

## **Une protéine pesticide OGM (Cry1ab) dans le sang de femmes gravides et de leur fœtus ? Un travail bâclé et un scénario catastrophe très probablement inexistant**

**Alain de Weck <sup>1</sup>**

Deux chercheurs de l'université canadienne de Sherbrooke (1) viennent de publier un article concluant à la présence de la protéine pesticide OGM Cry1Ab dans le sang de la quasi-totalité des femmes enceintes et de leur fœtus, ainsi que des femmes non gravides. Il est présumé que cette protéine apparaît dans le sang suite à l'ingestion alimentaire de maïs OGM, qui en est la principale source au Canada. Les auteurs décrivent également l'absorption des pesticides chimiques à faible poids moléculaire glyphosate (GLYP) et gluphosinate (GLUF), qui sont utilisés en conjonction avec certaines cultures OGM (par ex soja).

Les observations présentées dans cette note se limitent toutefois à la protéine Cry1Ab, qui est une protéine insecticide produite par la bactérie du sol *B. Thuringensis* et a un poids moléculaire de 130 Kda (kilodaltons). Le gène incorporé dans diverses plantes OGM, en particulier le maïs MON810 est un gène tronqué résultant en une protéine de 69 Kda et 617 acides aminés (2)

Comme le soulignent les auteurs (1), leur rapport est effectivement le premier à proclamer l'absorption alimentaire d'une toxine OGM chez l'homme, particulièrement chez la femme enceinte et le fœtus, ouvrant des perspectives et des scénarios toxicologiques particulièrement inquiétants. Nul doute que cette publication sera bientôt reprise en boucle sur tous les sites Web et par les organisations qui ont pour vocation de diffuser les dangers réels ou imaginaires des aliments OGM.

Toutefois le problème est qu'une évaluation scientifique des résultats présentée par Aris et Leblanc (1) soulève de multiples questions et des doutes sérieux quant aux conclusions tirées. Les premiers doutes sont d'ordre physiologique, quant au principe même de l'absorption de la protéine CryAb1 lors de son passage dans le système gastro-intestinal et le mécanisme présumé de son absorption dans le sang.

Selon les notions classiques (3-6) toujours valables, la très grande majorité des protéines ne sont pas absorbées telles quelles mais uniquement lorsqu'elles ont été digérées jusqu'au stade d'acides aminés ou de di- et tripeptides. Il n'y a que de très rares exceptions et ces exceptions ont été très bien étudiées ces dernières années, car elles forment la majorité de ce qu'on appelle les allergènes alimentaires. En effet, pour pouvoir réagir avec les anticorps formés par les patients allergiques à certains aliments, il est nécessaire que les allergènes responsables, le plus souvent des protéines, puissent passer plus ou moins intactes dans le sang. Cela se produit, mais en concentrations infimes (0.1 – 2 ng/ml) pour les allergènes alimentaires classiques, tels que l'ovalbumine, certaines protéines du lait ou de noix allergisantes (7-11). La capacité d'absorption gastrique ou intestinale est toutefois hautement sélective : elle est restreinte aux rares protéines qui ne sont pas susceptibles d'être digérées lors de leur passage intestinal (7,8). En fait, les tests de digestibilité *in vitro* ou *in vivo* sont devenus un critère permettant d'évaluer la capacité d'une protéine d'être absorbée sous forme intacte et le risque allergénique en découlant.

En ce qui concerne la protéine OGM Cry1Ab1, il existe de nombreux travaux qui démontrent directement ou indirectement que cette protéine, lorsqu'ingérée par voie orale, n'est pas allergénique et n'est pas absorbée dans le sang, même en quantités infimes. La protéine Cry1Ab ingérée ne déclenche pas de réaction allergique chez la souris rendue allergique par injection (12,13). Chez les patients allergiques à diverses protéines du maïs et réagissant aussi bien au maïs OGM Mon810 qu'au maïs naturel, il n'y a aucune évidence de sensibilisation vis à vis de Cry1Ab (14). D'après les tests de digestibilité standardisés in vitro, Cry1Ab semble également appartenir à la grande catégorie des protéines aisément digestibles et absorbées uniquement après dégradation en acides aminés ou oligopeptides (12,15), particulièrement si Cry1Ab a été chauffée par cuisson, comme c'est le cas pour l'alimentation humaine (15). Cela est confirmé par diverses études sur la présence et la digestibilité de Cry1Ab après administration alimentaire contrôlée de maïs OGM dans différentes espèces animales telles que le cochon (16,17), la vache (18-20), le sanglier (22), le chevreuil (21,22), le faisan (22), la poule (23) et la souris (12,13). Dans aucune de ces espèces et de ces administrations orales contrôlée de maïs OGM, il n'a été constaté de présence dans le sang ou les tissus de protéine Cry1Ab intacte ou fragmentée encore capable de réaction immunologique. La protéine Cry1Ab est également rapidement dégradée dans les sols (24).

En résumé (25), la protéine Cry1Ab ne possède aucune des caractéristiques associées avec les toxines ou allergènes alimentaires, elle n'a pas d'homologie séquentielle avec des allergènes connus (26), elle n'a pas de sites de N-glycosylation permettant une immunisation secondaire, elle est rapidement dégradée par les sucs gastriques et intestinaux, elle n'a aucun effet secondaire chez la souris gavée par voie orale à la dose de 5 g/kg. Il y a donc une certitude raisonnable et documentée qu'il n'existe aucun effet nocif de l'inclusion de Cry1Ab dans l'alimentation animale et humaine (25). Dans ce contexte, l'affirmation d'une telle absorption chez l'homme représenterait effectivement une première et aurait dû rendre les auteurs canadiens particulièrement circonspects, mais ce n'a de toute évidence pas été le cas.

En fait, une seconde catégorie de doutes et de questions se pose sur le plan de la technique immunologique. En effet, la seule base pour les résultats présentés est un test commercial ELISA double sandwich, prétendu spécifique pour Cry1Ab (Agdia, Elkhart, IN, USA) (27). Tout immunologue averti sait que de tels tests peuvent donner des résultats non spécifiques, particulièrement en présence de sang ou de protéines sériques. C'est ainsi que divers tests ELISA sont inutilisables dans le sérum, en raison de fixations non spécifiques, variant du reste d'un échantillon de sérum et d'un individu à l'autre (28 et résultats non publiés). Ces résultats et signaux enzymatiques non spécifiques variables donnent à première vue exactement le même type de résultats que ceux rapportés par Aris et Leblanc (1). De plus, les conjugués enzymatiques de type peroxidase, tels que celui utilisé dans le test Agdia, sont particulièrement sensibles à ce type d'effet non spécifique, créant de faux positifs (29). Il a du reste été précisé par deux utilisateurs au moins que le test Agdia ne donne pas des résultats fiables dans le sang (16,33). Les comparaisons effectuées par divers auteurs entre les tests ELISA sandwich commerciaux (27,30,31) et divers tests en laboratoire à partir d'anticorps anti-Cry1Ab polyclonaux et monoclonaux (32-36) démontrent à l'envi que les tests de type ELISA sandwich

pour Cry1Ab varient grandement en termes de sensibilité et spécificité. Les tests de ce genre sont particulièrement susceptibles aux réactions faussement positives non spécifiques, particulièrement en présence de sérum (37).

Dans ces conditions, la calibration quantitative utilisée (1) pour déterminer la concentration de Cry1Ab doit être également fortement mise en doute, puisque les dilutions de référence de Cry1Ab ont été établies en solution tampon PBST et non en présence de protéines sériques, ce qui rend toute prétention de dosage quantitatif illusoire. A ce propos, il est du reste étrange que les concentrations moyennes indiquées par Aris et Leblanc (0.13 à 0.19 ng/ml pour les femmes, 0.04 ng/ml pour les fœtus) soient en fait inférieures à la limite de détection du test donnée par le fabricant (0.25 ng/ml). De toute évidence, Il aurait donc été indispensable de confirmer la présence effective de Cry1Ab dans le sang par un autre test ELISA avec un autre type de conjugué enzymatique mais surtout par des tests d'identification immunologique et protéinique, tels qu'un immunoblot ou Western blot, comme également suggéré par Kuntz (38). La plupart des auteurs cités ici insistent également sur le fait que l'identification de cryAb1 par sandwich ELISA requiert un autre test immunochimique de confirmation.

Aux doutes suscités par les techniques immunologiques vient s'ajouter un argument quantitatif de simple bon sens, déjà évoqué par Kuntz (38). En considérant les concentrations de Cry1Ab prétendument détectées dans le sérum de femmes gravides et non gravides (respectivement 0.19 ng/ml et 0.13 ng/ml), quelle quantité de maïs OGM faut-il ingérer pour parvenir à un tel résultat ? D'après les calculations très plausibles de Kuntz, assumant généreusement un taux d'absorption de 1%, la dose ingérée de maïs OGM par la quasi totalité des femmes du Québec serait de l'ordre de 0.12 à 1.5 kg de maïs OGM par jour, ce qui est totalement invraisemblable. En fait, la situation est probablement encore plus grotesque : dans plusieurs expériences d'alimentation contrôlée de protéines alimentaires allergéniques telles que l'ovalbumine ou les protéines du lait, le taux d'absorption détecté est de l'ordre de 0.01 % à 0.001 % de la dose ingérée (39-41).

En conclusion, l'affirmation selon laquelle la protéine pesticide OGM Cry1Ab serait absorbée dans le sang de femmes gravides et non gravides, probablement suite à l'ingestion et au passage d'aliments OGM, n'est pas basée sur des résultats immunologiques fiables. Vu le contexte général quant à l'absorption gastro-intestinale des protéines et plusieurs études négatives sur la protéine Cry1Ab, il est extrêmement probable que les résultats rapportés par Aris et Leblanc (1) résultent d'un artefact. Cela n'empêchera toutefois pas ce travail d'être qualifié de scientifique par tous les sites Web ayant pour vocation d'interpréter dans le sens anti-OGM toutes les publications pouvant semer le doute (42)

<sup>1</sup> Professeur émérite d'immunologie ; Institut d'immunologie (Université de Berne, Suisse) ; Département d'Allergologie (Université de Navarre, Espagne)

## Références

- (1) Aris A, Leblanc S. Maternal and fetal exposure to pesticides associated to genetically modified foods in Eastern Townships of Quebec, Canada. *Reprod Toxicol.* 2011 Feb 18. [Epub ahead of print]
- (2) Bacillus thuringiensis Cry1Ab protein and the genetic material necessary for its production (pTDL004 or pTDL008) in Event T303-3 or T304-40 cotton plants (006525) Experimental Use Permit Fact Regulating Biopesticides - Active Ingredient Index. Environmental Protection Agency. 2007 [www.epa.gov/op00001/pesticide](http://www.epa.gov/op00001/pesticide)
- (3) Dent CE, Schilling GA . Studies on the Absorption of Proteins: the Amino-acid Pattern in the Portal Blood . *Biochem. J.* 1949; 34 : 318 - 335
- (4) Mathews DM. Protein Absorption. *J.clin Path.* 1972; 24,Supp.5 : 29-40
- (5) Mathews DM, Adibi SA. Peptide absorption. *Gastroenterology.* 1976 Jul;71(1):151-61
- (6) Bowen R. Absorption of amino acids and peptides, 2008. [www.colostate.edu](http://www.colostate.edu)
- (7) Wickham M, Faulks R, Mills C. In vitro digestion methods for assessing the effect of food structure on allergen breakdown. *Mol Nutr Food Res.* 2009 Aug;53(8):952-8
- (8) Untersmayr E, Jensen-Jarolim E. The role of protein digestibility and antacids on food allergy outcomes. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121: 1301-8.
- (9) Paganelli R, Levinsky RJ. Solid phase radioimmunoassay for detection of circulating food protein antigens in human serum. *J Immunol Methods.* 1980; 37: 333-41.
- (10) Moreno FJ, Rubio LA, Olano A, Clemente A.. Uptake of 2S albumin allergens, Bere1 and Ses i 1, across human intestinal epithelial Caco-2 cell monolayers. *J Agric Food Chem.* 2006; 54: 8631-9.
- (11) Yamada C, Yamashita Y, Seki R, Izumi H, Matsuda T, Kato Y. Digestion and (gastrointestinal absorption of the 14-16-kDa rice allergens. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2006; 70: 1890-7.
- (12) Guimaraes V, Drumare MF, Lereclus D, Gohar M, Lamourette P, Nevers MC, Vaisanen-Tunkelrott ML, Bernard H, Guillon B, Créminon C, Wal JM, Adel-Patient K. In vitro digestion of Cry1Ab proteins and analysis of the impact on their immunoreactivity. *J. Agric Food Chem .* 2010; 21 : 3222-31
- (13) Adel-Patient K, Guimaraes VD, Paris A, Drumare M-F, Ah-Leung, S, Lamourette P, Nevers M-C, Canlet C, Molina J, Bernard H, Créminon C, Wal J-M. Immunological and metabolomic impacts of administration of Cry1Ab protein and

MON 810 maize in mouse. PLoS One. 2011; 6: e16346  
<http://ukpmc.ac.uk/articles/PMC3029317/>

(14) Nakajima O, Teshima R, Takagi K, Okunuki H, Sawada J. ELISA method for monitoring human serum IgE specific for Cry1Ab introduced into genetically modified corn. Reg Tox Col Pharmacol. 2007; 47: 90-5.

(15) Okunuki H, Teshima R, Shigeta T, Sakushima J, Akiyama H, Goda Y, Toyoda M, Sawada J. Source Increased digestibility of two products in genetically modified food (CP4-EPSPS and Cry1Ab) after preheating. Shokuhin Eiseigaku Zasshi. 2002; 43: 68-73.

(16) Chowdhury EH, Kuribara H, Hino A, Sultana P, Mikami O, Shimada N, Guruge KS, Saito M, Nakajima Y. Detection of corn intrinsic and recombinant DNA fragments and Cry1Ab protein in the gastrointestinal contents of pigs fed genetically modified corn Bt11. J Anim Sci. 2003; 81: 2546-51.

(17) M. Saito and Y. Nakajima E. H. Chowdhury, H. Kuribara, A. Hino, P. Sultana, O. Mikami, N. Shimada, K. S. Guruge, Detection of corn intrinsic and recombinant DNA fragments and Cry1Ab protein in the gastrointestinal contents of pigs fed genetically modified corn Bt11 J Anim Sci, 2003; 81: 2546-2551

(18) Chowdhury EH, Shimada N, Murata H, Mikami O, Sultana P, Miyazaki S, Yoshioka M, Yamanaka N, Hirai N, Nakajima Y.. Detection of Cry1Ab protein in gastrointestinal contents but not visceral organs of genetically modified Bt11-fed calves. Vet Hum Toxicol. 2003; 45: 72-5.

(19) Paul V, Guertler P, Wiedemann S, Meyer HD. Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize (MON810) in relation to total dietary feed proteins in dairy cow digestion. [www.lfl.bayern.de/ite/rind/35021/linkurl\\_0\\_2\\_0\\_8.pdf](http://www.lfl.bayern.de/ite/rind/35021/linkurl_0_2_0_8.pdf)

(20) Lutz B, Wiedemann S, Einspanier R, Mayer J, Albrecht C- Degradation of Cry1Ab Protein from Genetically Modified Maize in the Bovine Gastrointestinal Tract .J. Agric. Food Chem., 2005; 53 : 1453–1456

(21) P. Guertler, B. Lutz, R. Kuehn, H. H. D. Meyer, R. Einspanier, B. Killermann and C. Albrecht. Fate of recombinant DNA and Cry1Ab protein after ingestion and dispersal of genetically modified maize in comparison to rapeseed by fallow deer (*Dama dama*). Eur J Wildlife Res. 2008; 54 : 38-43j

(22) Albrecht C, Lutz B, Wiedemann C. Experimentelle Untersuchungen zur Verbreitung von Transgenen durch Tiere über pflanzliche Verbreitungseinheiten nach Magen-Darm-Passage und über horizontalen Gentransfer  
[www.bfn.de/fileadmin/MDB/documents/service/skript225.pdf](http://www.bfn.de/fileadmin/MDB/documents/service/skript225.pdf)

(23) JC Jennings, LD Albee, DC Kolwyck, JB Surber, ML Taylor, GF Hartnell, RP Lirette, and KC Glenn . Attempts to detect transgenic and endogenous plant DNA and transgenic protein in muscle from broilers fed YieldGard Corn Borer Corn . Poultry Science, 2003; 82 : 371-380

- (24) Badea EM, Chelu F, Lacatusu A. Results regarding the levels of Cry1Ab protein in transgenic corn tissue (MON810) and the fate of Bt protein in three soil types. Romanian Biotechnological Letters Vol. 15, No.1, Supplement, 2010.  
[www.ebooks.unibuc.ro/biologie/RBL/rbl1vol15Supplement/7%20Elena%20Marcela%20Badea.pdf](http://www.ebooks.unibuc.ro/biologie/RBL/rbl1vol15Supplement/7%20Elena%20Marcela%20Badea.pdf)
- (25) Xu W, Cao S, He X, Luo Y, Guo X, Yuan Y, Huang K. Safety assessment of Cry1Ab/Ac fusion protein. Food Chem Toxicol. 2009; 47: 1459-65.
- (26) Randhawa GJ, Singh M, Grover M. Bioinformatic analysis for allergenicity assessment of Bacillus thuringiensis Cry proteins expressed in insect-resistant food crops. Food Chem Toxicol. 2011; 49 ; 356-62.
- (27) Agdia Bt-Cry1Ab/1Ac ELISA Kit - ELISA for the detection of Bt-Cry1Ab/1Ac proteins Catalog number: PSP 06200  
[https://orders.agdia.com/Documents/m172.pdf\\_0](https://orders.agdia.com/Documents/m172.pdf_0)
- (28) Furukawa K, Tengler R, de Weck AL, Maly FE. Simplified sulfidoleukotriene ELISA using LTD4-conjugated phosphatase for the study of allergen-induced leukotriene generation by isolated mononuclear cells and diluted whole blood. J Investig Allergol Clin Immunol. 1994; 4:110-5.
- (29) Pino RM. Binding of Fab-horseradish peroxidase conjugates by charge and not by immunospecificity. J Histochem Cytochem. 1985 Jan;33(1):55-8.
- (30) **Envirologix**. QualiPlate™ Combo Kit for Cry1Ab & Cry3Bb1 - Catalog Number: AP 039. [http://www.envirologix.com/artman/publish/article\\_232.shtml](http://www.envirologix.com/artman/publish/article_232.shtml)
- (31) Quantitative ELISA for Bt-Cry1Ab. Immunoassay for quantitative detection of Cry1Ab and Cry1Ac proteins in transgenic crops. <http://www.krishgen.com>
- (32) Walschus U, Witt S, Wittmann C. Development of Monoclonal Antibodies Against Cry1Ab Protein from Bacillus thuringiensis and Their Application in an ELISA for Detection of Transgenic Bt-Maize. Food and Agricultural Immunology, 2002; 14 : 231-230
- (33) Paul V, Steinke K, Meyer HD. Development and validation of a sensitive enzyme immunoassay for surveillance of Cry1Ab toxin in bovine blood plasma of cows fed Bt-maize (MON810). Analytica Chimica Acta, 2008; 607 : 106-113
- (34) Icoz I, Andow D, Zwahlen C, Stotzky G. Is the Cry1Ab protein from Bacillus thuringiensis (Bt) taken up by plants from soils previously planted with Bt corn and by carrot from hydroponic culture? Bull Environ Contam Toxicol. 2009; 83:48-58.
- (35) Crespo LB, Spencer ZA, Nekl E, Pusztai-Carey M, Moar WJ, Blair D, Siegfried W. Comparison and Validation of Methods To Quantify Cry1Ab Toxin from Bacillus thuringiensis for Standardization of Insect Bioassays. Applied Environmental Microbiology, 2008; 74 :130-135

- (36) Zhu X, Chen L, Shen P, Jia J, Zhang D, Yang L. High Sensitive Detection of Cry1Ab Protein Using a Quantum Dot-Based Fluorescence-Linked Immunosorbent Assay. *J Agric Food Chemistry*. 2011; 59 : 2184-9..
- (37) Case JT, Ardans AA. Nonspecific reactions in an enzyme-linked immunosorbent assay caused by binding of immunoglobulins in situ to egg-propagated infectious bronchitis virus. *Avian Dis*. 1986; 30: 149-53.
- (38) Kuntz M. OGM et « pesticides » dans le sang ; première scientifique ou dernière pollution de la littérature scientifique. 2011  
<http://www.marcel-kuntz-ogm.fr/article-aris-leblanc-72486593.html>
- (39) Matsubara T, Aoki N, Honjoh T, Mizumachi K, Kurisaki J, Okamjima T, Nadano D, Matsuda T. Absorption, migration and kinetics on peripheral blood of orally administered ovalbumin in a mouse model. *Biosciences, Biotechnology and Biochemistry*, 2008; 72 : 2555-2565
- (40) Husby S., Jensenius J C, Svehag S-E . (1985), Passage of Undegraded Dietary Antigen into the Blood of Healthy Adults. *Scandinavian Journal of Immunology*, 1985; 22: 83–92.
- (41) Tsume Y; Taki Y; Sakane T; Nadai I; Sesake I, Watabe K, Kohno T, Yamashita S. Quantitative evaluation of the gastrointestinal absorption of protein into the blood and lymph circulation. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 1996; 19 : 1332-1337
- (42) Veillerette P. Toutes les études scientifiques sur les pesticides. Pesticide Action Network. <http://www.mdrgf.org>