

Maisons-Alfort, le 13 juin 2003

## AVIS

### de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande d'autorisation d'emploi d'une lipase d'*Aspergillus oryzae* contenant le gène hybride *Thermomyces lanuginosus* / *Fusarium oxysporum* codant pour la lipase dans l'industrie de l'huile, des graisses et de l'œuf

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

Par courrier reçu le 7 octobre 2002, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 4 octobre 2002 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une lipase d'*Aspergillus oryzae* contenant le gène hybride *Thermomyces lanuginosus* / *Fusarium oxysporum* codant pour la lipase dans l'industrie de l'huile, des graisses et de l'œuf.

Des compléments d'information préliminaires, demandés le 3 décembre 2002, ont été reçus le 24 janvier 2003. Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie » réuni le 17 avril 2003, l'Afssa rend l'avis suivant :

#### Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

Considérant que la lipase hydrolyse les liaisons esters des triglycérides, résultant en la formation de diglycérides, mono-glycérides et acides gras, et catalyse l'hydrolyse des liaisons esters sn-1 des diacyl-phospholipides pour former du 2-acyl-1-lysophospholipide et des acides gras ;

Considérant que cette utilisation permet :

- l'amélioration des propriétés émulsifiantes naturelles et de la thermostabilité du jaune d'œuf et/ou de l'œuf entier,
- l'hydrolyse enzymatique des lécithines végétales en lysolécithines pour améliorer leurs propriétés émulsifiantes,
- la démulcination des huiles végétales au cours du raffinage, ce qui permet d'éliminer les phospholipides de l'huile pendant l'étape de purification de manière à obtenir un goût et une qualité satisfaisants, assurer une meilleure stabilité pendant le stockage et faciliter le reste du procédé de fabrication ;

Considérant qu'aucune activité secondaire n'est présente dans la préparation enzymatique en quantité significative ;

#### Souche de production

##### Sécurité du micro-organisme producteur

Considérant qu'*Aspergillus oryzae* est une espèce largement répandue et naturellement présente comme contaminant dans la chaîne alimentaire ;

Considérant que les préparations enzymatiques obtenues à partir d'*Aspergillus oryzae* ou contenant *Aspergillus oryzae* ont été utilisées depuis des centaines d'années dans la fabrication de produits d'origine asiatique, et ont été largement utilisées en Occident comme auxiliaire technologique dans la fabrication d'un grand nombre d'aliments (sirops, jus de fruits, bières, produits de boulangerie, etc.) ;

Considérant que les souches d'*Aspergillus oryzae* utilisées pour la production d'enzymes sont généralement citées comme exemples de micro-organismes non pathogènes et non toxigènes ;

#### Construction génétique et sécurité de la souche de production

Considérant que la souche de production objet de la demande est issue d'une souche d'*Aspergillus oryzae* IFO 4177 très largement utilisée depuis de nombreuses années pour la production d'enzymes déjà autorisées ;

Considérant que le dossier présente les éléments suivants concernant la construction génétique réalisée :

- l'ADN utilisé pour transformer la souche d'*Aspergillus oryzae* hôte ne contient pas de gène de résistance aux antibiotiques ;
- l'ADN introduit est bien caractérisé et intégré de façon stable dans le génome ;
- le matériel génétique introduit ne code pour ni n'exprime de substance nocive ou toxique connue ;

Considérant que la souche de production a été classée groupe 1, classe 1, confinement L1 par la CGG<sup>1</sup> pour la production de lipase envisagée ;

#### Préparation enzymatique

##### Procédé de fabrication

Considérant que le procédé de fabrication répond aux bonnes pratiques d'hygiène et que les matières premières et auxiliaires technologiques utilisés sont de qualité alimentaire ;

Considérant qu'un processus de purification en plusieurs étapes (séparation primaire, concentration, pré-filtration et filtration stérilisante, conservation et stabilisation) aboutit à l'élimination des micro-organismes producteurs de l'enzyme de la préparation enzymatique finale ;

##### ADN recombiné

Considérant qu'un lot de préparation enzymatique a été testé pour vérifier l'absence d'ADN recombiné, et qu'il n'a pas été détecté d'ADN recombiné dans cet essai ;

#### Considérant toutefois que :

- la construction génétique de la souche de production mériterait d'être mieux détaillée, notamment au regard du séquençage de gènes présents dans l'organisme utilisé ;
- aucune référence à l'origine des lots n'est présentée dans l'unique fiche d'analyses chimiques et microbiologiques de la préparation enzymatique fournie dans le dossier ; qu'il ne peut donc être conclu que les critères de pureté chimique et biologique de cette préparation enzymatique répondent aux exigences de l'arrêté du 5 septembre 1989 relatif à l'emploi de préparations enzymatiques dans la fabrication de certaines denrées et boissons destinées à l'alimentation humaine ;
- les études de toxicologie présentées dans le dossier ont été réalisées sur une préparation enzymatique possédant une activité lipasique correspondant à la lipase de *Thermomyces lanuginosus* exprimée par *Aspergillus oryzae* ; qu'aucune indication sur l'origine du lot utilisé n'est fournie dans le dossier ; qu'ainsi aucune étude se rapportant à la préparation enzymatique objet de la demande n'est présentée dans le dossier ;

---

<sup>1</sup> Commission de Génie Génétique

- le facteur de sécurité est déterminé d'après les résultats de l'étude de toxicité orale sub-chronique à 13 semaines réalisée avec le lot sus-mentionné et l'estimation de la consommation maximale de l'enzyme susceptible de se trouver dans la denrée alimentaire ; que ce facteur de sécurité ne peut donc être applicable pour la préparation enzymatique objet de la demande, et qu'aucun facteur de sécurité sur cette préparation enzymatique n'est donc fourni,

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que les éléments fournis dans le dossier ne permettent pas de s'assurer de l'innocuité sanitaire pour le consommateur de l'utilisation de cette préparation de lipase issue de la souche recombinée pCaHj559/BECh2#3 d'*Aspergillus oryzae* porteuse du gène hybride *Thermomyces lanuginosus* / *Fusarium oxysporum* codant pour la lipase dans l'industrie de l'huile, des graisses et de l'œuf, et rend un avis défavorable à cette demande.

**Martin HIRSCH**