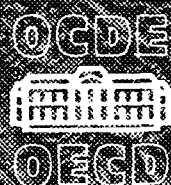


CONSIDÉRATIONS DE SÉCURITÉ RELATIVES À L'ADN RECOMBINÉ



PARIS 1986

CONSIDÉRATIONS DE SÉCURITÉ RELATIVES À L'ADN RECOMBINÉ

Considérations de sécurité relatives à
l'utilisation d'organismes obtenus par
les techniques de recombinaison de l'ADN
dans l'industrie, dans l'agriculture et
dans l'environnement

signée le 14 décembre 1960, à
1961, l'Organisation de Coopé-
(OCDE) a pour objectif de

économie et de l'emploi et une
les pays Membres, tout en
contribuer ainsi au développe-

économique dans les pays
voie de développement écono-

merce mondial sur une base
conformément aux obligations

l'OCDE sont : la République
de France, le Canada, le Danemark,
l'Irlande, l'Islande, l'Italie, le
Portugal, le Royaume-Uni, la
Grèce ont adhéré ultérieurement à
des instruments d'adhésion) :
(28 janvier 1969), l'Australie
(1973).

l'Union soviétique prend part à certains
travaux (1961).

For the title:

CONSIDERATIONS

Les commandes doivent être adressées à :
Publications, OCDE
CEDEX 16, France.

Cette étude a été entreprise suite au rapport de l'OCDE intitulé *Biotechnologie : Tendances et perspectives internationales*, conformément au vœu exprimé par le Comité de la Politique scientifique et technologique au cours de sa 34^e session tenue les 10 et 11 février 1983. Elle a été menée à bien par un groupe *ad hoc* d'experts gouvernementaux créé par ce Comité en juillet 1983, avec l'assistance du Secrétariat de l'OCDE.

Le 30 mai 1986, le Conseil de l'OCDE a décidé de diffuser dans le public le rapport du Groupe *ad hoc* d'experts.

Le 16 juillet 1986, le Conseil a adopté la Recommandation qui figure aux pages suivantes et qui est fondée sur le chapitre V du rapport.

Les Recommandations du Conseil de l'OCDE sont des actes convenus par accord mutuel de tous les Membres qui sont soumis à l'attention de ceux-ci pour qu'ils les mettent à exécution s'ils l'estiment opportun.

Également disponible

BIOTECHNOLOGIE ET PROTECTION PAR BREVET. Une analyse internationale, par F.K. Beier, R.S. Crespi et J. Straus (septembre 1985)

(93 85 05 2) ISBN 92-64-22757-1 144 pages

F80.00 £8.00 US\$16.00 DM35.00

PERSPECTIVES DE POLITIQUE SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE : 1985 (juin 1985)

(92 85 03 2) ISBN 92-64-22738-5 102 pages

F55.00 £5.50 US\$11.00 DM24.00

BIOTECHNOLOGIE. Tendances et perspectives internationales, par Alan T. Bull, Geoffrey Holt, Malcolm D. Lilly (septembre 1982)

(93 82 01 2) ISBN 92-64-22362-2 100 pages

F55.00 £5.50 US\$11.00 DM28.00

Prix de vente au public dans la librairie du Siège de l'OCDE.

LE CATALOGUE DES PUBLICATIONS et ses suppléments seront envoyés gratuitement sur demande adressée à l'OCDE, soit au Service des Publications, Division des Ventes et Distribution, 2, rue André-Pascal, 75775 PARIS CEDEX 16, soit au dépositaire des publications de l'OCDE de votre pays.

TABLE DES MATIÈRES

RECOMMANDATION DU CONSEIL	7
LETTRE DE TRANSMISSION	11
INTRODUCTION	13
Chapitre I. LES APPLICATIONS DES TECHNIQUES DE RECOMBINAISON DE L'ADN	16
Applications à grande échelle dans l'industrie	16
Applications dans l'agriculture et dans l'environnement	18
1. Techniques de recombinaison de l'ADN appliquées à l'agriculture	18
2. Techniques de recombinaison de l'ADN appliquées à la lutte contre la pollution de l'environnement	22
3. Extraction et récupération microbiologique des métaux	23
4. Récupération assistée du pétrole	23
Chapitre II. CONSIDÉRATIONS DE SÉCURITÉ	25
Méthodes d'évaluation des risques	25
Considérations relatives à l'évaluation des risques liés aux organismes à ADN recombiné	26
1. Propriétés des organismes donneur et receveur	27
2. Technique de recombinaison de l'ADN utilisée pour obtenir l'organisme	27
3. Propriétés de l'organisme obtenu par recombinaison de l'ADN	27
Considérations de sécurité liées aux applications à grande échelle dans l'industrie	28
Dangers supposés et données relatives à la sécurité	28
Considérations de sécurité liées aux applications en agriculture et dans l'environnement	29
1. Généralités	29
2. Considérations propres aux micro-organismes	31
3. Considérations propres aux végétaux	31
4. Considérations propres aux animaux	32
5. Conclusions	33
Chapitre III. APPLICATIONS INDUSTRIELLES A GRANDE ÉCHELLE	34
Principes du confinement	34
a) Confinement biologique	35
b) Confinement physique	35
Mise en œuvre du confinement	36
Bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle «GILSP» (<i>good industrial large scale practice</i>)	37
Évaluation des organismes utilisés dans des procédés industriels avec des niveaux spécifiés de confinement physique	38
Mise en concordance du confinement physique avec l'évaluation des risques potentiels	38

Chapitre IV. APPLICATIONS DANS L'ENVIRONNEMENT ET DANS L'AGRICULTURE	40
Éléments à prendre en compte pour évaluer la sécurité des applications des organismes à ADN recombiné dans l'environnement et dans l'agriculture	41
1. Application dans l'environnement	41
2. Survie, multiplication et/ou dissémination dans l'environnement	41
3. Interactions avec des espèces ou des systèmes biologiques	42
4. Effets sur l'environnement	42
Applicabilité aux plantes et aux animaux	42
Disponibilité de l'information et méthodologie des essais	42
Évaluation des risques que les organismes à ADN recombiné provenant d'applications industrielles présentent pour l'environnement	43
Chapitre V. RÉSUMÉ ET RECOMMANDATIONS	44
RÉSUMÉ DES PRINCIPAUX POINTS	44
RECOMMANDATIONS	45
APPENDICES	
A. Définitions	48
B. Éléments d'appréciation scientifiques généraux	49
C. Éléments d'appréciation relatifs à la santé humaine	51
D. Éléments d'appréciation relatifs à l'environnement et à l'agriculture	52
E. Risques potentiels pour l'être humain, pour les plantes et pour les animaux des organismes classiques et recombinés	54
F. Critères proposés pour les bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle «GILSP» dans le cas des micro-organismes à ADN recombiné	57
G. Exemples de stratégies de confinement pour d'autres applications industrielles à grande échelle que celles relevant des bonnes pratiques de production (<i>good industrial large scale practice: GILSP</i>)	58
H. Mandat du Groupe <i>ad hoc</i> d'experts gouvernementaux sur la sécurité et les réglementations en biotechnologie	61
I. Liste des participants au Groupe <i>ad hoc</i> d'experts gouvernementaux sur la sécurité et les réglementations en biotechnologie	62
Glossaire	71

RECOMMANDATION DU CONSEIL

CONCERNANT LES CONSIDÉRATIONS DE SÉCURITÉ RELATIVES A L'UTILISATION D'ORGANISMES A ADN* RECOMBINÉ DANS L'INDUSTRIE, DANS L'AGRICULTURE ET DANS L'ENVIRONNEMENT

LE CONSEIL,

Vu les articles 1 (c), 3 (a) et 5 (b) de la Convention relative à l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques en date du 14 décembre 1960 ;

Vu le rapport *Considérations de Sécurité relatives à l'ADN recombiné – Considérations de sécurité relatives à l'utilisation d'organismes obtenus par les techniques de recombinaison de l'ADN dans l'industrie, dans l'agriculture et dans l'environnement* ;

Considérant que les techniques de recombinaison de l'ADN ont ouvert des nouvelles perspectives très prometteuses dans un large éventail de secteurs et qu'on peut en attendre des avantages importants pour l'humanité ;

Reconnaissant, en particulier, que ces techniques contribuent à l'amélioration de la santé humaine et que cette contribution devrait connaître un développement significatif dans un proche avenir ;

Considérant qu'une compréhension commune des problèmes de sécurité que posent les techniques de recombinaison de l'ADN sera le point de départ d'un processus permettant d'aboutir à un consensus international, de protéger la santé et l'environnement, de stimuler le commerce international et de réduire les obstacles aux échanges dans le domaine de la biotechnologie qui existent dans les pays ;

Considérant que la grande majorité des applications industrielles à grande échelle de l'ADN recombiné mettront en œuvre des organismes à faible risque intrinsèque qui ne réclament que des mesures de confinement minimales conformes aux bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle (GILSP : *Good Industrial Large Scale Practice*) ;

Considérant que les techniques de confinement physique sont bien connues de l'industrie et sont depuis de nombreuses années appliquées avec succès au confinement des organismes pathogènes ;

Reconnaissant que, lorsqu'il faut utiliser des organismes à ADN recombiné présentant un risque plus élevé, on peut définir des critères supplémentaires d'évaluation des risques, et que ces organismes peuvent eux aussi être manipulés dans de bonnes conditions de sécurité à l'aide de méthodes appropriées de confinement physique et/ou biologique;

Considérant que l'évaluation des risques potentiels des organismes à ADN recombiné devant être utilisés dans l'environnement ou l'agriculture est moins développée que celle des risques potentiels liés aux applications industrielles ;

Reconnaissant que l'évaluation des risques potentiels pour l'environnement des applications des organismes à ADN recombiné dans l'agriculture et l'environnement devrait être abordée en se référant et en se conformant aux informations contenues dans la base de données disponible, obtenues à partir de l'utilisation étendue dans l'agriculture et dans l'environnement des organismes modifiés par les méthodes traditionnelles et que grâce à une évaluation par étapes au cours du processus de recherche et de développement, le risque potentiel devrait être réduit au minimum ;

Considérant l'état actuel des connaissances scientifiques ;

Reconnaissant que l'élaboration au plan international de lignes directrices générales régissant les applications d'organismes à ADN recombiné dans l'agriculture et l'environnement apparaît actuellement prématurée ;

Reconnaissant qu'aucune raison d'ordre scientifique ne justifie l'adoption d'une législation spécifique pour réglementer l'utilisation d'organismes à ADN recombiné ;

Vu la proposition du Comité de la Politique Scientifique et Technologique ;

1. RECOMMANDE aux pays Membres :

- a) de partager de façon aussi libre que possible l'information portant sur les principes ou les lignes directrices dont s'inspirent les réglementations nationales, sur les progrès de l'analyse des risques et sur l'expérience pratique en matière de gestion des risques afin de faciliter l'harmonisation des démarches adoptées à l'égard des techniques de recombinaison de l'ADN ;
- b) de passer en revue leurs mécanismes existants de surveillance et d'examen afin de veiller à ce qu'un examen et un contrôle appropriés de la mise en œuvre des techniques de recombinaison de l'ADN et de leurs applications puissent être effectués tout en évitant toute charge inutile qui pourrait entraver les progrès techniques en ce domaine ;
- c) de reconnaître, lorsqu'ils visent l'harmonisation internationale, que toute initiative pour mettre en œuvre des lignes directrices ne devrait pas entraver les progrès des techniques de recombinaison de l'ADN ;
- d) d'examiner à l'échelon national et international les progrès futurs, notamment des méthodes d'essai, de la conception des équipements, et des connaissances sur la taxinomie des microbes afin de faciliter l'échange de données et de réduire au minimum les barrières commerciales entre les

pays. Il conviendra de tenir dûment compte des travaux en cours sur les normes dans les organisations internationales comme l'OMS, la CCE, l'ISO, la FAO et le MSDN¹ ;

- e) de consacrer des efforts particuliers à l'amélioration de la compréhension qu'a le public des divers aspects des techniques de recombinaison de l'ADN ;
- f) d'observer l'évolution des techniques de recombinaison de l'ADN dans leurs applications à l'industrie, à l'agriculture et à l'environnement, tout en reconnaissant que pour certaines applications industrielles et pour les applications dans l'environnement et dans l'agriculture des organismes à ADN recombiné, certains pays pourraient souhaiter disposer d'un mécanisme de notification ;
- g) de veiller à ce que les procédures d'examen et d'évaluation protègent pour les applications de l'ADN recombiné la propriété intellectuelle et le secret industriel, en reconnaissant le besoin d'innover, et en même temps de veiller à ce que soient fournies toutes les informations nécessaires pour évaluer la sécurité.

2. RECOMMANDE aux pays Membres, en ce qui concerne spécifiquement les applications industrielles :

- a) de veiller à ce que, dans les applications industrielles à grande échelle des techniques de l'ADN recombiné, on utilise dans toute la mesure du possible des organismes à faible risque intrinsèque, et que ceux-ci soient manipulés dans les conditions définies par les bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle (GILSP: *Good Industrial Large Scale Practice*) décrites dans le rapport ;
- b) lorsque l'évaluation des risques suivant les critères définis dans le rapport indique qu'un organisme à ADN recombiné ne peut pas être manipulé selon les seules règles des bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle (GILSP), de veiller à ce que des mesures appropriées de confinement soient appliquées, en plus de ces bonnes pratiques et en fonction de l'évaluation des risques ;
- c) d'encourager, dans le cas des applications industrielles à grande échelle qui exigent un confinement physique, la poursuite des recherches visant à améliorer les techniques de surveillance et de maîtrise des rejets non intentionnels d'organismes à ADN recombiné.

3. RECOMMANDE aux pays Membres, en ce qui concerne spécifiquement les applications dans l'agriculture et dans l'environnement :

- a) de se servir du volume important de données disponibles relatives aux effets des organismes vivants sur l'environnement et sur la santé humaine, pour orienter les évaluations des risques ;
- b) de veiller à ce que les risques potentiels des organismes à ADN recombiné soient évalués avant d'être utilisés dans l'agriculture et dans l'environnement par une étude indépendante au cas par cas² ;

- c) de procéder par étapes dans le développement des organismes à ADN recombiné destinés à être appliqués dans l'agriculture et dans l'environnement, en passant lorsqu'il convient du laboratoire à la chambre de croissance et à la serre, puis aux essais en parcelles et finalement aux essais à grande échelle ;
 - d) d'encourager la poursuite des recherches visant à améliorer la prévision, l'évaluation et la surveillance du résultat des applications d'organismes à ADN recombiné.
4. CHARGE le Comité de la Politique Scientifique et Technologique :
- a) d'examiner l'expérience des pays Membres relative à la mise en œuvre des principes énoncés dans le rapport ;
 - b) d'examiner les mesures prises par les pays Membres en application de la présente Recommandation et d'en faire rapport au Conseil ;
 - c) de prendre l'avis des autres Comités concernés de l'OCDE, dans la préparation de propositions de programme de travail coordonné dans le domaine de la biotechnologie.

NOTES ET RÉFÉRENCES

*ADN : acide désoxyribonucléique (voir Glossaire).

1. Organisation Mondiale de la Santé (OMS) ; Commission des Communautés Européennes (CCE) ; Organisation Internationale de Normalisation (*International Standards Organisation* : ISO) ; Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (*Food and Agriculture Organisation* : FAO) ; Réseau de données sur les Souches Microbiennes (*Microbial Strains Data Network* : MSDN).
2. Cas par cas signifie un examen particulier d'une proposition en fonction des critères d'évaluation qui s'appliquent à celle-ci ; cela n'implique pas que chaque cas exigera un examen par les autorités nationales ou par d'autres autorités, car diverses classes de propositions peuvent en être exemptées.

LETTRE DE TRANSMISSION

au Président
du Comité de la Politique Scientifique et Technologique

Le mandat défini par le Comité de la Politique Scientifique et Technologique en juillet 1983 représentait un défi considérable pour le Groupe *ad hoc* d'experts gouvernementaux sur la sécurité et les réglementations en biotechnologie lorsque celui-ci a commencé ses travaux au mois de décembre de la même année.

Cela a été pour moi une expérience extrêmement enrichissante de présider ce groupe important de représentants éminents de la science, de l'industrie, de l'administration et des organismes de réglementation au cours de leurs délibérations sur un thème essentiel pour la poursuite du développement de la « nouvelle » biotechnologie dans de bonnes conditions de sécurité, et notamment des applications pratiques des organismes à ADN recombiné. Je voudrais à titre personnel faire ici quelques observations à ce propos.

Vous n'êtes pas sans savoir que notre étude a bénéficié d'échanges de vues et de débats vigoureux et approfondis et que ceux-ci ont abouti à un accord unanime sur notre rapport, qui fournit un cadre pour l'évaluation et la maîtrise de tout risque que pourraient entraîner les applications de l'ADN recombiné. Je vous sou mets donc notre rapport avec la conviction que les problèmes ont été étudiés en profondeur et qu'un accord véritable s'est établi entre les experts.

Nous savons que les pays de l'OCDE et un certain nombre d'organisations internationales attendent avec impatience les résultats de nos travaux. Nous savons aussi que des expériences pratiques de libération d'organismes à ADN recombiné dans l'environnement sont prévues dans un avenir proche. Une forte pression des circonstances nous incitait donc à terminer notre rapport, d'autant plus que de nombreux pays étaient sur le point d'arrêter définitivement leurs réglementations en matière de sécurité en biotechnologie. L'initiative de votre Comité n'aurait donc pas pu être prise à un moment plus opportun.

Je voudrais mettre en relief un certain nombre de points importants à propos de notre rapport :

- **Premièrement**, nous avons accordé une attention particulière à l'objet principal de notre mandat, qui était de définir des critères scientifiques pour l'utilisation en toute sécurité d'organismes à ADN recombiné dans l'industrie, dans l'agriculture et dans l'environnement. Nous n'avons procédé qu'à une analyse préliminaire des autres questions énoncées dans le mandat, à savoir l'examen des réglementations existantes et de la façon dont les pays de l'OCDE envisagent d'une manière générale la sécurité en biotechnologie. Des ressources supplémentaires seraient, pensons-nous, nécessaires pour que l'on puisse compléter de façon satisfaisante notre relevé préliminaire des positions des pays Membres ;

- **Deuxièmement**, nous avons, dans notre rapport, élaboré un cadre scientifique général pour l'évaluation des risques que présentent les applications de l'ADN recombiné dans l'industrie, dans l'agriculture et dans l'environnement. Les considérations scientifiques et techniques plus détaillées développées dans les appendices devraient elles aussi aider utilement les utilisateurs de la biotechnologie à définir leurs propres méthodes d'évaluation et de gestion des risques ;
- **Troisièmement**, nous sommes conscients que l'adoption définitive de critères de sécurité convenus au plan international exigera sans doute un certain délai, surtout pour ce qui concerne les applications dans l'environnement et dans l'agriculture, et que des recherches plus poussées pourraient se révéler nécessaires. C'est pourquoi nous suggérons une stratégie de caractère provisoire, prescrivant notamment que l'on procède avant application à un examen indépendant, cas par cas, des risques potentiels que présentent les propositions en ce domaine ;
- **Quatrièmement**, eu égard au fait que la grande majorité des applications industrielles de l'ADN recombiné ont jusqu'à présent fait appel à des organismes présentant un faible risque intrinsèque, nous proposons que l'on adopte un niveau correspondant de contrôle, « GILSP » (*Good Industrial Large Scale Practice* = Bonnes pratiques de production à grande échelle) s'inspirant de bonnes pratiques industrielles existantes. Des critères relatifs à ces organismes à faible risque sont définis dans le rapport. Pour les organismes à ADN recombiné présentant un risque plus élevé, nous avons également décrit des formules possibles de renforcement du contrôle et du confinement.

Le Groupe a la ferme conviction que l'acceptation de ce cadre défini au plan international représente une étape importante. Nous exprimons l'espoir que celle-ci facilitera le développement des applications de la biotechnologie, dont les avantages considérables qu'elles promettent d'apporter à l'humanité apparaissent de plus en plus clairement, et contribuera en même temps à faire en sorte que l'attention requise soit accordée à tout problème qui pourrait se présenter.

Je tiens pour conclure à remercier l'ensemble des membres du Groupe pour l'ardeur qu'ils ont mise à établir un rapport scientifiquement exact et équilibré, ainsi que le Secrétariat de l'OCDE pour son concours. C'était un plaisir de collaborer avec un Groupe aussi exceptionnel.

Nous demeurons, Monsieur le Président, à votre disposition pour vous aider dans toute action complémentaire qui vous semblerait nécessaire.

Je vous prie d'agréer, Monsieur le Président, l'assurance de ma haute considération.

Roger NOURISH
Président du Groupe *ad hoc*
sur la Sécurité et les Réglementations
en Biotechnologie

INTRODUCTION

Le présent rapport est axé sur les applications des organismes modifiés par les techniques de l'ADN recombiné¹ dans l'industrie, dans l'agriculture et dans l'environnement car ces techniques se sont développées et ont atteint le stade de la commercialisation au cours des quinze dernières années. Le début des applications commerciales des organismes à ADN recombiné a suscité des questions portant sur la capacité des méthodes actuelles à faire face aux risques supplémentaires associés à ces nouvelles techniques. Le débat public qui en a résulté a parfois témoigné d'une compréhension insuffisante des récents progrès scientifiques.

Le Groupe *ad hoc* a concentré ses travaux sur les applications industrielles, agricoles et environnementales et s'est attaché à fournir des éléments de réponse à ces questions. Les principales tâches inscrites dans le mandat du Groupe *ad hoc* étaient² :

- «i) De procéder à un examen des positions des pays à l'égard des questions de sécurité que pose l'utilisation d'organismes modifiés génétiquement dans l'industrie, dans l'agriculture et dans l'environnement, en tenant compte de la législation et de la réglementation existantes ou prévues sur les conditions d'utilisation des micro-organismes ;
- ii) D'identifier les critères qui ont été ou qui pourraient être adoptés pour surveiller ou autoriser la production et l'utilisation d'organismes modifiés génétiquement :
 - Dans l'industrie ;
 - Dans l'agriculture ;
 - Dans l'environnement ;D'explorer les voies et les moyens possibles pour surveiller la production et l'utilisation futures d'organismes modifiés génétiquement :
 - Dans l'industrie ;
 - Dans l'agriculture ;
 - Dans l'environnement ».

Une compréhension commune des problèmes de sécurité que posent les techniques de l'ADN recombiné fournira la base nécessaire pour entreprendre les démarches devant permettre de conclure un accord international, de protéger la santé et l'environnement, de stimuler le commerce international, et de réduire les obstacles mis par les pays aux échanges dans le domaine de la biotechnologie.

La biotechnologie n'est pas un domaine nouveau. Plus de trois mille ans avant J.C., les Sumériens exploitaient les propriétés de la levure pour faire de l'alcool sous forme de bière. Les industries pharmaceutique et agro-alimentaire et le secteur de la fermentation se sont développés il y a de nombreuses années déjà, en partie grâce à une utilisation réussie de la biotechnologie à l'échelle commerciale, et continuent aujourd'hui dans cette voie. Ces applications industrielles et agricoles traditionnelles de la biotechnologie sont actuellement

réglementées dans de nombreux pays. Depuis des dizaines d'années, l'industrie et l'agriculture se servent avec succès et dans de bonnes conditions de sécurité de méthodes génétiques classiques à l'échelle commerciale (comme la sélection naturelle, les croisements, la conjugaison, les mutations induites par des substances chimiques ou par des rayonnements et la transformation).

Au cours des quinze dernières années, les scientifiques ont ajouté une nouvelle dimension à la biotechnologie en découvrant des techniques biologiques qui permettent de recombinaison *in vitro* l'ADN de différents organismes. La principale, et la plus connue, est la technique de l'ADN recombiné. Elle a fait l'objet depuis dix ans d'intenses travaux de recherche et de développement et sa sécurité a pu être démontrée en laboratoire. Les premières applications commerciales ont été approuvées (par exemple pour la production d'insuline humaine, de phénylalanine et d'hormone de croissance humaine).

Les techniques de recombinaison de l'ADN représentent un perfectionnement des méthodes classiques. Elles permettent de modifier, de construire, de recombinaison, de retirer et de déplacer avec précision des gènes qui peuvent conférer aux cellules receveuses le phénotype recherché. Elles permettent en outre de transférer et de faire s'exprimer du matériel génétique dans un autre organisme qui peut n'avoir aucune parenté avec celui dont provient l'ADN transféré.

Le Groupe *ad hoc* s'est notamment inspiré des critères suivants pour délimiter son étude des organismes à ADN recombiné et de leurs applications :

- Le Groupe *ad hoc* a choisi de limiter la portée du présent rapport aux seules questions touchant aux produits et aux procédés mis au point à l'aide des techniques les mieux décrites, qui sont celles de recombinaison de l'ADN. Les considérations développées dans ce rapport à propos de l'ADN recombiné pourraient toutefois s'appliquer aussi à des organismes modifiés par d'autres techniques de manipulation génétique. Celles-ci comprennent les techniques classiques (croisement, conjugaison, mutagenèse, sélection, etc.) et les techniques *in vitro* comme la fusion de cellules et de protoplastes, le transfert d'embryon et la micro-injection ;
- Le Groupe *ad hoc* a également décidé qu'il n'examinerait pas les techniques de manipulation génétique qui s'appliquent directement à l'être humain. Le présent rapport est axé sur la sécurité et n'aborde pas les questions éthiques, qui sont d'une tout autre nature ;
- Le Groupe *ad hoc* a porté ses efforts sur la deuxième tâche définie dans le mandat, à savoir l'identification des critères et des moyens à adopter pour surveiller l'utilisation future des organismes à ADN recombiné.

Pour ce qui est de la première tâche définie dans le mandat, nous nous sommes enquis de la position des pays au moyen d'une enquête par questionnaire. Dans la plupart des pays Membres de l'OCDE, un vaste ensemble de dispositions législatives ayant trait à la santé, à la sécurité et à la protection de l'environnement serait en principe susceptible de s'appliquer à la gestion des risques que pourraient présenter les utilisations des techniques de recombinaison de l'ADN dans l'industrie, dans l'environnement et dans l'agriculture. La sécurité des procédés et des produits de la biotechnologie entre déjà dans le champ couvert par des dispositions juridiques générales de caractère très divers. On trouve en outre, sous la forme de lignes directrices non obligatoires ou de recommandations, des dispositions propres à l'application des techniques de recombinaison de l'ADN. La plupart des pays Membres de l'OCDE ont entrepris un examen des mécanismes de surveillance existants, afin de s'assurer qu'une surveillance et un contrôle suffisants peuvent s'exercer et d'éviter que des contraintes inutiles n'entravent l'évolution technique en ce domaine.

Le présent rapport contient un exposé des principes scientifiques dont pourraient s'inspirer les méthodes de gestion des risques liés aux applications des techniques de recombinaison de l'ADN dans l'industrie, dans l'agriculture et dans l'environnement. L'éventail des considérations scientifiques développées peut permettre de définir des stratégies de sécurité pour les procédés faisant appel à l'ADN recombiné. Il ne s'agit pas de normes visant à réglementer les applications de l'ADN recombiné ou les produits ainsi obtenus, mais d'une première étape vers la formulation de recommandations, en vue d'aboutir à une harmonisation internationale en ce domaine.

Les branches d'activité qui se servent de procédés biotechnologiques dans les pays de l'OCDE ont assuré le maintien de la sécurité en se conformant à de bonnes pratiques industrielles qui favorisent l'utilisation de micro-organismes à faible risque. Un renforcement des mesures de contrôle appropriées et des dispositifs de confinement permet d'assurer la sécurité d'utilisation des micro-organismes pathogènes. Les usages industriels des micro-organismes obtenus par les techniques de recombinaison de l'ADN se prêtent à une démarche analogue. Il est toutefois possible de rencontrer une situation où l'on ne disposerait pas de critères de sécurité appropriés. Dans l'attente que l'on ait pu définir des critères précis, l'évaluation de sécurité d'une application particulière d'un organisme obtenu par recombinaison de l'ADN peut s'effectuer au cas par cas³.

Différents problèmes peuvent se poser lorsqu'on se propose d'utiliser des micro-organismes à ADN recombiné dans l'environnement. L'évaluation des risques potentiels des micro-organismes lors d'applications dans l'environnement ou dans l'agriculture est moins développée que celle des risques potentiels des applications industrielles. Des recherches complémentaires peuvent se révéler nécessaires pour améliorer notre capacité à prévoir le résultat de l'introduction de micro-organismes à ADN recombiné dans des écosystèmes. C'est pourquoi il n'est pas encore possible de définir au plan international les données requises et les critères d'évaluation. Le présent rapport se borne à indiquer une méthode provisoire pour déterminer quelles sont les informations nécessaires pour évaluer les risques potentiels. Le groupe a estimé que cette méthode provisoire présenterait une souplesse suffisante pour s'adapter à chaque pays. A mesure que nos connaissances progressent, on peut penser que des critères de sécurité reconnus au plan international seront mis en place.

NOTES ET RÉFÉRENCES

1. Désignés dans la suite du rapport sous le nom d'organismes à ADN recombiné. Voir l'appendice A pour les définitions de l'ADN recombiné.
2. Le texte complet du mandat est donné dans l'appendice H.
3. Voir note 2 de la Recommandation du Conseil.

Chapitre I

LES APPLICATIONS DES TECHNIQUES DE RECOMBINAISON DE L'ADN

Applications à grande échelle dans l'industrie

La présente section donne une vue générale des applications présentes et potentielles des techniques de recombinaison de l'ADN dans l'industrie. Nous avons examiné le type et la gamme des possibilités que ces techniques peuvent offrir à l'industrie, mais nous n'avons pas essayé de fournir une revue détaillée des applications industrielles actuelles et prévisibles. Des rapports utiles ont été élaborés par l'« Office of Technology Assessment » (Bureau d'Evaluation des techniques : OTA) du Congrès des Etats-Unis¹, par l'Organisation Mondiale de la Santé², par l'Association allemande de technologie chimique, génie chimique et biotechnologie (DECHEMA)³, et par l'OCDE⁴.

Par ses incidences, l'application des techniques de recombinaison de l'ADN a ouvert de nouvelles perspectives pour un large éventail d'industries. On peut désormais utiliser ces techniques en thérapeutique et en nutrition humaines et animales, dans les procédés industriels de fermentation, dans la dégradation des polluants de l'environnement, dans l'extraction des minerais et du pétrole et en agriculture. Ces applications entraînent des progrès importants dans la compréhension et le diagnostic des maladies, ce qui ne manquera pas de se traduire, dans le domaine des soins de santé, par une amélioration des méthodes thérapeutiques et préventives et permettra d'améliorer les procédés industriels et les méthodes de protection de l'environnement et d'accroître la production de denrées alimentaires et de fibres de qualité supérieure.

Les procédés de fabrication dans le domaine des produits pharmaceutiques, des additifs alimentaires, de la chimie fine et de certains produits de chimie lourde profitent, à la fois en rendement et en pureté, des nouveaux procédés de biosynthèse appliqués tant aux produits existants qu'aux produits nouveaux.

Les avantages tangibles des techniques de recombinaison de l'ADN commencent déjà à se manifester dans l'industrie manufacturière travaillant pour le secteur des soins de santé. Par exemple, le premier produit pharmaceutique obtenu par ces techniques et introduit sur le marché, l'insuline humaine, a rendu possible une offre potentiellement illimitée de ce produit, en remplacement, lorsqu'il y a lieu, des insulines non humaines produites à partir de tissus de porcs et de bovins.

La production d'insuline montre la capacité des techniques de recombinaison de l'ADN à produire de nouvelles et peut-être de meilleures variétés de produits pharmaceutiques existants. Peut-être plus importante encore est l'utilisation de ces techniques pour la production de substances thérapeutiques jusqu'ici rares et chères, comme les interférons, les éléments du sang et des vaccins, qui ne pouvaient être produits en quantités et dans les

conditions de pureté nécessaires par les techniques antérieures. L'hormone de croissance humaine par exemple, qui est utilisée pour augmenter la croissance des patients qui, autrement, souffriraient de nanisme hypophysaire, n'était obtenue précédemment qu'à partir d'hypophyses humaines recueillies après la mort et tout à fait insuffisantes pour satisfaire la demande. En utilisant les techniques de recombinaison de l'ADN, une séquence d'ADN codant pour l'hormone de croissance humaine a été maintenant insérée dans des bactéries, ce qui permet la production de quantités pratiquement illimitées et réduit le coût. De plus, on élimine ainsi pratiquement toute possibilité de contamination accidentelle par des agents nocifs (comme l'agent du syndrome de Creutzfeldt-Jakob récemment trouvé dans certaines préparations d'hormone de croissance humaine à partir d'hypophyses).

Un grand nombre d'organismes recombinés, conçus pour produire d'autres produits pharmaceutiques rares, ont été cultivés à l'échelle pilote et, dans quelques cas, à l'échelle industrielle, aboutissant à la production de plusieurs milliers de litres de culture bactérienne. Ces procédés permettent de produire assez de matériel pour entreprendre des essais cliniques dans plusieurs domaines thérapeutiques. L'augmentation d'échelle de ces procédés à partir du laboratoire, en passant par l'échelle pilote jusqu'à l'échelle industrielle, a été réalisée en tirant profit de la très longue expérience industrielle des fermentations à grande échelle à l'aide de bactéries, de levures et de champignons.

Cette vaste ressource que constitue l'expérience acquise dans le domaine des techniques de fermentation ne doit pas être sous-estimée pour la maîtrise des nouvelles techniques de recombinaison de l'ADN visant à produire des quantités suffisantes de produits utiles. De plus, les organismes produits par les techniques de recombinaison de l'ADN paraissent pouvoir être mieux définis, ce qui permet de fabriquer des produits d'une très grande pureté et d'une très haute qualité. La combinaison des techniques de fermentation avec celles de recombinaison de l'ADN offre un moyen puissant de fabrication d'un grand nombre de substances très importantes en thérapeutique et ailleurs.

Les travaux de développement d'une gamme de produits de l'ADN recombiné se poursuivront, y compris ceux sur des hormones humaines, sur des modulateurs du système immunitaire et sur des agents antiviraux et anticancéreux. De telles substances nous ouvriront de nouvelles perspectives et nous fourniront de nouvelles thérapeutiques pour beaucoup de maladies importantes. La maladie pourra être diagnostiquée d'une façon plus précise et plus rapidement qu'à l'heure actuelle, à mesure que de nouvelles méthodes de diagnostic, fondées sur les techniques de recombinaison de l'ADN, deviendront disponibles. De nouveaux agents seront fabriqués pour prévenir ou maîtriser les maladies affectant les mécanismes de coagulation du sang. Les travaux sur la production d'enzymes humaines «fibrinolytiques», comme l'urokinase et les activateurs tissulaires du plasminogène, et sur l'expression à grande échelle des facteurs de coagulation du sang IX et VIIIc par des organismes à ADN recombiné se poursuivront et s'amplifieront. Ce dernier procédé n'accroîtra pas seulement l'offre des facteurs rares de coagulation, mais peut assurer aussi la pureté du produit et réduire les possibilités de contamination par des agents indésirables. Ces techniques fournissent aussi une possibilité d'améliorer les vaccins existants, par exemple contre la grippe et le choléra, et de produire des vaccins entièrement nouveaux, par exemple contre la malaria, l'herpès et les fièvres hémorragiques virales. Dans tous ces cas, il ne serait plus nécessaire de manipuler des organismes pathogènes en grandes quantités.

Par conséquent, le secteur des soins de santé s'enrichira de nouvelles versions de médicaments anciens, de médicaments entièrement nouveaux et de vaccins contre les maladies pour lesquelles il n'existe actuellement que peu ou pas de remèdes. Cette évolution sera stimulée par de meilleures méthodes diagnostiques et elle devrait se traduire par une amélioration des services de santé, tant globalement qu'à l'échelle individuelle. Les avantages

économiques peuvent n'apparaître que lentement, mais ils s'accroîtront au fur et à mesure des progrès de la technologie.

Dans le domaine médical aussi bien que dans d'autres, les techniques de recombinaison de l'ADN seront surtout utilisées dans l'industrie pour améliorer le rendement des produits connus ou la production de nouveaux composés pharmaceutiques, chimiques et alimentaires. Citons comme exemples : (a) l'amélioration énergétique de la production de POU (protéines d'organismes unicellulaires), susceptible d'entraîner une réduction des coûts ; (b) l'augmentation du rendement de la pénicilline acylase pour la conversion de la pénicilline en acide 6-amino-pénicillanique ; (c) l'amélioration de la production de la vitamine riboflavine ; (d) la mise au point de nouveaux micro-organismes pour la dégradation et la bioconversion de composés aromatiques chlorés dans le traitement de déchets toxiques ; et (e) l'accroissement de la production de méthane à partir d'ordures et d'eaux usées.

La production d'enzymes par les techniques de recombinaison de l'ADN, pour une utilisation à grande échelle en fermenteur, a un impact sur l'industrie manufacturière, de même que les méthodes biosynthétiques de production d'acides aminés. Grâce à la puissance de ces nouvelles techniques, on peut espérer beaucoup d'autres progrès qui amélioreront le rendement et la qualité des procédés de fabrication existants. Précédemment, de telles applications étaient réalisées par de vastes programmes classiques de mutation, où le hasard jouait un grand rôle. Ces derniers, bien que couronnés souvent de succès, restent fondamentalement non sélectifs et aléatoires, et exigent des programmes de tri coûteux afin de choisir les organismes les plus appropriés.

Ces innovations découlent des progrès de la recherche fondamentale, qui nous permet d'extraire ou de synthétiser des séquences d'ADN pour la production d'organismes modifiés et de nouvelles substances. Les nouvelles techniques se répandront à travers un vaste éventail d'industries, et offriront des avantages considérables. L'expérience déjà acquise montre clairement que l'exploitation des techniques de recombinaison de l'ADN dépend fortement de procédés conventionnels, tels que la fermentation à grande échelle ou l'extraction et la purification du produit, qui, lorsqu'ils sont combinés avec les moyens disponibles de caractérisation du produit et de contrôle de qualité, conduiront à une augmentation du rendement et de la pureté ainsi qu'à une plus grande sécurité des produits.

Applications dans l'agriculture et dans l'environnement

La présente section donne un aperçu des applications actuelles et potentielles des techniques de recombinaison de l'ADN dans l'agriculture et dans l'environnement. Beaucoup de ces applications n'en sont qu'au début de leur mise au point ; elles donnent toutefois une idée de l'étendue des possibilités qui pourraient se concrétiser à l'avenir.

1. Techniques de recombinaison de l'ADN appliquées à l'agriculture

Il est certain que les applications des techniques de recombinaison de l'ADN en agriculture seront importantes. Dans le monde entier, un grand nombre de centres de recherche universitaires, gouvernementaux et industriels s'efforcent d'appliquer ces nouvelles techniques avec l'objectif général d'augmenter la quantité, la qualité et l'efficacité de la production alimentaire. Les applications agricoles visant à créer de nouvelles variétés de plantes cultivées, de nouveaux instruments de diagnostic pour les plantes et pour les animaux, des modifications chez des animaux, des vaccins vétérinaires et de nouveaux pesticides et herbicides font l'objet d'intenses travaux de mise au point.

Depuis le passage du stade de la chasse et de la cueillette à celui de la culture de plantes, il y a environ 10 000 ans, l'agriculture a été dominée par des techniques génétiques classiques de sélection, de séparation et de croisement. Ces méthodes restent les fondements de l'agriculture, et sont améliorées par les techniques de gestion des exploitations, les économies d'échelle, les techniques de culture *in vitro*, l'utilisation de pesticides et d'engrais chimiques et une irrigation étendue.

Quelque 29 espèces fondamentales de cultures (8 céréales, 3 racines alimentaires, 2 plantes sucrières, 7 légumineuses, 7 oléagineux, ainsi que les bananes et les noix de coco), auxquelles s'ajoutent environ 15 espèces principales de légumes et 15 espèces de fruits, représentent les produits végétaux qui fournissent 93 pour cent de la nourriture humaine. Les techniques de recombinaison de l'ADN permettent désormais des recherches fondamentales radicalement nouvelles sur la physiologie, la biochimie et le développement de ces diverses plantes cultivées et sur leurs interactions avec des facteurs complexes de l'agro-écosystème, tels que micro-organismes et animaux utiles et parasitaires, salinité, acidité, humidité, température, engrais chimiques et pesticides.

En agriculture, les techniques de recombinaison de l'ADN ont pour objectifs spécifiques par exemple de réduire la vulnérabilité aux perturbations de l'environnement, de détecter et de maîtriser les agents infectieux chez les animaux, dans les champs et après la récolte, de réduire la dépendance à l'égard des pesticides chimiques et de modifier les modalités d'utilisation de ceux-ci, de réduire la dépendance à l'égard des engrais chimiques et de l'irrigation et d'améliorer les qualités nutritives des graines, des fruits, des céréales et des légumes.

Les techniques de recombinaison de l'ADN sont applicables à la manipulation des micro-organismes importants en agriculture et seront probablement au point sous peu pour les caractères héréditaires simples des plantes et des animaux. La manipulation des caractères héréditaires complexes comme le rendement, l'adaptation à l'habitat et la photosynthèse, qui exigent le concours d'un grand nombre de gènes, est difficile et n'est pas techniquement réalisable dans l'immédiat. L'accroissement de la diversité génétique, par l'introduction de gènes d'autres origines, devrait permettre de mieux compenser les effets de changements importants de l'environnement. Les applications suivantes illustrent les orientations de ces travaux.

a) *Amélioration de la qualité nutritive des protéines de stockage contenues dans les graines*

Les graines de légumineuses et de céréales satisfont à peu près 70 pour cent des besoins de l'homme en protéines alimentaires. Cependant, ces protéines ne donnent pas un régime bien équilibré, parce qu'elles sont déficientes en certains acides aminés que l'homme doit acquérir par son alimentation. Aux Etats-Unis, la première demande d'autorisation d'essais en champ de plantes agricoles à ADN recombiné portait sur des expériences d'introduction dans le maïs (*Zea mays*) d'un gène codant pour une protéine de stockage qui contiendrait des quantités alimentaires suffisantes des acides aminés manquants.

b) *Augmentation de la résistance au froid et au gel*

Aux Etats-Unis, les dommages causés par le gel entraînent des pertes évaluées à 3 milliards de dollars par an. Les méthodes physiques communément utilisées pour protéger les plantes cultivées de valeur comprennent des ventilateurs, des chaufferettes à combustibles fossiles et le pompage de grandes quantités d'eau. Ces méthodes sont coûteuses, souvent indésirables pour l'environnement et assez peu efficaces. A des températures inférieures de

moins de 5°C à la température de congélation, la formation de glace sur les feuilles est favorisée par des protéines de surface de bactéries telles que *Pseudomonas syringae* ou *Erwinia herbicola* ; ce processus est appelé nucléation de la glace⁵. Des bactéries déficientes pour le processus de nucléation de la glace (bactéries I-) peuvent être utilisées pour lutter contre les dommages causés aux récoltes par le gel, en concurrençant les bactéries I+ sur la surface des feuilles. Ces bactéries I- ont été : (i) isolées de la population naturelle ; (ii) induites par mutagenèse chimique, et (iii) produites par délétion du gène de nucléation de la glace par les techniques de recombinaison de l'ADN. Un organisme traité par ces techniques sera vraisemblablement au moins aussi bien défini que les autres mutants et aura une plus forte probabilité de rivaliser avec les lignées adaptées à une plante hôte déterminée.

c) *Augmentation de la tolérance aux produits chimiques et à la maladie*

Des produits chimiques qui maîtrisent la croissance des plantes, tels que les herbicides, sont largement utilisés dans l'agriculture pour éliminer les mauvaises herbes qui rivalisent avec les plantes agricoles. Certaines plantes importantes, dont le maïs, sont résistantes à l'herbicide atrazine, alors que d'autres plantes cultivées au sein d'un même agro-écosystème, comme le soja, sont affectées par cet herbicide. La détoxification de l'atrazine dans le maïs et dans des mauvaises herbes résistantes est sous contrôle génétique. Si on pouvait isoler les gènes de détoxification des mauvaises herbes résistantes et les transférer dans le soja par des techniques de recombinaison de l'ADN, et si ces gènes s'exprimaient dans le soja, le mécanisme de résistance pourrait alors être transféré.

Des gènes qui confèrent une résistance aux agents pathogènes et aux insectes ravageurs ont souvent été observés dans des espèces apparentées à des plantes cultivées. Par hybridation interspécifique à l'aide de techniques classiques de croisement, on a pu introduire des gènes de résistance dans des plantes cultivées, mais cela ne va pas sans introduire simultanément de nombreux gènes indésirables, que l'on ne peut éliminer qu'après plusieurs générations de rétro-croisement et de sélection. Lorsque des barrières biologiques empêchent la fécondation croisée ou le développement des zygotes, une fusion de cellules et de protoplastes, suivie d'une réinsertion dans les plantes, a permis de transférer des gènes au travers de ces barrières. Ces techniques de sélection d'organismes et de cellules, associées à des techniques de recombinaison de l'ADN pour l'introduction directe de gènes spécifiques de résistance dans des cellules ou dans des protoplastes, permettraient de gagner de nombreuses années de sélection classique de plantes.

d) *Remplacement des pesticides chimiques par des agents microbiens*

Le micro-organisme *Bacillus thuringiensis* a été largement utilisé en tant qu'agent microbien de lutte contre plusieurs lépidoptères ravageurs comme le bombyx disparate. L'agent toxique est une protéine qui est létale pour la forme larvaire des insectes et dont le gène a été cloné et caractérisé. A l'aide des techniques de recombinaison de l'ADN, on a introduit le gène de la toxine dans des bactéries qui vivent sur les racines, en vue de déposer la toxine en un site où un ravageur est susceptible de venir s'alimenter. Cette méthode de lutte par des agents biologiques offre de vastes perspectives de substitution aux pesticides chimiques.

Enfin, les produits microbiens peuvent modifier le pH et les autres propriétés des ensilages ou des foin, permettant de réduire considérablement les pertes d'après-récolte attribuables à des organismes contaminants. Les techniques de recombinaison de l'ADN peuvent être utilisées pour accroître l'efficacité de ces produits microbiens.

e) *Economies d'engrais par la fixation biologique de l'azote*

L'azote, élément nutritif essentiel des plantes et l'un des principaux déterminants de la productivité des plantes agricoles, est très rapidement épuisé dans le sol. Quelque 60 millions de tonnes d'engrais azotés sont utilisés chaque année dans le monde et l'on prévoit une consommation de 160 millions de tonnes en l'an 2000. Non sans ironie pourtant, les plantes baignent dans l'azote (80 pour cent de l'air). Contrairement à presque toutes les autres plantes économiques, le soja, la luzerne et d'autres légumineuses ont réalisé dans les nodules de leurs racines un rapport symbiotique avec les bactéries *Rhizobium* pour extraire directement l'azote de l'air. Des essais de fixation de l'azote utilisant la réduction de l'acétylène ont permis de dépister les organismes fixateurs d'azote et d'isoler les enzymes concernées.

Les techniques de recombinaison de l'ADN ont permis d'identifier au moins quinze gènes différents qui codent pour les enzymes, les protéines de transfert d'électrons et les autres protéines intervenant dans la fixation de l'azote ou qui participent à la régulation de leur expression. Il est possible d'isoler des groupes de gènes, de les insérer dans des vecteurs et de les transférer à des espèces ou genres qui ne fixent pas l'azote. Malheureusement, il est bien plus difficile de déterminer comment ces gènes peuvent être amenés à fonctionner dans les cellules réceptrices. Il est très probable que des progrès importants seront faits en introduisant la fixation de l'azote dans d'autres bactéries symbiotiques.

Une approche prometteuse utilise l'*Azotobacter*, qui vit librement dans le sol sans avoir besoin de former des nodules dans les racines des plantes agricoles. D'autres micro-organismes du sol pourraient être modifiés de façon à fixer l'azote.

f) *Diagnostic de l'infection des plantes*

Les techniques de recombinaison de l'ADN peuvent être utilisées pour diagnostiquer les infections des plantes. L'application de ces techniques a permis de diagnostiquer avec succès plusieurs maladies provoquées par des virus et des viroïdes. On a pu isoler des séquences spécifiques de l'ARN ou de l'ADN de l'agent causal et mettre au point des sondes génétiques de diagnostic. Un certain nombre de méthodes diagnostiques font également appel à des anticorps monoclonaux spécifiques d'agents pathogènes bactériens (par exemple, la gale du collet atteignant les plantes ornementales cultivées en serre et les maladies des agrumes et du sorgho dues au *Xanthomonas*), fongiques (par exemple le *Fusarium* sur le gazon) et viraux. Cette approche, qui devrait se révéler très utile pour sélectionner des plantes exemptes d'agents pathogènes destinées à la culture et aux croisements et pour dépister des infections dans les cultures, a des équivalents dans le domaine de la médecine vétérinaire et humaine.

g) *Productivité animale*

Dans les pays de l'OCDE en particulier, la viande, le poisson et la volaille constituent une part importante du régime alimentaire. Il s'agit là de branches d'activité où règne une vive concurrence et où l'on attache une grande valeur au rendement de la production. Des gènes de l'hormone de croissance des animaux ont été clonés, mis dans des vecteurs d'expression et introduits dans des embryons, donnant ainsi une croissance plus rapide et des animaux plus grands. En général, le transfert de gènes chez des animaux de boucherie devrait avoir pour but d'introduire des caractéristiques présentant une valeur commerciale, comme une plus grande résistance aux maladies, une croissance plus rapide, des modifications qualitatives des tissus

de l'animal hôte, etc. Chez les animaux de laboratoire, les transferts de gènes s'effectuent actuellement par des moyens mécaniques, comme la micro-injection dans des masses de cellules embryonnaires. A l'avenir, le transfert de gènes chez les animaux de boucherie pourrait s'effectuer aussi à l'aide de virus animaux qui sont suffisamment infectieux pour transférer le matériel génétique, mais suffisamment atténués pour ne pas provoquer de maladie véritable chez l'animal hôte.

Le diagnostic, le traitement et la prévention des maladies animales bénéficient également d'une grande priorité. Le marché mondial des vaccins vétérinaires est estimé à 541 millions de dollars, dont 118 millions de dollars pour les vaccins contre la rage, 118 millions de dollars pour des produits destinés à la volaille et 109 millions de dollars pour les bovins, le reste se répartissant de façon à peu près égale entre les vaccins destinés aux porcs, aux moutons, aux chevaux et aux chats. On se sert déjà de vaccins produits par les techniques de recombinaison de l'ADN pour prévenir la diarrhée du porc nouveau-né. Des vaccins contre d'autres organismes sont en cours de mise au point, notamment contre le virus de la fièvre aphteuse, contre les espèces de *Vibrio* pathogènes pour le saumon et l'anguille, contre la coccidiose des oiseaux et contre le virus de la leucémie du chat. Le recours aux techniques de recombinaison de l'ADN permet de réduire l'utilisation aujourd'hui très répandue de stéroïdes, d'antibiotiques et d'autres agents de ce type dans l'alimentation animale.

2. *Techniques de recombinaison de l'ADN appliquées à la lutte contre la pollution de l'environnement*

Les micro-organismes à ADN recombiné peuvent grandement contribuer à réduire au minimum ou à surmonter d'importants problèmes de pollution. Dans ce domaine, pour répondre aux sévères exigences des environnements extrêmes, il faut trouver ou modifier des organismes capables de survivre et de proliférer en concurrence avec la flore existante et avec les prédateurs et dans certaines conditions physiques et chimiques extrêmes ou très variables.

Les déchets de l'agriculture, de la sylviculture, de l'industrie et des activités urbaines créent des charges énormes pour notre environnement. Les micro-organismes, en particulier ceux qui sont indigènes des sols, des décharges et des sites de rejet de l'agriculture et de la sylviculture, ont des capacités de dégradation remarquables, mais le niveau de ces activités enzymatiques est en général assez faible. Bien que l'on possède souvent une grande expérience de leur emploi, la plupart des micro-organismes susceptibles de dégrader des produits chimiques persistants et toxiques, ou d'agir à des températures ou à des degrés de salinité extrêmes, ont été peu étudiés, tant du point de vue physiologique que du point de vue génétique. Par ailleurs, les outils de manipulation génétique peuvent être peu développés pour ces espèces. D'un autre côté, les espèces du type *Pseudomonas*, souvent trouvées dans des sites naturels, font l'objet d'études approfondies et apparaissent comme des agents très prometteurs pour des applications à l'environnement.

Depuis de nombreuses années, des systèmes biologiques ont été employés avec succès dans la lutte contre la pollution domestique et contre la pollution industrielle. Il s'agit essentiellement de systèmes chimiostatiques contenant un mélange de populations capables d'un grand nombre de fonctions biochimiques. Ils doivent accepter et minéraliser efficacement de grands courants de déchets relativement dilués et variant dans le temps. Les perspectives les plus prometteuses pour les organismes recombinés sont directement liées à des modifications des procédés de fabrication, telles que, dès qu'ils se produisent, les flux de déchets soient plus simples, plus constants et plus concentrés. Les capacités biochimiques les plus utiles sont la déhalogénéation, la désamination, la dénitrification et l'ouverture de cycles.

Même la détoxification partielle de composés dangereux pourrait être utile dans la stratégie générale de traitement des déchets.

En ce qui concerne les déchets urbains, les moyens microbiologiques de réduction de volume et de masse pourraient être intéressants.

Une des applications les plus prometteuses des organismes à ADN recombiné dans la lutte contre la pollution est la dégradation des déchets très toxiques. Des recherches poussées utilisant des organismes recombinés sont actuellement en cours. Les publications donnent de nombreux exemples d'utilisation de micro-organismes dégradant des composés toxiques, comme les phénols chlorés, les cyanures et les dioxines.

Cependant, dans beaucoup de cas, les déchets dangereux risquent d'être toxiques pour les micro-organismes eux-mêmes, bien que des techniques de sélection appropriées puissent atténuer ce problème. De prochains développements comporteront probablement une amélioration de la dégradation des déchets toxiques dans des environnements bien définis (par exemple, des déchets bien caractérisés contenus dans un réservoir). En attendant, on note aussi les progrès des recherches sur l'utilisation de micro-organismes recombinés pour réduire la concentration de déchets dans les bassins de décantation ou pour nettoyer les déversements. D'autres objectifs fort utiles sont la décontamination des sols, des coques de navires et des carters d'huile. Grâce aux techniques de recombinaison de l'ADN, des organismes indigènes pourraient être dotés de plus grandes capacités de dégradation de substrats toxiques importants.

3. *Extraction et récupération microbiologique des métaux*

Depuis plus d'un siècle, les micro-organismes ont été utilisés commercialement pour la récupération de métaux à partir de minerais. Dans les années 50, il a été démontré que le *Thiobacillus ferroxidans* et le *T.thiooxidans* oxydaient certains métaux, ainsi que plusieurs minerais de sulfate de cuivre. Ces micro-organismes sont utilisés maintenant pour lixivier le cuivre et l'uranium en quantités commercialement intéressantes. De même, des travaux sur l'utilisation de micro-organismes pour concentrer des métaux en vue d'une récupération ultérieure se déroulent depuis les années 60. Les organismes pouvant être utilisés comprennent des algues (par ex. *Chlorella vulgaris*, *Hormidium fluitans*), des bactéries (par ex. *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*) et des champignons (par ex. *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*).

Beaucoup de gisements de minerais ont été exploités à un point tel que la quantité de métal pouvant être extraite par des moyens conventionnels n'est plus commercialement rentable. Les techniques de lixiviation microbiologique peuvent être utilisées pour obtenir du métal à partir de ces minerais à faible teneur, d'une façon relativement peu coûteuse. Les opérations microbiologiques peuvent être conçues de façon à exiger également moins d'énergie que d'autres techniques conventionnelles de récupération. Les techniques de recombinaison de l'ADN pourraient permettre la mise au point d'organismes plus tolérants à des conditions acides ou salines, mieux à même de survivre à hautes et basses températures et ayant la capacité de lixivier un plus grand nombre de métaux.

4. *Récupération assistée du pétrole*

Une part considérable des réserves mondiales de pétrole se trouve dans des puits souterrains où les hydrocarbures sont soit retenus dans des formations rocheuses, soit trop visqueux pour être pompés. Ces obstacles ont incité les chercheurs à mettre au point des procédés chimiques ou microbiologiques pour récupérer davantage de pétrole. Un biopoly-

dans laquelle la manipulation génétique a modifié les propriétés pertinentes de l'organisme receveur et a notamment fait apparaître d'importants effets nouveaux ou inattendus. Les essais visant à décrire les propriétés de l'organisme modifié peuvent tirer parti de la forte ressemblance entre celui-ci et l'organisme receveur.

Les techniques de recombinaison de l'ADN peuvent être utilisées pour modifier le génome d'un organisme, par exemple pour retirer une partie du génome de l'organisme receveur. Le recours à une technique de délétion suscite d'ordinaire moins d'inquiétudes relatives à la sécurité que les autres types de manipulations, puisqu'une délétion se traduit en général par des modifications plus réduites et plus précisément définies et affaiblit en outre le plus souvent l'organisme et qu'aucune information génétique nouvelle n'est introduite dans l'organisme parent. De plus, il est probable que les délétions ressembleront aux mutations qui se produisent naturellement dans les organismes. Il faut toutefois tenir compte de la possibilité que s'expriment des fonctions imprévues, surtout dans le cas d'autres types de modifications.

Considérations de sécurité liées aux applications à grande échelle dans l'industrie

Les procédés biologiques traditionnels dont se sert l'industrie font appel à des micro-organismes qui sont bien caractérisés. Les organismes considérés comme ne présentant qu'un faible risque n'exigent que des mesures de contrôle et de confinement minimales. A quelques exceptions près (comme la production des vaccins), on utilise des organismes qui ne sont pathogènes ni pour l'homme, ni pour les animaux.

Dangers supposés et données relatives à la sécurité⁵

Lorsque les techniques de recombinaison de l'ADN ont commencé à être utilisées, on s'est naturellement préoccupé de leurs dangers éventuels, mais après plus de dix ans d'expérimentation dans des conditions bien définies, ces dangers demeurent hypothétiques et non pas déduits d'un incident. Trois catégories d'éléments d'appréciation convaincants ont contribué à réduire l'incertitude initiale à propos de la sécurité de ces techniques. En premier lieu, des études expérimentales d'évaluation des risques, conçues spécifiquement pour vérifier l'hypothèse que les cellules donneuses d'ADN pouvaient effectivement communiquer des propriétés nocives inattendues aux organismes hôtes, n'ont pas permis de démontrer l'existence de ces dangers supposés. En deuxième lieu, une évaluation plus rigoureuse des renseignements disponibles sur les processus fondamentaux qui régissent l'immunologie, le pouvoir pathogène et les maladies infectieuses, a conduit à alléger les normes de confinement recommandées par les autorités nationales. En troisième lieu, les expériences réalisées depuis quelques années n'ont fait apparaître aucun danger nouveau observable.

Les éléments qui précèdent laissent penser que l'examen des propriétés connues des constituants utilisés dans le processus de recombinaison de l'ADN permet une évaluation fiable du degré de sécurité des micro-organismes obtenus par les techniques de recombinaison. Une attention particulière s'impose par exemple lorsque l'on doit cloner de l'ADN codant pour des toxines pouvant se révéler très actives.

On doit s'attendre à ce que les dangers potentiels de l'utilisation industrielle d'organismes à ADN recombiné soient de la même nature que dans le cas des autres agents biologiques, à savoir :

- i) Les dangers d'infection – le risque de maladies pour l'homme, les animaux et les plantes par suite de l'exposition à un organisme vivant ou à un virus ;

- ii) Les effets toxiques, allergiques ou autres effets biologiques d'un organisme ou d'une cellule non viable, de ses constituants ou des produits naturels de son métabolisme ;
- iii) Les effets toxiques, allergiques ou autres effets biologiques du produit synthétisé par l'organisme ;
- iv) Les effets sur l'environnement (voir la section suivante).

La mise au point de pratiques et de mesures de contrôle appropriées à permis à la biotechnologie d'être généralement considérée comme une industrie sûre. Lorsque les dangers énumérés ci-dessus (*i-iv*) existent, il est nécessaire de prendre en considération le risque d'exposition et de prendre des mesures adéquates et appropriées pour empêcher ou pour réduire au minimum cette exposition. Il convient de noter que les activités à l'échelle industrielle n'ont rien d'intrinsèquement plus dangereux, en ce qui concerne les organismes à ADN recombiné ou leurs produits, que les travaux à l'échelle du laboratoire. C'est surtout l'échelle de fonctionnement et donc le volume pouvant être libéré, la concentration et la durée de l'exposition qui sont augmentés. De plus, ce n'est que dans des conditions de fermentation contrôlées dans un procédé bien défini que la biomasse et la quantité de produit par unité de volume peuvent être maximisées. Ceci doit être pondéré par le fait que la plupart des incertitudes liées à l'organisme au stade de la recherche en laboratoire ont été éliminées avant le passage à l'échelle industrielle. Par ailleurs, des souches hôtes inactivées utilisées en laboratoire peuvent l'être aussi dans des fermentations industrielles, pourvu que l'organisme soit efficace dans les conditions qui règnent à l'intérieur du fermenteur. Il faudrait souligner aussi que l'industrie a une tendance intrinsèque à utiliser des organismes présentant un faible risque. Ceci non seulement minimise les contraintes réglementaires nationales, mais entraîne aussi des coûts plus faibles en réduisant, par exemple, les besoins en installations coûteuses de confinement et en procédures de sécurité correspondantes.

On trouvera à l'appendice E une analyse plus poussée des risques potentiels que les organismes classiques et les organismes recombinés présentent pour l'être humain, pour les animaux et pour les végétaux. Cette analyse prend en compte le pouvoir pathogène, la manipulation de grandes quantités de micro-organismes et les produits biologiquement actifs.

Considérations de sécurité liées aux applications en agriculture et dans l'environnement

1. Généralités

Dans cette section, on examine la sécurité et les risques supposés de l'utilisation de micro-organismes, de végétaux et d'animaux à ADN recombiné en agriculture et dans l'environnement. La manipulation génétique intentionnelle d'organismes vivants date de la reconnaissance du fait que des organismes pouvaient être sélectionnés et croisés afin de produire des variétés plus intéressantes pour ce genre d'applications. En utilisant les techniques de l'ADN recombiné, des modifications très spécifiques peuvent maintenant être introduites dans les organismes, et les barrières qui avaient jusqu'alors limité le transfert du matériel génétique entre les espèces peuvent être contournées ou surmontées. Quelques-uns des micro-organismes, des plantes et des animaux mis au point grâce aux techniques de l'ADN recombiné peuvent donc différer qualitativement ou quantitativement des organismes naturels ou de ceux créés par des techniques de croisement conventionnelles.

Des inquiétudes se sont fait jour au sujet des risques écologiques que pourrait présenter l'application de ces organismes à ADN recombiné à l'environnement. Des efforts ont été faits pour évaluer ces risques ; à ce jour, ces tentatives consistent pour l'essentiel à extrapoler à

partir des expériences : *(i)* sur l'introduction d'organismes non modifiés dans des écosystèmes où ils ne sont pas présents naturellement ; *(ii)* sur l'apparition de caractères nouveaux dans les populations existantes ; et *(iii)* sur la manipulation de plantes agricoles, de microbes associés aux plantes et d'animaux. Dans certains de ces domaines, les connaissances permettant d'étayer des prévisions ne sont pas comparables à celles que l'on a accumulées dans le cas d'applications industrielles et il convient donc de suivre l'évolution de la situation à mesure que ce secteur se développe.

On a étudié l'expérience acquise en matière d'introduction d'espèces afin de tenter de définir les risques possibles. Dans la grande majorité des cas, on n'a relevé aucune conséquence négative. Dans certains cas, les introductions d'espèces ont toutefois entraîné des changements biologiques, dont quelques-uns présentaient de l'importance, dans les milieux récepteurs. De plus, il n'est pas possible de déterminer le nombre d'introductions qui ont échoué et qui n'ont de ce fait pas été mentionnées dans les publications.

L'expérience en matière d'apparition de caractères « nouveaux » dans des populations existantes constitue une base pour la détermination des paramètres relatifs au risque potentiel. Les espèces subissent en permanence des modifications génétiques dans la nature. De temps à autre, il peut apparaître un nouveau caractère qui confère un avantage sélectif à l'organisme ; celui-ci peut alors se multiplier, élargir l'éventail de ses hôtes possibles, étendre son aire géographique, ou utiliser des ressources et des habitats nouveaux. Une telle situation n'est que rarement observée, mais elle montre qu'une légère modification génétique peut avoir un effet non négligeable sur le phénotype. Selon la nature de la modification, les effets peuvent être amplifiés dans des conditions écologiques particulières, de sorte que les incidences sur l'environnement peuvent revêtir une certaine importance.

L'hypothèse selon laquelle un petit nombre d'organismes à ADN recombiné seraient susceptibles d'avoir des effets nocifs sur l'environnement repose aussi sur les arguments suivants : *(i)* le nombre d'organismes utilisés dans certaines applications peut être élevé ; *(ii)* les organismes vivants sont capables de se reproduire et de se répandre dans l'environnement ; *(iii)* l'acide nucléique ajouté aux organismes modifiés pour leur conférer des caractéristiques déterminées pourrait être transféré, par des plasmides, des virus ou d'autres moyens, à d'autres organismes qui pourraient ainsi acquérir des caractéristiques indésirables ; *(iv)* les techniques de recombinaison de l'ADN pourraient produire des organismes présentant des combinaisons différentes de celles que l'on rencontre d'ordinaire dans la nature.

Les incidences potentielles sur l'environnement de l'utilisation d'organismes à ADN recombiné en agriculture et dans l'environnement devraient être analogues aux effets que l'on a observés lors de l'introduction d'espèces que l'on trouve dans la nature ou d'espèces sélectionnées à des fins agricoles. Ces incidences sont les suivantes : *(i)* effets directs mais non prévus des organismes modifiés sur des espèces autres que les espèces cibles ; *(ii)* effets sur le résultat des interactions directes entre espèces ; *(iii)* altération des relations indirectes entre espèces ; *(iv)* influences sur les processus biochimiques qui assurent le maintien de tous les écosystèmes ; et *(v)* modifications de la vitesse et de l'orientation des réponses évolutives des espèces les unes aux autres et à leur environnement physique et chimique.

A mesure que progressent les travaux de recherche-développement sur des produits destinés à l'environnement et à l'agriculture, il devient manifeste que l'on recourt aux techniques de recombinaison de l'ADN dans un certain nombre d'objectifs différents. Ceux-ci comprennent la délétion d'un court fragment du génome d'un organisme, une plus grande maîtrise d'une voie de transfert qui existe déjà dans un organisme, la combinaison de matériel génétique provenant d'organismes étroitement apparentés et le transfert de gènes entre des organismes très différents, pour obtenir des combinaisons de caractères qui ont peu de chances de se présenter dans la nature. Comme l'éventail des manipulations est très large, il est

probable que les organismes à ADN recombiné et leurs applications entreront dans différentes catégories de risque, celui-ci étant plus ou moins élevé. Une certaine définition de catégories d'applications à faible risque a été déjà mise au point⁶.

La probabilité que les applications d'organismes à ADN recombiné aient des incidences nocives et inattendues est souvent définie comme faible, pour plusieurs raisons. Dans la plupart des cas, on s'attend à ce que les techniques de l'ADN recombiné fournissent des organismes mieux caractérisés que ceux mis au point par des techniques traditionnelles. Le succès du développement d'organismes manipulés utiles dépend de la sélection d'un receveur approprié, de l'identification des gènes responsables de la fonction désirée, de l'isolement et du clonage des gènes, de leur transfert dans le receveur voulu et de la régulation des gènes introduits, de telle façon qu'ils remplissent correctement leur fonction. Ainsi, la construction d'un organisme utile exige une grande connaissance de l'organisme, et le processus de construction fournira des informations supplémentaires.

Les micro-organismes et les organismes supérieurs mis au point en vue d'applications en agriculture et dans l'environnement franchissent systématiquement les étapes successives d'un processus logique d'allègement progressif des mesures de confinement physique, qui permet de recueillir des données sur la sécurité et sur les résultats obtenus, en passant par la recherche en laboratoire, la recherche dans des microcosmes et dans d'autres milieux confinés, les essais sur le terrain à petite échelle et les essais sur le terrain à grande échelle. Dans ce processus de développement, l'organisme est caractérisé et observé attentivement à chaque étape et on peut prévoir son comportement dans les étapes ultérieures du développement, soumises à un confinement moins strict.

2. Considérations propres aux micro-organismes

Les préoccupations que suscite la libération dans l'environnement de micro-organismes obtenus par recombinaison de l'ADN touchent à la possibilité que la modification génétique influe sur la gamme d'hôtes de l'organisme et sur sa capacité à utiliser des substrats comme l'azote ou la lignine, le transforme en un organisme pathogène ou perturbe l'équilibre entre l'organisme et les populations qui lui sont écologiquement associées dans l'écosystème.

Etant donné que les organismes pathogènes ont une incidence évidente sur la société humaine et sur les systèmes agricoles, une préoccupation importante touche à la possibilité que les modifications génétiques puissent convertir des organismes non pathogènes en organismes pathogènes ou modifier la gamme d'hôtes ou encore la virulence des pathogènes utilisés pour lutter contre les plantes, et insectes nuisibles ou contre d'autres ravageurs. Les études sur les organismes pathogènes ont démontré que de nombreux gènes doivent interagir de façon appropriée pour qu'un microbe provoque une maladie. Le pathogène doit posséder et exprimer de façon appropriée des caractéristiques telles que facteurs de reconnaissance, capacité d'adhésion, pouvoir toxicogène et résistance au système de défense de l'hôte. Les modifications d'un seul gène d'organismes sans potentiel ou antécédents pathogènes ou les introductions de plusieurs gènes ne contribuant pas au pouvoir pathogène ne semblent pas devoir donner lieu à un pouvoir pathogène imprévu. En outre, la grande expérience et les nombreuses données que l'on possède en matière de pouvoir pathogène permettent de définir les paramètres importants pour étudier les effets des modifications de l'ADN.

3. Considérations propres aux végétaux

Les applications agricoles de plantes modifiées par les techniques de recombinaison de l'ADN ont suscité moins de craintes relatives aux risques supposés que l'utilisation de

microbes, car les plantes se sont en général révélées plus faciles à surveiller et à contrôler. On relève toutefois une préoccupation propre aux végétaux, à savoir que la recombinaison de l'ADN puisse produire une plante nuisible qu'il sera difficile de maîtriser. L'ampleur des préoccupations dépendra de la nature de la plante, du gène modifié et de l'environnement dans lequel la plante modifiée doit être introduite. En théorie, une plante nuisible peut être produite : (i) par inadvertance ; (ii) par des tentatives délibérées pour introduire des caractères plus vigoureux dans des plantes cultivées ; ou (iii) par hybridation naturelle entre des plantes sauvages et des variétés à ADN recombiné. L'hybridation permet en principe de transférer des gènes nouveaux à des plantes sauvages et d'introduire des caractères tels que la résistance aux herbicides, la tolérance aux perturbations et la résistance aux insectes. Les caractères codés par un gène unique dont un allèle est déjà présent dans de nombreuses plantes pourraient présenter la plus forte probabilité de transfert (comme la résistance aux herbicides).

Les connaissances taxinomiques et génétiques que l'on possède des genres et des espèces de mauvaises herbes permettent de penser que le risque de produire des plantes nuisibles est le plus grand lorsqu'on manipule, en vue de mettre au point des nouvelles variétés végétales, des plantes nuisibles ou des plantes appartenant à un genre connu pour englober des plantes nuisibles. Or la sélection classique des plantes, comme l'amélioration des variétés de tomate, nous donne une expérience de pratiques réussies en la matière. Il est probable qu'un grand nombre de gènes doivent coopérer de façon appropriée pour qu'une plante présente les propriétés d'une mauvaise herbe ; c'est pourquoi il n'est guère vraisemblable que la recombinaison d'ADN produise par inadvertance une plante nuisible. En tout état de cause, le risque d'introduire un caractère nuisible dans une plante cultivée par recombinaison d'ADN est beaucoup plus faible que celui d'introduire une telle caractéristique par des méthodes classiques de sélection de végétaux, les mauvaises herbes étant souvent utilisées comme source de matériel génétique pour obtenir des caractères souhaitables comme la résistance aux maladies et aux insectes.

Une seconde crainte potentielle que suscite la mise au point de plantes à ADN recombiné destinées à la consommation humaine ou animale est la possibilité que la plante modifiée produise un métabolite secondaire toxique ou une toxine protéique, en particulier si la plante est manipulée pour résister à un insecte nuisible. Ce problème se pose également dans le cas de la sélection traditionnelle des plantes.

Quelques autres craintes concernant l'obtention traditionnelle de variétés végétales s'appliquent aussi à toutes les variétés de plantes mises au point par les techniques de l'ADN recombiné. Ces craintes portent sur des changements dans les microflores associées aux plantes en réponse aux changements génétiques des plantes ou à la culture intensive d'une seule variété de plante sur une grande superficie. Un exemple des effets potentiellement néfastes de telles pratiques est la réponse génétique des organismes pathogènes et des insectes aux changements de résistance de la plante. Cette réponse permet aux ravageurs de vaincre la résistance de la plante. Ce type de réaction évolutive a été observé au cours du temps chez un certain nombre de ravageurs et ne peut pas être considéré comme un problème propre à l'utilisation d'ADN recombiné.

4. *Considérations propres aux animaux*

On ne possède actuellement pas une grande expérience de manipulations génétiques spécifiques chez les animaux, mais les risques devraient être faibles. Les principales préoccupations relatives aux modifications génétiques des animaux domestiques ont trait aux altérations de la régulation des gènes de l'animal, à l'expression de virus endogènes latents ou de gènes exogènes et à la présence de concentrations inacceptables de matières biologique-

ment actives dans les denrées alimentaires. Quant aux animaux aquatiques et autres animaux qui ont ou peuvent avoir un accès illimité à l'environnement, ils font l'objet de principes de sécurité analogues à ceux qui s'appliquent aux végétaux et aux microbes. Ces problèmes éventuels n'ont pas été examinés en détail dans le présent rapport.

5. Conclusions

Les préoccupations relatives à la sécurité portent essentiellement sur la question de savoir si l'utilisation d'organismes modifiés par les techniques de recombinaison de l'ADN dans l'environnement et en agriculture présente un risque «supplémentaire». Ces techniques peuvent certes produire des organismes présentant une combinaison de caractères que l'on n'observe pas dans la nature, mais les modifications génétiques qu'elles entraînent offriront souvent une plus grande prévisibilité intrinsèque que les techniques classiques, car la recombinaison de l'ADN permet d'apporter une modification particulière avec une plus grande précision. Il devrait se révéler possible d'évaluer tout risque lié à l'utilisation d'organismes à ADN recombiné à peu près de la même manière que les risques liés à d'autres organismes. De l'avis général, la poursuite des recherches sur les micro-organismes, les végétaux et les animaux à ADN recombiné et l'accumulation d'expérience en la matière amélioreront sans aucun doute notre capacité à prévoir avec précision le résultat de l'introduction de ces organismes dans des types d'écosystèmes très divers.

NOTES ET RÉFÉRENCES

1. *The Suitability and Applicability of Risk Assessment Methods for Environmental Applications of Biotechnology*, éd.: V.T. Covello and J.R. Fiksel, National Science Foundation, 1985, no. NSF/PRA 8502286.
2. *Impacts of Applied Genetics: Micro-organisms, Plants and Animals*, US Congress, Office of Technology Assessment, Washington, D.C., 1981.
3. Lincoln *et al.*, *Release and Containment of Organisms from Applied Genetics Activities*, EPA Report, Carnegie-Mellon Univ., décembre 1983.
4. Summers and Kawanishi, *EPA Symposium, EPA Report no. 600/9-78 026*, Washington, D.C., 1978.
5. *Health Impact of Biotechnology*, *op. cit.*; *Swiss Biotech*, no. 5, pp.25-26 (1984).
6. Voir par exemple l'appendice L des lignes directrices des Instituts Nationaux de Santé (NIH Guidelines) des Etats-Unis et les exemptions prévues à la section 2.6 du document établi par le Comité Consultatif Australien sur l'ADN recombiné : *The Planned Release of Live Organisms Modified by Recombinant DNA Techniques*, Interim and Consultation Edition, Department of Industry, Technology and Commerce, Canberra Act 2600, mai 1985.

Chapitre III

APPLICATIONS INDUSTRIELLES A GRANDE ÉCHELLE

Ce chapitre aborde les principes généraux régissant la sécurité de l'utilisation industrielle à grande échelle d'organismes à ADN recombiné. Dans la plupart des pays Membres de l'OCDE, les procédés industriels à grande échelle sont définis comme ceux qui mettent en œuvre un volume de culture d'organismes ou de cellules de métazoaires supérieur à 10 litres. Cette distinction quantitative entre échelle de laboratoire et grande échelle est arbitraire et d'autres volumes pourraient tout aussi bien être envisagés.

La grande majorité des organismes qu'utilisent actuellement les industries manufacturières traditionnelles peuvent être considérés comme sûrs, puisque, sur de longues périodes d'utilisation industrielle, s'étendant parfois sur des siècles, ils n'ont donné lieu que rarement à des problèmes de sécurité.

De même, les organismes modifiés obtenus par insertion, en vue d'améliorer leurs propriétés, de segments d'ADN qui sont bien caractérisés et ne comprennent pas de séquences connues pour avoir des effets nocifs, ne devraient probablement pas présenter de risques.

Les cas où l'on modifie par insertion de segments d'ADN des micro-organismes dont les utilisations traditionnelles sont sûres afin de faciliter la fabrication de produits nouveaux ne soulèvent pas de problèmes de sécurité plus graves que ceux que pourraient poser les produits eux-mêmes. Chaque cas devrait faire l'objet d'une évaluation distincte et, pour le petit nombre de ceux qui se révèlent poser des problèmes de sécurité, la production devrait s'effectuer dans des conditions appropriées de confinement.

Ce confinement a pour but de réduire l'exposition des travailleurs et des autres personnes, d'empêcher la libération d'agents potentiellement dangereux dans l'environnement extérieur et de protéger le produit. On peut faire appel à un «confinement biologique» (qui met à profit les barrières naturelles limitant la capacité d'un organisme à survivre et/ou à transférer des informations génétiques dans des environnements donnés) ou à un «confinement physique».

Les méthodes de confinement sont définies de façon plus détaillée à l'appendice G. Leur mise en œuvre se justifie lorsque l'on se sert d'organismes pathogènes ou lorsque l'on insère des gènes qui codent pour des produits nocifs.

Principes du confinement

Les programmes de sécurité industrielle recourent à deux méthodes: (a) le confinement biologique et (b) le confinement physique.

a) *Confinement biologique*

Il existe des barrières naturelles qui limitent la capacité de la survie d'un organisme et/ou le transfert d'information génétique dans des environnements donnés. Ces barrières très spécifiques peuvent être utilisées pour le confinement de l'organisme. Elles englobent des caractéristiques telles que l'auxotrophie, la sensibilité aux UV, etc. Lorsque de telles barrières existent naturellement ou sont introduites spécifiquement dans l'organisme, ce dernier est dit posséder un certain degré de confinement biologique.

Le niveau de confinement biologique possédé par un organisme peut être modulé grâce à la manipulation de l'organisme ou du vecteur. Les modifications de confinement biologique les plus couramment utilisées réduisent :

- i) La survie et la multiplication de l'organisme dans l'environnement ; et/ou
- ii) Le transfert de l'information génétique à d'autres organismes.

b) *Confinement physique*

Le terme «confinement physique» englobe trois éléments de confinement : (i) l'équipement ; (ii) les procédés et techniques d'exploitation ; et (iii) la conception des installations. Le confinement primaire, c'est-à-dire la protection du personnel et du voisinage immédiat du procédé contre l'exposition à des agents nocifs, est assuré par un équipement approprié et par l'utilisation de procédés de fabrication sans risques. Le confinement secondaire, c'est-à-dire la protection de l'environnement extérieur à l'installation contre l'exposition à ces matières, est procuré par une combinaison de la conception des locaux (construction) et des pratiques d'exploitation.

i) *Équipement*

- L'équipement de fermentation utilisé dans le cas d'une production industrielle à l'aide d'organismes à ADN recombiné est le principal moyen pour réaliser un confinement physique. La conception de cet équipement variera suivant le procédé employé. La taille des récipients, et d'autres facteurs du même type. L'efficacité du confinement primaire assuré par l'équipement est maintenue par l'utilisation complémentaire de procédés et de pratiques ;
- Le confinement primaire sera, pour une part variable, assuré par l'installation elle-même. Un confinement primaire additionnel peut être obtenu, par exemple, par la mise en place d'enceintes ventilées autour des points de fuite potentiels ;

ii) *Procédés et Techniques d'exploitation*

- Un élément important du confinement est la stricte conformité à des procédés et techniques normalisées d'exploitation. Les personnes travaillant avec des agents potentiellement infectieux et des substances allergènes ou toxiques devraient être averties des dangers potentiels et devraient recevoir une formation leur permettant de maîtriser les méthodes et techniques à mettre en œuvre pour manipuler sans danger ces matières. Le directeur ou la personne responsable de l'installation industrielle devrait veiller à la formation appropriée du personnel ;
- Quand les méthodes normalisées d'exploitation ne sont pas suffisantes pour maîtriser le danger, il convient de choisir des mesures supplémentaires de sécurité ; celles-ci doivent être adaptées à l'agent ou au procédé ;

- Les méthodes d'exploitation comprennent notamment les éléments suivants : (i) une sécurité biologique ou un manuel d'exploitation indiquant les méthodes et les pratiques à suivre pour minimiser ou éliminer les risques ; (ii) des mesures pour avertir le personnel de dangers particuliers et astreindre le personnel à la lecture et à l'observance des méthodes et des pratiques préconisées ; (iii) la direction des activités par une personne compétente, connaissant les méthodes d'exploitation appropriées, les consignes de sécurité et tous les dangers potentiels sur le lieu de travail ;
- Les techniques et les pratiques de sécurité à l'intention du personnel devraient être complétées par une conception de l'installation, des caractéristiques techniques, des équipements de sécurité et des pratiques de gestion appropriés ;

iii) *Conception de l'installation*

- La conception de l'installation contribue à la protection de l'environnement et des personnes en dehors du voisinage immédiat du lieu de production. Le degré de complexité de la conception doit être compatible avec les activités de production. Les principes appliqués à la conception de différents types de laboratoires peuvent être utilisés pour celle d'installations industrielles en vue de créer des systèmes fonctionnels de barrières secondaires. Il faut reconnaître que dans la réalisation du confinement, la conception de l'installation n'est pas indépendante des pratiques et des méthodes, ainsi que des dispositifs de confinement primaire.

Mise en œuvre du confinement

L'objectif principal de la sélection du confinement est de mettre le niveau des mesures physiques et des consignes de sécurité correspondantes en concordance avec les conclusions de l'évaluation des risques. Les principes de confinement visent à cerner le but à atteindre, et non à spécifier des moyens techniques pour la mise en œuvre. Il est suggéré que pour les bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle (voir ci-dessous), ainsi que pour tous les niveaux de confinement, les principes fondamentaux suivants de sécurité et d'hygiène industrielles soient appliqués :

- i) Maintenir le plus faible niveau d'exposition possible des lieux de travail et de l'environnement à tout agent physique, chimique ou biologique ;
- ii) Prendre des mesures techniques de contrôle à la source et compléter celles-ci, si nécessaire, par des vêtements et autres équipements de protection personnels appropriés ;
- iii) Tester correctement et maintenir en état les mesures et équipements de contrôle ;
- iv) Vérifier, lorsqu'il y a lieu, la présence en dehors du confinement physique primaire d'organismes viables utilisés dans le procédé ;
- v) Assurer la formation du personnel ;
- vi) Former, au besoin, des comités ou des sous-commissions de sécurité biologique ;
- vii) Elaborer et mettre en œuvre un code local de bonne pratique pour la sécurité du personnel.

Les organismes contenant de l'ADN recombiné, de même que d'autres organismes utilisés dans l'industrie, auront généralement été mis au point en laboratoire avec un niveau de confinement déterminé par les lignes directrices qui régissent la recherche. Le niveau de

confinement à respecter en laboratoire est l'un des facteurs que l'on doit prendre en compte pour déterminer le degré de confinement adapté à une production à grande échelle.

Bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle « GILSP » (*Good Industrial Large Scale Practice*)

Comme on l'indique dans le présent rapport et ailleurs¹, les dangers liés aux micro-organismes à ADN recombiné peuvent être évalués et gérés de la même manière que ceux liés aux autres organismes. Il convient de bien se rendre compte que, pour les organismes considérés comme présentant un faible risque, seules des mesures de contrôle et de confinement très légères s'imposent. Ce sera le cas de la grande majorité des organismes à ADN recombiné utilisés pour une production industrielle à grande échelle. C'est pourquoi nous approuvons le concept des bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle « GILSP » (*Good Industrial Large Scale Practice*) pour les organismes que l'on peut manipuler avec un faible niveau de contrôle, correspondant, par exemple, aux mesures de contrôle recommandées par la Fédération Européenne de Biotechnologie pour les organismes de la Classe 1.

Dans le cas des organismes manipulés par les techniques de recombinaison de l'ADN, on peut définir des critères autorisant l'emploi des bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle (GILSP) pour l'organisme parent (hôte), pour l'organisme à ADN recombiné et pour le vecteur/fragment inséré utilisé (voir l'appendice F) :

- L'organisme hôte ne doit pas être pathogène, ne doit pas contenir accidentellement d'autres pathogènes, et doit avoir de longs antécédents d'utilisation industrielle sans danger ou posséder des limitations biologiques intrinsèques, qui permettent une croissance optimale dans les conditions industrielles, mais une survie limitée dans l'environnement, sans conséquences néfastes ;
- L'organisme à l'ADN recombiné ne doit pas être pathogène, doit être aussi inoffensif que l'organisme hôte dans les conditions industrielles et ne doit pas entraîner de conséquences néfastes pour l'environnement ;
- Le vecteur/fragment inséré doit être bien défini et ne pas contenir de séquences nocives connues ; la dimension doit être limitée, dans toute la mesure du possible, à l'ADN nécessaire pour accomplir la fonction souhaitée ; il ne doit pas augmenter la stabilité de l'organisme receveur dans l'environnement, à moins que cela ne soit nécessaire à la fonction recherchée ; il doit être faiblement mobilisable, et ne doit pas transférer de marqueurs de résistance à des micro-organismes connus pour ne pas les acquérir naturellement, si une telle acquisition risquait de compromettre l'utilisation de médicaments pour lutter contre des agents pathogènes en médecine humaine ou vétérinaire ou en agriculture.

Il y a deux exemples précis d'autres classes d'organismes qui justifient le recours aux bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle « GILSP » *s'ils ne sont pas pathogènes* :

- i) Ceux construits entièrement à partir d'un hôte procaryote unique (comprenant ses plasmides et virus indigènes) ou à partir d'un hôte eucaryote unique (comprenant ses chloroplastes, ses mitochondries ou ses plasmides, mais non ses virus) ; et
- ii) Ceux constitués entièrement de segments d'ADN provenant de différentes espèces qui échangent de l'ADN par des processus physiologiques connus.

Évaluation des organismes utilisés dans des procédés industriels avec des niveaux spécifiés de confinement physique

On s'accorde à reconnaître qu'il pourrait se révéler nécessaire dans certains cas de recourir à des niveaux spécifiés de confinement physique. Les propriétés des organismes présentant un intérêt du point de vue de l'évaluation des risques potentiels comprennent le confinement biologique des organismes et leurs effets défavorables potentiels. Plusieurs types d'informations peuvent être étudiés pour l'évaluation du potentiel d'effets défavorables d'organismes à ADN recombiné. Ce sont, premièrement, les caractéristiques des organismes donneurs et des organismes receveurs, ainsi que celles de l'ADN introduit. Les points à prendre en compte pour l'évaluation de tels organismes et de l'ADN introduit, sont décrits dans le chapitre II et l'appendice B de ce rapport. Ils servent d'aide-mémoire mais ne sont pas nécessairement applicables dans tous les cas. Le deuxième type comprend l'évaluation des caractéristiques des organismes à ADN recombiné eux-mêmes. L'appendice C rassemble ces informations ainsi que d'autres présentant un intérêt particulier pour l'évaluation des effets potentiels sur la santé humaine dans le cadre industriel. L'appendice D présente les caractéristiques des organismes modifiés à prendre en compte dans les plans d'urgence en cas de fuite à l'installation. Il faut toutefois noter que l'appendice D a été conçu essentiellement pour des applications dans l'environnement, alors que la plupart des applications à grande échelle utilisent des organismes n'ayant qu'une capacité de survie limitée dans l'environnement. Il convient de prendre en considération un nombre plus limité de points lors de l'évaluation des impacts sur l'environnement d'organismes à ADN recombiné utilisés dans des applications industrielles à grande échelle (voir chapitre IV). On escompte qu'une bonne partie des informations nécessaires auront été accumulées au cours des stades de recherche en laboratoire et de production pilote d'un procédé industriel.

Mise en concordance du confinement physique avec l'évaluation des risques potentiels

Bien avant la mise au point des techniques de recombinaison de l'ADN, des procédés industriels à grande échelle faisaient intervenir des méthodes de confinement physique. On pourrait également appliquer ces principes classiques de confinement physique aux organismes à ADN recombiné. Le degré de confinement physique devrait bien entendu être ajusté en fonction de l'évaluation des risques.

Toutefois, d'autres considérations influenceront la sélection d'un confinement industriel. Ces considérations sont : (i) la nature de l'organisme modifié et (ii) la nature du produit et du procédé utilisé. Dans certain cas, l'évaluation de l'organisme modifié peut indiquer que le niveau de confinement choisi pour la construction de l'organisme en laboratoire n'est pas approprié pour des procédés à grande échelle. Par exemple, le niveau de confinement physique dans le laboratoire peut être élevé si l'organisme donneur est pathogène ; cependant l'organisme génétiquement modifié en résultant peut être un organisme non pathogène, qui contient des séquences d'ADN du donneur non associées avec le phénotype pathogène (par ex., les systèmes hôte-vecteur d'*E. coli* exprimant les antigènes de surface de l'hépatite B). Des niveaux de confinement plus faibles peuvent donc être appropriés pour des études en laboratoire postérieures à la construction de ce type d'organisme à ADN recombiné. Un niveau de confinement physique plus faible dans un procédé industriel utilisant cet organisme modifié peut aussi être approprié. Toutefois, comme différentes caractéristiques peuvent varier de l'échelle du laboratoire à l'échelle industrielle, l'organisme modifié devrait être réévalué, ainsi que les niveaux de confinement, au moment du passage à des procédés à grande échelle.

Il doit aussi être noté que, dans certains cas, les risques présentés par d'autres aspects du procédé et par le produit peuvent imposer le niveau de confinement physique. Les installations et les équipements de production industrielle sont plus divers en ce qui concerne les applications et l'échelle que ne le sont les laboratoires de recherche, et les méthodes choisies pour la maîtrise physique des risques seront donc elles aussi plus diverses. De plus, les procédés industriels devront probablement être décomposés en opérations unitaires, les exigences d'une de ces opérations déterminant le confinement physique de celle-ci. Cette façon de procéder offrira le degré de souplesse exigé par la grande diversité des installations industrielles, et permettra de choisir les méthodes et les conceptions les plus aptes à assurer un confinement sûr et suffisant.

Aussi longtemps que ces méthodes fournissent le confinement requis, une souplesse dans le choix est souhaitable. Par conséquent, il peut être approprié de choisir et de combiner des exigences de confinement de différentes catégories sur la base d'une évaluation de chacune des opérations unitaires. Il n'est donc pas utile de définir des catégories rigides de confinement. On trouvera à l'appendice G des exemples de catégories de confinement possibles. En raison du progrès rapide des connaissances, l'évaluation précise des risques, qui influe sur le confinement physique, pourrait être réexaminée à mesure que l'expérience s'accumule.

NOTE ET RÉFÉRENCE

1. Küenzi *et al.*, «Safe Biotechnology – General Considerations» dans : *Applied Microbiology and Biotechnology*, Springer-Verlag, 1985, Vol. 21, pp.1-6. Rapport établi par le Groupe de travail sur la sécurité en biotechnologie de la Fédération Européenne de Biotechnologie.

Chapitre IV

APPLICATIONS DANS L'ENVIRONNEMENT ET DANS L'AGRICULTURE

Des organismes à ADN recombiné seront mis au point pour des objectifs impliquant des utilisations non confinées dans l'environnement, par exemple pour servir de pesticides, pour améliorer la croissance des plantes, pour lixivier des minerais, pour assister la récupération du pétrole et pour dégrader des polluants. Il est vraisemblable également que des végétaux et des animaux à ADN recombiné seront utilisés pour accroître la production de fibres, de denrées alimentaires et de fourrage. Parmi d'autres applications, il y aura probablement la production et l'utilisation de certains produits vétérinaires et pharmaceutiques. Il ne faut par ailleurs pas perdre de vue que des sites industriels pourraient également libérer des organismes à ADN recombiné.

Les pratiques actuelles en matière de recherche et de développement en agriculture conduisent d'ordinaire à soumettre les organismes modifiés par des méthodes classiques, à des essais approfondis, avant de les commercialiser. Ces essais revêtent le plus souvent la forme d'un processus par étapes, qui va d'une étude en serre ou dans un autre type d'enceinte de confinement spécialisée à l'application sur de petites parcelles bien contrôlées et enfin à l'application à grande échelle sur de nombreuses parcelles et dans divers sites géographiques. Des méthodes analogues s'appliquent à la mise au point d'organismes à ADN recombiné en vue d'utilisations agricoles. Les applications thérapeutiques de produits destinés aux animaux et à l'être humain font également l'objet d'études et d'essais par étapes avant la commercialisation. Les utilisations de micro-organismes dans l'environnement donnent lieu d'ordinaire à des essais dans des systèmes bien maîtrisés avant la dissémination effective. A chaque étape successive, on procède à des évaluations et à une collecte de données, pour déterminer l'efficacité et pour éliminer tout organisme ou utilisation entraînant des effets indésirables sur l'environnement (ou qui se révèle inefficace du point de vue de l'objectif recherché). Ces données sont souvent utiles pour l'évaluation des effets sur l'environnement.

Il n'est guère vraisemblable qu'un ensemble unique d'éléments d'appréciation scientifiques puisse s'appliquer à tous les organismes, environnements et modes de dissémination très divers que l'on envisage à propos des utilisations des organismes à ADN recombiné dans l'agriculture et dans l'environnement. Ce sont en fait le type particulier d'application et la nature de l'organisme modifié qui indiqueront si une évaluation de sécurité se justifie et quels sont les éléments précis qui présentent de l'intérêt. L'exposé du présent chapitre vise à décrire les différents éléments d'appréciation scientifiques qui pourraient intervenir dans cette évaluation et n'a pas du tout pour objet de proposer des méthodes ou des normes d'application universelle pour l'examen des propositions. Au moment où les utilisations des organismes à ADN recombiné dans l'environnement et dans l'agriculture se multiplient, il importe de dresser leur bilan de sécurité et de le comparer à celui des organismes classiques.

Éléments à prendre en compte pour évaluer la sécurité des applications des organismes à ADN recombiné dans l'environnement et dans l'agriculture

Les éléments d'appréciation scientifiques sont présentés dans ce chapitre sous la forme d'une série de phénomènes, qui doivent tous se produire pour qu'un effet nocif puisse apparaître. L'évaluation de la sécurité d'un organisme s'appuie donc sur l'évaluation successive de chacun de ces phénomènes. Si la probabilité que l'un quelconque des phénomènes se produise est faible, la probabilité globale qu'un effet dommageable pour l'environnement se manifeste sera faible elle aussi.

1. Application dans l'environnement

La localisation et la nature du site d'application, ainsi que la méthode et l'ampleur de l'application, sont d'importants éléments d'appréciation de la sécurité. Les applications agricoles pour la production d'aliments pour l'homme et pour les animaux et de fibres peuvent entraîner la libération de grandes quantités d'organismes modifiés dans les écosystèmes terrestres ou aquatiques (par exemple, plantes résistant aux herbicides, bactéries n'amoçant pas la formation de glace, pesticides viraux ou bactériens, animaux transgéniques). Les vaccins animaux et humains obtenus par recombinaison de l'ADN, de même que certains micro-organismes associés à des végétaux, présenteront des conditions beaucoup plus restrictives d'exposition de l'environnement, en raison de la spécificité biologique de l'hôte, mais une libération occasionnelle dans l'environnement se produit assurément par l'intermédiaire des eaux d'égout et des eaux de ruissellement provenant des parcs d'engraissement ou des cultures irriguées et pourrait présenter une certaine importance. Les applications dans l'environnement (par exemple pour extraire des métaux ou pour dégrader des polluants et des déchets toxiques) pourraient être limitées initialement à un lieu précis ou entraîner une exposition étendue des écosystèmes. Les données scientifiques permettant d'évaluer la sécurité différeront d'une application à l'autre et dépendront de la nature de l'organisme et de la proximité physique et biologique de l'homme et d'autres espèces vivantes importantes. Les réglementations locales en matière de quarantaine et les méthodes de surveillance utilisées au cours des travaux de recherche et de développement entreront également en ligne de compte.

2. Survie, multiplication et/ou dissémination dans l'environnement

La capacité relative de l'organisme à survivre et à se multiplier dans l'environnement où il est mis en œuvre et à se répandre dans de nouveaux environnements est un facteur important dans l'évaluation de la sécurité d'utilisation. Les organismes à ADN recombiné utilisés en agriculture et dans l'environnement posséderont sans aucun doute une certaine capacité de survie et de reproduction, et peut-être de dissémination, afin de pouvoir remplir l'objectif recherché. C'est là une situation très différente de celle des organismes biologiquement affaiblis (confinés) dont on se sert pour de nombreuses applications industrielles à grande échelle (voir le chapitre III). On pourrait s'attacher, dans le cadre de l'évaluation, à déterminer si l'organisme modifié est ou non susceptible de présenter un comportement différent de celui de l'organisme non modifié lors de l'exposition à des conditions d'environnement qui influent sur la survie et la reproduction (comme les facteurs climatiques et pédologiques), si la modification influe sur le mode et l'ampleur de la dissémination de l'organisme et s'il peut éventuellement se produire une prolifération excessive des organismes, qui entraînerait des effets indésirables sur l'environnement. On accorderait en outre la

préférence à l'emploi de vecteurs d'ADN recombiné qui ne possèdent qu'une capacité limitée de transfert à d'autres organismes et donc de dispersion dans l'environnement.

3. *Interactions avec des espèces ou des systèmes biologiques*

Deux considérations générales revêtent de l'importance dans la description des interactions entre l'organisme à ADN recombiné et l'écosystème où il est introduit : la description de l'écosystème (par exemple habitat, espèce prédominante) et les interactions potentielles dans cet écosystème (par exemple pouvoir pathogène, transfert de gènes, prolifération excessive). Il est rarement possible de donner une description complète des éléments constitutifs de l'écosystème ; il convient donc en général de porter l'attention sur les caractéristiques importantes de l'écosystème considéré.

Les caractéristiques comparées de l'organisme à ADN recombiné et de l'organisme initial serviront de guide pour la détermination des interactions qui sont les plus susceptibles de présenter de l'importance. Les points à considérer dans cette évaluation sont indiqués dans le chapitre II et dans les appendices B et D.

4. *Effets sur l'environnement*

Les facteurs pouvant mener à des impacts significatifs sur l'environnement sont étudiés à ce stade de l'évaluation. Il s'agit : (i) des effets sur d'autres organismes, comme le pouvoir pathogène, le pouvoir infectieux et les effets sur des compétiteurs, proies, hôtes, symbiotes, etc. ; (ii) des interventions connues ou prévues dans des processus biogéochimiques, comme les cycles des éléments chimiques, la fixation d'azote, etc. ; (iii) de la stabilité génétique ou phénotypique des organismes libérés ; (iv) de la probabilité de transfert de matériel génétique à d'autres organismes de l'écosystème ; et (v) de l'effet de la prolifération excessive des organismes après l'application.

Applicabilité aux plantes et aux animaux

Bon nombre des éléments d'appréciation scientifiques décrits dans le présent chapitre s'appliquent aussi aux plantes et aux animaux obtenus par les techniques de recombinaison de l'ADN. En outre, les considérations générales du chapitre II, définissant l'importance des organismes donneur, receveur et modifié, revêtent également un caractère essentiel pour la phase initiale de l'évaluation de sécurité.

Il y a des différences importantes entre l'évaluation de sécurité dans l'environnement relative aux plantes et aux animaux et celle relative aux micro-organismes. Elles tiennent pour l'essentiel à des différences de complexité et de taille, ainsi qu'à la durée de vie et au degré d'isolement génétique ou de confinement biologique. Les problèmes de détection, de surveillance et de confinement que soulèvent les utilisations des micro-organismes ne se poseront vraisemblablement pas avec la même acuité pour les plantes et pour les animaux.

Disponibilité de l'information et méthodologie des essais

Les points présentés dans l'appendice D illustrent les différents paramètres qui devraient être généralement pris en considération pour l'évaluation des impacts sur l'environnement de la libération d'organismes. Quoique l'évaluation des risques liés à l'introduction d'organismes

dans l'environnement ne soit pas un domaine de recherche très développé, il existe un vaste ensemble d'informations sur l'écologie, la pathologie, la taxinomie et la physiologie des microbes, des plantes et des animaux qui peut être utilisé comme base de données.

A mesure que les applications des organismes à ADN recombiné progressent du stade de la recherche à celui des essais sur le terrain et à celui des applications commerciales, on s'attend à disposer de plus d'informations scientifiques. Il convient d'encourager des recherches supplémentaires pour améliorer notre capacité à prédire le résultat de l'introduction d'organismes à ADN recombiné dans des écosystèmes. Il est probable que les données les plus complètes sur la survie et la dissémination et les meilleures méthodologies d'essai se rapportent aux micro-organismes qui sont pathogènes pour les plantes cultivées et les animaux domestiques.

Les données disponibles sur les micro-organismes n'ont été collectées, systématisées et informatisées que de façon limitée. Des systèmes de données concernant des souches spécifiques commencent à être coordonnés au plan international. Des données sur les séquences de gènes et des cartes fonctionnelles d'éléments génétiques (par ex.: plasmides, phages) sont en train d'être automatisées. Plusieurs génomes viraux ont été entièrement séquencés.

Des informations déduites de la longue expérience de l'introduction, de la sélection et de la dissémination d'espèces de plantes cultivées et d'animaux domestiques, ainsi que de certains microbes, peuvent fournir d'importantes données de base pour évaluer les organismes à ADN recombiné. Comme il a été noté plus haut, l'information sur l'organisme receveur peut être utile pour prédire le devenir des organismes modifiés.

Il pourrait se présenter des situations où les préoccupations relatives aux effets indésirables d'un organisme modifié sur l'environnement exigeraient des données complémentaires. Les données obtenues dans des milieux confinés ou simulés sont souvent utiles pour l'évaluation, mais l'organisme peut ne pas se comporter sur le terrain de la même manière que dans ces milieux. Des essais à petite échelle sur le terrain pourraient donc constituer le seul moyen d'obtenir des données valables.

Évaluation des risques que les organismes à ADN recombiné provenant d'applications industrielles présentent pour l'environnement

L'évaluation des risques que présentent les applications industrielles à grande échelle doit prendre en compte l'éventuelle libération accidentelle ou occasionnelle d'organismes dans l'environnement. La grande majorité de ces applications recourent à des organismes qui sont conformes aux bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle (*Good Industrial Large Scale Practice: GILSP*) et qui, soit sont utilisés depuis longtemps dans de bonnes conditions de sécurité, soit n'ont qu'une capacité limitée de survie en dehors de l'installation. Les propriétés biologiques des organismes modifiés détermineront le degré normal de confinement physique, y compris le contrôle des émissions.

Pour les applications industrielles à grande échelle qui entraînent la libération d'un nombre non négligeable d'organismes viables dans l'environnement, l'évaluation de la sécurité doit s'appuyer sur les éléments d'appréciation scientifiques décrits dans le présent chapitre.

Chapitre V

RÉSUMÉ ET RECOMMANDATIONS

RÉSUMÉ DES PRINCIPAUX POINTS

Les techniques de recombinaison de l'ADN ont ouvert de nouvelles perspectives fort intéressantes dans un large éventail de secteurs et on peut s'attendre à ce qu'elles procurent d'importants avantages à l'humanité. Elles contribuent de diverses manières à améliorer la santé humaine et leur apport devrait s'accroître fortement dans un proche avenir.

La grande majorité des applications industrielles à grande échelle de l'ADN recombiné mettront en œuvre des organismes à faible risque intrinsèque qui ne réclament que des mesures de confinement minimales [bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle (*Good Industrial Large Scale Practice : GILSP*)].

Lorsqu'il faut utiliser des organismes à ADN recombiné présentant un risque plus élevé, on peut définir des critères supplémentaires d'évaluation des risques ; les techniques de confinement physique sont en outre bien connues de l'industrie et sont depuis longtemps appliquées avec succès au confinement des organismes pathogènes. Les organismes à ADN recombiné présentant des risques plus élevés pourraient donc eux aussi être manipulés dans de bonnes conditions de sécurité, à l'aide de méthodes appropriées de confinement physique et/ou biologique.

L'évaluation des risques potentiels des organismes lors des applications dans l'environnement ou en agriculture est moins développée que celle des risques potentiels lors des applications industrielles. Toutefois, les moyens d'évaluation des organismes à ADN recombiné peuvent être déduits par analogie avec la base de données disponible, obtenue à partir de l'utilisation étendue en agriculture et dans l'environnement des organismes modifiés par les méthodes traditionnelles. Grâce à une évaluation par étapes au cours du processus de recherche et de développement, le risque potentiel pour l'environnement des applications des organismes à ADN recombiné devrait être réduit au minimum.

RECOMMANDATIONS

I. Généralités

1. L'harmonisation des démarches adoptées à l'égard des techniques de recombinaison de l'ADN serait rendue plus aisée par des échanges portant sur les principes ou les lignes directrices dont s'inspirent les réglementations nationales, sur les progrès de l'analyse des risques et sur l'expérience pratique en matière de gestion des risques. L'information devrait donc être partagée de façon aussi libre que possible.
2. Aucun argument scientifique ne justifie l'adoption d'une législation portant spécifiquement sur la mise en œuvre des techniques de recombinaison de l'ADN et de leurs applications. Les pays Membres devraient passer en revue leurs mécanismes existants de surveillance et d'examen, afin de s'assurer que l'on peut procéder à un examen et à un contrôle appropriés en évitant toute charge inutile qui pourrait entraver les progrès techniques en ce domaine.
3. Aucune initiative visant à mettre en œuvre des lignes directrices ne devrait entraver les progrès futurs des techniques de recombinaison de l'ADN. L'harmonisation internationale devrait prendre en compte cette nécessité.
4. Afin de faciliter l'échange des données et de réduire au minimum les barrières commerciales entre les pays, les progrès futurs des méthodes d'essai, de la conception des équipements et des connaissances sur la taxinomie des microbes devraient être examinés à l'échelon national et international. Il faudrait tenir dûment compte des travaux en cours à propos des normes dans des organisations internationales comme l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) ; la Commission des Communautés Européennes (CCE) ; l'Organisation Internationale de Normalisation (*International Standards Organisation* : ISO) ; l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (*Food and Agriculture Organisation* : FAO) ; le Réseau de Données sur les Souches Microbiennes (*Microbial Strains Data Network* : MSDN).
5. Il faudrait consacrer des efforts particuliers à améliorer la connaissance que possède le public des divers aspects des techniques de recombinaison de l'ADN.
6. Il importera que les pays Membres observent l'évolution des techniques de recombinaison de l'ADN dans leurs applications à l'industrie, à l'agriculture et à l'environnement. Pour certaines applications industrielles des organismes à ADN recombiné et pour leurs applications dans l'environnement et dans l'agriculture, certains pays pourraient souhaiter disposer d'un mécanisme de notification.
7. Etant donné la nécessité d'innover, il importe d'étudier les moyens propres à protéger la propriété intellectuelle et le secret industriel tout en assurant la sécurité.

II. Recommandations propres à l'industrie

1. Les applications industrielles à grande échelle des techniques de recombinaison de l'ADN devraient, dans toute la mesure du possible, faire appel à des micro-organismes présentant un faible risque intrinsèque. Ces micro-organismes peuvent être manipulés dans les conditions définies par les bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle (Good Industrial Large Scale Practice : GILSP).

2. S'il apparaît, après évaluation selon les critères définis dans le rapport, qu'un micro-organisme à ADN recombiné ne peut pas être manipulé selon les seules règles des bonnes pratiques de production industrielle à grande échelle (GILSP), des mesures de confinement définies en fonction de l'évaluation des risques doivent être appliquées en plus de ces bonnes pratiques (GILSP).

3. Dans le cas des applications industrielles à grande échelle qui exigent un confinement physique, il conviendrait d'encourager la poursuite des recherches visant à améliorer les techniques de surveillance et de maîtrise des rejets non intentionnels d'organismes à ADN recombiné.

III. Recommandations propres aux applications dans l'environnement et dans l'agriculture

1. Il faudrait se servir du volume important de données disponibles à propos des effets des organismes vivants sur l'environnement et sur la santé humaine, pour orienter les évaluations des risques.

2. Il importe d'évaluer les risques potentiels des organismes à ADN recombiné avant de les utiliser dans l'agriculture et dans l'environnement. L'élaboration au plan international de lignes directrices générales régissant ces applications apparaît toutefois actuellement prématurée. Il conviendrait de réaliser au cas par cas¹, avant utilisation, une étude indépendante des risques potentiels.

3. Le développement d'organismes en vue d'applications en agriculture et dans l'environnement devrait être mené par étapes, en passant lorsqu'il convient du laboratoire à la chambre de croissance et à la serre, puis aux essais en parcelles et finalement aux essais à grande échelle.

4. Il convient d'encourager la poursuite des recherches visant à améliorer la prévision, l'évaluation et la surveillance du résultat des utilisations d'organismes à ADN recombiné.

NOTE ET RÉFÉRENCE

1. Cas par cas signifie un examen particulier d'une proposition en fonction des critères d'évaluation qui s'appliquent à celle-ci ; cela n'implique pas que chaque cas exigera un examen par les autorités nationales ou par d'autres autorités, car diverses classes de propositions peuvent en être exemptées.

APPENDICES

Appendice A

DÉFINITIONS

Les définitions de la manipulation génétique et de l'ADN recombiné diffèrent dans les détails d'un pays à un autre. Citons les exemples suivants :

1. Royaume Uni – Réglementations relatives à la Santé et à la Sécurité (Manipulations Génétiques) [*Health and Safety (Genetic Manipulation) Regulations*] ; 1978.

«'Manipulation génétique' signifie la formation de nouvelles combinaisons de matériel génétique par l'insertion de molécules d'acide nucléique, produites par tout procédé à l'extérieur de la cellule, dans tout virus, plasmide bactérien ou autre système vecteur permettant leur incorporation dans un organisme hôte dans lequel elles ne sont pas présentes naturellement, mais dans lequel elles peuvent se perpétuer».

2. Etats-Unis – Lignes Directrices pour les recherches mettant en œuvre des molécules d'ADN recombiné (*Guidelines for Research Involving recombinant DNA Molecules*) ; juin 1983.

«Définition des molécules d'ADN recombiné. Dans le contexte de ces lignes directrices, les molécules d'ADN recombiné sont définies comme étant soit (i) des molécules élaborées en dehors de cellules vivantes par liaison de segments d'ADN naturel ou de synthèse à des molécules d'ADN pouvant se reproduire à l'intérieur de la cellule vivante, soit (ii) des molécules d'ADN résultant de la reproduction de celles décrites en (i). Remarque : les segments d'ADN de synthèse susceptibles de produire un polynucléotide ou un polypeptide potentiellement toxique (par ex. une toxine ou un agent pharmacologique actif) seront considérés comme équivalents à l'ADN naturel correspondant. Si le segment d'ADN synthétique n'est pas exprimé *in vivo* sous forme de polynucléotide ou de polypeptide biologiquement actif, il est exempté de ces lignes directrices».

Appendice B

ÉLÉMENTS D'APPRÉCIATION SCIENTIFIQUES GÉNÉRAUX

On s'est attaché dans cet appendice à exposer les principaux éléments d'appréciation scientifiques qui peuvent intervenir dans l'examen des risques potentiels liés à l'utilisation d'organismes à ADN recombiné. La liste se veut complète, dans la mesure où les connaissances actuelles le permettent, mais tous les points qui y figurent ne s'appliquent pas à chaque cas. On prévoit donc de ne faire appel, pour une proposition déterminée, qu'à l'ensemble particulier de points qui s'appliquent à la situation considérée. Il est probable que le degré de détail requis pour chaque ensemble d'éléments d'appréciation dépendra lui aussi de la nature de l'activité proposée.

A. Caractéristiques des organismes donneur et receveur

1. Taxinomie, identification, origine, culture

- a) Noms et désignations ;
- b) Degré de parenté entre les organismes donneur et receveur et données témoignant d'un échange de matériel génétique par des moyens naturels ;
- c) Caractéristiques de l'organisme permettant son identification et méthodes utilisées pour identifier l'organisme ;
- d) Techniques employées dans le laboratoire et/ou dans l'environnement pour détecter la présence des organismes et pour suivre l'évolution de leur nombre ;
- e) Origines des organismes ;
- f) Informations sur le cycle de reproduction de l'organisme receveur (sexué/asexué) ;
- g) Facteurs pouvant limiter la reproduction, la croissance et la survie de l'organisme receveur .

2. Caractéristiques génétiques des organismes donneur et receveur

- a) Historique des manipulations génétiques antérieures ;
- b) Caractérisation des génomes des organismes donneur et receveur ;
- c) Stabilité de l'organisme receveur en termes de caractères génétiques importants.

3. Caractères physiologiques et pathogènes des organismes donneur et receveur

- a) Nature du pouvoir pathogène, virulence, pouvoir infectieux ou toxicogène ;
- b) Gamme des hôtes possibles ;
- c) Autres caractères physiologiques potentiellement importants ;
- d) Stabilité de ces caractères.

B. Caractéristiques de l'organisme modifié

- a)* Description de la modification ;
- b)* Description de la nature, de la fonction et de l'origine de l'acide nucléique donneur inséré, en incluant les éléments de régulation ou autres influant sur la fonction de l'ADN et du vecteur ;
- c)* Description de la (ou des) méthode(s) par la(les)quelle(s) le vecteur avec l'insertion (les insertions) a été construit ;
- d)* Description des méthodes d'introduction du vecteur-fragment inséré dans l'organisme receveur et des procédés de sélection de l'organisme modifié ;
- e)* Description de la structure et de la quantité de tout vecteur et/ou acide nucléique donneur restant dans la construction finale de l'organisme modifié ;
- f)* Caractérisation du site de modification du génome receveur. Stabilité de l'ADN inséré ;
- g)* Fréquence de mobilisation du vecteur inséré et/ou aptitude au transfert génétique ;
- h)* Taux et niveau d'expression du matériel génétique introduit. Méthodes de mesure et sensibilité de ces méthodes ;
- i)* Influence de l'organisme receveur sur l'activité d'une protéine étrangère.

Appendice C

ÉLÉMENTS D'APPRÉCIATION RELATIFS A LA SANTÉ HUMAINE

On s'est attaché dans cet appendice à exposer les éléments d'appréciation possibles relatifs à la santé humaine qui se rapportent à l'utilisation d'organismes à ADN recombiné. La liste se veut complète, dans la mesure où les connaissances actuelles le permettent, mais tous les points qui y figurent ne s'appliquent pas à chaque cas. On prévoit donc de ne faire appel, pour une proposition déterminée, qu'à l'ensemble particulier de points qui s'appliquent à la situation considérée. Il est probable que le degré de détail requis pour chaque ensemble d'éléments d'appréciation dépendra lui aussi de la nature de l'activité proposée.

A. Caractéristiques de l'organisme modifié

1. Comparaison de l'organisme modifié à l'organisme receveur du point de vue du pouvoir pathogène.
2. Aptitude à la colonisation.
3. Si l'organisme est pathogène pour les êtres humains (ou pour les animaux s'il y a lieu) :
 - a) Maladies provoquées et mécanisme d'action pathogène, y compris caractère envahissant et virulence ;
 - b) Transmissibilité ;
 - c) Dose infectieuse ;
 - d) Gamme d'hôtes, possibilité de changement ;
 - e) Possibilité de survie en dehors de l'hôte humain ;
 - f) Présence de vecteurs ou moyens de dissémination ;
 - g) Stabilité biologique ;
 - h) Spectres de résistance aux antibiotiques ;
 - i) Pouvoir toxicogène ;
 - j) Pouvoir allergisant.

B. Considérations de santé liées à la présence d'organismes non viables ou aux produits des techniques de l'ADN recombiné

1. Effets toxiques ou allergiques d'organismes non viables et/ou de leurs produits métaboliques ;
2. Risques dus aux produits.

C. Gestion de l'exposition du personnel

1. Mesures biologiques :
 - a) Disponibilité d'une prophylaxie et de thérapeutiques appropriées ;
 - b) Disponibilité d'une surveillance médicale.
2. Dispositions physiques et questions d'organisation.

Appendice D

ÉLÉMENTS D'APPRÉCIATION RELATIFS A L'ENVIRONNEMENT ET A L'AGRICULTURE

On s'est attaché dans cet appendice à exposer les incidences potentielles sur l'environnement et sur l'agriculture de l'utilisation d'organismes à ADN recombiné. La liste se veut complète, dans la mesure où les connaissances actuelles le permettent, mais tous les points qui y figurent ne s'appliquent pas à chaque cas. On prévoit donc de ne faire appel, pour une proposition déterminée, qu'à l'ensemble particulier de points qui s'appliquent à la situation considérée. Il est probable que le degré de détail requis pour chaque ensemble d'éléments d'appréciation dépendra lui aussi de la nature de l'activité proposée.

A. Caractères écologiques du donneur et du receveur

- a) Habitat naturel et distribution géographique. Caractéristiques climatiques des habitats d'origine ;
- b) Intervention notable dans les processus de l'environnement ;
- c) Pouvoir pathogène – gamme d'hôtes, pouvoir infectieux, pouvoir toxicogène, virulence, vecteurs ;
- d) Interactions avec les autres organismes de l'environnement et effets sur ceux-ci ;
- e) Capacité à former des structures de survie (par ex. graines, spores, sclérotés) ;
- f) Fréquence des modifications du génotype et du phénotype ;
- g) Rôle que le matériel génétique à transférer joue dans l'écologie de l'organisme donneur ;
- h) Effet prévisible du matériel génétique transféré sur l'organisme receveur.

B. Application de l'organisme modifié dans l'environnement

- a) Situation géographique du site, proximité physique et biologique de l'homme ou de tout autre organisme vivant important ;
- b) Description du site, incluant la dimension, la préparation, le climat, la température, l'humidité relative, etc.;
- c) Confinement et décontamination ;
- d) Protocoles d'introduction, indiquant notamment les quantités et la fréquence d'application ;
- e) Modes de perturbation du site ou façons culturales ;
- f) Méthodes de surveillance des applications ;
- g) Plans d'urgence ;
- h) Procédé de traitement du site à la fin de l'application.

C. Survie, multiplication et dissémination de l'organisme modifié dans l'environnement

1. Techniques de détection, d'identification et de surveillance

- a) Description des techniques de détection, d'identification et de surveillance ;
- b) Spécificité, sensibilité et fiabilité des techniques de détection ;
- c) Techniques de détection du transfert de l'ADN du donneur à d'autres organismes.

2. *Caractéristiques influant sur la survie, la multiplication et la dissémination*

- a) Caractéristiques biologiques influant sur la survie, la multiplication et la dissémination ;
- b) Comportement dans des environnements naturels simulés tels que les microcosmes, les chambres de croissance, les serres, les insectariums, etc.;
- c) Conditions d'environnement connues et prévues qui peuvent influencer sur la survie, la multiplication et la dissémination.

D. Interactions de l'organisme modifié avec les systèmes biologiques

1. *Populations cibles et non cibles*

- a) Habitats connus et prévus de l'organisme modifié ;
- b) Description des écosystèmes cibles et des écosystèmes dans lesquels les organismes pourraient être disséminés ;
- c) Identification et description des organismes cibles ;
- d) Mécanisme prévu et résultat de l'interaction entre l'organisme modifié et les organismes cibles ;
- e) Identification et description des organismes non cibles qui pourraient être exposés.

2. *Stabilité*

- a) Stabilité de l'organisme en termes de caractères génétiques ;
- b) Capacité de transfert génétique ;
- c) Probabilité de sélection après libération conduisant à l'expression de caractères inattendus et indésirables par l'organisme modifié ;
- d) Mesures éventuellement employées pour assurer la stabilité génétique ;
- e) Description des caractères génétiques pouvant empêcher ou minimiser la dispersion du matériel génétique.

3. *Voies de dissémination*

- a) Voies de dissémination physiques ou biologiques ;
- b) Modes connus ou potentiels d'interaction, incluant l'inhalation, l'ingestion, le contact de surface, l'enfouissage et l'injection.

E. Impacts potentiels sur l'environnement

1. *Effets potentiels sur les organismes cibles et non cibles*

- a) Pouvoir pathogène, pouvoir infectieux, pouvoir toxicogène, virulence, vecteur de pathogénie, pouvoir allergisant, colonisation ;
- b) Effets connus ou prévus sur d'autres organismes dans l'environnement ;
- c) Probabilité de changement dans les interactions biologiques ou dans la gamme d'hôtes après libération.

2. *Effets sur les écosystèmes*

- a) Implication connue ou prévue dans des processus biogéochimiques ;
- b) Possibilité d'accroissement excessif de la population.

Appendice E¹

RISQUES POTENTIELS POUR L'ÊTRE HUMAIN, POUR LES PLANTES ET POUR LES ANIMAUX DES ORGANISMES CLASSIQUES ET RECOMBINÉS

1. Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène est la capacité potentielle des organismes vivants et des virus de causer des maladies chez l'homme, chez les animaux et chez les plantes. Seule une faible proportion du très grand nombre de micro-organismes connus de la science possède cette capacité. Ces maladies résultent des interactions entre le parasite et son hôte, et il n'est pas possible de conclure qu'un micro-organisme ou virus déterminé provoquera une maladie, car le pouvoir pathogène dépend toujours des caractéristiques génétiques et de l'état physiologique tant de l'hôte que du parasite, ainsi que d'autres facteurs, comme la dose infectieuse et la porte d'entrée dans l'hôte.

L'industrie utilise très peu de micro-organismes et de virus capables de provoquer des maladies et ceux-ci servent en général uniquement à la fabrication de vaccins, de toxoïdes ou de réactifs de diagnostic.

Le problème de sécurité auquel est confronté un fabricant qui se propose de mettre en œuvre un nouveau procédé technologique consiste à déterminer si l'organisme sur lequel repose ce procédé est capable de causer des maladies et, dans l'affirmative, à choisir une méthode appropriée de confinement. Pour résoudre ce problème, le fabricant devra d'abord s'enquérir du genre et de l'espèce de l'organisme. Ce renseignement permettra une première évaluation du comportement pathogène probable de celui-ci, sur la base des connaissances que l'on possède déjà sur l'organisme lui-même et sur les espèces apparentées. Cette évaluation peut ensuite être complétée par des essais de pouvoir pathogène.

Les laboratoires médicaux et autres qui manipulent régulièrement des micro-organismes de tous types, notamment pathogènes, les ont répartis en classes de risque, qui vont généralement de 1 à 4 par ordre de pouvoir pathogène croissant et en fonction des dangers pour les travailleurs et pour l'ensemble du public.

Il convient d'envisager la possibilité qu'un organisme unicellulaire non pathogène acquière des caractéristiques pathogènes après l'introduction d'un fragment d'ADN provenant d'un autre organisme. Dans le cas de l'*E. coli* par exemple, qui est l'organisme le mieux caractérisé qui soit en génétique moléculaire, le fragment inséré est vraisemblablement de l'ordre du millième de la taille de l'ADN du génome. La souche *E. coli* K12, organisme de choix pour les travaux sur la recombinaison de l'ADN, a été isolée il y a 50 ans environ et, au cours de ces longues années de culture en laboratoire, a perdu de nombreuses caractéristiques du type sauvage d'*E. coli*, et notamment :

- L'antigène K de surface de la cellule ;
- Une partie de la chaîne latérale de lipopolysaccharide ;
- Une structure d'adhérence (*fimbriae*) qui permettait à la souche initiale d'adhérer aux cellules épithéliales de l'intestin humain ;
- La résistance à la lyse par le complément présent dans le sérum humain ; et
- Une certaine résistance à la phagocytose par les globules blancs.

L'*E. coli* K12 ne colonise donc pas l'intestin humain et n'est pas pathogène. Quatre des cinq gènes responsables des propriétés ci-dessus sont nettement séparés sur le chromosome d'*E. coli*. Il est raisonnable de conclure que le nombre de gènes intervenant dans le pouvoir pathogène est beaucoup trop élevé pour que se produise un transfert accidentel au cours d'une expérience de recombinaison de l'ADN. Des arguments du même ordre s'appliquent à d'autres micro-organismes (comme *B. subtilis* et *S. cerevisiae*) utilisés dans ce genre d'expérience.

On pourrait avancer que même un événement aussi improbable est susceptible de se produire au cours d'une expérience où l'on transfère plusieurs gènes à la fois. Comme on l'a indiqué plus haut, les résultats d'expériences s'étendant sur de nombreuses années n'étaient toutefois pas cette hypothèse. En outre, lorsqu'une souche a été façonnée pour une production industrielle, l'ADN choisi a été défini, séquencé et coupé à la taille minimum requise. Les propriétés du produit et de la souche utilisée auront fait l'objet d'une étude détaillée, et la souche de production ne différera de la souche parente que par sa capacité à fabriquer le produit recherché. Dans l'unité de production elle-même, le risque d'infection du personnel par une souche qui deviendrait pathogène est donc négligeable.

2. Manipulation sûre de grandes quantités de micro-organismes

Dans certains procédés, de grandes quantités de micro-organismes subsistent après séparation du produit recherché et doivent être éliminées dans de bonnes conditions de sécurité. Si ces organismes sont pathogènes, il faut les tuer par des moyens physiques ou chimiques ou par une combinaison de ces méthodes.

Il ne reste alors à résoudre qu'un problème d'élimination, dont la nature est déterminée par la composition de la masse de cellules.

3. Sécurité des produits biologiquement actifs

C'est en relation avec le contrôle de qualité des *produits* que certains des dangers hypothétiques liés à des modifications de l'organisme et de la qualité du produit qu'il fabrique devraient être examinés au cas par cas. Dans la production de protéines à usage thérapeutique à l'aide des techniques de recombinaison de l'ADN, c'est déjà devenu une pratique normale de vérifier à intervalles réguliers l'intégrité du vecteur et du gène, ainsi que du produit final. Dans la plupart des cas, cela devrait suffire pour détecter des altérations biologiques du procédé. Le dépistage de la présence de constituants viraux (comme des rétro-virus) et d'ADN de l'organisme hôte, qui pourraient contenir du matériel génétique «dangereux», s'effectue par exemple dans le cadre du strict contrôle de qualité des produits obtenus à partir de culture de cellules animales. Une purification du produit est donc nécessaire pour le séparer des protéines cellulaires et de l'acide nucléique.

Les dangers potentiels des produits obtenus à partir de cellules végétales sont ceux que l'on observe déjà dans l'industrie pharmaceutique et peuvent être maîtrisés à l'aide des techniques existantes.

Les dangers potentiels liés aux produits sont les mêmes, que les procédés fassent appel à des cellules microbiennes, animales ou végétales, et sont indépendants du recours aux techniques de recombinaison de l'ADN. Ils seront examinés cas par cas. Ces dangers proviendront principalement de la formation d'aérosols et de fuites dans l'environnement. Les critères suivants doivent entrer en ligne de compte :

- i) Le produit est directement toxique pour l'homme, les animaux ou les plantes ;
- ii) Il peut être absorbé par le tissu nasal ou oculaire, par les alvéoles pulmonaires, par la cavité buccale ou par contact direct avec la peau, surtout en cas d'écorchure ;
- iii) Le produit est converti par le métabolisme secondaire en une substance toxique dans les tissus où il s'est répandu ;
- iv) Il provoque une réponse immunitaire ou allergique ;
- v) L'exposition est suffisante pour provoquer une réponse toxique ou immunitaire.

Les industries faisant appel à la biotechnologie offrent l'avantage, lorsqu'il s'agit de manipuler des produits microbiens biologiquement actifs, que leurs procédés se déroulent dans des conditions bien définies qui permettent de détecter ces produits et de les confiner ou de les éliminer en respectant toute norme qui se révèle nécessaire. Les procédés biotechnologiques utilisant les techniques de recombinaison de l'ADN s'inspirent de méthodes classiques de fermentation industrielle dont on se sert avec succès depuis de nombreuses années.

NOTE ET RÉFÉRENCE

1. Les points 1 et 2 de cet appendice sont en partie extraits de : *Health Impact of Biotechnology*, op. cit., et «Safe Biotechnology – General Considerations», dans : *Applied Microbiology and Biotechnology*, op. cit.

Appendice F

**CRITÈRES PROPOSÉS POUR LES BONNES PRATIQUES
DE PRODUCTION INDUSTRIELLE A GRANDE ÉCHELLE
« GILSP » (GOOD INDUSTRIAL LARGE SCALE PRACTICE)
DANS LE CAS DES MICRO-ORGANISMES A ADN RÉCOMBINÉ**

Organisme hôte	Organisme à ADN recombiné	Vecteur/fragment inséré
<ul style="list-style-type: none">- Non pathogène ;- Ne contient pas d'agent pathogène incident ;- Longue expérience d'utilisation industrielle sûre ; <i>OU</i>- Limitations environnementales constitutives permettant une croissance optimale dans les conditions industrielles, mais une survie limitée dans l'environnement, sans conséquences néfastes.	<ul style="list-style-type: none">- Non pathogène ;- Aussi inoffensif que l'organisme hôte dans les conditions industrielles, mais avec une survie limitée dans l'environnement, sans conséquences néfastes.	<ul style="list-style-type: none">- Bien défini et ne contenant pas de séquences nocives connues ;- Dimension limitée dans toute la mesure du possible à l'ADN nécessaire pour remplir la fonction recherchée ; ne doit pas augmenter la stabilité de l'organisme receveur dans l'environnement (à moins que cela soit nécessaire à la fonction recherchée) ;- Doit être faiblement mobilisable ;- Ne doit pas transférer de caractères de résistance à des micro-organismes qui ne sont pas connus pour les acquérir naturellement (si cette acquisition risquait de compromettre l'utilisation de médicaments pour la lutte contre les agents pathogènes).

Appendice G

EXEMPLES DE STRATÉGIES DE CONFINEMENT POUR D'AUTRES APPLICATIONS INDUSTRIELLES A GRANDE ÉCHELLE QUE CELLES RELEVANT DES BONNES PRATIQUES DE PRODUCTION « GILSP » (GOOD INDUSTRIAL LARGE SCALE PRACTICE)

A. Catégorie 1

A ce niveau de confinement physique, les objectifs suivants devraient être atteints :

- a) Les organismes viables devraient être manipulés dans un système de production qui sépare physiquement le procédé de l'environnement ;
- b) Les gaz dégagés devraient être traités afin de minimiser la libération d'organismes viables, c'est-à-dire de la réduire au niveau le plus bas possible compatible avec la sécurité ;
- c) La prise d'échantillons, l'addition de substances au système et le transfert d'organismes viables d'un système à un autre devraient être réalisés de manière à minimiser la dissémination ;
- d) Les liquides de culture en grande quantité ne devraient pas être retirés du système avant désactivation des organismes viables par des moyens éprouvés ;
- e) Les systèmes clos devraient être situés dans un lieu contrôlé, en accord avec les exigences 6(c) et (d) spécifiées dans le tableau ci-après ;
- f) Les effluents provenant des installations de production devraient être désactivés par des moyens éprouvés avant tout rejet.

B. Catégorie 2

A ce niveau de confinement physique, les objectifs suivants devraient être atteints :

- a) Les organismes viables devraient être manipulés dans un système de production qui sépare physiquement le procédé de l'environnement ;
- b) Les gaz dégagés devraient être traités de façon à empêcher la libération d'organismes viables ;
- c) La prise d'échantillons, l'addition de substances à un système clos et le transfert d'organismes viables d'un système à un autre devraient être réalisés de manière à empêcher la dissémination ;
- d) Les liquides de culture ne devraient pas être retirés du système clos avant désactivation des organismes viables par des traitements physiques ou chimiques éprouvés ;
- e) Les dispositifs d'étanchéité devraient être conçus de façon à empêcher toute fuite, ou être totalement enfermés dans une enceinte ventilée ;
- f) Les systèmes clos devraient être situés dans un lieu contrôlé, en accord avec les exigences 6(a), (b), (c) et (d) spécifiées dans le tableau ci-après ;
- g) Les effluents provenant des installations de production devraient être désactivés par des traitements physiques ou chimiques éprouvés avant tout rejet.

C. Catégorie 3

A ce niveau de confinement physique, les objectifs suivants devraient être atteints :

- a) Les organismes viables devraient être manipulés dans un système de production qui sépare physiquement le procédé de l'environnement ;
- b) Les gaz dégagés devraient être traités de façon à empêcher la libération d'organismes viables ;
- c) La prise d'échantillons, l'addition de substances à un système clos et le transfert d'organismes viables d'un système à un autre devraient être réalisés de manière à empêcher la dissémination ;
- d) Les liquides de culture ne devraient pas être retirés du système clos avant désactivation des organismes viables par des traitements physiques ou chimiques éprouvés ;
- e) Les dispositifs d'étanchéité devraient être conçus de façon à empêcher toute fuite ou être totalement enfermés dans une enceinte ventilée ;
- f) Les systèmes de production devraient être situés dans un lieu contrôlé, en accord avec les exigences 6(a) à (k) inclus spécifiées dans le tableau ci-après ;
- g) Les effluents provenant des installations de production devraient être désactivés par des traitements physiques ou chimiques éprouvés avant tout rejet.

Appendice G (suite)

**EXEMPLES DE STRATÉGIES DE CONFINEMENT POUR D'AUTRES
APPLICATIONS INDUSTRIELLES A GRANDE ÉCHELLE QUE CELLES
RELEVANT DES BONNES PRATIQUES DE PRODUCTION « GILSP »
(GOOD INDUSTRIAL LARGE SCALE PRACTICE)**

Spécifications	Catégories de confinement		
	1	2	3
1. Les organismes viables devraient être manipulés dans un système qui sépare physiquement le procédé et l'environnement (système clos).	Oui	Oui	Oui
2. Les gaz s'échappant des systèmes clos devraient être traités de manière à :	Minimiser la dissémination	Empêcher la dissémination	Empêcher la dissémination
3. La prise d'échantillons, l'addition de substances à un système clos et le transfert d'organismes viables vers un autre système clos devraient être réalisés de manière à :	Minimiser la dissémination	Empêcher la dissémination	Empêcher la dissémination
4. Les liquides de culture en grande quantité ne devraient pas être retirés des systèmes clos sans que les organismes viables aient été :	Désactivés par des traitements éprouvés	Désactivés par des traitements chimiques ou physiques éprouvés	Désactivés par des traitements chimiques ou physiques éprouvés
5. Les systèmes d'étanchéité devraient être conçus de manière à :	Minimiser la dissémination	Empêcher la dissémination	Empêcher la dissémination
6. Les systèmes clos devraient se trouver dans des zones contrôlées	Facultatif	Facultatif	Oui et construites dans ce but
a) Des avertissements de danger biologique devraient être affichés	Facultatif	Oui	Oui
b) L'accès devrait être limité au personnel désigné	Facultatif	Oui	Oui par un sas
c) Le personnel devrait porter des vêtements protecteurs	Oui	Oui	Changement complet
d) Des installations de décontamination et de lavage devraient être mises à la disposition du personnel	Oui	Oui	Oui
e) Le personnel devrait se doucher avant de quitter la zone contrôlée	Non	Facultatif	Oui
f) Les effluents des douches et des lavabos devraient être collectés et désactivés avant rejet	Non	Facultatif	Oui
g) Les zones contrôlées devraient être adéquatement ventilées pour minimiser la contamination de l'air	Facultatif	Facultatif	Oui
h) Les zones contrôlées devraient être maintenues à une pression inférieure à la pression atmosphérique	Non	Facultatif	Oui
i) L'air entrant dans les zones contrôlées et en sortant devrait être filtré sur un dépoussiéreur à haute efficacité (filtre HEPA)	Non	Facultatif	Oui
j) Les zones contrôlées devraient être conçues pour contenir un déversement du contenu total des systèmes clos	Non	Facultatif	Oui
k) Les zones contrôlées devraient pouvoir être étanchéifiées pour permettre la désinfection	Non	Facultatif	Oui
7. Traitement des effluents avant rejet définitif	Désactivés par des traitements éprouvés	Désactivés par des traitements chimiques ou physiques éprouvés	Désactivés par des traitements chimiques ou physiques éprouvés

Appendice H

MANDAT DU GROUPE AD HOC D'EXPERTS GOUVERNEMENTAUX SUR LA SÉCURITÉ ET LES RÉGLEMENTATIONS EN BIOTECHNOLOGIE

Le Comité de la Politique Scientifique et Technologique a décidé de créer un Groupe d'experts gouvernementaux sur la Sécurité et les Réglementations en Biotechnologie avec le mandat suivant :

1. Le Groupe est chargé :

- De procéder à un examen des positions des pays à l'égard des questions de sécurité que pose l'utilisation d'organismes modifiés génétiquement dans l'industrie, dans l'agriculture et dans l'environnement, en tenant compte de la législation et de la réglementation existantes ou prévues sur les conditions d'utilisation des micro-organismes.

2. En particulier, le Groupe est chargé :

- D'identifier les *critères* qui ont été ou pourraient être adoptés pour surveiller ou autoriser la production et l'utilisation d'organismes modifiés génétiquement :
 - a) Dans l'industrie ;
 - b) Dans l'agriculture ;
 - c) Dans l'environnement ;
- D'explorer les voies et les moyens possibles pour surveiller la production et l'utilisation futures d'organismes modifiés génétiquement :
 - a) Dans l'industrie ;
 - b) Dans l'agriculture ;
 - c) Dans l'environnement.

3. Il est demandé au Groupe de faire un rapport au Comité avant juin 1985.

4. Ce travail devrait constituer un pas vers une meilleure harmonisation internationale des lignes directrices, des codes de bonne pratique et/ou des réglementations.

Appendice I

**LISTE DES PARTICIPANTS AU GROUPE AD HOC
D'EXPERTS GOUVERNEMENTAUX
SUR LA SÉCURITÉ ET LES RÉGLEMENTATIONS EN BIOTECHNOLOGIE**

Dr. R. NOURISH
H.M. Superintending Specialist Inspector
Technology and Air Pollution Division
Health and Safety Executive
(Bootle) Merseyside, Royaume-Uni

PRÉSIDENT

ALLEMAGNE

Pr. Dr. W. FROMMER
Bayer AG
Wuppertal

Pr. Dr. M.A. KOCH
Bundesgesundheitsamt
(Office Fédéral de la Santé)
Berlin

Dr. Peter LANGE
Bundesministerium für Forschung und Technologie,
(Ministère de la Recherche et de la Technologie)
Bonn

AUSTRALIE

M. P. FLAHERTY
Secrétaire, Recombinant DNA Monitoring Committee
Department of Industry, Technology & Commerce
Canberra

AUTRICHE

Pr. R. LAFFERTY
Institut für Biotechnologie
Mikrobiologie und Abfalltechnologie
Universität de Graz
Graz

AUTRICHE (suite)

M. H. SCHWAB
Institut für Biotechnologie
Mikrobiologie und Abfalltechnologie
Universität de Graz
Graz

BELGIQUE

Pr. H. COUSY
Université Catholique de Louvain
Louvain

Pr. Dr. J. DE LEY
Laboratoire de Microbiologie
Rijksuniversiteit
Gand

Mme N. NOLARD
Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie
Bruxelles

Mme A.M. PRIEELS
Chargée de Mission
Services de Programmation de la Politique Scientifique
Bruxelles

CANADA

Dr. A. ALBAGLI
Senior Project Manager
National Research Council of Canada
Ottawa

Dr. J. FURESZ
Directeur, Bureau of Biologics
Department of Health and Welfare
Ottawa

Mr. T. McINTYRE
Conseiller
Environmental Protection Service
Department of the Environment
Ottawa

Dr. D. B. SHINDLER
Gestionnaire Biotechnologie
Ministry of State for Science & Technology
Ottawa

DANEMARK

Mme P. H. ANDERSEN
DVM, National Food Institute
Institute of Toxicology
Søborg

(Observateur)

DANEMARK (*suite*)

Pr. B. HARVALD (délégué jusqu'en juin 1984)
Président du Registration Committee for Genetic Engineering
des Conseils Nationaux des Recherches
Copenhague

Pr. E. LUND (délégué depuis juin 1984)
Royal Vet. & Agricultural University of Copenhagen
Copenhague

M. H. PEDERSEN
DVM, National Agency of Environmental Protection
Copenhague

(Observateur)

ESPAGNE

Pr. A. ALBERT
Conseiller Scientifique
Dirección general de Política Científica
Madrid

Dr. R. REVILLA PEOREIRA
Ministerio de Industria y Energía
Madrid

ÉTATS-UNIS

M. R. E. BENEDICK
Deputy Assistant Secretary
Environment, Health and Natural Resources
Department of State
Washington, D.C.

M. D. CLAY
Directeur, Office of Toxic Substances
Environmental Protection Agency
Washington, D.C.

M. J. COHRSEN
Regulatory Counsel (Conseiller)
Office of Science and Technology Policy
Executive Office of the President
Washington, D.C.

Dr. D.L. DULL
Office of Toxic Substances
Environmental Protection Agency
Washington, D.C.

Dr. J. R. FOWLE III
ORD Biotechnology Coordinator
Environmental Protection Agency
Washington, D.C.

M. I. FULLER
Directeur
Industrial Competitive Assessment Office of the U.S. Trade Representative
Executive Office of the President
Washington, D.C.

ÉTATS-UNIS (suite)

Dr. W. J. GARTLAND, Jr.
Directeur
Office of Recombinant DNA Activities
National Institutes of Health
Bethesda, Maryland

Dr. E.L. KENDRICK
Acting Deputy Assistant Secretary
Department of Agriculture
Washington, D.C.

Dr. M. A. LEVIN
Office of Research and Development
Environmental Protection Agency
Washington, D.C.

Dr. C. MAZZA
Office of Toxic Substances
Environmental Protection Agency
Washington, D.C.

Dr. E. MILEWSKI
Office of Recombinant DNA Activities
National Institutes of Health
Bethesda, Maryland

Dr. Henry I. MILLER, M.D.
Medical Officer
Food and Drug Administration
Rockville

M. M. L. SMITH
Secrétaire Exécutif
Biotechnology Group
Office of Policy Development
Executive Office of the President
Washington, D.C.

M. R. J. SMITH
Deputy Assistant Secretary
Bureau of Oceans and International Environmental and Scientific Affairs
Department of State
Washington, D.C.

Dr. S. TOLIN
Consulting Scientist
Department of Agriculture
Washington, D.C.

M. William J. WALSH, III
Co-ordinator for Biomedical Research & Health Affairs
Department of State
Washington, D.C.

Dr. F. E. YOUNG
Commissioner
Food & Drug Administration
Rockville

FINLANDE

Pr. H. G. GYLLENBERG
Département de Microbiologie
Université d'Helsinki
Helsinki

Dr. M. SARVAS
National Public Health Institute
Helsinki

FRANCE

Pr. G. BERNARDI
Directeur de Recherche
Laboratoire de Génétique Moléculaire
Université Paris VII
Paris

M. P. CAZALA
Ministère du Redéploiement industriel et du Commerce extérieur
Paris

Dr. N. LELONG
Chef de la Division Biotechnologie-Bioindustrie
Ministère du Redéploiement industriel et du Commerce extérieur
Paris

M. P. PRINTZ
Programme Mobilisateur Biotechnologies
Ministère de la Recherche et de la Technologie
Paris

GRÈCE

Dr. G. TZOTZOS
Conseiller Scientifique
Ministère de la Recherche et de la Technologie
Département de la Politique de la Science
Athènes

IRLANDE

Pr. S. DOONAN
Professeur de Biochimie
University College
Cork

ITALIE

Pr. C. FRONTALI
Istituto Superiore di Sanità
Laboratorio di Biologia Cellulare
Rome

(Observateur)

ITALIE (suite)

Pr. V. SGARAMELLA
Dipartimento di Genetica e Microbiologia
Université de Pavie
Pavie

JAPON

M. T. FUKUMIZU
Ex-Directeur Adjoint
Bioindustry Office
Ministry of International Trade & Industry
Tokyo

Dr. H. HARADA
Professeur
Institut des Sciences Biologiques
Université de Tsukuba
Sakura-mura, Niihari-gun

M. R. HIGASHIUCHI
Directeur Adjoint
Ministry of Health & Welfare
Tokyo

M. H. HIRAMATSU
Directeur
Bioindustry Office
Ministry of International Trade & Industry
Tokyo

M. N. INOUE
Conseiller
Ministry of International Trade & Industry
Tokyo

M. T. ITO
Directeur Adjoint
Biology and Antibiotics Division
Ministry of Health & Welfare
Tokyo

Dr. T. TAKAHASHI, M.D.
Directeur, Life Sciences Division
Science and Technology Agency
Tokyo

Dr. K. TANAKA
Président, Development Promoting Committee
The Japan Association for Advanced Research of Pharmaceuticals
Tokyo

M. M. TANAKA
Ex-Directeur
Bioindustry Office
Ministry of International Trade & Industry
Tokyo

JAPON (suite)

Dr. A. OYA
Directeur, Department of Virology & Rickettsiology
National Institute of Health
Tokyo

Dr. S. TSURU
Secrétariat
Council of Agriculture, Forestry & Fisheries
Tokyo

Pr. H. UCHIDA
Conseiller,
Université de Tokyo
Tokyo

Pr. I. WATANABE
Faculty of Hygiene
Université de Kitazato
Sagamihala-City

NORVÈGE

Dr. W. GUNDERSEN
Professeur Associé
Institute of General Genetics
Université d'Oslo

M. S. HAGEN
State Pollution Control Authority
Oslo

M. B. HAREIDE
Directeur, M.D.,
National Institute of Public Health
Oslo

M. K. S. NORBRAATHEN
State Pollution Control Authority
Oslo

PAYS-BAS

Dr. A.W.J.J. BUIJS
Ministry of Housing,
Physical Planning and Environment
Leidschendam

Dr. Van EE
Gist Brocades N.V.
Delft

Pr. Dr. D.G. de HAAN
Laboratory for Microbiology
Rijksuniversiteit te Utrecht
Utrecht

M. M. C. KROON, M.C.
Ministry of Housing, Physical Planning
and Environment
Leidschendam

PORTUGAL

Pr. L. ARCHER
Universidade Nova de Lisboa
Instituto Gulbenkian de Ciencia
Oeiras

ROYAUME-UNI

M. B.P. AGER
Secrétaire, Advisory Committee on Genetic Manipulation
Health & Safety Executive
Londres

M. W.E.O. JONES
Health & Safety Executive
Medical Division
Londres

Mme. M. PRATT
Plant Pathologist
Ministry of Agriculture, Fisheries and Food
Harpenden, Herts

M. J.F.A. THOMAS
Department of Environment
Londres

M. J. F. THORLEY
DISTA Products Ltd.
Liverpool

SUÈDE

Dr. G. BRUNIUS
Swedish Recombinant DNA Advisory Committee
National Board of Occupational Safety & Health
Solna

SUISSE

Dr. M. KÜENZI
Ciba-Geigy AG
Bâle

TURQUIE

Pr. M. BARA
Faculté des Sciences
Université d'Istanbul
Istanbul

YOUGOSLAVIE

Pr. V. GLISIN
Institute for Biological Research
Université de Belgrade
Belgrade

COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES

Dr. G. Del BINO

Environnement, protection des consommateurs et sécurité nucléaire (DGXI)
Bruxelles

M. M. F. CANTLEY

Science, Recherche et Développement (DGXII)

CUBE (Unité de concertation pour les Biotechnologies en Europe)
Bruxelles

M. T. GARVEY

Directeur

Marché industriel et affaires industrielles (DGIII)

Bruxelles

M. C. MANTEGAZZINI

Consultant,

Environnement, protection des consommateurs et sécurité nucléaire (DGXI)

Bruxelles

Dr. K. SARGEANT

Science, Recherche et Développement (DGXII)

CUBE (Unité de concertation pour les Biotechnologies en Europe)

Bruxelles

M. F. SAUER

Marché industriel et affaires industrielles (DGXIII)

Division Pharmacie, Médicaments vétérinaires

Bruxelles

Mlle C. WHITEHEAD

Consultant,

Environnement, protection des consommateurs et sécurité nucléaire (DGXI)

Bruxelles

CONSULTANT

M. W. ROSKAM

ELF Bio Recherche

Castanet Tolosan.

FRANCE

SECRETARIAT DE L'OCDE

Mlle Bruna Teso

Direction de la Science, de la Technologie et de l'Industrie

GLOSSAIRE

- ADN** Acide désoxyribonucléique; polymère dont les unités sont des désoxyribonucléotides; constitue le matériel génétique de tous les organismes à l'exception des virus à ARN.
- Acide aminé** Unité constitutive des protéines ; les acides aminés sont liés les uns aux autres dans un ordre précis qui détermine les caractéristiques des différentes protéines.
- Aérosol** Suspension de fines particules liquides dans un gaz.
- Allèles** Formes différentes du même gène. Les gènes responsables de la couleur des yeux (bleus, bruns, verts, etc.) sont par exemple des allèles.
- Anticorps monoclonaux** Anticorps qui proviennent d'une même souche ou clone de cellules et reconnaissent un seul type d'antigène.
- Antigène** Macromolécule (généralement une protéine ou un polysaccharide) qui, lorsqu'on l'introduit dans l'organisme de l'être humain ou d'un animal supérieur, stimule la production d'un anticorps qui réagit spécifiquement avec elle.
- Auxotrophie** Besoin, pour un micro-organisme mutant, de facteurs de croissance qui ne sont pas nécessaires au micro-organisme de type sauvage correspondant.
- Biomasse** Toute matière vivante qui se développe par conversion photosynthétique de l'énergie solaire.
- Biopolymère** Macromolécule que l'on trouve dans la nature; les biopolymères comprennent les protéines, les acides nucléiques et les polysaccharides.
- Biosynthèse (processus de)** Processus selon lequel un organisme vivant produit des composés chimiques, que ce soit par synthèse ou par dégradation.
- Cellule** Masse de matière vivante entourée d'une membrane; unité structurale et fonctionnelle fondamentale de la plupart des organismes.
- Chloroplastes** Organites cellulaires où se produit la photosynthèse.
- Clone** Ensemble de cellules ou d'organismes génétiquement identiques, qui ont été obtenus par voie non sexuée à partir d'un ancêtre commun ; tous les membres du clone ont une même composition génétique.
- Colonisation** Etablissement d'une population sur un nouveau territoire, par exemple établissement d'une nouvelle colonie de micro-organismes dans l'appareil gastro-intestinal.
- Confinement biologique** Caractéristiques d'un organisme qui sont de nature à limiter sa survie et/ou sa multiplication dans un environnement.
- Confinement physique** Procédés ou structures visant à réduire ou empêcher la libération d'organismes viables; le degré de confinement varie.
- Conjugaison** Transfert à sens unique d'ADN entre bactéries par contact cellulaire.
- Croisement** Reproduction par interfécondation de deux variétés ou races de la même espèce.
- Culture de cellules** Culture *in vitro* de cellules isolées d'organismes pluricellulaires. Ces cellules sont généralement d'un seul type.

- Déhalogénéation** Elimination de groupes halogènes (par exemple Cl₂, I₂).
- Dénitration** Elimination de l'acide nitrique, des nitrates, du groupe nitro ou des oxydes d'azote.
- Désamination** Elimination de groupes amino (NH₂).
- Ecosystème** Ensemble formé par une communauté biotique et son environnement ; il constitue une unité écologique fonctionnelle de la nature.
- Enzyme** Protéine qui catalyse une réaction chimique.
- Epidémiologique** Qui se rapporte à la fréquence et à la répartition des organismes, en particulier pathogènes, ainsi qu'à la lutte contre ceux-ci.
- Essai** Technique de mesure d'une réponse biologique.
- Eucaryote** Qualifie la cellule hautement différenciée qui constitue l'unité structurale des animaux, des végétaux, des protozoaires, des champignons et des algues.
- Fermentation** Processus biologique anaérobie. Divers procédés industriels font appel à des fermentations, mettant en œuvre des levures, des champignons microscopiques et des bactéries, pour fabriquer des produits comme des alcools, des acides et des fromages.
- Floculation** Agglomération de matières en suspension pour former des particules qui se déposeront par gravité, comme dans le traitement « tertiaire » des déchets.
- Fluide de culture** Milieu dans lequel l'organisme est cultivé.
- Gène** Unité fondamentale de l'hérédité, le gène est un segment d'ADN formé d'une suite ordonnée de bases portées par des nucléotides. Il renferme la séquence d'ADN qui code pour une chaîne polypeptidique (par l'intermédiaire de l'ARN).
- Gènes des protéines de stockage** Gènes codant pour les principales protéines que l'on trouve dans les semences végétales.
- Génome** Ensemble des gènes d'un organisme ou d'un individu.
- Hôte** Organisme dans lequel l'ADN du donneur est introduit lors des opérations de recombinaison de l'ADN; il fournit la majeure partie du génome de l'organisme à ADN recombiné; synonyme de receveur.
- Hypophyse** Petite glande endocrine ovale attachée à l'infundibulum du cerveau qui produit diverses sécrétions internes influant directement ou indirectement sur la plupart des fonctions fondamentales de l'organisme.
- In vitro** Littéralement : dans le verre ; se dit d'une réaction biologique qui se déroule dans un milieu artificiel; également utilisé parfois pour qualifier la multiplication de cellules d'organismes pluricellulaires dans des conditions de culture de cellules. Les produits de diagnostic *in vitro* sont des produits utilisés pour diagnostiquer des maladies en dehors de l'organisme, après prélèvement d'un échantillon de celui-ci.
- In vivo** Littéralement: dans la vie; se dit d'une réaction biologique qui se déroule dans une cellule ou un organisme vivant. Les produits *in vivo* sont des produits utilisés dans l'organisme.
- Insectarium** Lieu où l'on élève ou conserve des insectes vivants.
- Lipopolysaccharide** Complexe soluble dans l'eau constitué d'un lipide et d'un polysaccharide.
- Lixiviation** Elimination, par lessivage ou percolation, d'un composé soluble, comme un minerai, présent dans un mélange solide.
- Matériel génétique** ADN, gènes, chromosomes, qui constituent le patrimoine héréditaire d'un organisme; ARN dans certains virus.
- Métabolite secondaire** Métabolite non indispensable aux fonctions vitales de l'organisme qui le produit.
- Métazoaire (cellule de)** Cellule d'un organisme pluricellulaire (métazoaire) et non d'un organisme unicellulaire (protozoaire).

- Microcosme** Communauté qui constitue une représentation d'un système plus vaste.
- Micro-injection** Technique d'introduction de très faibles quantités de matières (molécules d'ADN ou d'ARN, enzymes, agents cytotoxiques) dans une cellule intacte à l'aide d'une aiguille microscopique traversant la membrane cellulaire.
- Micro-organisme** Organisme tel qu'un champignon microscopique, un procaryote, un protiste ou un virus.
- Mitochondries** Structures des cellules d'organismes supérieurs qui servent de « centrale d'énergie » à la cellule et produisent de l'énergie chimique.
- Modulateurs du système immunitaire** Protéines autres que des anticorps libérées par des lymphocytes sensibilisés au contact de l'antigène ; elles jouent le rôle de médiateurs intercellulaires de la réponse immunitaire.
- Mutagenèse** Induction d'une mutation dans le matériel génétique d'un organisme; les chercheurs peuvent recourir à des moyens physiques ou chimiques pour provoquer des mutations qui améliorent la productivité ou les capacités des organismes.
- Mutation** Tout changement portant sur la séquence des bases de l'ADN et modifiant ainsi le matériel génétique.
- Non viable** Incapable de vivre, de croître ou de se développer et de fonctionner de façon satisfaisante.
- Organisme** Toute entité biologique, cellulaire ou non cellulaire, capable de se reproduire et de réagir aux forces de l'évolution; les organismes comprennent les végétaux, les animaux, les champignons, les protistes, les procaryotes et les virus.
- Organisme donneur** Organisme dont provient l'ADN que l'on introduit dans l'organisme receveur ou hôte lors des opérations de recombinaison de l'ADN.
- Ouverture d'un cycle** Cassure d'un composé où les molécules ont une structure cyclique (chaîne fermée), constituée le plus souvent de cinq ou six atomes, mais on connaît des cycles plus petits et plus grands.
- Pathogène** (subst.) Agent responsable d'une maladie; ne s'emploie d'ordinaire que pour un agent vivant, comme une bactérie ou un virus.
- Pathogène** (adj.) Capable de provoquer une maladie.
- Phage** Virus qui se multiplie dans les bactéries.
- Phagocytose** Absorption et (généralement) destruction de particules par des cellules (comme les leucocytes) qui ont pour caractéristique d'absorber les matières étrangères et de consommer les débris.
- Phénotype** Caractéristiques d'un organisme qui résultent de l'interaction de son patrimoine génétique avec l'environnement.
- Plasmide** Segment circulaire d'ADN extrachromosomique, capable d'autoduplication; les plasmides (et certains virus) servent de « vecteur » pour cloner de l'ADN dans des cellules « hôtes » bactériennes.
- Polynucléotide** Chaîne polymériques de composés qui sont formés d'un sucre (ribose ou désoxyribose) lié à une base purique ou pyrimidique et à un groupe phosphate et constituent les unités structurales fondamentales de l'ADN et de l'ARN.
- Polypeptide** Peptide, c'est-à-dire chaîne d'acides aminés, de grande longueur.
- Population** Groupe d'individus ayant une caractéristique en commun.
- Procaryote** Qualifie la cellule peu différenciée qui constitue l'unité structurale des bactéries.
- Protéines d'organisme unicellulaire** Cellules, ou extraits protéiques, de micro-organismes cultivés en grandes quantités pour emploi comme compléments protéiques de l'alimentation humaine ou animale.

- Protéines de transfert d'électrons** Protéines participant au transfert par étapes d'électrons (en particulier dans la respiration cellulaire) d'un substrat oxydable à l'oxygène moléculaire, par une série de réactions d'oxydo-réduction.
- Protoplaste** Cellule sans paroi.
- Réactif** Substance qui prend part à une réaction chimique.
- Receveur (organisme)** Voir «hôte».
- Rétrovirus** Virus animal à enveloppe de glycoprotéine et à génome d'ARN, qui se réplique par l'intermédiaire d'ADN.
- Sclérote** Structure de survie des champignons, capable de demeurer à l'état dormant pendant de longues périodes.
- Sélection** Processus de laboratoire par lequel on choisit des cellules ou des organismes présentant des caractéristiques déterminées.
- Sonde génique** Séquence déterminée d'ADN ou d'ARN utilisée pour détecter des séquences complémentaires dans des molécules d'acide nucléique.
- Spore** Forme cellulaire dormante dérivée d'une cellule de bactérie ou de champignon, qui est dépourvue d'activité métabolique et peut donner naissance à une cellule végétative par germination; elle est déshydratée et peut survivre dans des conditions d'environnement sévères pendant de longues périodes.
- Substrat** Substance sur laquelle s'exerce une action, par exemple celle d'une enzyme.
- Symbiote** Organisme vivant en symbiose; désigne généralement le plus petit membre d'une paire symbiotique de tailles différentes.
- Symbiotique** Capable de vivre en association étroite avec un organisme différent, dans le cadre d'une relation mutuellement avantageuse.
- Toxoïde** Toxine détoxiquée, mais dont les propriétés antigéniques demeurent intactes.
- Transgéniques (animaux)** Animaux dans lesquels on a introduit de l'ADN d'une autre espèce par micro-injection ou par infection à l'aide d'un rétrovirus.
- Translocation** Echange de parties entre chromosomes non homologues.
- Tri** Choix d'une classe d'organismes en fonction d'une caractéristique déterminée.
- Vecteur** Agent de transmission; un vecteur d'ADN est par exemple une molécule d'ADN capable d'autoduplication qui transmet de l'information génétique d'une cellule ou d'un organisme à un autre. Les plasmides (et certains virus) servent de «vecteurs» de l'ADN dans le clonage de bactéries.
- Viroïde** Petite molécule d'ARN pathogène, apparemment incapable de coder pour une protéine, qui dépend de la machinerie de l'organisme hôte pour sa réplication.
- Zygote** Cellule formée par l'union de deux cellules reproductrices matures.

**OECD SALES AGENTS
DÉPOSITAIRES DES PUBLICATIONS DE L'OCDE**

ARGENTINA - ARGENTINE

Carlos Hirsch S.R.L.,
Florida 165, 4º Piso,
(Galeria Guemes) 1333 Buenos Aires
Tel. 33.1787.2391 y 30.7122

AUSTRALIA-AUSTRALIE

D.A. Book (Aust.) Pty. Ltd.
11-13 Station Street (P.O. Box 163)
Mitcham, Vic. 3132 Tel. (03) 873 4411

AUSTRIA - AUTRICHE

OECD Publications and Information Centre,
4 Simrockstrasse,
5300 Bonn (Germany) Tel. (0228) 21.60.45
Local Agent:
Gerold & Co., Graben 31, Wien 1 Tel. 52.22.35

BELGIUM - BELGIQUE

Jean de Lannoy, Service Publications OCDE,
avenue du Roi 202
B-1060 Bruxelles Tel. 02/538.51.69

CANADA

Renouf Publishing Company Limited/
Éditions Renouf Limitée Head Office/
Siège social - Store/Magasin:
61, rue Sparks Street,
Ottawa, Ontario K1P 5A6
Tel. (613)238-8985. 1-800-267-4164
Store/Magasin: 211, rue Yonge Street,
Toronto, Ontario M5B 1M4. Tel. (416)363-3171

**Regional Sales Office/
Bureau des Ventes régional:**

7575 Trans-Canada Hwy., Suite 305,
Saint-Laurent, Quebec H4T 1V6
Tel. (514)335-9274

DENMARK - DANEMARK

Munksgaard Export and Subscription Service
35, Nørre Søgade, DK-1370 København K
Tel. +45.1.12.85.70

FINLAND - FINLANDE

Akateminen Kirjakauppa,
Keskuskatu 1, 00100 Helsinki 10 Tel. 0.12141

FRANCE

OCDE/OECD
Mail Orders/Commandes par correspondance:
2, rue André-Pascal,
75775 Paris Cedex 16
Tel. (1) 45.24.82.00

Bookshop/Librairie: 33, rue Octave-Feuillet
75016 Paris
Tel. (1) 45.24.81.67 or/ou (1) 45.24.81.81

Principal correspondant:
Librairie de l'Université,
12a, rue Nazareth,
13602 Aix-en-Provence Tel. 42.26.18.08

GERMANY - ALLEMAGNE

OECD Publications and Information Centre,
4 Simrockstrasse,
5300 Bonn Tel. (0228) 21.60.45

GREECE - GRÈCE

Librairie Kauffmann,
28, rue du Stade, 105 64 Athens Tel. 322.21.60

HONG KONG

Government Information Services,
Publications (Sales) Office,
Beaconsfield House, 4/F.,
Queen's Road Central

ICELAND - ISLANDE

Snæbjörn Jónsson & Co., h.f.,
Hafnarstræti 4 & 9,
P.O.B. 1131 - Reykjavik
Tel. 13133/14281/11936

INDIA - INDE

Oxford Book and Stationery Co.,
Scindia House, New Delhi 1
17 Park St., Calcutta 700016 Tel. 45896
Tel. 240832

INDONESIA - INDONESIE

Pdin Lipi, P.O. Box 3065/JKT.Jakarta
Tel. 583467

IRELAND - IRLANDE

TDC Publishers - Library Suppliers
12 North Frederick Street, Dublin 1
Tel. 744835-749677

ITALY - ITALIE

Libreria Commissionaria Sansoni,
Via Lamarmora 45, 50121 Firenze
Tel. 579751/584468

Via Bartolini 29, 20155 Milano Tel. 365083

Sub-depositari:
Ugo Tassi, Via A. Farnese 28,
00192 Roma Tel. 310590

Editrice e Libreria Herder,
Piazza Montecitorio 120, 00186 Roma
Tel. 6794628

Agenzia Libreria Pegaso,
Via de Romita 5, 70121 Bari
Tel. 540.105/540.195

Agenzia Libreria Pegaso, Via S. Anna dei
Lombardi 16, 80134 Napoli. Tel. 314180

Libreria Hœpli,
Via Hœpli 5, 20121 Milano Tel. 865446

Libreria Scientifica
Dott. Lucio de Biasio "Aciou"
Via Meravigli 16, 20123 Milano Tel. 807679

Libreria Zanichelli, Piazza Galvani 1/A,
40124 Bologna Tel. 237389

Libreria Lattes,
Via Garibaldi 3, 10122 Torino Tel. 519274

La diffusione delle edizioni OCSE è inoltre
assicurata dalle migliori librerie nelle città più
importanti.

JAPAN - JAPON

OECD Publications and Information Centre,
Landic Akasaka Bldg., 2-3-4 Akasaka,
Minato-ku, Tokyo 107 Tel. 586.2016

KOREA - CORÉE

Pan Korea Book Corporation
P.O.Box No. 101 Kwangwhamun, Seoul
Tel. 72.7369

LEBANON - LIBAN

Documenta Scientifica/Redico,
Edison Building, Bliss St.,
P.O.B. 5641, Beirut Tel. 354429-344425

MALAYSIA - MALAISIE

University of Malaya Co-operative Bookshop
Ltd.,
P.O.Box 1127, Jalan Pantai Baru,
Kuala Lumpur Tel. 577701/577072

NETHERLANDS - PAYS-BAS

Staatsuitgeverij
Chr. Plantijnstraat, 2 Postbus 20014
2500 EA S-Gravenhage Tel. 070-789911
Voor bestellingen: Tel. 070-789880

NEW ZEALAND - NOUVELLE-ZÉLANDE

Government Printing Office Bookshops:
Auckland: Retail Bookshop, 25 Rutland Street,
Mail Orders, 85 Beach Road
Private Bag C.P.O.

Hamilton: Retail: Ward Street,
Mail Orders, P.O. Box 857
Wellington: Retail, Mulgrave Street, (Head
Office)

Cubacade World Trade Centre,
Mail Orders, Private Bag
Christchurch: Retail, 159 Hereford Street,
Mail Orders, Private Bag

Dunedin: Retail, Princes Street,
Mail Orders, P.O. Box 1104

NORWAY - NORVÈGE

Tanum-Karl Johan as
P.O. Box 1177 Sentrum, 0107 Oslo 1
Tel. (02) 801260

PAKISTAN

Mirza Book Agency
65 Shahrah Quaid-E-Azam, Lahore 3 Tel. 66839

PORTUGAL

Livraria Portugal,
Rua do Carmo 70-74, 1117 Lisboa Codex.
Tel. 360582/3

SINGAPORE - SINGAPOUR

Information Publications Pte Ltd
Pei-Fu Industrial Building,
24 New Industrial Road No. 02-06
Singapore 1953 Tel. 2831786, 2831798

SPAIN - ESPAGNE

Mundi-Prensa Libros, S.A.,
Castelló 37, Apartado 1223, Madrid-28001
Tel. 431.33.99

Libreria Bosch, Ronda Universidad 11,
Barcelona 7 Tel. 317.53.08/317.53.58

SWEDEN - SUÈDE

AB CE Fritzes Kungl. Hovbokhandel,
Box 16356, S 103 27 STH,
Regeringsgatan 12,
DS Stockholm Tel. (08) 23.89.00

Subscription Agency/Abonnements:
Wennergren-Williams AB,
Box 30004, S104 25 Stockholm. Tel. 08/54.12.00

SWITZERLAND - SUISSE

OECD Publications and Information Centre,
4 Simrockstrasse,
5300 Bonn (Germany) Tel. (0228) 21.60.45

Local Agent:
Librairie Payot,
6 rue Grenus, 1211 Genève 11
Tel. (022) 31.89.50

TAIWAN - FORMOSE

Good Faith Worldwide Int'l Co., Ltd.
9th floor, No. 118, Sec.2
Chung Hsiao E. Road
Taipei Tel. 391.7396/391.7397

THAILAND - THAILANDE

Suksit Siam Co., Ltd.,
1715 Rama IV Rd.,
Samyamb Bangkok 5 Tel. 2511630

TURKEY - TURQUIE

Kültür Yayinlari Is-Türk Ltd. Sti.
Atatürk Bulvari No: 191/Kat. 21
Kavaklidere/Ankara Tel. 25.07.60

Dolmabahce Cad. No: 29
Besiktas/Istanbul Tel. 160.71.88

UNITED KINGDOM - ROYAUME UNI

H.M. Stationery Office,
Postal orders only:
P.O.B. 276, London SW8 5DT
Telephone orders: (01) 622.3316, or
Personal callers:

49 High Holborn, London WC1V 6HB
Branches at: Belfast, Birmingham,
Bristol, Edinburgh, Manchester

UNITED STATES - ÉTATS-UNIS

OECD Publications and Information Centre,
Suite 1207, 1750 Pennsylvania Ave., N.W.,
Washington, D.C. 20006 - 4582
Tel. (202) 724.1857

VENEZUELA

Libreria del Este,
Avda F. Miranda 52, Aptdo. 60337,
Edificio Galipan, Caracas 106
Tel. 32.23.01/33.26.04/31.58.38

YUGOSLAVIA - YOUGOSLAVIE

Jugoslovenska Knjiga, Knez Mihajlova 2,
P.O.B. 36, Beograd Tel. 621.992

Orders and inquiries from countries where Sales
Agents have not yet been appointed should be sent
to:

OECD, Publications Service, Sales and
Distribution Division, 2, rue André-Pascal, 75775
PARIS CEDEX 16.

Les commandes provenant de pays où l'OCDE n'a
pas encore désigné de dépositaire peuvent être
adressées à:

OCDE, Service des Publications, Division des
Ventes et Distribution, 2, rue André-Pascal, 75775
PARIS CEDEX 16.

69928-07-1986

PUBLICATIONS DE L'OCDE, 2, rue André-Pascal, 75775 PARIS CEDEX 16 - N° 43692 1986
IMPRIMÉ EN FRANCE
(93 86 02 2) ISBN 92-64-22857-8

Les applications commerciales des techniques de recombinaison de l'ADN amènent à se demander si les méthodes actuelles de sécurité conviennent à l'utilisation de ces techniques dans l'industrie, dans l'agriculture et dans l'environnement.

Ce rapport définit un cadre scientifique général pour l'évaluation des risques potentiels liés à l'utilisation à grande échelle d'organismes à ADN recombiné. Il constitue un premier pas vers l'harmonisation des politiques en matière de sécurité des pays membres de l'OCDE.