

POUR UNE GESTION ÉTHIQUE DES OGM

Novembre 2003

Document complémentaire:

LES MODIFICATIONS GÉNÉTIQUES CHEZ LES MICROORGANISMES

Isabelle Boucher

Août 2002



**Les modifications génétiques
chez les microorganismes**

**par
Isabelle Boucher, M.Sc.**

**Pour la Commission de l'éthique de la science
et de la technologie**

Dans le cadre de la préparation de son avis

Pour une gestion éthique des OGM

août 2002

AVANT-PROPOS

La présente étude s'inscrit dans le cadre des travaux réalisés pour la préparation de l'avis de la Commission de l'éthique de la science et de la technologie : *Pour une gestion éthique des OGM* (2003).

Afin d'enrichir sa réflexion, la Commission a commandé à des partenaires du milieu universitaire (professeurs ou étudiants des cycles supérieurs) des études sur différents thèmes de la problématique des OGM : la transgénèse, le financement de la recherche, les représentations spirituelles et culturelles, les médias et l'alimentation.

Les études suivantes font donc partie des documents complémentaires à l'avis de la Commission qui sont déposés sur le site Internet de la Commission en guise de complément d'information (<http://www.ethique.gouv.qc.ca>) :

- **Isabelle Boucher** : « Les modifications génétiques chez les microorganismes »
- **Éric Dion** : « OGM végétaux »
- **Jean-François Sénéchal** : « Vue d'ensemble des techniques usuelles en transgénèse animale » et « Est-il possible de faire... sans la transgénèse? »
- **Guillaume Lavallée** : « Financement de la recherche dans le secteur des biotechnologies : le cas des OGM »
- **Jose Lopez Arellano** : « Les représentations véhiculées dans la culture amérindienne du Québec en ce qui a trait à l'alimentation, aux organismes génétiquement modifiés (OGM) et aux transformations que l'humain peut apporter à la nature »
- **André Beauchamp**¹ : « Le christianisme et les OGM »
- **Mikhaël Elbaz**, en collaboration avec **Ruth Murbach** : « Cuisine de Dieu – aliments profanes. Prohibitions alimentaires du judaïsme, organismes génétiquement modifiés et enjeux éthiques »
- **Charles-Anica Endo** : « Le bouddhisme et les OGM »
- **Ali Maarabouni** : « L'islam et les OGM »
- **Richard Lair et Alain Létourneau** : « Rapport de recherche sur la couverture médiatique au Québec en matière d'alimentation et d'OGM »

La CEST tient à souligner que le contenu de ces différentes études n'engage pas sa responsabilité comme organisme consultatif. Il lui apparaît cependant important de rendre ces documents publics afin d'en faire bénéficier les lecteurs qui souhaiteront explorer davantage quelques-uns des thèmes abordés dans l'avis de la Commission.

La Commission remercie les auteurs de ces études pour leur contribution à ses travaux.

1. À titre de théologien, le président de la Commission a gracieusement fourni ce texte sur le christianisme.

TABLE DES MATIERES

1. Contexte	1
1.1 Bactéries et levures	1
1.2 Génération de variations génétiques chez les microorganismes	2
1.3 Acquisition de nouveau matériel génétique chez les bactéries.....	2
1.4 L'ingénierie génétique	3
2. Comparaison des différentes techniques utilisables pour la modification génétique des microorganismes	6
3. Typologie de l'utilisation des microorganismes génétiquement modifiés	7
4. Bénéfices vs risques courus	8
5. Classification des OGM microbiens	9
Annexe 1 – Résumé des lignes directrices relatives à l'évaluation de l'innocuité des aliments nouveaux de Santé Canada (1994) concernant les microorganismes et plantes modifiés génétiquement	12

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Techniques utilisées afin de générer des modifications génétiques chez les microorganismes

Tableau 2 : Classification des OGM microbiens en fonction des typologies de leur usage et de leur finalité

1. Contexte

Les cellules animales et végétales ne sont généralement pas utilisées pour la biosynthèse de composés d'intérêt vu la complexité de leur culture et les coûts de production élevés qui en découlent. Par ailleurs, plutôt que de tenter l'extraction de quantités limitées d'une molécule à partir de cultures cellulaires animales ou végétales, les gènes nécessaires à leur production peuvent être transférés dans une cellule bactérienne, dont la culture permettra d'en isoler des quantités illimitées.

Bien que la production de microorganismes modifiés génétiquement à une échelle commerciale concerne principalement la culture de bactéries, les champignons microscopiques, particulièrement les levures, sont aussi utilisés comme bioréacteurs industriels. Le présent document mettra donc l'accent sur l'utilisation de ces deux types d'organismes à des fins biotechnologiques. La modification génétique de microorganismes comme les protozoaires et les virus est également en développement et vise surtout l'élaboration d'outils de thérapie génique. Dans cette situation, le microorganisme sert plutôt de vecteur pour la modification du patrimoine génétique de son hôte.

1.1 Bactéries et levures

Les bactéries sont les organismes autonomes les plus simples qui soient connus. Leurs capacités métaboliques extrêmement diversifiées ainsi que la facilité d'obtenir rapidement des cultures contenant un nombre très élevé d'individus ont fait des bactéries des outils biologiques aux applications variées. La plupart des bactéries existent sous forme unicellulaire et contiennent moins d'information génétique que le moins élaboré des eucaryotes. À part quelques exceptions, les bactéries se multiplient par fission binaire (généralement toutes les quelques minutes à quelques heures) et le matériel génétique du parent original est passé à tous les descendants successifs. Les bactéries ne présentent pas de véritable cycle cellulaire. Dans des conditions théoriques sans limitation ou modification des nutriments disponibles, la croissance et la division des cellules pourraient se poursuivre indéfiniment. Toute l'information génétique jugée nécessaire à la survie cellulaire est généralement organisée sur un seul chromosome circulaire de quelques millions de paires de bases. D'autres molécules d'ADN accessoires, stables et se répliquant de façon autonome, les plasmides, sont retrouvées chez les bactéries et ont d'ailleurs servi de base à l'élaboration d'outils de biologie moléculaire variés et adaptés à diverses applications.

Les levures sont des organismes unicellulaires qui se comportent à bien des égards comme des bactéries. Bien que la levure soit capable de reproduction sexuée, les cellules se multiplient généralement de façon végétative par bourgeonnement avec un temps de dédoublement de quelques heures sur les milieux de croissance usuels. Son cycle cellulaire comprend des stades haploïde et diploïde. Les levures croissent sous forme de cellules isolées en culture liquide et forment des colonies sur milieu solide, tout comme les bactéries. Le bagage génétique des levures contient environ cinq fois plus de bases que le génome bactérien, réparties en plusieurs chromosomes.

1.2 Génération de variations génétiques chez les microorganismes

Deux types d'événements générant la variation génétique sont connus chez les microorganismes. Tout d'abord, des mutations occasionnent des changements dans la séquence d'ADN. En second lieu, le processus de recombinaison entre deux séquences d'ADN homologues engendre de nouvelles combinaisons génétiques.

Les mutations peuvent être simples et ne concerner que le changement d'une base dans l'ADN, se limitant à la modification d'une seule protéine qui se traduira par des effets phénotypiques correspondants. Des mutations plus complexes peuvent également intervenir à une plus grande échelle par délétion, insertion, duplication ou réarrangement de l'ADN, entraînant des variations phénotypiques plus vastes qui peuvent aller jusqu'à l'apparition ou à la disparition de voies métaboliques entières. La propriété de mobilité de certains éléments d'ADN, les transposons, ainsi que la perte ou l'acquisition de plasmides peuvent aussi engendrer des changements phénotypiques d'importance variable.

Les mutations peuvent avoir lieu de façon spontanée ou être induites. Les mutations spontanées résultent principalement d'erreurs lors de la réplication de l'ADN et ce phénomène peut s'avérer utile ou néfaste ou encore n'introduire aucune manifestation phénotypique. Le taux de mutation spontanée chez les microorganismes varie généralement entre 10^{-9} et 10^{-5} . Le traitement de l'ADN avec des agents chimiques (agents désaminant, oxydant, alkylant ou intercalant, analogues de bases) ou physiques (rayons ultraviolets ou radiations ionisantes) peut de son côté induire la mutagenèse avec une efficacité accrue et certains de ces agents ne vont agir que sur un type spécifique de bases.

Afin d'obtenir un mutant, des techniques d'enrichissement sélectif doivent être utilisées. Lorsqu'une mutation survient en présence d'une pression de sélection, les mutants les plus performants dans les conditions utilisées seront favorisés, vont se multiplier plus activement et envahir la culture.

L'avènement de la technologie de l'ADN recombinant a toutefois permis d'envisager l'altération des génomes à des sites particuliers de façon à créer des mutations spécifiques. Cette mutagenèse dite dirigée, qui implique une recombinaison entre séquences d'ADN homologues, suppose la caractérisation de la région d'ADN ciblée pour la mutagenèse ainsi que l'utilisation de molécules recombinantes afin d'inactiver spécifiquement un gène ou de le remplacer par une allèle modifiée.

Par ailleurs, la recombinaison est un processus conduisant à l'émergence de nouveaux génotypes par l'échange de matériel génétique, généralement entre deux chromosomes homologues qui présentent des séquences similaires bien que non identiques. Chez les bactéries, la présence d'un seul chromosome par cellule implique toutefois l'acquisition de nouveau matériel génétique avant qu'un événement de recombinaison puisse prendre place.

1.3 Acquisition de nouveau matériel génétique chez les bactéries

En plus de voir leur évolution dirigée par l'émergence de mutations, les bactéries ont la capacité d'acquérir de l'information génétique nouvelle de plusieurs manières. L'efficacité relative des différentes méthodes varie selon l'espèce. Trois principaux mécanismes de transfert génétique sont connus chez

les bactéries. Il existe un potentiel relativement élevé de transfert d'ADN par ces mécanismes dans l'environnement, particulièrement lorsque les populations microbiennes sont de forte densité.

- **La transformation (ou transfection)** est un processus impliquant l'absorption d'ADN libre par une cellule réceptrice dite compétente. Seules certaines espèces bactériennes sont reconnues pour leur transformabilité. Dans la nature, l'ADN incorporé peut provenir de cellules mortes lysées.
- **La conjugaison** est un processus impliquant un contact direct entre une cellule donneuse exprimant des facteurs de conjugaison et une cellule réceptrice compatible. Dans certains cas, seul l'ADN plasmidique peut être transféré par conjugaison. Dans d'autres cas, des portions du chromosome ou même le chromosome en entier peuvent être transférées.
- **La transduction** est un processus impliquant le transfert d'ADN d'une cellule à une autre par l'entremise de virus bactériens, les bactériophages. La transduction peut être généralisée (des fragments de l'ADN de la cellule donneuse sont accidentellement incorporés dans la structure du bactériophage en lieu et place du génome viral et transmis à d'autres cellules) ou spécialisée (le génome d'un bactériophage est intégré au chromosome bactérien à un site précis et son excision se fait de concert avec des gènes bactériens adjacents au site d'intégration qui seront répliqués et transmis avec le génome viral).

1.4 L'ingénierie génétique

Jusqu'à l'avènement de la technologie de l'ADN recombinant dans les années 1970, l'obtention de mutants présentant des caractéristiques spécifiques exploitait principalement la mutagenèse aléatoire spontanée. Le génie génétique, qui concerne principalement la possibilité de manipuler les biomolécules *in vitro*, a permis d'améliorer la facilité d'obtention de mutants et de cibler les mutations désirées.

Les vecteurs utilisés en biologie moléculaire sont essentiellement dérivés des plasmides bactériens, qui se comportent comme de mini chromosomes. Plusieurs bactériophages ont été décrits, étudiés et exploités à des fins biotechnologiques. Des éléments d'ADN mobile, les transposons, sont également utilisés afin d'étudier et de modifier les génomes bactériens. Rapidement, ces vecteurs naturels ont été adaptés aux subtilités de leur utilisation. Des marqueurs de sélection (principalement des gènes de résistance aux antibiotiques) y ont été ajoutés, permettant de repérer aisément les bactéries modifiées. Des séquences pour l'expression des gènes clonés dans différents hôtes bactériens ainsi que chez les mycètes, dans des cellules végétales et des cellules animales y ont été insérées. Pour certaines applications, le vecteur a été élaboré afin de s'intégrer au génome de l'hôte et son utilisation peut parfois permettre de n'y laisser que l'ADN qui y a été cloné.

Dans la plupart des cas, les modifications obtenues par génie génétique concernent l'insertion d'un ou de plusieurs gènes sous le contrôle des éléments régulateurs appropriés dans un vecteur plasmidique et chez un hôte sélectionné pour ses propriétés (facilité de manipulation, production d'une grande quantité d'une molécule d'intérêt, autres propriétés métaboliques appropriées, capacité de coloniser un environnement particulier, etc).

Tous les mécanismes d'acquisition de nouveau matériel génétique chez les bactéries peuvent être exploités afin de générer des variants génétiquement modifiés. Chez la levure, diverses techniques de transfection ont été mises au point afin d'y introduire de l'ADN. Le seul plasmide de levure connu a servi de base à plusieurs vecteurs utilisés afin d'y insérer des molécules recombinantes. Certains de ces vecteurs contiennent des fragments du génome de levure permettant une réplication autonome. De plus, des fragments d'ADN peuvent être directement insérés dans la levure et se réarranger avec des régions homologues du génome cellulaire par un processus de recombinaison ou s'y intégrer au hasard; il en résulte une transformation permanente et spécifique d'un site, indépendante du maintien du vecteur. Ainsi, des cellules de levure peuvent être transformées de façon permanente par des molécules recombinantes incapables de s'y répliquer.

Tableau 1. Techniques utilisées afin de générer des modifications génétiques chez les microorganismes

<u>Non recombinante</u>	<u>Recombinante</u>
Mutagenèse	
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Aléatoire <ul style="list-style-type: none"> • spontanée • induite 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Dirigée
Conjugaison	
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Éléments conjugatifs naturels <ul style="list-style-type: none"> • chromosome (conjugaison partielle ou totale) • plasmide conjugatif • transposon conjugatif 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Éléments conjugatifs recombinants
Transduction	
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Bactériophages naturels <ul style="list-style-type: none"> • transduction généralisée • transduction spécialisée 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Bactériophages recombinants
Transformation/transfection	
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Molécules d'ADN naturelles <ul style="list-style-type: none"> • induction de la compétence naturelle • production de sphéroplastes • électroporation • traitement chimique 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Molécules d'ADN recombinantes

2. Comparaison des différentes techniques utilisables pour la modification génétique des microorganismes

Les modifications génétiques surviennent naturellement à de faibles fréquences. La sélection de variants modifiés par des techniques ne faisant pas intervenir de molécules d'ADN recombinantes est donc fastidieuse et repose sur la disponibilité de protocoles d'enrichissement propres au phénotype recherché.

L'avantage général des techniques de génie génétique concerne donc la possibilité de :

- n'introduire que des modifications extrêmement ciblées de façon à obtenir des mutants ayant une caractéristique précise;
- moduler l'expression de l'ADN introduit en fonction des phénotypes recherchés;
- sélectionner les mutants à l'aide de marqueurs efficaces;
- créer de nouveaux gènes codant pour des protéines nouvelles.

Le choix d'une technique visant à modifier le bagage génétique d'un organisme dépendra des applications prévues, de la nature des modifications phénotypiques visées, de l'organisme à modifier et des données disponibles concernant cet organisme (séquences d'ADN, protocoles adaptés, etc). D'une façon générale, les techniques disponibles se comparent de la façon qui suit.

- **Mutagenèse** : L'utilisation d'un agent mutagène augmente la fréquence d'apparition de mutants. L'agent mutagène peut être sélectionné de façon à favoriser des changements ne concernant qu'un type de base particulier. La distribution spatiale des mutations conduisant à un changement phénotypique n'est pas aléatoire : il existe des points chauds, plus susceptibles d'être l'objet de changements. Les mutations ponctuelles sont réversibles. Plusieurs changements génotypiques concomitants peuvent être obtenus, désirables ou non. La mutagenèse aléatoire est une technique intéressante dans le cas où un phénotype particulier est désiré, alors que les modifications génétiques requises pour l'obtenir demeurent incertaines et qu'une méthode d'enrichissement des mutants recherchés est facilement envisageable. À l'opposé, la mutagenèse dirigée nécessite la caractérisation préalable de l'ADN à modifier et on l'utilisera afin d'inactiver un gène ou de le remplacer par une allèle modifiée. Cette technique sera donc employée afin de créer des protéines nouvelles répondant aux besoins d'application précises.
- **Conjugaison** : Un organisme donneur et un organisme receveur compatibles doivent être disponibles afin de conjuguer de l'ADN. Tous les ADN ne sont pas conjugables. Plusieurs kilobases d'ADN peuvent être transférées et plusieurs changements phénotypiques concomitants peuvent être obtenus, souhaitables ou non.
- **Transduction** : La relation hôte-phage est généralement très spécifique. Ainsi, un bactériophage n'est pas nécessairement disponible pour la modification d'une souche particulière. De plus, la transduction nécessite l'utilisation de bactériophages tempérés, dont le génome s'intègre à celui de leur hôte sans en affecter la viabilité. Or, tous les bactériophages ne sont pas tempérés.
- **Transformation/transfection** : La compétence naturelle des cellules à acquérir de l'ADN doit être induite. Alternativement, les cellules peuvent être traitées afin de rendre leur membrane

perméable à l'ADN. Selon le cas, l'ADN linéaire ou circulaire peut être incorporé dans des cellules compétentes. Des méthodes visant à rendre des cellules compétentes ne sont cependant pas connues chez tous les organismes. Certains organismes sont difficilement transformables à l'aide des techniques connues, voire pas du tout.

3. Typologie de l'utilisation des microorganismes génétiquement modifiés

D'une façon générale, des microorganismes génétiquement modifiés sont élaborés en vue de deux types d'utilisations :

a) Production d'une molécule purifiée. Le microorganisme est utilisé comme bioréacteur et ne se retrouve pas dans la formulation finale du produit. La plupart des microorganismes OGM répertoriés entrent dans cette catégorie. Les molécules ainsi purifiées sont principalement de deux types :

- ❖ Molécule d'ADN pour la création subséquente d'un autre organisme transgénique (mycète, plante, animal, virus...).
- ❖ Autre molécule d'intérêt, en fonction de la typologie des finalités :
 - production de connaissances;
 - usage médico-pharmaceutique;
 - produit à valeur ajoutée;
 - amélioration des modes de production;
 - protection de l'environnement;
 - production d'autres bioproduits.

b) Exploitation *in situ*. Les propriétés intrinsèques du microorganisme sont altérées en vue d'une exploitation *in situ* à des fins diverses, en fonction de la même typologie des finalités :

- production de connaissances;
- usage médico-pharmaceutique;
- produit à valeur ajoutée;
- amélioration des modes de production;
- protection de l'environnement.

4. Bénéfices vs risques courus

D'une façon générale, les microorganismes issus de l'ingénierie génétique présentent l'avantage d'être des outils versatiles pour la manipulation de gènes et pour la préparation de molécules recombinantes lors de la création d'autres OGM (végétaux, animaux). Ce sont également des bioréacteurs importants

pour la production de composés naturels ou la création de nouveaux composés répondant à des exigences précises, et ce, pour plusieurs secteurs d'activité.

Les risques associés à l'exploitation des microorganismes génétiquement modifiés sont relativement théoriques, sauf en ce qui concerne le transfert de la résistance aux antibiotiques (au moyen des marqueurs de sélection utilisés pour le clonage ou le transfert de résistances naturelles), qui est un phénomène répertorié et faisant même l'objet d'une surveillance.

- a) **Dans le cas où le microorganisme est modifié dans une optique de production d'une biomolécule purifiée.** Les risques courus semblent minimes : en théorie, l'organisme en lui-même ne se trouvera jamais en contact avec le consommateur ni libre dans l'environnement. Les précautions de confinement liées à la manipulation des microorganismes ainsi que l'assurance de leur absence du produit fini pourraient assurer une gestion du risque associé à leur utilisation.
- b) **Dans le cas où le microorganisme modifié doit être exploité *in situ*.** Ainsi qu'il a été mentionné, les microorganismes ont la capacité d'échanger du matériel génétique. Ainsi, le transfert horizontal de gènes pourrait favoriser la dissémination de la résistance aux antibiotiques ou l'émergence de nouveaux organismes pathogènes par l'acquisition ou l'activation de facteurs de virulence.

Dans cet ordre d'idées, certaines organisations, comme le National Institute of Health américain, condamnent le transfert de certains marqueurs antibiotiques dans des souches bactériennes susceptibles de causer des infections chez l'humain ou de transférer la résistance acquise par des modifications génétiques à des organismes apparentés pathogènes, et ce, même dans un contexte de recherche. À titre d'exemple, le transfert de gènes impliqués dans la résistance aux bêta-lactames (pénicillines et autres antibiotiques d'usage courant) dans des streptocoques, qu'ils soient pathogènes ou non, est par conséquent prohibé.

Les modifications apportées aux microorganismes pourraient également créer des espèces adaptées à la colonisation de nouveaux environnements ou présentant de nouvelles propriétés susceptibles de modifier leur rôle au sein d'un écosystème donné. Les microorganismes sont reconnus pour leurs interactions avec les plantes (fixation symbiotique de l'azote, maladies), avec les animaux (nutrition, digestion [rumen]), pour d'autres associations symbiotiques, maladies), pour leur rôle dans les cycles biogéochimiques (carbone, méthanogenèse, acétogenèse, hydrogène, oxygène, azote, soufre, phosphore, fer) et dans le contrôle de la biodétérioration des sols, des eaux et des déchets.

Une procédure d'évaluation des risques associés à l'utilisation des microorganismes génétiquement modifiés dans les produits alimentaires a été élaborée par Santé Canada (annexe 1). Cette procédure pourrait servir de base à la gestion du risque OGM dans plusieurs secteurs d'activité économique. Il est toutefois à noter que la définition intrinsèque d'un OGM microbien ne fait pas l'unanimité. Par exemple, la législation américaine considère que seuls les organismes issus de la manipulation *in vitro* de l'ADN sont des OGM. Ainsi, un organisme modifié par le transfert d'une molécule d'ADN non recombinante à l'aide de l'une ou l'autre des techniques décrites n'est pas visé par la législation concernant les OGM aux États-Unis (source : Food and Drug Administration [<http://www.fda.gov>]). À

l'opposé, lors de l'évaluation de l'innocuité des aliments nouveaux, Santé Canada considère l'électroporation comme une technique générant des OGM, peu importe la nature de la molécule transférée (annexe 1).

5. Classification des OGM microbiens

Il est tout d'abord remarquable de constater que la frontière est floue entre le concept d'OGM de première génération et celui de seconde génération par rapport au bénéficiaire de la technologie. Cette notion de génération d'OGM est d'ailleurs assez vaguement établie et utilisée afin de classer les OGM selon une définition très variable. Aussi, la classification des microorganismes génétiquement modifiés ne devrait pas tenir compte de ce concept.

En second lieu, la classification des OGM à partir de brevets est hasardeuse. En effet, les brevets ont tendance à protéger plus d'applications potentielles que de produits réels. Dans la majorité des cas, un brevet concernant un OGM microbien voudra inclure dans ses revendications plusieurs des éléments suivants :

- une souche présentant certaines propriétés particulières;
- toutes les applications concernant l'utilisation de cette souche pour ses propriétés particulières;
- les séquences d'ADN conférant la propriété particulière;
- tous les dérivés qui pourraient être générés à partir de ces séquences (sous-séquences, mutants, etc.);
- les séquences protéiques impliquées codées par l'ADN protégé;
- tous les dérivés qui pourraient être générés à partir de ces séquences (peptides, protéine recombinante, etc.);
- un système pour la production d'un produit d'intérêt;
- une méthode de purification du produit;
- toutes les applications concernant l'utilisation de ce produit.

Par exemple, dans le cas de la protéine insecticide de *Bacillus thuringiensis* citée dans le brevet canadien no 2191978, les 49 revendications incluses dans les documents légaux pourraient résulter en l'exploitation de formulations insecticides comprenant ou non des produits dérivés d'un microorganisme recombinant ou encore l'élaboration de plants transgéniques exprimant une molécule insecticide. Tous ces produits ne seraient pas soumis aux mêmes procédures d'évaluation avant commercialisation et certains pourraient ne pas être visés par une réglementation concernant les OGM. Par conséquent, les microorganismes génétiquement modifiés devraient être étudiés dans la perspective des applications résultant des brevets.

Deux principaux critères sont donc proposés pour la classification des OGM microbiens :

- a) **Typologie de l'utilisation.** Ce critère est en lien direct avec le biorisque associé à l'utilisation.

- Production d'une molécule purifiée
- Exploitation *in situ*

b) Typologie des finalités. Ce critère fait référence à des champs d'activité économique distincts. Ces champs d'application pourraient être un élément définissant l'acceptabilité d'un produit OGM pour la population en général.

- Production de connaissances
- Usage médico-pharmaceutique
- Produit à valeur ajoutée
- Amélioration des modes de production
- Protection de l'environnement
- Production d'autres bioproduits

Tableau 2. Classification des OGM microbiens en fonction des typologies de leur usage et de leur finalité

Production d'une molécule		Utilisation <i>in situ</i>	
Production de connaissances (CON)			
<ul style="list-style-type: none"> • Enzymes recombinantes • Anticorps • ... 		<ul style="list-style-type: none"> • Simulation de maladies humaines chez un modèle animal • ... 	
Usage médico-pharmaceutique (PH)			
<ul style="list-style-type: none"> • Suppléments diététiques <ul style="list-style-type: none"> ▪ acides aminés, vitamines... • Médicaments <ul style="list-style-type: none"> ▪ anticorps ▪ antibiotiques ▪ hormones ▪ ... • ... 		<ul style="list-style-type: none"> • Vaccins vivants <ul style="list-style-type: none"> ▪ souches atténuées ▪ souches exprimant des antigènes de surface • Agents de nécrose tumorale • ... 	
Produit à valeur ajoutée (VAL)			
<ul style="list-style-type: none"> • Protéines humaines dans les formulations pour nourrissons • ... 		<ul style="list-style-type: none"> • Cultures protectrices (conservation des aliments) • Ferments aux propriétés probiotiques • ... 	
Amélioration des modes de production (PROD)			
<ul style="list-style-type: none"> • Biocides (insecticides et autres) • Hormones de croissance • ... 		<ul style="list-style-type: none"> • Production de biocides (insecticides et autres) • Biosenseurs • ... 	
Protection de l'environnement (ENV)			
<ul style="list-style-type: none"> • Biodégradants • ... 		<ul style="list-style-type: none"> • Dégradation des polluants • ... 	
Production d'autres bioproduits (BIO)			
<ul style="list-style-type: none"> • Ingrédients alimentaires • Biomatériaux • ... 		<ul style="list-style-type: none"> • s. o. 	
<u>RISQUES PERÇUS</u>			
Peu de risques potentiels. Évaluer les risques associés à l'utilisation du produit.		À évaluer en fonction : <ul style="list-style-type: none"> • de la nature et de la provenance de l'ADN inséré; • de la nature de l'hôte modifié; • des caractéristiques nouvelles de l'hôte modifié; • des caractéristiques nouvelles du produit. 	

ANNEXE 1

Résumé des lignes directrices relatives à l'évaluation de l'innocuité des aliments nouveaux de Santé Canada (1994) concernant les microorganismes et plantes modifiés génétiquement

- Sont visés par ces lignes directrices les microorganismes modifiés génétiquement selon la technologie de l'acide nucléique recombinant et d'autres méthodes d'insertion d'ADN (fusion de protoplastes dans des cellules eucaryotes, micro-injection balistique, électroporation et autres méthodes analogues).
 - Une attention particulière devrait être portée aux microorganismes modifiés dont le parent ou le vecteur provient d'une espèce reconnue comme étant toxigène. Dans la mesure du possible, les marqueurs de la transformation potentiellement nocifs ne devraient pas se retrouver dans le produit fini. L'acceptabilité de chaque marqueur sera vérifiée cas par cas.
-

PRINCIPAUX PARAMÈTRES DE L'ÉVALUATION DE L'INNOCUITÉ

1. À propos de l'organisme donneur :

- identification : statut taxinomique, origine...;
- pathogénicité du genre et de l'espèce;
- toxicogénicité potentielle du microorganisme;
- l'utilisation prolongée du microorganisme ou de souches étroitement apparentées, en particulier dans les aliments, n'a pas soulevé de problème dans le passé.

2. À propos de l'ADN introduit :

- fonction, source, description et séquence de l'ADN introduit;
- caractéristiques du vecteur;
- absence des séquences reconnues pour coder pour des composés toxiques;
- insertion limitée aux séquences responsables de fonctions précises;
- conséquences associées à l'insertion de l'ADN limitées aux effets souhaités;
- absence ou inactivation des marqueurs potentiellement nocifs;
- régulation de l'expression.

3. À propos de l'hôte modifié :

- statut taxinomique, pathogénicité potentielle, toxigénicité potentielle;
- activité biologique, croissance, caractéristiques physiologiques, profil des métabolites;
- méthode de construction du vecteur; fonction souhaitée, stabilité, mobilisabilité;
- effets secondaires sur la biochimie, la physiologie et le métabolisme secondaire;
- fonction du matériel exprimé et degré de similarité avec des produits de sources traditionnelles.

4. À propos du produit :

- description et renseignements détaillés sur l'usage proposé;
- caractéristiques chimiques, principaux éléments nutritifs et non nutritifs (toxines endogènes typiquement associées à l'organisme évalué ou à des organismes apparentés);
- teneur et biodisponibilité des éléments nutritifs;
- caractéristiques de croissance et profil des métabolites de l'organisme dans l'aliment dans lequel on se propose de l'utiliser;
- données détaillées sur les concentrations de l'organisme modifié (ou de ses produits) dans l'aliment fini;
- prévisions relatives à l'usage et à la consommation de ce produit par le consommateur moyen et divers sous-groupes de la population;
- considérations relatives à l'allergénicité;
- données toxicologiques;
- déterminer si le matériel évalué peut engendrer des effets indésirables à court ou à long terme (carcinogènes, génotoxiques, tératogènes, etc.).

Source : http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/mh-dm/ofb-bba/nfi-ani/pdf/f_nvvlif.pdf.