

LA DETECTION DES OGM AU CRA-W



Version avril 2022

F. Debode, E. Janssen et G. Berben

Les activités du CRA-W en rapport avec la détection des OGM

RECENSER LES OGM	3
DETECTER LES OGM	4
DETECTER LES ESPECES VEGETALES	6
DETECTER LES ORGANISMES DONNEURS	7
QUANTIFIER LES OGM	8
PROPOSER UN SERVICE D'ANALYSES	10
PROPOSER DES ALTERNATIVES AUX TECHNIQUES CLASSIQUES POUR LA DETECTION DES OGM	11
ETUDE DE FACTEURS POUVANT INFLUENCER LA PCR	13
RECHERCHER LA PRESENCE D'OGM DANS L'ENVIRONNEMENT	14
DETECTER LES ANIMAUX TRANSGENIQUES	15
DETECTER LES MICROORGANISMES GENETIQUEMENT MODIFIES	16
DETECTER LES ORGANISMES MODIFIES PAR LES NOUVELLES TECHNIQUES D'EDITION DU GENOME	17
UTILISER LES NOUVELLES TECHNIQUES D'EDITION DU GENOME ET EVALUER LEURS EFFETS	18
LABORATOIRE NATIONAL DE REFERENCE	19
MEMBRE DE L'ENGL	20
IMPURETES BOTANIQUES	22
VISION PROSPECTIVE	23
CONTACTS	24

RECENSER LES OGM

Event	Crop	Stacked / Not Stacked	Authorized (A), Not Authorized (NA) or Low Level Presence Regulations	PROMOTEURS																
				0000	0001	0002	0003	0004	0005	0006	0007	0008	0009							
16																				
21	Liberator L62, pHo9Ac	Canola	NS	NA	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	DXYZ25	Canola	NS	NA	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	T45 (= HCN28 = ACS-BN)	Canola	NS	A	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	Topas T92 (HCN92)	Canola	NS	LLP	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	HCR1 (xT45)	Canola (polish canola)	NS	NA	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	87460	Maize	NS	NA	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	87460 x 89034 x 88017	Maize	S	NA	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
28	87460 x MON9034 x NK6	Maize	S	NA	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
29	87460 x NK603	Maize	S	NA	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	88017	Maize	NS	A	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Contexte

La détection des OGM implique de savoir quels sont les OGM présents sur le marché et quels sont les éléments structurels (promoteurs, gènes, terminateurs,...) qui les composent.

De même, lorsqu'un signal positif est rencontré avec une cible de criblage, il faut pouvoir rapidement lister tous les candidats potentiels qui pourraient expliquer ce signal avant d'appliquer les méthodes d'identification.

Développement(s)

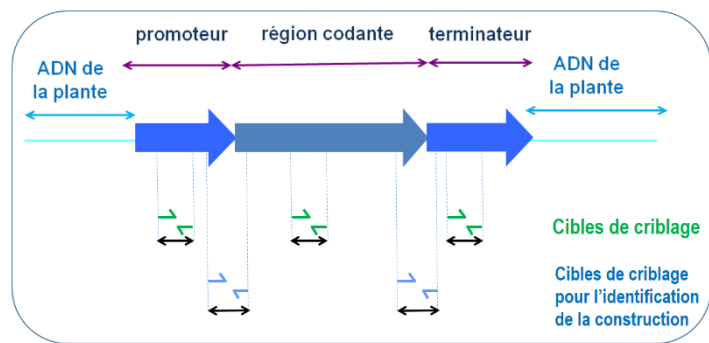
- Les différents évènements transgéniques de plantes ainsi que les éléments structuraux qui s'y retrouvent ont été listés dans une base de données appelée la « GMOseek Matrix ». La base de données GMOseek est téléchargeable sur le site du CRA-W.
- Le CRA-W est actif au sein d'un collectif de laboratoires autour de la base de données EUginius (European GMO Initiative for an Unified Database System).
- Le CRA-W travaille actuellement sur un recensement des gènes ciblés par les nouvelles techniques d'édition du génome.

Publication(s)

- Block, A. and Debode, F., Grohmann, L., Hulin, J., Taverniers, I., Kluga, L., Barbau-Piednoir, E., Broeders, S., Huber, I., Van den Bulcke, M., Heinze, P., Berben, G., Busch, U., Roosens, N., Janssen, E., Žel, J., Gruden, K., Morisset, D. (2013). The GMOseek matrix: a decision support tool for optimizing the detection of genetically modified plants. *BMC Bioinformatics*, 14 : 256

DETECTER LES OGM

- SCREENING -



Contexte

Le nombre d'OGM et la diversité des constructions transgéniques ne cessent de croître. Le screening traditionnel visant le promoteur p35S et le terminateur tNOS (comme longtemps utilisé par les laboratoires de contrôle) ne suffit plus. Il faut donc développer de nouveaux tests visant à détecter les éléments structurels couramment employés.

Développement(s)

De nouvelles cibles de PCR en temps réel ont été développées pour 6 promoteurs (pFMV, pNOS, pSSuAra, pTA29, pUbi, pRice actin), 5 terminateurs (t35S, tE9, tOCS, tg7 et tpinII) et 6 gènes (pat, bar, gus, gox, EPSPS, cry1Ab/Ac) fréquemment utilisés dans des constructions transgéniques. La spécificité a été vérifiée et la limite de détection a été déterminée sur du matériel de référence génomique ainsi que sur de l'ADN plasmidique. Par ailleurs, les performances des tests ont été évaluées avec succès et permettent de proposer ces tests pour une validation plus complète au niveau international.

Publication(s)

- Debode, F., Janssen, E., Berben, G. (2018). Development of PCR screening assays focused on gene-coding sequences for GMO detection. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 22(4), 230-241.
- Debode, F., Zdeňková, K., Janssen, E., Tizolova, A., du Jardin, P., Berben, G., Demnerova, K. (2018). Development of real-time PCR assays for the detection of the pin II terminator (tpinII) used in GM constructs and its donor organism, potato (*Solanum tuberosum*). *Food analytical methods*, 11(8), 2172-2180.
- Debode, F., Huber, I., Macarthur, R., Rischitor, P.E., Mazzara, M., Herau, V., Sebah, D., Dobnik, D., Broeders, S., Roosens, N.H., Busch, U., Berben, G., Morisset, D., Zel J. (2017). Inter-laboratory studies for the validation of two singleplex (tE9 and pea lectin) and one duplex (pat/bar) real-time PCR methods for GMO detection. *Food Control*. 73, 451-462.
- Debode, F., Janssen, E., Bragard, C., Berben, G. (2017). Detection by real-time PCR and pyrosequencing of the *cry1Ab* and *cry1Ac* genes introduced in GM constructions. *Food Additives and Contaminants : Part A*. 34(8), 1398-1409.

- Broeders, S., Huber, I., Grohmann, L., Berben, G., Taverniers, I., Mazzara, M., Roosens, N., Morisset, D. (2014). Guidelines for validation of qualitative real-time PCR methods. *Trends in Food Science & Technology*, 37(2), 115-126.
- Huber, I., Block, A., Sebah, D., Debode, F., Morisset, D., Grohmann, L., Berben, G., Stebih, D., Milavec, M., Zel, J., Busch, U. (2013). Development and validation of duplex, triplex, and pentaplex real-time PCR screening assays for the detection of genetically modified organisms in food and feed. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(43), 10293-10301.
- Debode, F., Janssen, E., Berben, G. (2013). Development of 10 new screening PCR assays for GMO detection targeting promoters (pFMV, pNOS, pSSuAra, pTA29, pUbi, pRice actin) and terminators (t35S, tE9, tOCS, tg7). *European Food Research and Technology*, 236 :659-669.

DETECTER LES ESPECES VEGETALES



Contexte

La détection des OGM passe par le besoin de connaître si des espèces végétales bien déterminées et susceptibles d'être génétiquement modifiées sont présentes dans le produit à analyser. Ceci permet de limiter le nombre de tests de criblage et d'identification. De plus, la quantification des événements transgéniques implique de pouvoir disposer de cibles endogènes.

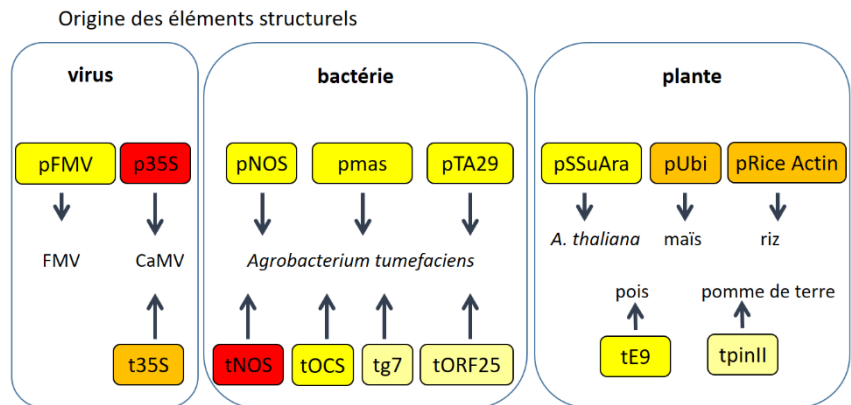
Développement(s)

- Des tests par PCR en temps réel ont été recensés pour permettre la détection de 15 espèces végétales dont des variants génétiquement modifiées sont disponibles commercialement.
- Des tests PCR ont également été développés pour la détection de la chicorée, du colza, du lin, du pois, de la pomme de terre et du soja. La spécificité et la sensibilité de ces nouvelles cibles ont été évaluées avec succès.

Publication(s)

- de Oliveira, A. C., Marien, A., Hulin, J., Muhovski, Y., Baeten, V., Janssen, E., Berben, G., Rogez, H., Debode, F. (2022). Development of real-time PCR methods for cocoa authentication in processed cocoa-derived products. *Food Control*, 131, 108414.
- Debode, F., Zdeňková, K., Janssen, E., Tizolova, A., du Jardin, P., Berben, G., Demnerova, K. (2018). Development of real-time PCR assays for the detection of the pin II terminator (tpinII) used in GM constructs and its donor organism, potato (*Solanum tuberosum*). *Food analytical methods*, 11(8), 2172-2180.
- Debode, F., Huber, I., Macarthur, R., Rischitor, P.E., Mazzara, M., Herau, V., Sebah, D., Dobnik, D., Broeders, S., Roosens, N.H., Busch, U., Berben, G., Morisset, D., Zel J. (2017). Inter-laboratory studies for the validation of two singleplex (tE9 and pea lectin) and one duplex (pat/bar) real-time PCR methods for GMO detection. *Food Control*. 73, 451-462.
- Debode, F., Janssen, E., Marien, A., Berben, G. (2012). DNA Detection by Conventional and Real-Time PCR After Extraction from Vegetable Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(7), 1249-1257.
- Debode, F., Marien, A., Janssen, E., Taverniers, I., De Loose, M., Berben, G. (2008). Spiking products with a cloned endogenous target can significantly influence the GM content determined by PCR. Proceedings in: 1st Global conference on GMO analysis, Villa Erba - Como (Italy), 24-27 June, p 65.

DETECTER LES ORGANISMES DONNEURS



Contexte

Les éléments structurels présents dans les constructions transgéniques proviennent d'organismes (bactéries, plantes) ou d'entités biologiques (virus) existants. Il est important de ne pas attribuer un signal positif obtenu à la présence d'un OGM sans avoir vérifié que ce signal pourrait être lié à la présence d'un organisme donneur naturellement présent dans l'échantillon à analyser.

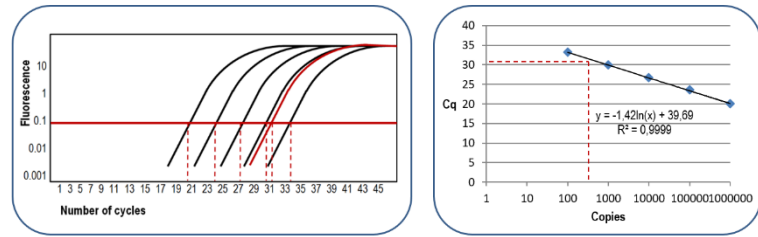
Développement(s)

- Des méthodes PCR ont été développées pour détecter la présence des bactéries *Agrobacterium tumefaciens* et *Bacillus thuringiensis*.
- Des méthodes PCR ont été développées pour détecter la présence du virus de la mosaïque du chou-fleur pouvant infecter de nombreuses brassicacées.
- De nombreux tests PCR pour la détection des espèces végétales ont aussi été proposés (voir point « Détecter les espèces végétales »).

Publication(s)

- Debode, F. (2017). Développement de méthodologies pour la détection des plantes génétiquement modifiées. Phd Thesis, AGRO, UCL, 367/2017, 391 p. <http://hdl.handle.net/2078.1/186329>
- Debode, F., Huber, I., Macarthur, R., Rischitor, P.E., Mazzara, M., Herau, V., Sebah, D., Dobnik, D., Broeders, S., Roosens, N.H., Busch, U., Berben, G., Morisset, D., Zel J. (2016). Inter-laboratory studies for the validation of two singleplex (tE9 and pea lectin) and one duplex (pat/bar) real-time PCR methods for GMO detection. *Food Control*, 73 : 452-461.
- Debode, F., Janssen, E., Arranz Rivera, E., Roulez, D., Ancion, C., Antoine, G., Hulin, J., Berben, G. (2009). *Detection of Bacillus thuringiensis*. Book of abstracts, abstract P6. Proceedings in: CoExtra. International conference, Paris, 2-5 juin 09, 103-104.

QUANTIFIER LES OGM



Contexte

La législation impose d'indiquer la présence d'OGM sur l'étiquetage. En cas de contamination fortuite ou accidentelle, une tolérance est toutefois possible pour les OGM autorisés si le seuil ne dépasse pas 0,9%. Certains OGM sont aussi tolérés à une teneur de 0,1% dans les aliments pour animaux (règlementation LLP- *Low Level Presence*).

Ceci implique de disposer de méthodes de quantification des OGM.

Développement(s)

- Différents facteurs pouvant influencer la quantification sont étudiés au CRA-W.
- Les méthodes de quantification recommandées par l'EURL-GMFF (European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed) sont implémentées au CRA-W.

Publication(s)

- Debode, F., Berben, G. (2019). PCR techniques for detection and quantification of GMOs In: *Testing and Analysis of GMO-containing Foods and Feed*, Mahgoub S. and Nollet L. Boca Raton, Florida, USA, CRC Press, 115-153. ISBN 9781315178592.
- Debode, F., Marien, A., Janssen, E., Berben, G. (2010). Use of Multiplex Calibrants in GMO detection and limit of their use for quantitative purposes due to competition effects. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396: 2151-2164.
- Debode, F., Janssen, E., Berben, G. (2007). Physical degradation of genomic DNA of soybean flours does not impair relative quantification of its Roundup Ready content. *European Food Research and Technology*, 226:273-280.
- Janssen, E., Hulin, J., Debode, F., Berben, G. (2004). Quantitation of genetically modified maize MON810 in two reference systems gives evidence of limitations in use of the conversion factor concept. *Rapid Methods Europe 2004*, Noordwijk aan Zee – The Netherlands, 25-26 March, p 89-90.
- Debode, F., Marien, A., Janssen, E., Taverniers, I., De Loose, M., Berben, G. (2008). Spiking products with a cloned endogenous target can significantly influence the GM content determined by PCR. *Proceedings in: 1st Global conference on GMO analysis, Villa Erba - Como (Italy), 24-27 June*, p 65.
- Corbisier, P., Trapmann, S., Gancberg, D., Hannes, L., Van Iwaarden, P., Berben, G., ... & Emons, H. (2005). Quantitative determination of Roundup Ready soybean (*Glycine max*) extracted from highly processed flour. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 383(2), 282-290.

- Janssen, E., Debode, F., Berben, G. (2003). DNA purity and real time PCR kinetics. Influence of the inhibitory effect on GMO quantitation Lojza J.,Cajka T., Kocourek V.,Hasjlová J. eds. 1st International Symposium on Recent Advances in Food Analysis, Prague, 5-7 November, Institute of Chemical Technology,p 127.
- Berben, G., Janssen, E., Debode, F. (2000). Détection, identification et quantification des transgènes dans les aliments par amplification génique Biotechnologie Agronomie Société et Environnement, 4 : 208-213.

PROPOSER UN SERVICE D'ANALYSES



Contexte

La détection des OGM requiert des acteurs capables d'effectuer des analyses OGM pour différents opérateurs publics et privés.

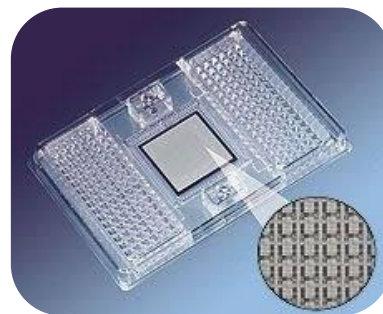
Développement(s)

- Depuis 1999, le CRA-W propose un service d'analyses de routine à destination des organismes de contrôle (AFSCA), des organismes certificateurs, des entreprises privées voire des particuliers.
- Le CRA-W est accrédité ISO17025 pour une partie de ses analyses OGM et est agréé par l'AFSCA.

Publication(s)

- Debode, F., Janssen, E., & Berben, G. (2021). Identification key for selection of the matrix type to which a sample belongs within the context of GMO analysis. *Accreditation and Quality Assurance*, 26(2), 107-112.
- Van den Eede, G., Bellocchi, G., Berben, G., Burns, M., Cankar, K., Giacomo, M., Gruden, K., Holst-Jensen, A., Malcewsky, A., Mazzara, M., Onori, R., Papazova, N., Parlouer, E., Taverniers, I., Trapmann, S., Wulff, D., Zhang, D. (2012). The Modular Approach in GMO Quality Control and Enforcement Support Systems. Book chapter in: *Genetically Modified and Non-Genetically Modified Food Supply Chains: Co-Existence and Traceability*, 293-306. DOI 10.1002/9781118373781.ch17
- Gruden, K., R. Allnutt, T., Ayadi, M., Baeumler, S., Bahrtdt, C., Berben, G., Berdal, K.G., Bertheau, Y., Bøydler Andersen, C., Brodmann, P., Buh Gašparič, M., J. Burns, M., Burrel, A.M., Cankar, K., Esteve, T., Holst-Jensen, A., Kristoffersen, P., Lee, D., Zel, J. (2012) Reliability and Cost of GMO Detection. Book chapter in: *Genetically Modified and Non-Genetically Modified Food Supply Chains: Co-Existence and Traceability*, p307-332. DOI 10.1002/9781118373781.ch18
- Janssen, E., Debode, F., Roberto, O., Ancion, C., Antoine, G., Arranz Rivera, E., Kayoka, M., Roulez, D., Berben, G. (2009). State of the art on sample preparation and assessing the validity of procedures deriving test portion from laboratory samples. Book of abstracts, abstract P9. Proceedings in: *CoExtra. International conference*, Paris, 2-5 juin 09, 108.
- Berben, G., Debode, F., Janssen, E. (2008). Analytical sample preparation Steps for GMO-analysis. In: *Platform for scientific concertation : Food safety : Towards a safer food supply in Europe?* (Van Peteghem, C., De Saegher, S., Daeseleire, E., eds.). Belgian Science Policy, Brussels. pp. 88-94.

PROPOSER DES ALTERNATIVES AUX TECHNIQUES CLASSIQUES POUR LA DETECTION DES OGM



Contexte

La PCR en temps réel est actuellement la technique de référence pour les analyses OGM. Cependant, vu la diversité croissante des constructions OGM, il est utile de disposer de techniques alternatives tant pour la détection, la caractérisation et la quantification des OGM.

Développement(s)

- Développement d'approches faisant appel aux microarrays.
- Multiplexage (plusieurs cibles d'intérêt sont testées en un seul test).
- Implémentation de la technique de PCR digitale qui permet de quantifier les OGM sans recourir à des courbes de calibration et qui ne requiert pas de disposer de toute une gamme de farines de référence à teneurs certifiées.
- Développement d'approches par pyroséquençage.
- Développement d'approches ayant recours au séquençage à haut débit.

Publication(s)

- Debode, F., Hulin, J., Charlotiaux, B., Coppieters W., Hanikenne, M., Karim, L., Berben, G. (2019). Detection and identification of transgenic events by next generation sequencing combined with enrichment technologies. *Scientific Reports*, 9(1), 1-9.
- Pecoraro, S., Berben, G., Burns, M., Corbisier, P., De Giacomo, M., De Loose, M., Dagand, E., Dobnik, D., Eriksson, R., Herau, V., Holst-Jensen, A., Kagkli, D.-M., Kreysa, J., Lievens, M., Mäde, D., Mazzara, M., Paternò, A., Peterseil, V., Savini, C., Sovová, T., Sowa, S., Spilsberg, B. (2019). Overview and recommendations for the application of digital PCR. ENGL WG on digital PCR. JRC Technical report JRC115736. DOI 10.2760/192883.
- Debode, F., Janssen, E., Bragard, C., Berben, G. (2017). Detection by real-time PCR and pyrosequencing of the *cry1Ab* and *cry1Ac* genes introduced in GM constructions. *Food Additives and Contaminants : Part A*. 34(8), 1398-1409.
- Dobnik, D., Demsar, T., Huber, I., Gerdes, L., Broeders, S., Roosens, N., Debode, F., Berben, G., Zel, J. (2017). Inter-laboratory analysis of selected genetically modified plant reference materials with digital PCR. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(1), 211-221.
- Pla, M., Nadal, A., Beaten, V., Bahrtdt, C., Berben, G., Bertheau, Y., Coll, A., van Dijk, J., Dobnik, D., Fernández Pierna, J., Gruden, K., Hamels, S., Holck, A., Holst-Jensen, A., Paz, J., Laval, V., Leimanis,

S., Malcevschi, A., Marmiroli, N., Wulff, D. (2012). New Multiplexing Tools for Reliable GMO Detection. Book chapter in: Genetically Modified and Non-Genetically Modified Food Supply Chains: Co-Existence and Traceability, 333-366 DOI 10.1002/9781118373781.ch19.

▪ Hamels, S., Glouden, T., Gillard, K., Debode, F., Foti, N., Sneyers, M., Esteve Nuez, T., Pla, M., Berben, G., Moens, W., Bertheau, Y., Audéon, C., Van den Eede, G., Remacle, J. (2009). A PCR-Microarray method for the Screening of Genetically Modified Organisms. *European Food Research and Technology Journal*, 228: 1438-2377.

▪ Debode, F., Gauthier, G., Marien, A., Berben, G., Remacle, J. (2003). Specific detection of plants by Real Time PCR and microarray technology. Proceedings in: Bioforum proceedings 2003, Liège - Belgique, 09/05/2003, Université de Liège, 85.

ETUDE DE FACTEURS POUVANT INFLUENCER LA PCR



Contexte

La PCR en temps réel est actuellement la technique de référence pour les analyses OGM. La qualité des résultats peut cependant être affectée par différents facteurs.

Développement(s)

- Etude de l'impact de différentes chimies et appareillages sur les résultats analytiques.
- Etude de l'influence des processus technologiques appliqués lors de la transformation des produits sur la qualité et la quantité d'ADN obtenus après extraction.

Publication(s)

- Debode, F., Marien, A., Janssen, É., Bragard, C., Berben, G. (2017). Influence of the amplicon length on real-time PCR results. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 21(1), 3-11.
- Broeders, S., Barbau-Piednoir, E., Vandermassen, E., Debode, F., Mazzara, M., Roosens, N. (2013). New SYBR® Green methods targeting promoter sequences used for screening of several GM events pending for authorisation in Europe. *European Food Research and Technology*, 236(3), 537-547.
- Debode, F., Janssen, E., Marien, A., Berben, G. (2012). DNA Detection by Conventional and Real-Time PCR After Extraction from Vegetable Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(7), 1249-1257.
- Allnutt, T. R., Ayadi, M., Berben, G., Brodmann, P., & Lee, D. (2010). Evaluation of different machines used to quantify genetic modification by real-time PCR. *Journal of AOAC International*, 93(4), 1243-1248.

RECHERCHER LA PRESENCE D'OGM DANS L'ENVIRONNEMENT



Contexte

Avant de légiférer sur la coexistence entre cultures de colza OGM et conventionnelles, le ministère de la Région wallonne avait chargé le CRA-W de mener un projet de collecte de colza en 2006 et 2007 afin de détecter la présence éventuelle de colza transgénique en Wallonie.

Développement(s)

- Un plan statistique d'échantillonnage a été établi afin de couvrir prioritairement les zones de culture de colza.
- En 2007 et 2008, ~2000 échantillons ont été collectés de manière aléatoire (bords de routes) et ciblées (anciens champs d'expérimentations).
- Deux OGM de colza ont été découverts dans l'environnement lors de cette collecte. Ces colzas OGM se sont maintenus sur un des sites l'année suivant leur découverte mais ont fini par disparaître par la suite.

Publication(s)

- Berben, G., Janssen, E., Debode, F. (2009) Rapport final sur l'étude relative à la détection des OGM de colza en Région wallonne (D32-dossier 2825).
- Janssen, E., Debode, F., Oger, R., Hanna, G., Lourme, C., Kayoka-Mukendi, N., Ancion, C., Antoine, G., Arranz, E., Roulez, D., Berben, G. (2008). Search for feral transgenic rapeseed in the environment of the Walloon Region. Proceedings in: 1st Global conference on GMO Analysis, Villa Erba - Como (Italy), 24-27 June, 99-100.

DETECTER LES ANIMAUX TRANSGENIQUES



Contexte

Les modifications transgéniques ne concernent plus seulement les plantes mais aussi les animaux. Les premiers animaux transgéniques disponibles commercialement sont des poissons.

Développement(s)

- Développement de méthodes pour la détection du saumon transgénique AquAdvantage produit au Canada et aux USA. Ce saumon est l'animal à finalité alimentaire le plus avancé du point de vue de sa commercialisation. Ce saumon n'est pas autorisé dans l'Union européenne.
- Développement de méthodes pour l'identification des poissons d'aquarium fluorescents. Ces méthodes ont permis de déclarer OGM deux lots de poissons transgéniques suspects au niveau du service des douanes de l'aéroport de Zaventem (2015) et d'en détecter d'autres au Danemark (2017) et en Lettonie (2021).

Publication(s)

- Debode, F., Marien, A., Ledoux, Q., Janssen, E., Ancion, C., Berben, G. (2020). Detection of ornamental transgenic fish by real-time PCR and fluorescence microscopy. *Transgenic Research*, 29, 283-294.
- Debode, F., Janssen, E., Marien, A., Devlin, R. H., Lieske, K., Mankertz, J., Berben, G. (2018). Detection of transgenic atlantic and coho salmon by real-time PCR. *Food analytical methods*, 11(9), 2396-2406.

DETECTER LES MICROORGANISMES GENETIQUEMENT MODIFIES



Contexte

Des champignons et bactéries sont modifiés génétiquement afin de produire des composés d'intérêt pouvant être utilisés en alimentation humaine ou animale. Ces composés (exemple : vitamines) peuvent être insuffisamment purifiés et la présence de microorganismes viables détectée.

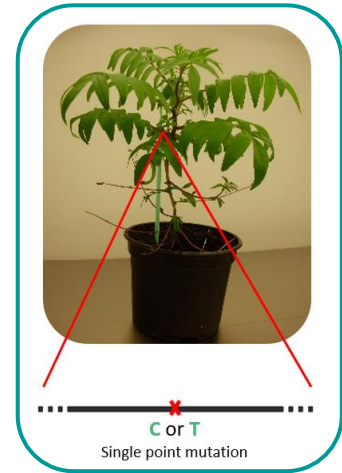
Développement(s)

- Recherche de séquences spécifiques aux organismes producteurs (exemple *Bacillus subtilis*).
- Recherche de marqueurs de screening adaptés aux microorganismes OGM.

Publication(s)

En cours de développement.

DETECTER LES ORGANISMES MODIFIES PAR LES NOUVELLES TECHNIQUES D'EDITION DU GENOME



Contexte

Les nouvelles techniques d'édition du génome permettent de modifier précisément un endroit du génome. Depuis la décision de la cour de Justice de l'Union Européenne du 25 juillet 2018, les organismes modifiés par les nouvelles techniques d'édition du génome (*genome editing* en anglais) sont considérés comme des OGM. Comme les modifications ne peuvent porter que sur un seul ou quelques nucléotides, la détection n'est pas aisée et peut être difficile à distinguer de variations naturelles du génome. Des solutions doivent cependant être trouvées.

Développement(s)

En cours, dans le cadre du projet GenEdit financé par le SPF Santé Publique, Sécurité de la Chaîne alimentaire et Environnement (projet RF 20/6342, 2021-2023)

- Création d'une base de données des OGM produits par les « New Genomic Techniques »
- Evaluation et développement de stratégies de détection par des techniques génomiques, protéomiques et métabolomiques

Publication(s)

- Debode, F., Roosens, N., Van Poucke, C., Muhovski, Y., Fraiture, M.-A. Van Laere, K., Hulin, J., Papazova, N., Becue, I., Vanneste, K., D'aes, J., Rousseau, J., De Keersmaecker, S., Dubois, B., Janssen, E., Berben, G., De Loose, M. (2022). GenEdit : a project to develop and evaluate approaches for detection of organisms modified by new genome editing techniques. *Foreseen in Labinfo N° 21 of 2022. Edited by FASFC.*

UTILISER LES NOUVELLES TECHNIQUES D'ÉDITION DU GÉNOME ET ÉVALUER LEURS EFFETS



Contexte

Les cultures *in vitro* permettent de régénérer des végétaux à partir de cellules isolées ou de protoplastes (cellules dépourvues de parois). En approfondissant ses connaissances de la totipotence cellulaire, le CRA-W s'est intéressé à l'émergence et à l'évolution des techniques de modification du génome afin d'étudier la fonctionnalité des gènes et leur potentiel en amélioration des plantes.

Le CRA-W doit également acquérir la maîtrise de ces technologies afin de pouvoir en évaluer les effets.

Développement(s)

- Dès le début des années 1990, les techniques de transgénèse via *Agrobacterium* et la biolistique ont été utilisées pour modifier des arbres fruitiers ou certaines cellules de blé.
- En 2013, la cisgénèse a été employée chez la pomme de terre pour tenter de renforcer la résistance génétique au mildiou.
- En 2021, l'intérêt se porte sur les nouvelles techniques d'édition du génome et la création de modèles permettant d'évaluer de nouvelles techniques de détection par des approches génomiques et protéomiques.

Publication(s)

- Sofkova-Bobcheva, S., Pantchev, I., Kiryakov, I., Chavdarov, P., Muhovski, Y., Sarsu, F., & Tomlekova, N. (2021). Chapter 18: Induced Mutagenesis for Improvement of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Production in Bulgaria. Book chapter in *Mutation breeding, genetic diversity and crop adaptation to climate change* (eds S. Sivasankar et al.). DOI: [10.1079/9781789249095.0018](https://doi.org/10.1079/9781789249095.0018)

LABORATOIRE NATIONAL DE REFERENCE



Contexte

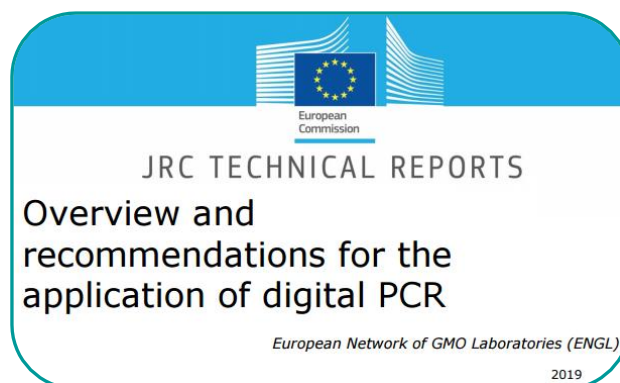
Le Laboratoire National de Référence belge pour la détection des OGM (LNR-OGM) a été créé dans le cadre de la réglementation européenne (EC) 1829/2003. Il a pour but d'assister le laboratoire européen de référence (EURL-GMFF) dans ses différentes tâches, d'apporter des solutions techniques aux problèmes rencontrés et d'implémenter les nouvelles méthodes de détection. Le LNR-OGM belge est un consortium de trois laboratoires : Sciensano (Bruxelles), l'ILVO (Merelbeke) et le CRA-W (Gembloux).

Missions

- Veille scientifique des nouvelles techniques et méthodes, maintien des compétences.
- Participation chaque année à des tests d'aptitude inter-laboratoires.
- Participation aux études de validation des méthodes (organisées par l'EURL-GMFF). Le CRA-W a contribué à ce jour à la validation de plus de trente méthodes en tant que LNR et membre de l'ENGL.
- Réalisation d'analyses accréditées pour l'AFSCA.
- Organisation de workshops et conférences.
- Réponses aux questions techniques et scientifiques de l'AFSCA.
- Participation à des projets de recherche.

Publication(s)

- Rapports d'activités du LNR envoyés à l'AFSCA tous les 6 mois.



Contexte

L'*European Network of GMO Laboratories* (ENGL) joue un rôle de premier plan dans le développement, la validation, l'harmonisation et la standardisation de l'échantillonnage, de la détection, de l'identification et de la quantification des OGM. Il regroupe 95 laboratoires issus de 31 pays européens.

Activités

- Implication dans divers groupes de travail.
- Présentations de résultats aux meetings annuels.
- Organisation de conférences (23-25 mai 2018 un workshop portant sur les stratégies de screening des OGM a été organisé au CRA-W. Il a rassemblé 38 participants issus de 18 pays européens).

Publication(s)

- Gatto, F., Baillie, C.K., Broothaerts, W., Burns, M., Dagand, E., Debode, F., Dobnik, D., Grantiņa-leviņa, L., Grohmann, L., Lieske, K., Marchesi, U., Marien, A., Mazzara, M., Papazova, N., Savini, C., van der Berg, J.P., Verginelli, D., Zdeňková, K. (2022). Definition of minimum performance requirements for analytical methods of GMO testing – part 2. En cours de finalisation.
- Grohmann, L., Barbante, A., Corbisier, P., Hulin, J., Eriksson, R., Gatto, F., Georgieva, T., Huber, I., Koepfel, R., Marchesi, U., Marmin, L., Mazzara, M., Narendja, F., Owen, H., Perri, E., Scholtens, I., Sovová, T., Sowa, S., Štebih, D., Weidner, C., Zdeňková, K. (2021). ENGL Working Group on multiplex PCR Methods (WG-mpPCR). JRC Technical report. ENGL, JRC125188, EUR 30708, ISBN 978-92-76-37820-4
- Pecoraro, S., Berben, G., Burns, M., Corbisier, P., De Giacomo, M., De Loose, M., Dagand, E., Dobnik, D., Eriksson, R., Holst-Jensen, A., Kagkli, D. M., Kreysa, J., Lievens, A., Mäde, D., Mazzara, M., Paternò, A., Peterseil, V., Savini, C., Sovová, T., Sowa, S., Spilsberg, B. (2019). Overview and recommendations for the application of digital PCR. ENGL, JRC115736 EUR 29673, ISBN 978-92-76-00180-5
- Corbisier, P., Barbante, A., Berben, G., Broothaerts, W., De Loose, M., Emons, H., Georgieva, T., Lievens, A., Mazzara, M., Papazova, N., Perri, E., Sowa, S., Štebih, D., Terzi, V., Trapmann, S. (2017). Recommendation for the unit of measurement and the measuring system to report traceable and comparable results expressing GM content in accordance with EU legislation. JRC Technical report. JRC106032, ISBN 978-92-79-66971-2 |

- Ciabatti, I., Berben, G., Boniotti, B., De Loose, M., Garavelloni, S., Grohmann, L. Herau, V., Holst-Jensen, A., Hubert, P., Narendja, F., Onori, R., Ovesna, J., Papazova, N., Pecoraro, S., Roosens, N., Scholtens, I., Villa, D., Welling, A., Woll, K., Zel J. (2015). Detection, Interpretation and Reporting on the presence of authorised and unauthorised genetically modified materials. JRC Technical report, JRC106273.

- Berben, G., Charels, D., Demsar, T., Hochegger, R., Nardini, E., Onori, R., Schulze, M., Philipp, P., Weber, T. (2014) Guidelines for sample preparation procedures in GMO analysis. Technical Report EUR 27021 DOI 10.2788/337005.

- Mazzara, M., Paoletti, C., Corbisier, P., Grazioli, E., Larcher, S., Berben, G., ... & Hougs, L. (2013). Kernel lot distribution assessment (KeLDA): a comparative study of protein and DNA-based detection methods for GMO testing. *Food Analytical Methods*, 6(1), 210-220.

- Onori, R., Sustar-vozlic, J., Bellocchi, G., Berben, G., Blejec, A., Brera, C., Čergan, Z., Debeljak, M., Giacomo, M., De Vivo, M., Esteve, T., Janssen, E., Kozjak, P., Leprince, F., Macarthur, R., Malcevschi, A., Marmioli, N., Meglic, V., Melé, E., Vrščaj, B. (2012). GMO Sampling Strategies in Food and Feed Chains. In : Genetically Modified and Non-Genetically Modified Food Supply Chains: Co-Existence and Traceability.

IMPURETES BOTANIQUES



Contexte

Le terme “impureté botanique” est utilisé pour décrire la présence accidentelle d’une espèce végétale dans un produit ou sous-produit destiné à l’alimentation animale et qui n’est pas listée dans les ingrédients ni mentionnée sur les étiquettes. Cette contamination peut survenir lors de la récolte, des aires de dépôts ou de la transformation. Cela peut poser des problèmes si par exemple, une faible proportion de grains de soja OGM non autorisé se retrouve dans un lot de grains de maïs. La proportion de l’impureté botanique dans les produits bruts doit pouvoir être évaluée de manière à établir des conclusions claires en lien avec les règles d’étiquetage.

Développement(s)

Description du concept d’impuretés botaniques dans le cadre de la détection des OGM et proposition d’une démarche analytique visant à déterminer si l’on est, ou pas, en présence d’un cas d’impureté botanique.

Publication(s)

- Berben, G., Debode, F., Janssen, E., Bertheau, Y. (2009). The problem of when to label in presence of low amounts of transgenic material: the case of botanical impurities. Proceedings in: CoExtra. International conference, Paris, 2-5 juin 2009, 97-98.
- Berben, G., Debode, F., Janssen, E. (2009). The problem of botanical impurities and GMO detection. Co-Extra (project 007158). Deliverable D4.11, 51 p.
- Berben, G., Debode, F., Janssen, E. (2008) Needs with respect to the problem of botanical impurities and GMO detection. 1st Global conference on GMO analysis. Proceedings in: 1st Global conference on GMO analysis, Villa Erba - Como (Italy), 24-27 June.

VISION PROSPECTIVE



Contexte

La détection des OGM requiert une vision prospective des besoins et tendances afin d'assurer une détection efficace des OGM dans un contexte en constante évolution.

Développement(s)

- Veille scientifique au niveau des technologies émergentes.
- Définition des besoins futurs pour assurer la détection d'un nombre croissant de constructions transgéniques.
- Recherche de solutions pour appréhender la détection d'OGM issus des « New Genomic Techniques » (OGM pouvant ne présenter que de très faibles différences au niveau du génome par rapport à leur équivalent non transgénique).

Publication(s)

- Berben, G., Debode, F., De Loose, M., Janssen, E., Papazova, E., Sneyers, M., Taverniers, I., Leunda, A., De Schrijver, A., Van den Bulcke, M. (2008). Challenges for future research in GMO detection. In : Platform for scientific concertation : Food safety. Towards a safer food supply in Europe (Van Peteghem, C., De Saegher, S., Daeseleire, E., eds.). Belgian Science Policy, Brussels. pp. 103-112.
- De Loose, M., Debode, F., Roosens, N., Fraiture, M.A., Herman, P. (2017). How Can We Better Detect Unauthorized GMOs in Food and Feed Chains? *Trends in Biotechnology*, 35: (6), 508-517.

CONTACTS

Les Unités du CRA-W impliquées

Unité Qualité et Authentification des Produits (U12)
Département Connaissance et Valorisation des Produits
Chaussée de Namur, 24
5030 Gembloux

Unité de Génie biologique (U1)
Département des Sciences du vivant
Chaussée de Charleroi, 234
5030 Gembloux

Contact activités de recherche : Frédéric Debode (f.debode@cra.wallonie.be)

Service d'analyse des OGM : Eric Janssen (e.janssen@cra.wallonie.be)

Les personnes impliquées



Frédéric Debode,
Directeur a.i. de l'Unité de
Génie biologique



Eric Janssen,
Responsable des analyses OGM



Gilbert Berben,
Chef du département Connaissance et
valorisation des produits



Vincent Baeten
Directeur de l'Unité Qualité
et authentification des
produits



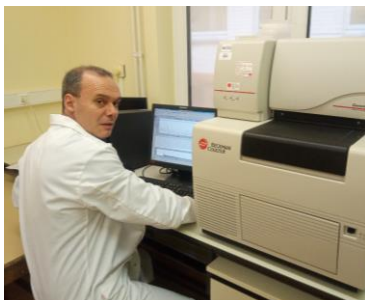
Denis Roulez
Equipe technique-
Analyses OGM



Olivier Fumière
Responsable du
laboratoire de biologie
moléculaire de l'U12



Cécile Ancion
Equipe technique-
Analyses OGM



Yordan Muhovski
Edition de génomes



Aline Marien
PCR Digitale



Céline Aerts
Equipe technique



Julien Maljean
Equipe technique



Julie Hulin
Bioinformatique



Benjamin Dubois
Bioinformatique



Martine Delcorps
Equipe technique