

Maisons-Alfort, le 2 septembre 2005

## **AVIS**

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments  
sur la demande d'avis relatif à l'autorisation d'emploi d'une  
pectine méthylestérase d'une souche recombinée d'*Aspergillus niger*  
dans les préparations de fruits et de tomates, les fruits et légumes  
destinés à la mise en conserve et à la congélation et les jus de fruits**

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Par courrier reçu le 4 mai 2005, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 3 mai 2005 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes d'une demande d'avis relatif à l'autorisation d'emploi d'une pectine méthylestérase d'une souche recombinée d'*Aspergillus niger* dans les préparations de fruits et de tomates, les fruits et légumes destinés à la mise en conserve et à la congélation et les jus de fruits, adressée par le bureau C2.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie », réunis le 16 juin et le 27 juin 2005, l'Afssa rend l'avis suivant :

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

#### Activité enzymatique principale

Considérant que la pectine méthylestérase (EC 3.1.1.11) hydrolyse la méthoxypectine en méthanol et en acide pectique ;

Considérant que l'acide pectique précipite en pectate de calcium en présence d'ions calcium ;

#### Activité enzymatique secondaire

Considérant qu'au moins, une activité glucane 1,4- $\alpha$ -glucosidase (ou amyloglucosidase) est présente dans la préparation enzymatique ;

#### Applications technologiques

Considérant que la préparation enzymatique est un auxiliaire technologique destiné à l'amélioration de la texture des préparations de fruits et légumes destinés à la mise en conserve et à la congélation et au traitement des jus de fruits ;

### **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 PME 44 ;

Considérant que la souche de production PME 44 a été classée dans le groupe I, classe 1, confinement L1 par la CGG<sup>1</sup> pour la production de l'enzyme pectine méthylestérase ;

Considérant que la séquence codante du gène d'intérêt est isolée de la souche d'*Aspergillus niger* PEC-4 ;

Considérant que plusieurs copies du transgène sont intégrées 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 (métaux lourds, micro-organismes et absence de la souche de production) 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 qu'aucun résultat concernant l'activité antibiotique et les mycotoxines n'est présenté à l'appui des affirmations formulées dans le dossier ;

#### Données de sécurité

Considérant que la seule étude de toxicité orale est le test de toxicité orale sub-aiguë à 14 jours chez le rat et que ce test ne suit pas les lignes directrices OCDE 407, auxquelles il est fait référence, en ne comportant pas d'examens biochimiques sanguins, hématologiques et histopathologiques non limités à un organe ;

Considérant que la non-réalisation de ces examens ne repose sur aucun argument recevable d'ordres économique, scientifique ou d'éthique animal, le test de toxicité orale sub-aiguë à 14 jours chez le rat est considéré comme incomplet ;

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 mis en évidence aucun effet clastogène de la préparation enzymatique ;

Considérant que le pétitionnaire indique un facteur de sécurité supérieur à 20000 ;

---

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

**Devenir de la préparation enzymatique dans le produit final**

Considérant que la température d'inactivation de la pectine méthylestérase est inférieure à 70 °C ;

Considérant qu'aucune activité enzymatique résiduelle n'est retrouvée dans le produit final ;

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

**Conclusion**

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime qu'en raison de données de sécurité toxicologiques insuffisantes, l'absence de risque sanitaire pour le consommateur lié à l'emploi d'une pectine méthylestérase produite par la souche recombinée d'*Aspergillus niger* PME 44 dans les préparations de fruits et de tomates, les fruits et légumes destinés à la mise en conserve et à la congélation et les jus de fruits ne peut être garantie dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire. L'Afssa rend donc un avis défavorable à cette demande.

**Pascale BRIAND**