

Maisons-Alfort, le 29 avril 2004

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande d'autorisation d'emploi d'une cellulase de *Trichoderma reesei* (souche A83) dans l'industrie de l'amidonnerie

Par courrier reçu le 16 décembre 2003, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 11 décembre 2003 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes d'une demande d'avis relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une cellulase de *Trichoderma reesei*¹ (souche A83) dans l'industrie de l'amidonnerie, adressée par le bureau C2.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé «Biotechnologie», réuni le 18 mars 2004, l'Afssa rend l'avis suivant :

Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

Activité enzymatique principale

Considérant que l'enzyme envisagée est une cellulase qui catalyse l'endohydrolyse des liaisons glucosidiques bêta-D-1,4 dans la cellulose, la lichénine et les bêta-D-glucanes des céréales ;

Activités enzymatiques secondaires

Considérant que deux activités enzymatiques secondaires, une xylanase et une bêta-glucanase, sont présentes dans la préparation enzymatique ;

Considérant que ces activités ont été évaluées et que, bien que minoritaires, elles jouent un rôle utile dans les applications technologiques de la préparation enzymatique ; considérant également qu'il a été montré que la préparation ne présente pas d'activités protéases ou phospholipases ;

Applications technologiques

Considérant que la préparation enzymatique en question est destinée à être employée comme adjuvant de traitement afin de réduire la viscosité et améliorer la séparation des différents constituants des céréales (amidon, gluten et fibres) ;

Souche de production

Obtention de la souche de production

Considérant que la souche de production de la préparation enzymatique est la souche de *Trichoderma reesei* A83 ; que cette souche est dérivée de la souche RL P37 par mutagenèse classique à la nitrosoguanidine, elle-même autorisée en France depuis 1998 pour la production de cellulase en amidonnerie ;

Sécurité du micro-organisme producteur

Considérant que *Trichoderma reesei* est un micro-organisme appartenant au genre *Trichoderma*, très ubiquitaire ;

¹ Egalement appelé *Trichoderma longibrachiatum*

Considérant que de nombreuses souches de *T. reesei* sont déjà autorisées et utilisées pour produire des cellulases, xylanases et bêta-glucanases en alimentation humaine ou animale ;

Considérant que de nombreux travaux et rapports reconnaissent le caractère non-pathogène et non-toxinogène de *T. reesei* ; considérant en outre que le statut GRAS² a été attribué en 1999 par la FDA³ aux cellulases de *T. reesei* ;

Considérant par ailleurs que quelques autres espèces de *Trichoderma* sont susceptibles de produire des mycotoxines mais que, après vérification par le pétitionnaire, ce n'est pas le cas des souches de *T. reesei* utilisées pour la production d'enzymes ;

Considérant également qu'un test de pathogénicité de la souche de production a été réalisé par voie intrapéritonéale sur des rats ; considérant que ce test n'a mis en évidence aucun signe de pathogénicité de cette souche ;

Procédé de fabrication de la préparation enzymatique

Considérant que la production répond aux normes de Bonnes Pratiques Industrielles et que les sites de production sont certifiés ISO 9002 et appliquent une procédure HACCP ;

Considérant que le procédé de production de la préparation enzymatique est un procédé classique de fermentation en condition aérobie, suivie d'étapes de purification, concentration et filtration de l'enzyme ;

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 ;

Préparation enzymatique

Critères de pureté

Considérant que les critères de puretés chimique et biologique 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 que des filtrations utilisées pendant le procédé de purification permettent de garantir l'absence du micro-organisme producteur dans la préparation enzymatique finale ;

Données de sécurité

Considérant que :

- un test préliminaire de palatabilité orale à 2 semaines chez le rat a démontré la bonne acceptabilité des régimes par les animaux ;
- le test de toxicité orale sub-chronique à 13 semaines chez le rat n'a pas mis en évidence d'effet toxique ;
- les tests de mutagenèse *in vitro* (tests d'Ames sur *Salmonella typhimurium* et *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) ;

Devenir de la préparation enzymatique dans le produit final

Considérant que l'enzyme est inactivée à des températures supérieures à 70 °C ou à des pH supérieurs à 7 ; que les températures mises en œuvre en panification ou dans les procédés de

² Generally recognized as safe

³ Food and Drug Administration

liquéfaction de l'amidon pour l'obtention de sirops sont largement supérieures au seuil d'inactivation de ces enzymes ;

Considérant par ailleurs qu'une activité résiduelle dans un produit alimentaire ne constituerait pas un problème sanitaire particulier, dans la mesure où il a été montré que la préparation ne comportait pas d'activités protéases ou phospholipases,

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que l'emploi de cette préparation enzymatique de cellulase de *Trichoderma reesei* (souche A83) dans l'industrie de l'amidonnerie ne présente pas de risque sanitaire pour le consommateur, dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire, et rend un avis favorable à cette demande.

Martin HIRSCH