



LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

Maisons-Alfort, le 26 avril 2005

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur la demande d'avis relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une protéase produite par une souche recombinée d'*Aspergillus niger* en brasserie et pour la production d'hydrolysats de protéines

Par courrier reçu le 6 janvier 2005, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 29 décembre 2004 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 protéase produite par une souche recombinée d'*Aspergillus niger* en brasserie et pour la production d'hydrolysats de protéines, adressée par le bureau C2.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie », réuni le 25 mars 2005, l'Afssa rend l'avis suivant :

Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

Activité enzymatique principale

Considérant que la prolyl oligopeptidase appartient à la famille des sérine peptidases (protéases) ;

Considérant que l'enzyme clive la liaison peptidique au niveau du groupe carboxyl des résidus proline ;

Activité enzymatique secondaire

Considérant qu'au moins, une activité alpha-amylase est présente dans la préparation enzymatique ;

Applications technologiques

Considérant que la préparation enzymatique est un auxiliaire technologique destiné à la brasserie et à la production d'hydrolysats de protéines ;

Souche de production

Sécurité du micro-organisme producteur

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

Obtention de la souche de production

Considérant que la souche de production de la préparation enzymatique est la souche d'*Aspergillus niger* génétiquement modifiée GEP 44 ;

Considérant que la souche de production GEP 44 a été classée dans le groupe I, classe 1, confinement L1 par la CGG¹ pour la production de l'enzyme endoprotéase proline spécifique ;

Considérant que la séquence codante du gène d'intérêt est isolée à partir de la souche d'*Aspergillus niger* G306 ;

Considérant qu'un nombre connu de copies du transgène est intégré de façon stable dans un site cible du génome hôte et en absence de gène marqueur de sélection ;

Procédé de fabrication de la préparation enzymatique

Considérant que la préparation enzymatique est produite selon les Bonnes Pratiques de Fabrication pour l'alimentation et que le système de gestion de la qualité appliqué au processus de production de la préparation enzymatique est conforme aux exigences de la norme ISO 9001 : 2000 ;

Considérant que le procédé de production de la préparation enzymatique est un procédé classique de fermentation submergée contrôlée suivie d'étapes de purification, d'ultrafiltration, de stabilisation et de standardisation de l'enzyme ;

Considérant que les matières premières et auxiliaires technologiques utilisés sont de qualité appropriée pour une utilisation alimentaire ;

Préparation enzymatique

Critères de pureté

Considérant que les critères de pureté 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 ;

Données de sécurité

Considérant que toutes les études de toxicité ont été réalisées selon les lignes directrices internationales de l'OCDE² et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire ;

Considérant que le test de toxicité orale sub-aiguë à 14 jours chez le rat n'a pas montré de signes cliniques de toxicité jusqu'à la dose maximale testée ;

Considérant que le test de toxicité orale sub-chronique à 90 jours chez le rat n'a pas mis en évidence d'effet délétère et a permis de fixer la valeur NOAEL³ à 20 g d'enzyme/kg de poids corporel/jour ;

Considérant que l'étude de mutagénicité *in vitro* (test d'Ames sur des souches de *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli* auxotrophes) n'a révélé aucune augmentation du nombre de révertants en présence de la préparation enzymatique ;

Considérant que le test d'aberrations chromosomiques sur des lymphocytes périphériques humains en culture n'a pas mis en évidence d'effet clastogène de la préparation enzymatique ;

Considérant que les facteurs de sécurité calculés (rapport de la dose sans effet observé, établie par l'étude de toxicité à 90 jours, sur l'estimation de la consommation maximale de l'enzyme susceptible de se trouver dans la denrée alimentaire) sont de 404 pour les hydrolysats de protéines et de 4032 pour la bière ;

¹ Commission de Génie Génétique

² Organisation de Coopération et de Développement Economiques

³ No Observed Adverse Effect Level

Devenir de la préparation enzymatique dans le produit final

Considérant que l'inactivation de la préparation enzymatique dans le produit final est argumentée ;

Considérant que le risque allergique n'a pas été documenté,

Conclusion

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que l'emploi d'une protéase produite par la souche recombinée d'*Aspergillus niger* GEP 44 en brasserie et pour la production d'hydrolysats de protéines ne présente pas de risque sanitaire pour le consommateur, dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire. L'Afssa rend un avis favorable à cette demande.

Martin HIRSCH