

Maisons-Alfort, le 23 juillet 2003

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande d'autorisation d'emploi d'une glucose-oxydase issue d'une souche d'*Aspergillus oryzae* porteuse du gène codant pour la glucose-oxydase d'*Aspergillus niger* dans les industries de la panification et de la boulangerie fine

Par courrier reçu le 6 novembre 2002, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 31 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 glucose-oxydase issue d'une souche d'*Aspergillus oryzae* porteuse du gène codant pour la glucose-oxydase d'*Aspergillus niger* dans les industries de la panification et de la boulangerie fine.

Des compléments d'information préliminaires, demandés le 25 novembre 2002, ont été reçus le 10 janvier 2003. Après expertise du dossier par le Comité d'experts spécialisé «Biotechnologie», réuni le 17 avril 2003, une seconde demande de compléments d'information a été adressée le 25 avril 2003 à la DGCCRF. Sur la base des informations reçues le 22 mai 2003 du pétitionnaire en réponse à cette demande, et après consultation du Comité d'experts spécialisé «Biotechnologie» réuni le 19 juin 2003, l'Afssa rend l'avis suivant :

Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

Considérant que la glucose-oxydase catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique, oxygène et eau ;

Considérant que cette utilisation permet une oxydation des groupements sulfhydriques du gluten, formant des liaisons disulfures, ce qui résulte en une pâte plus solide et plus élastique ;

Considérant que la préparation enzymatique contient l'activité secondaire non standardisée catalase, non gênante technologiquement ;

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 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 la souche de production a été classée groupe 1, classe 1, confinement L1 par la CGG¹ pour la production de glucose-oxydase envisagée ;

Considérant toutefois que le dossier ne présente pas d'information de caractérisation suffisante de l'évènement d'intégration ;

Procédé de fabrication de la préparation enzymatique

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 (pré-traitement, séparation primaire, concentration, séparation secondaire, stabilisation) aboutit à l'élimination des micro-organismes producteurs de l'enzyme de la préparation enzymatique finale ;

Préparation enzymatique

Critères de pureté chimique et biologique

Considérant que le dossier ne présente pas de bulletins d'analyse des lots de préparation enzymatique sous leur forme commerciale, et qu'il ne peut donc être conclu que ces lots répondent aux exigences de l'arrêté du 5 septembre 1989² concernant ces critères de pureté ;

Données de sécurité

Considérant que :

- les tests de toxicité orale sub-chronique chez le rat à 13 semaines n'ont pas mis en évidence d'effet toxique ;
- les tests de mutagenèse *in vitro* (tests d'Ames sur *Salmonella typhimurium* et sur *Escherichia coli*) n'ont pas mis en évidence d'effet mutagène ;
- les tests d'aberration chromosomique *in vitro* sur cellules de lymphocytes humains n'ont pas mis en évidence d'effet clastogène ;
- la marge de sécurité déterminée est satisfaisante (rapport de la dose sans effet observé établie par l'étude de toxicité à 13 semaines, et de l'estimation de la consommation maximale de l'enzyme susceptible de se trouver dans la denrée alimentaire) ;

Considérant qu'un lot de préparation enzymatique a été testé pour vérifier l'absence de potentiel transformant, et qu'aucune activité transformante n'a été mise en évidence dans cet essai ;

Inactivation de la préparation enzymatique dans le produit final

Considérant que des études expérimentales permettent de conclure à l'inactivation de la préparation enzymatique dans les différents produits envisagés,

¹ Commission de Génie Génétique

² 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

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que, au vu des éléments présentés dans le dossier et en l'absence :

- de bulletins d'analyse des lots de préparation enzymatique sous leur forme commerciale et
- de caractérisation suffisante de l'événement d'intégration,

l'absence de risque sanitaire pour le consommateur lié à l'emploi de cette préparation de glucose-oxydase issue de la souche d'*Aspergillus oryzae* Mt1-72 porteuse du gène codant pour la glucose-oxydase d'*Aspergillus niger* dans les industries de la panification et de la boulangerie fine ne peut être garantie, et rend un avis défavorable à cette demande.

Martin HIRSCH