

Maisons-Alfort, le 8 janvier 2004

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande d'autorisation d'emploi d'une hémicellulase d'*Aspergillus niger* génétiquement modifié dans les produits de panification et de boulangerie fine

Par courrier reçu le 10 mars 2003, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 7 mars 2003 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 hémicellulase¹ d'*Aspergillus niger* génétiquement modifié dans les produits de panification et de boulangerie fine, adressée par le bureau C2.

Des compléments d'information préliminaires, demandés le 7 avril 2003, ont été reçus le 6 mai 2003. Suite à l'expertise du dossier complété lors de la séance du Comité d'experts spécialisé (CES) « Biotechnologie » du 17 juillet 2003, une seconde demande de compléments d'information a été adressée le 24 juillet 2003 à la DGCCRF. Ces compléments d'information ont été reçus le 25 septembre 2003. Après consultation du CES « Biotechnologie », réuni le 16 octobre 2003, l'Afssa rend l'avis suivant :

Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

Considérant que l'enzyme envisagée est une endo-1,4-bêta-D-xylanase, qui permet la dégradation des parois cellulaires de l'albumen de céréales ;

Considérant que son utilisation dans les produits de panification et de boulangerie fine permet :

- Une levée améliorée des produits de boulangerie avec pour résultats un volume plus développé et une texture plus aérée,
- Une pâte plus facile à travailler, présentant une tolérance accrue aux conditions modernes de fabrication,
- Une texture plus fine des produits obtenus ;

Souche de production

Sécurité du micro-organisme producteur

Considérant qu'*Aspergillus niger* est un micro-organisme reconnu non pathogène et utilisé depuis plusieurs dizaines d'années pour la fabrication de préparations enzymatiques destinées à l'alimentation humaine ;

Considérant que la souche de production de la préparation enzymatique est une souche génétiquement modifiée d'*Aspergillus niger* var *awamori* portant le gène codant pour l'hémicellulase ;

Construction génétique et sécurité de la souche de production

Considérant que la souche de production a été classée dans le Groupe I, classe 1, confinement L1 par la CGG² pour la production de xylanase envisagée ;

Considérant toutefois que le dossier ne présente pas de données suffisantes concernant la construction génétique du micro-organisme producteur, à savoir :

¹ également appelée xylanase

² Commission de Génie Génétique

- Le fragment présent dans la cassette d'expression a une taille de 5,3 kb alors que la séquence codante *xylA* n'est que de 1,2kb. Le gène est isolé de la souche *Aspergillus awamori* CBS 115.52, et la cassette est insérée dans cette même souche pour obtenir la souche de production. Ceci conduit à une duplication, potentielle, d'une séquence de 4kb environ. Existe-t-il des informations sur la nature de ces séquences ?
- De plus il n'est pas précisé si la transformation est faite à partir du plasmide natif, circulaire comprenant les séquences bactériennes (vecteur pUC19), ou par un fragment linéaire isolé et contenant la cassette d'expression. Dans le premier cas on aura intégration de la cassette et de séquences d'*E. coli*, dont une origine de réplication. Aucune information n'est donnée sur ce point. Quel est donc le procédé mis en œuvre pour intégrer la cassette d'expression ? L'événement d'intégration entraîne-t-il la présence d'ADN bactérien dans la souche de production ?
- Par ailleurs il est mentionné, dans une fiche technique établie le 28 avril 2003, comme n° du micro-organisme producteur, la souche *A. awamori* CBS 612.94. Cette dernière souche figure dans un document européen de 1995³ comme producteur d'une xylanase utilisée en alimentation animale. Quelle est donc vraiment la souche de production ?

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 aboutit à l'élimination des micro-organismes producteurs de l'enzyme de la préparation enzymatique finale ;

Préparation enzymatique

Données de sécurité

Considérant que la DJA⁴ des préparations enzymatiques dérivées d'*Aspergillus niger* a été évaluée « non spécifiée » par le JECFA⁵ en 1990 ;

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 mutagénèse *in vitro* (tests d'Ames sur *Salmonella typhimurium*) 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 ;

Critères de pureté / spécifications

Considérant que les critères de puretés chimique et biologique fournis par le pétitionnaire 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 ; considérant toutefois que des incohérences existent entre les données de spécifications fournies par le pétitionnaire dans les différents documents transmis,

³ European communities (Marketing of enzymes, Microorganisms and their preparations in animal nutrition) regulations, 1995.

⁴ Dose Journalière Admissible

⁵ Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que, au vu des éléments manquants dans le dossier évoqués, et notamment :

- de l'insuffisance d'informations concernant la construction génétique du micro-organisme producteur
- et
- des incohérences existant entre les données de spécifications fournies par le pétitionnaire dans les différents documents transmis,

l'absence de risque sanitaire pour le consommateur lié à l'emploi de cette préparation d'hémicellulase d'*Aspergillus niger* génétiquement modifié dans les produits de panification et de boulangerie fine ne peut être garantie dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire, et rend un avis défavorable à cette demande.

Par ailleurs, l'Afssa recommande au pétitionnaire de prendre connaissance du guide pour la constitution d'un dossier relatif à l'emploi de préparations enzymatiques en alimentation humaine, (du 26 septembre 2003), ce guide présentant les informations nécessaires à l'expertise scientifique pour ce type de dossiers.

Martin HIRSCH