Maize line 1507, with resistance to the European corn borer and certain other lepidopteran pests and with tolerance to the herbicide glufosinate-ammonium	DAS-01507-1
GT 73	Monsanto Services International S.A./N.V.	31-08-2004	Oilseed rape (<i>Brassica napus</i> L.), with tolerance to the herbicide glyphosate	MON-00073-7
MON 1445	Monsanto Services International S.A./N.V.	23-09-2004	Cotton (<i>Gossypium hirsutum</i>) cultivar Coker 312, transformed using plasmid PV-GHGT07 to be provided with the resistance to glyphosate trait	MON-01445-2
MON 531	Monsanto Services International S.A./N.V.	23-09-2004	Cotton (<i>Gossypium hirsutum</i>) cultivar Coker 312, transformed using plasmid PV-GHBK04 to be provided with insect resistance trait	MON-00531-6
T25	Bayer CropScience GmbH	01-10-2004	Maize (<i>Zea mays</i> L.) with increased glufosinate ammonium tolerance	ACS-ZM003-2
MON 531 X MON 1445	Monsanto Services International S.A./N.V.	04-10-2004	Cotton hybrid MON531 x MON 1445 is produced to combine insect resistance trait (MON 531) with resistance to glyphosate trait (MON 1445).	MON-00531-6 x MON-01445-2
GA 21	Monsanto Services International S.A./N.V.	04-10-2004		MON-00021-9
Bt 11	Syngenta Crop Protection AG, Basel Switzerland and all affiliated companies	04-10-2004	Maize line Bt11	SYN-BT 011-1
Bt176 maize	Syngenta Crop Protection AG, Basel Switzerland and all affiliated companies	04-10-2004	Maize line (<i>Zea mays</i> L.) with the combined modification for insecticide properties conferred by the Bt-endotoxin gene and increased tolerance to the herbicide glufosinate ammonium	SYN-EV176-9
MS8, RF3, MS8 X RF3	Bayer CropScience GmbH	05-10-2004	Hybrid swede-rape (<i>Brassica napus</i> L. <i>oleifera</i> Metzg.) derived from crosses using: (a) the progeny of the male sterile swede-rape line MS8 (b) the progeny of the fertility restoration swede-rape line RF3	ACS-BN005-8 ACS-BN003-6 ACS-BN005-8 x ACS-BN003-6

GA 21	Monsanto Services International S.A./N.V.	04-10-2004		MON-00021-9
Bt 11	Syngenta Crop Protection AG, Basel Switzerland and all affiliated companies	04-10-2004	Maize line Bt11	SYN-BT 011-1
Bt176 maize	Syngenta Crop Protection AG, Basel Switzerland and all affiliated companies	04-10-2004	Maize line (<i>Zea mays</i> L.) with the combined modification for insecticide properties conferred by the Bt-endotoxin gene and increased tolerance to the herbicide glufosinate ammonium	SYN-EV176-9
MS8, RF3, MS8 X RF3	Bayer CropScience GmbH	05-10-2004	Hybrid swede-rape (<i>Brassica napus</i> L. <i>oleifera</i> Metzg.) derived from crosses using: (a) the progeny of the male sterile swede-rape line MS8 (b) the progeny of the fertility restoration swede-rape line RF3	ACS-BN005-8 ACS-BN003-6 ACS-BN005-8 x ACS-BN003-6
GA21 X MON 810	Monsanto Services International S.A./N.V.	06-10-2004	Hybrid maize GA21 x MON 810 produced to combine insect-protection (MON810) and increased tolerance to the herbicide glyphosate (GA21)	MON-00021-9 x MON-00810-6
MS1, RF1, MS1 X RF1	Bayer CropScience GmbH	07-10-2004	Hybrid swede-rape (<i>Brassica napus</i> L. <i>oleifera</i> Metzg.) derived from crosses using: a) the progeny of the male sterile swede-rape line MS1 (B91-4) cultivar Drakkar b) the progeny of the fertility restoration swede-rape line RF1 (B93-101) cultivar Drakkar	ACS-BN004-7 ACS-BN001-4 ACS-BN004-7xACS-BN001-4
MS1, RF2, MS1 X RF2	Bayer CropScience GmbH	08-10-2004	Hybrid swede-rape (<i>Brassica napus</i> L. <i>oleifera</i> Metzg.) derived from crosses using: a) the progeny of the male sterile swede-rape line MS1 (B91-4) cultivar Drakkar b) the progeny of the fertility restoration swede-rape line RF2 (B94-2) cultivar Drakkar	ACS-BN004-7 ACS-BN002-5 ACS-BN004-7xACS-BN002-5
TOPAS 19/2	Bayer CropScience GmbH	11-10-2004	Canola (<i>Brassica napus</i> L. <i>spp. oleifera</i>) derived from crosses between non-genetically modified swede rape and a line resulting from transformation event Topas 19/2	ACS-BN007-1
MON863 X MON810	Monsanto Services International S.A./N.V.	11-10-2004	Maize hybrid MON863 x MON810 produced by conventional breeding to combine the rootworm resistance trait in MON 863 with the lepidopteran insect resistance trait present in GM maize, MON 810	MON-00863-5 x MON-00810-6
pMT742 or pAK729-Yeast biomass	NOVO Nordisk A/S	12-10-2004	NOVO Yeast Cream is a product produced from genetically modified yeast strains (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) cultivated on substrates of vegetable origin	Not applicable
T45	Bayer CropScience GmbH	13-10-2004	Oilseed rape transformation event T45 modified to be tolerant to the non-selective herbicide Liberty®	ACS-BN008-2
MON863 X MON603	Monsanto Services International S.A./N.V.	13-10-2004	Hybrid maize MON863 x NK603 produced by conventional breeding to combine the rootworm resistance trait in MON 863 and glyphosate resistance trait in NK603	MON-00863-5 x MON-00603-6
MON15985	Monsanto Services International S.A./N.V.	14-10-2004	Insect-protected cotton containing event 15985 was developed from cotton line 531	MON-15985-7
MON15985 X MON1445	Monsanto Services International S.A./N.V.	14-10-2004	Cotton hybrid MON15985 x MON1445 is produced to combine insect resistance trait (MON 15985) with resistance to glyphosate trait (MON 1445).	MON-15985-7 x MON-01445-2
pCABL- Bacterial biomass	Ajinomoto Eurolysine SAS	18-10-2004	Bacterial protein, by-product from the production by fermentation of L-Lysine HCl obtained from (<i>Brevibacterium lactofermentum</i>) the recovered killed microorganisms	Not applicable

Annexe 2 : Quelques *Strip Tests* actuellement commercialisés

Matrice	OGM Cible	Cible protéique
ENVIROLOGIX		
EnviroLogix Inc. - 500 Riverside Industrial Parkway - Portland, Maine 04103-1486-USA Tel : 1-207-797-0300 Fax : 1-207-797-7533 E-mail : info@envirollogix.com		
grains, tissu plante	YieldGard	Cry 3Bb
grains, tissu plante	Roundup Ready	CP4 EPSPS
grains, tissu plante	Herculex I	Cry 1F
feuilles	YieldGard Plus	Cry 1Ab, Cry 3Bb
grains, feuilles	StarLink	Cry 9C
grains	Roundup Ready, YieldGard, Starlink, LibertyLink, Herculex	Cry 1Ab/Bt11, Cry 9C, Event 603, Cry 3Bb, Cry 1F, T25
grains, feuilles	LibertyLink	PAT/pat
grains	Roundup Ready	CP4 EPSPS
grains	Yieldgard (Mon810 and Bt11)	Cry 1Ab
feuilles	Agrisure™ RW	modified Cry 3A
grains, tissu plante	Yieldgard (Mon810 and Bt1); Naturegard, Knockout (Bt176)	Cry 1Ab
grains, feuilles	HERCULEX™ RW	Cry 34Ab1
Neogen		
Neogen Europe Limited - Cunningham Building – Auchincruive - Ayr , KA6 5HW - Scotland, UK Tel : ++ 44 1292 525 275 Fax : ++ 44 1292 525 477 E-mail : info@neogeneurope.com		
grains	Roundup Ready	CP4 EPSPS
Strategic Diagnostic (Strip tests Trait Check™)		
Strategic Diagnostics Inc. Europe Contact: Carole Radcliffe Unit 29, Murrell Green Business Pk. - London Road, Hook, Hampshire RG27 9GR U.K. Tel +44 (0) 1256 763030 Fax +44 (0) 1256 763020 Email: europe@sdix.com		
grains	Roundup Ready	CP4 EPSPS
grains	Starlink	Cry9c
grains	Herculex I	Cry1F
grains	Yieldgard (Mon810 and Bt11)	Cry1Ab
feuilles, cotylédons	Yieldgard (Mon810 and Bt11)	Cry1Ab
grains	YieldGard	Cry 3Bb
grains	LibertyLink	PAT
grains	Yieldgard (Mon810) Liberty Link	Cry1Ab PAT
grains	LibertyLink Aventis (T25)	PAT
grains	Roundup Ready, YieldGard (Mon810 and Bt11)	CP4 EPSPS Cry3Bb Cry1Ab
grains	Starlink (CBH351) Round UP Ready YieldGard LibertyLink (T25) Herculex I (TC1507)	Cry9c CP4 ESPS Cry3Bb Cry1Ab PAT Cry1F