

Traçabilité dans la filière animale

Daniel Portetelle ⁽¹⁾, Valérie Haezebroeck ⁽¹⁾, Frédéric Mortiaux ⁽²⁾, Robert Renaville ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Unité de Biologie animale et microbienne. Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux. Passage des Déportés, 2. B–5030 Gembloux (Belgique). E-mail : portetelle.d@fsagx.ac.be.

⁽²⁾ Service régional de Santé animale – SeRéSa ASBL. Drève du Prophète, 2. B–7000 Mons (Belgique).

Reçu le 24 août 2000, accepté le 4 septembre 2000.

Les techniques récentes de génétique moléculaire permettent de visualiser certains traits du patrimoine héréditaire des individus et offrent des perspectives d'identification et de traçabilité des individus et de leurs produits sous forme d'« empreintes génétiques » (« DNA fingerprinting »). Une méthode basée sur l'analyse de l'ADN microsatellite permet d'obtenir une empreinte génétique fournissant une information quasi infaillible quant à l'identité et la parenté des individus. Cette information peut être obtenue à partir de très peu de matériel biologique. Cette méthode s'avère être à l'heure actuelle une méthode fiable, pratique, de coût raisonnable pour identifier, certifier et authentifier l'origine des produits alimentaires, transformés ou non. La mise en place d'une méthode de traçabilité moléculaire, en particulier dans la filière bovine, nécessite dans une première étape, la réalisation d'une banque de référence au sein de laquelle les échantillons pourront être conservés pendant de nombreuses années : l'instauration d'une « pilothèque » en relation avec le système de contrôle SANITEL semble être la voie adéquate pour rencontrer les impératifs économiques et sociétaux de la filière. Le système mis en place constitue un complément indispensable à la validation complète du système SANITEL et à l'étiquetage des viandes qui se met actuellement en place.

Mots-clés. Filière animale, traçabilité, identification, certification, producteur, consommateur.

Meat channel traceability. The development of new emerging molecular genetic methods allows to determine characteristic patterns of any individual and opens the way to the identification and traceability of individuals and their products by the « DNA fingerprinting » procedure. Microsatellite DNA sequences analysis gives very effective information for the individual discrimination and paternity testing. This information can be obtained with traces of biological sample. DNA fingerprinting with microsatellite analysis is now a reliable, practical and cheap method for identification, certification and authentication of transformed and untransformed meat products. The first step in the molecular traceability in the bovine sector requires a hair data bank where the samples can be conserved for many years. This is obtained with the « pilothèque project » in relation with the SANITEL control system and seems to be the best way to complete the identification of bovine animals at the production stage. With the new labelling system of bovine meat, DNA fingerprinting associated to SANITEL system will become an objective control criterion at the marketing stage.

Keywords. Meat channel, traceability, identification, certification, producer, consumer.

1. INTRODUCTION

1.1. Identification et traçabilité

La traçabilité, néologisme emprunté à la langue anglaise, est l'aptitude à retrouver l'historique, l'utilisation ou la localisation d'un produit au moyen d'identifications enregistrées. Cette définition, retenue par la norme internationale ISO 8402, s'applique à tout type de produit, c'est-à-dire à tout résultat d'activité ou de processus.

Ainsi, identification et traçabilité sont étroitement associées et constituent deux maîtres-mots du contrôle des maladies et de la qualité des produits dans la filière animale.

1.2. Méthodes d'identification des animaux

Suivant l'évolution des techniques et l'efficacité de celles-ci, l'homme a trouvé mille et une façons pour identifier un animal lui appartenant ou bien tout simplement pour en établir le signalement :

- des documents : carte silhouette avec couleur et/ou disposition des taches sur la robe, passeport, photo, digitalisation, code à barres ;
- des marques apposées sur l'animal : boucles auriculaires métalliques et plastiques (code à barres), bagues des pigeons, marquage aux ciseaux, crayon ou spray coloré des robes sur les marchés ou des toisons de moutons montant en alpage ;

- des marques imprimées sur la peau de l'animal : diverses formes de tatouage, marquage au fer rouge, à l'azote liquide ;
- marquage électronique : transpondeur disposé sous forme d'implant par voie sous-cutanée ou sous forme de bolus dans le rumen par ingestion ;
- marquage phénotypique : groupes sanguins (enzymes et protéines du sang) ;
- plus récemment, marquage génotypique : empreintes génétiques.

La qualité première de l'identifiant d'un animal est d'être univoque et de permettre de reconnaître un individu au sein de la population de l'espèce visée. Cette identification devrait être pérenne, inviolable, fiable, infalsifiable, pratique, économique et ne doit pas engendrer de stress chez l'animal. Seuls les deux derniers types de marqueurs permettent d'établir une relation infalsifiable avec le patrimoine génétique des individus.

De plus, les marqueurs utilisés devraient permettre de faire le lien entre l'animal et ses produits, même transformés.

1.3. Vers le système SANITEL

La nécessité d'identifier les bovins fut évidente pour la première fois, il y a près de cinquante ans, lorsque fut mise en place la lutte contre la tuberculose très fréquente chez les bovins et transmissible à l'homme.

Au fil du temps, plusieurs lois et arrêtés royaux ou ministériels ont précisé les mesures d'application relatives à la mise en place d'un système d'identification et d'enregistrement des bovins.

C'est pour répondre à ces objectifs d'épidémiologie-surveillance que les démarches ont été entamées en Belgique, en 1986, pour développer et mettre en place le système SANITEL bovin, pour lequel les Fédérations de Lutte contre les Maladies des Animaux ont la mission d'identification (de guidance) et de prévention des maladies du bétail. Le système SANITEL d'identification et d'enregistrement des bovins est complètement opérationnel depuis 1995. Il est basé d'une part sur une identification permanente de tous les bovins par un double marquage auriculaire et l'établissement d'un document "passeport" permettant de suivre l'animal tout au long de sa vie et d'autre part sur la tenue d'un fichier électronique national ; le système assure ainsi une gestion administrative des troupeaux et des mouvements des animaux.

Initialement développé dans un but d'épidémiologie-surveillance des maladies animales enzootiques (brucellose, leucose) ou épizootiques (fièvre aphteuse) ainsi que pour protéger les humains contre les zoonoses (tuberculose, etc.), le système SANITEL permet également de valoriser son efficacité dans d'autres do-

maines d'application ou pour d'autres espèces animales, notamment :

- auto-contrôle de l'éleveur en ce qui concerne la gestion administrative de son troupeau ;
- gestion du statut R et H dans le cadre de la lutte contre les résidus antibiotiques et hormonaux ;
- contrôle des régimes d'aides pour l'abattage précoce des bovins, l'attribution d'une prime aux bovins mâles et aux vaches allaitantes ;
- utilisation par d'autres services, comme les filières de production sous label, voulant offrir leurs propres garanties de qualité.

Le SANITEL porcin est devenu opérationnel en 1996 et comporte l'identification individuelle des porcs par des marques auriculaires de troupeau et un suivi des mouvements par lots grâce à l'enregistrement des documents de transport. Le SANITEL ovin a démarré à la fin 1996 et le SANITEL volailles se met en place actuellement.

1.4. Limites et perspectives du système SANITEL

Malheureusement, les enjeux financiers du commerce des animaux et de la viande sont tels qu'apparaissent des fraudes ayant des objectifs divers tels que :

1. maximiser le montant des primes octroyées en fonction du sexe, de l'âge, de l'utilisation des animaux ;
2. rendre un statut adéquat pour commercialiser des animaux qui ne seraient pas commercialisables ;
3. transférer des responsabilités en matière de dépistage de substances interdites ou nocives ;
4. falsifier *post-mortem* l'origine du produit pour des raisons commerciales (cas des différents labels) ;
5. falsifier *post-mortem* l'origine du produit pour des raisons sanitaires (embargo sur la viande bovine anglaise).

Les moyens de fraude actuellement constatés ou suspectés portent essentiellement sur le changement des boucles auriculaires des animaux, sur le marquage auriculaire d'animaux n'appartenant pas à l'exploitation identifiée par les boucles auriculaires, sur des copies falsifiées des documents d'identification.

Il apparaît aussi que les boucles auriculaires plastiques ne présentent pas les caractères permanents indispensables et infaillibles. En effet, la perte accidentelle des boucles, la négligence lors de leur application affectent directement la crédibilité du système SANITEL.

D'autre part, suite à la déstabilisation du marché de la viande bovine en Europe par la crise de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB), il s'est avéré indispensable de renforcer la traçabilité des animaux et de leurs produits, et d'améliorer la transparence des conditions de production et de commercialisation.

Cette constatation s'est encore renforcée après les déboires encourus en Belgique dans le secteur de la viande lors de la crise de la dioxine.

Après la crise de l'ESB, il s'était avéré essentiel d'établir un système communautaire plus efficace d'identification et d'enregistrement des bovins au stade de la production et de créer un système d'étiquetage communautaire spécifique dans le secteur de la viande bovine.

La Commission Européenne a pris dès lors une initiative en lançant le projet pilote IDEA. Celui-ci vise, au moyen de puces électroniques (bolus ruminal ou implant), l'identification et le suivi de l'animal à travers tout le territoire européen et au niveau des différents maillons de la chaîne de production et de transformation.

Un nouveau règlement 820/97 du Conseil du 21 avril 1997 a également pour but de renforcer les dispositions en matière d'identification et d'enregistrement des bovins. Dans son article 19, il prévoit explicitement un système d'étiquetage obligatoire de la viande bovine et des produits à base de viande bovine dans tous les États membres à partir du 1-1-2000.

Vu l'urgence motivée par la crise dans le secteur de l'alimentation, en particulier de la viande, et par le fait que l'indication de l'origine de la viande bovine et des produits à base de viande bovine offerts aux consommateurs doit contribuer à ce que l'acheteur puisse acquérir les produits en toute sécurité, la Belgique a inscrit dans sa législation (Arrêté Royal du 9-6-1999 publié le 12-6-1999) l'obligation et les modalités d'étiquetage de la viande provenant de bovins, y compris ceux des espèces *Bubalus bubalis* et *Bison bison*, nés, élevés, engraisés et abattus sur le territoire belge. Cet étiquetage comporte l'application d'une étiquette sur un ou des morceaux de viande ou sur leur emballage, y compris la fourniture d'informations au consommateur sur le lieu de vente. L'étiquette apposée par l'abattoir comprend entre autres le numéro officiel du bovin mentionné sur sa marque auriculaire.

Toutes les méthodes de traçabilité, que l'on pourrait qualifier d'administratives, évoquées ci-avant donnent ou donneront de bons résultats à condition d'éliminer les facteurs "fraudes" et "négligences". Très efficace, l'identification du système SANITEL repose donc sur un identifiant (les boucles) ajouté à un animal, mais dont le caractère permanent indispensable n'est pas garanti. Il manque un lien indubitable, entre l'animal physique (ou plutôt biologique) et son enregistrement administratif, qui permette de ré-identifier les animaux ayant perdu leurs boucles et de maîtriser les négligences ainsi que les fraudes. D'autre part, lorsque l'animal est abattu et la carcasse débitée, l'apposition d'étiquettes assurant la continuité *post-mortem* de l'identification des animaux par SANITEL présente les mêmes inconvénients : rien ne garantit le lien entre l'étiquette et la pièce de viande sur laquelle elle a été apposée (la

réhabilitation d'une viande est ainsi rendue possible) et ce malgré toutes les dispositions de l'A.R. du 9-6-1999 relatif à l'étiquetage de la viande bovine et des produits à base de viande bovine. Il faut craindre ici qu'il soit aussi facile, si pas plus, d'apposer de fausses étiquettes que de falsifier des boucles !

Un problème latent d'identification subsiste donc, et c'est l'entière de la filière qui supporte les conséquences de l'absence d'une relation infalsifiable et pérenne entre le système d'identification administratif et l'animal identifié par ses boucles ou la pièce de viande identifiée par l'étiquette.

1.5. De l'identité administrative à l'identité biologique

Jusqu'à présent, l'identification biologique des individus était basée sur des caractères non visibles provenant de l'expression de gènes identifiables (typage des groupes sanguins, analyse du profil électrophorétique de certaines protéines ou enzymes) et dont la transmission au cours des générations peut être facilement analysée. Néanmoins, ces marqueurs phénotypiques sont souvent peu polymorphes et, dans les populations dont le taux de consanguinité est plus ou moins élevé, ils peuvent se montrer inadéquats pour les tests d'identité ou de parenté. Par ailleurs, ils ne peuvent être mis en évidence qu'à partir de tissus dans lesquels ils sont exprimés, et généralement à partir d'échantillons fraîchement récoltés.

En raison de la dégénérescence du code génétique (à un acide aminé correspondent plusieurs codons), le polymorphisme présent au niveau de l'ADN constituant les gènes est toujours plus élevé que celui observable au niveau du produit des gènes (les protéines). C'est pourquoi on a cherché à disposer de techniques permettant de mettre en évidence les polymorphismes directement au niveau de l'ADN. Cet ADN, source des marqueurs génotypiques, constitue donc le meilleur matériel d'étude pour différencier les êtres vivants.

Pour un individu donné, l'ADN est identique d'une cellule à l'autre (à l'exception des cas de chimérisme) mais unique au monde (excepté dans le cas de gemellité vraie ou de clones).

Comme c'est lui qui, pour moitié de chacun des parents, est transmis d'une génération à l'autre, il constitue également le meilleur matériel pour étudier les relations de parenté.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Méthodes de détection des variations de l'ADN

L'ADN peut provenir d'un quelconque échantillon biologique contenant des cellules nucléées. L'ADN de haut poids moléculaire est généralement obtenu à

partir d'échantillons frais ou bien conservés (congelés rapidement), et est nécessaire aux analyses mettant en jeu l'hybridation de sondes oligonucléotidiques, alors que l'ADN souvent dégradé provenant d'échantillons mal conservés peut toujours être analysé très efficacement par des méthodes mettant en jeu une réaction enzymatique *in vitro* d'amplification de séquences ciblées de l'ADN : la réaction PCR ou "Polymerase Chain Reaction". Une approche monolocus (analyse de séquences ciblées connues) de la diversité génétique (polymorphisme) possède sur les approches multilocus (analyse de séquences ciblées réparties tout au long du génome, à l'aide par exemple de techniques appelées VNTRs (Jeffreys *et al.*, 1985), AFLP (Vos *et al.*, 1995), RAPDs (Cushwa *et al.*, 1996), SSR-Anchored PCR (Zietkiewicz *et al.*, 1994), SINE-PCR (Miller, Archibald, 1993), les avantages de la facilité d'interprétation et de la reproductibilité accrue. Une autre possibilité, lourde et fastidieuse, d'étude des polymorphismes, est le séquençage de fragments d'ADN choisis.

2.2. Méthodes basées sur des séquences répétées d'ADN

Il existe plusieurs approches techniques d'établissement d'une empreinte génétique (Krawczak, Schmidtke, 1998) (**Tableau 1**). Elles se basent entre autres sur l'analyse des nombreuses séquences répétées ou loci hypervariables présents dans le génome, que sont les minisatellites et les microsatellites. Ceux-ci consistent en de courtes séquences répétées en tandem un nombre très variable de fois (une à plusieurs centaines). Le nombre de répétitions aux différents loci de chromosomes homologues varie entre individus non jumeaux univitellins. Dès lors, le nombre de répétitions de chaque courte séquence à un locus déterminé représente pour chaque individu un motif génétique qui lui est propre.

2.3. Empreintes génétiques à l'aide de microsatellites

À l'heure actuelle, on dispose pour la plupart des espèces animales domestiques d'informations de plus en plus complètes sur les microsatellites ("simple sequence repeats" ou SSR), quant à leur composition (souvent la répétition des dinucléotides (dCdA)*n*/(dGdT)*n*), leur disposition tout au long du génome, leur nombre (une estimation de 100.000 est avancée pour le génome humain), et quant aux séquences qui leur sont adjacentes dans le génome, à l'endroit de leur insertion dans celui-ci. Ces séquences adjacentes aux répétitions en tandem peuvent être utilisées pour synthétiser des oligonucléotides qui leur sont complémentaires et qui serviront d'amorce pour l'amplification du microsatellite choisi par la technique PCR.

Tableau 1. Propriétés de marqueurs basés sur l'ADN (adapté de Dodgson *et al.*, 1997) — *Characteristics of DNA markers.*

Paramètres	Clone/sequence-based (CSB) markers ⁽¹⁾		Fingerprint ⁽²⁾ markers
	RFLP	Microsatellites	
Distribution dans le génome	ubiquiste	ubiquiste	hétérochromatine
PIC ⁽³⁾	faible	élevé	élevé
Type de locus (4)	I et II	II > I	II
Héritabilité	codominant	codominant	dominante ⁽⁵⁾
Nombre d'allèles	2	2–10	2
Fiabilité	importante	importante	importante
Rapidité de l'essai	lent	rapide	lent
Investissement initial	modéré	important	faible à modéré
Lecture des résultats	aisée	aisée	complexe

(1) L'isolement d'un fragment d'ADN et souvent son séquençage sont nécessaires. On y retrouve les RFLPs ("Restriction Length Polymorphism") et les SSRs ("Simple Sequence Repeats" ou microsatellites).

(2) Ces marqueurs n'exigent pas a priori la connaissance de la séquence de la région polymorphique et ne ciblent pas une région particulière du génome fixée à l'avance. On y retrouve les VNTRs ("Variable Number of Tandem Repeats" ou minisatellites), RAPD, AFLP.

(3) Le PIC ("Polymorphism Information Content") est donné pour un simple locus de la classe de marqueur indiquée.

(4) Dans la nomenclature adoptée par O'Brien (1991) pour classer les marqueurs génétiques, le Type I tient compte de l'association du marqueur avec un gène de fonction connue, le Type II avec un gène anonyme.

(5) Dans le cas de sondes multilocus.

Dès son arrivée au laboratoire, l'ADN de l'échantillon à expertiser et de l'échantillon de référence (si cela n'a pas déjà été réalisé) est extrait par des techniques éprouvées. Les microsatellites recherchés sont amplifiés par la technique d'amplification PCR avant d'être séparés en fonction de leur taille par une technique électrophorétique. La longueur de ces microsatellites est spécifique à chaque individu et l'ensemble des microsatellites analysés (6 à 10 ou plus) permettent alors d'établir un profil unique, une empreinte génétique, pour chaque individu (Vos *et al.*, 1995).

3. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Efficience de la méthode

La méthode est robuste et souple d'adaptation à différents types d'échantillons malgré les traitements

subis (viande ; poils ; graisse ; plumes ; urine ; lait ; salive ; viandes en mélange ; produits congelés, cuits, lyophilisés, séchés, fumés, saumurisés ou appertisés, etc.) (Portetelle *et al.*, 1998) ; elle permet d'assurer la traçabilité moléculaire des animaux et de leurs produits tout au long d'une filière de production (Figure 1).

Utilisé pour l'identification des animaux et de leurs produits, le système est particulièrement fiable : la puissance de la technique est telle que pour 10 microsatellites utilisés, la probabilité de rencontrer deux individus ayant une empreinte identique est de 1 sur 10 milliards (Peelman *et al.*, 1998 ; Portetelle *et al.*, 1998) (Tableau 2).

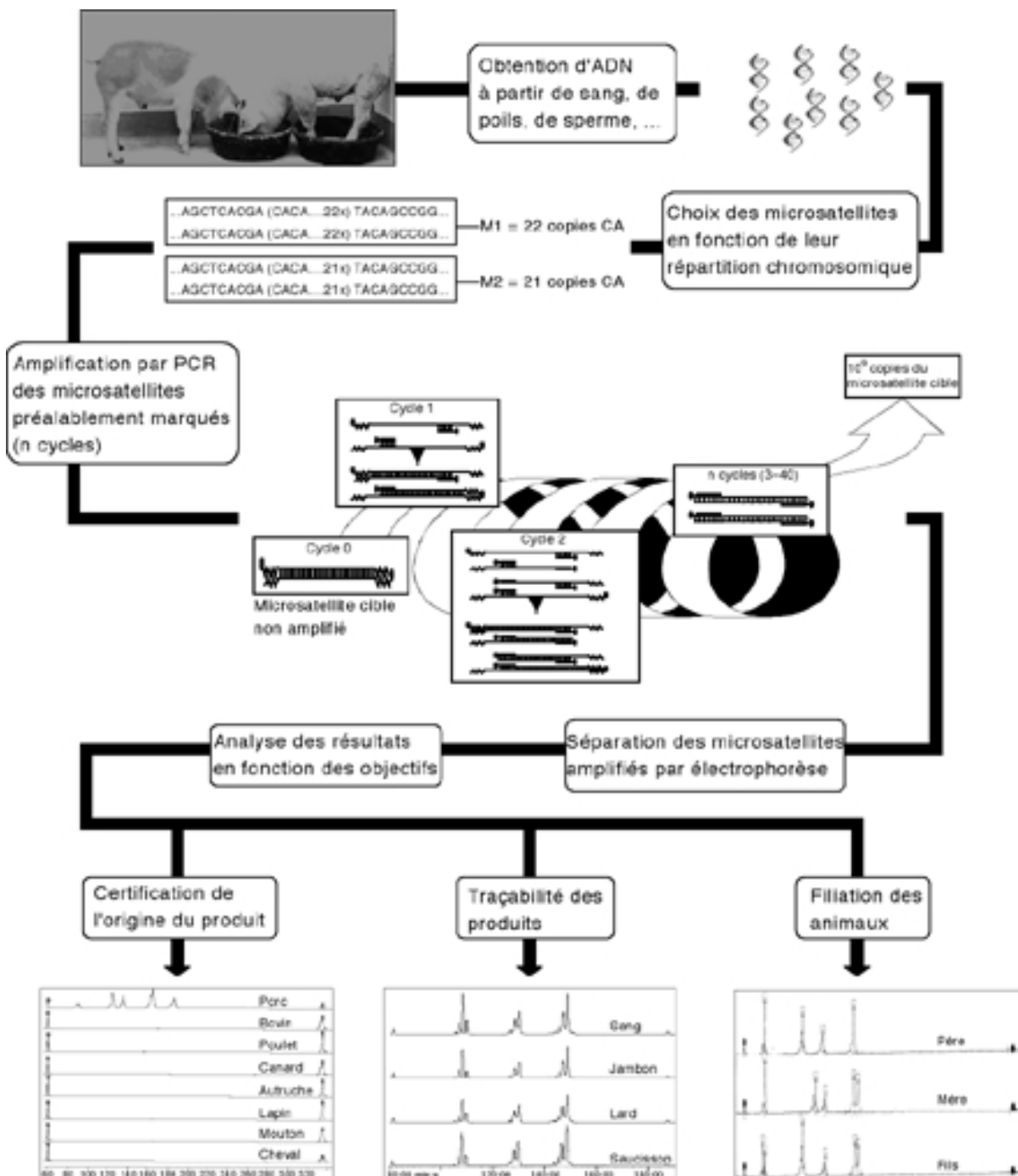


Figure 1. Exemple dans la filière porcine des possibilités offertes par la technique des empreintes génétiques en termes de certification, de traçabilité et de filiation — *Use of the fingerprinting method in the porcine meat channel for certification, traceability and parentage control.*

Tableau 2. Probabilité d'avoir des empreintes identiques dans 4 races bovines belges (adapté de Peelman *et al.*, 1998) — *Probability of finding two identical fingerprints in four bovine Belgian breeds.*

Marqueur	Seule	Cumulée
AGLA57	0,1232	0,1232
TGLA73	0,2075	0,0256
TGLA227	0,0518	0,0013
TGLA126	0,1606	0,0002
11 ^e	0,3285	1,386 E ⁻¹⁰

3.2. De l'identification biologique à la pilothèque

L'obtention de l'empreinte génétique fait appel à la technique PCR qui possède, outre les avantages déjà cités, la faculté d'être partiellement automatisable (réduction du coût de l'analyse, élimination du facteur humain dans la préparation des réactions) et de travailler sur de très faibles quantités de matériel biologique (van Oorschot, Jones, 1997). Ces avantages sont mis à profit au niveau de la prise d'échantillons.

Bien que le sang reste un matériel de choix pour étudier les animaux domestiques vivants (dans le sang des mammifères, seuls les globules blancs sont nucléés), des problèmes de chimérisme peuvent avoir lieu au niveau de ce tissu (Lemoine, 1998). Chez les bovins, cela peut avoir lieu en cas de gestation gémellaire dizygotique (faux jumeaux) et est dû à une invasion réciproque du système circulatoire des jumeaux par des cellules souches appartenant à l'autre. Aussi, quand cela est possible, des échantillons d'une autre nature, tels les poils ou les cellules somatiques présentes dans le lait, l'urine ou obtenues sur un frottis d'une muqueuse, seront préférés.

Les cellules situées à la base des poils (les follicules pileux) possèdent beaucoup d'avantages par rapport aux autres cellules lorsqu'on envisage un échantillonnage et un archivage systématique. En effet, du point de vue du prélèvement, l'arrachage d'une touffe de poils d'un veau et de sa mère est une opération simple, non invasive, ne provoquant aucune lésion. En ce qui concerne l'archivage, le prélèvement de poils est le plus apte à l'intégration dans l'organisation et l'infrastructure existant déjà pour la gestion du système SANITEL (Portetelle *et al.*, 1998).

En pratique, pour intégrer l'identification biologique d'un animal à son identification administrative, il suffit d'associer quelques-unes de ses cellules au document administratif, au moment du bouclage de l'animal. Ainsi est né un projet pilote visant à l'instauration d'une "pilothèque" reprenant des échantillons de poils du veau et de sa mère, en relation avec le système

SANITEL et d'autre part, l'installation de laboratoires d'analyse d'empreintes génétiques.

Il est également possible d'adapter la technique des empreintes génétiques à toutes les espèces animales, moyennant la connaissance préalable des séquences nucléiques adjacentes aux microsatellites étudiés (Bowling *et al.*, 1997 ; McHugh *et al.*, 1997 ; Wilson *et al.*, 1997).

La constitution de l'empreinte génétique d'un individu devient donc un moyen d'établir, dès sa naissance, sa carte d'identité. Cette empreinte génétique permet alors de rencontrer plusieurs impératifs actuels des différents acteurs économiques de la filière viande :

1. améliorer, contrôler et rendre infaillible le système d'identification actuel d'un individu, dès sa naissance ;
2. assurer l'authenticité des produits ;
3. permettre la traçabilité des produits tout au long des filières de production ;
4. permettre la traçabilité des individus tout au long d'un programme de sélection génétique ;
5. authentifier de façon infaillible les échantillons soumis à l'expertise vétérinaire en cas de contestation.

3.3. Domaines d'application

Secteur du contrôle des matières premières. Les crises récentes de la vache folle et de la dioxine ont démontré à suffisance l'importance des contrôles en amont de l'exploitation agricole, en particulier au niveau des matières premières entrant dans la composition des aliments du bétail.

La traçabilité des produits à l'aide des marqueurs microsatellites s'avère performante pour détecter sans faille l'origine animale des produits entrant dans la composition des aliments. Cette traçabilité moléculaire constitue une méthode alternative à la méthode microscopique actuellement en vigueur pour la détection de matériel animal dans les farines.

Secteur de l'expertise vétérinaire. Dans le cas des abattages d'urgence, soumis par l'Inspection vétérinaire à un dépistage des antibiotiques, l'empreinte génétique mettra fin à tout contentieux éventuel sur l'appartenance à la bête abattue, des organes testés en laboratoire.

Dans le cas d'expertise en matière de contrôles sanitaires, l'identité de l'origine d'un prélèvement (sang, urine, lait, etc.) peut facilement être vérifiée par la comparaison de l'empreinte de l'individu source et du prélèvement. En cas de litige, l'analyse d'identité ainsi effectuée constitue une garantie pour l'organisme de contrôle, mais également pour l'éleveur.

Secteur de la transformation. La traçabilité permet aux producteurs de l'agroalimentaire de prouver la conformité d'une denrée à certaines caractéristiques prédéfinies dans un cahier des charges ou un référentiel technique.

La traçabilité puise ainsi son fondement dans le code de la consommation où l'on précise que "tout opérateur doit pouvoir justifier les allégations figurant sur l'étiquetage afin d'éviter les tromperies, notamment sur l'origine géographique du produit" (Nicolet, 1998). Englobant des concepts de sécurité alimentaire, de transparence commerciale et technique, elle est actuellement devenue essentielle à l'obtention de signes de qualité reconnus (label, certification de produits). Associée à une démarche qualitative, elle peut devenir une source intéressante de valeur ajoutée (Lemoine, 1998).

Les acteurs de la filière viande, soucieux de leur image de marque (agrégation européenne), de la qualité et de la sécurité des produits qu'ils mettent sur le marché voient dans les empreintes génétiques un moyen infaillible d'atteindre les objectifs fixés :

1. garantir aux consommateurs finaux que l'étiquetage est parfaitement fiable ;
2. réaliser un auto-contrôle sur le fonctionnement du processus d'étiquetage et prendre les mesures correctives éventuelles ;
3. dans l'hypothèse d'un produit sous label, garantir la bonne réalisation du suivi administratif par l'organisme certificateur ;
4. appliquer la technique dans le cadre des initiatives visant la certification et la promotion des productions régionales et du terroir.

Secteur d'identification SANITEL. La méthode d'identification par empreinte génétique constitue un moyen infaillible pour détecter toute irrégularité de la part du responsable d'un animal, soit un dysfonctionnement dans la tenue de son registre soit, plus gravement, une tentative de fraude sur le statut sanitaire de son troupeau ou pour l'octroi de primes. Les empreintes génétiques peuvent également lever le doute sur les filiations annoncées (père et mère) au verso du volet de marquage sur la carte SANITEL.

En outre, l'Arrêté Ministériel du 22-4-1998 portant exécution de l'article 7§3 de l'A.R. du 8-8-1997, prévoit la suspension du statut sanitaire du troupeau et la destruction aux frais du responsable de tout bovin d'un troupeau ayant perdu ses deux marques auriculaires, à moins d'apporter la preuve de son identification, entre autres, par une empreinte génétique. Celle-ci devient donc, pour le responsable de l'animal, un recours crédible afin de prouver sa bonne foi, en faisant appel aux échantillons pileux archivés.

Secteur de la production. Outre les cas de contestations évoqués ci-avant dans les secteurs SANITEL et de l'expertise vétérinaire, plusieurs motivations incitent les éleveurs à pratiquer l'archivage des poils des veaux et des mères :

- l'archivage biologique fournit un certificat d'origine belge susceptible d'être mis à profit dans des stratégies commerciales adéquates ;
- un animal "archivé" au bouclage prémunit son responsable des conséquences qu'un changement d'identité ultérieur pourrait avoir sur son activité (animal sain déclaré brucellique, animal traité aux anabolisants, etc.) ;
- à l'abattage, la carcasse d'un animal pour une consommation privée pourra toujours être identifiée ;
- il sera toujours possible de disposer d'une référence du veau et de sa mère, ce qui facilite la reconstitution de pedigrees lorsque certains animaux auront disparu ;
- le contrôle des filiations par empreintes génétiques peut être réalisé sur des animaux âgés de moins de trois mois (Glowatzki-Mullis *et al.*, 1995).

Secteur de la sélection bovine. La supériorité de la méthode des empreintes génétiques et son application assureront efficacité et sécurité au secteur de la sélection bovine. Le contrôle des filiations deviendra infaillible et on évitera les limitations et les erreurs actuelles observées au niveau du typage des groupes sanguins. Au-delà du coût entraîné par un test inutile en station de sélection, une erreur de filiation ou d'étiquetage des paillettes de sperme peut également avoir de fâcheuses conséquences. Par ailleurs, l'éleveur désireux d'améliorer le potentiel génétique de son troupeau pourra vérifier facilement les filiations qui lui sont annoncées (**Tableau 3**).

Secteur de la consommation. Une technique infaillible, rapide et précise de traçabilité des bovins et des autres espèces couramment utilisées dans les préparations alimentaires est indispensable pour améliorer la protection de la santé publique ; le consommateur lui-même ou des associations de consommateurs pourront faire appel à ce genre de technique pour vérifier la conformité de l'étiquetage d'un produit :

- absence de viande interdite pour des motifs religieux (par ex. porc dans la volaille) ou médicaux (par ex. allergies),
- dépistage de fraudes (par ex. adjonction de viande de moindre prix dans des préparations spéciales).

Tableau 3. Probabilité d'exclusion de parenté (chance de détecter un faux parent (adapté de Peelman *et al.*, 1998) — *Exclusion probability in view of parentage control.*

Marqueurs cumulés	Probabilité d'exclusion (%)
AGLA293	71,81
TGLA48	91,46
TGLA263	96,89
TGLA73	98,85
.	.
11 ^e	99,98

4. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La puissance et la fiabilité des tests ADN basés sur les microsatellites doivent permettre de répondre dans les meilleurs délais aux interrogations des consommateurs, de responsabiliser les producteurs ou les transformateurs de la viande, et de réduire sensiblement le champ d'action possible des fraudeurs.

La généralisation de l'archivage d'échantillons biologiques dans la "pilotheque bovine" constituera un pas important dans la validation des systèmes "mécaniques" et "papier" accompagnant les animaux (boucles, cartes) et les produits en dérivant (étiquettes).

L'utilisation de microsatellites décrits dans des espèces animales autres que bovine (et même dans des espèces végétales) (Bowling *et al.*, 1997 ; McHugh *et al.*, 1997; Wilson *et al.*, 1997) permet de mettre en place des stratégies susceptibles de dépister toute fraude dans le commerce des viandes, et de garantir tant la certification que l'authentification de celles-ci.

Quoique déjà performante et rendant d'excellents services, la méthode des empreintes génétiques nécessite actuellement l'utilisation d'une technique d'électrophorèse en gel, relativement longue et assez coûteuse. L'avènement de l'électrophorèse multicapillaire en continu, de même que l'étude des variations de longueur (de taille) des microsatellites par spectrométrie de masse constituent deux voies prometteuses de l'utilisation à plus grande échelle de la technique des empreintes génétiques.

Remerciements

Les recherches mentionnées dans cet article ont bénéficié du soutien financier du Ministère fédéral des Classes moyennes et de l'Agriculture – DG6 (Recherche contractuelle), DG4 (Fonds des Matières Premières) et DG5 (Fonds de la Santé et de la Production des Animaux), du Ministère de la Santé Publique – Institut d'Expertise Vétérinaire – ainsi que du Ministère de l'Agriculture et de la Ruralité de la Région Wallonne pour le projet-pilote de la pilothèque.

Bibliographie

Bowling AT, Eggleston-Stoot ML., Byrns G., Clark RS., Dileanis S., Wictum E. (1997). Validation of microsatellite markers for routine horse parentage testing. *Anim. Genet.* **28**, p. 247–252.

Cushwa WT., Dodds KG., Crawford AM, Medrano JF. (1996). Identification and genetic mapping of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers to the sheep genome. *Mamm. Genome* **7**, p. 580–585.

Dodgson JB., Cheng HH., Okimoto R. (1997). DNA marker technology: a revolution in animal genetics. *Poult. Sci.* **76**, p. 1108–1114.

Glowatzki-Mullis ML., Gaillard C., Wigger G., Fries R. (1995). Microsatellite-based parentage control in cattle. *Anim. Genet.* **26**, p. 7–12.

Jeffreys AJ., Wilson V., Kelly R., Taylor BA., Bulfield G. (1985). Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. *Nature* **316**, p. 76–79.

Krawczak M., Schmidtke J. (1998). *DNA fingerprinting*. Oxford, UK: Bios Scientific Pub., 2^d ed., 113 p.

Lemoine D. (1998). Spécial traçabilité. *RIA* **580**, p. 32–44.

McHugh DE., Shriver MD., Loftus RT., Cunningham P., Bradley DG. (1997). Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics* **146**, p. 1071–1086.

Miller JR., Archibald AL. (1993). 5' and 3' SINE-PCR allows genotyping of pig families without cloning and sequencing steps. *Mamm. Genome* **4**, p. 243–246.

Nicolet V. (1998). Une loi pour "responsabiliser" les professionnels. *Fr. Agric.* **2728**, p. 30–32.

O'Brien SJ. (1991). Molecular genome mapping: lessons and prospects. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **1**, p. 105–111.

Peelman LJ., Mortiaux F., Van Zeveren A., Dansercoer A., Mommens G., Coopman F., Bouquet Y., Burny A., Renaville R., Portetelle D. (1998). Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle breeds. *Anim. Genet.* **29**, p. 161–167.

Portetelle D., Renaville R., Mortiaux F., Van Zeveren F., Bouquet Y., Peelman L. (1998). *Identification et traçabilité chez les bovins à l'aide d'empreintes génétiques*. Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, DG6 – Recherche contractuelle, Bruxelles, 51 p.

van Oorschot RA., Jones MK. (1997). DNA fingerprints from fingerprints. *Nature* **387**, p. 767.

Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Vandelee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peelman J., Kuiper M., Zabeau M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* **23**, p. 4407–4414.

Wilson GA., Strobeck C., Wu L., Coffin JW. (1997). Characterization of microsatellite loci in caribou *Rangifer tarandus*, and their use in other artiodactyls. *Mol. Ecol.* **6**, p. 697–699.

Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* **20** (2) p. 176–183.

(17 réf.)