

Maisons-Alfort, le 24 juillet 2002

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande d'autorisation d'emploi d'une ribonucléase P de *Penicillium citrinum* en tant qu'auxiliaire technologique pour le traitement d'extraits de levures

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 6 mars 2002 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relative à une demande d'autorisation d'emploi d'une préparation enzymatique de ribonucléase P de *Penicillium citrinum* en tant qu'auxiliaire technologique pour le traitement d'extraits de levures.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie » réuni le 16 mai 2002, l'Afssa rend l'avis suivant :

Considérant que la ribonucléase P hydrolyse les ribonucléotides d'extraits de levures en 5'nucléotides ; considérant que cette enzyme peut être utilisée seule ou en combinaison avec d'autres enzymes autorisées en tant qu'auxiliaire technologique pour l'hydrolyse de l'ARN de levure et la production d'extraits de levures enrichis en GMP¹ et IMP² ;

Considérant que la souche de production de la préparation enzymatique est issue par mutation d'une souche non génétiquement modifiée de *Penicillium citrinum* IAM 7003 ;

Considérant que *Penicillium citrinum* est un microorganisme identifié comme pouvant produire une mycotoxine, la citrinine ; considérant qu'au regard de cette production potentielle, une étude de pathogénicité par injection intraveineuse unique de suspension de *Penicillium citrinum* chez la souris a été réalisée ; considérant que cette étude a révélé un potentiel pathogène faible³ de la souche de production vis-à-vis d'autres microorganismes testés dans les mêmes conditions ;

Considérant qu'une analyse de mycotoxines, incluant la citrinine, a été réalisée sur trois lots de production indépendants de préparation enzymatique, représentatifs de la production ; considérant que les résultats de ces analyses n'ont pas mis en évidence de présence de citrinine dans ces lots ;

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 (inscription sur les listes positives japonaises d'additifs alimentaires) ;

Considérant que des filtrations stérilisantes permettent de garantir l'absence du microorganisme de production dans la préparation enzymatique finale ;

¹ guanosine-5'-monophosphate

² inosine-5'-monophosphate

³ sous forme de mise en évidence de cellules viables de *P. citrinum* dans divers organes et de lésions histologiques viscérales

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 ;

Considérant que :

- les tests de toxicité orale (tests de toxicité aiguë chez la souris et le rat, subaiguë à 5 semaines chez le rat et sub-chronique à 13 semaines chez le rat) n'ont pas mis en évidence d'effet toxique ;
- les tests de mutagenèse *in vitro* (test 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 lymphocytes humains n'ont pas mis en évidence d'effet clastogène ;
- la marge de sécurité déterminée (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 les denrées alimentaires) est satisfaisante ;

Considérant qu'aucun effet néfaste n'a été rapporté chez les travailleurs exposés à *Penicillium citrinum* depuis 1977 ;

Considérant enfin que la préparation enzymatique est inactivée à la fin du procédé de production par un traitement thermique de 90 °C pendant 10 minutes, et qu'une filtration est recommandée préalablement à l'étape de concentration pour s'assurer que l'extrait de levure ne contient plus la préparation enzymatique,

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que l'emploi de cette ribonucléase P de l'isolat de *Penicillium citrinum* IAM 7003 en tant qu'auxiliaire technologique pour le traitement d'extraits de levures 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.

L'Afssa souligne que, compte tenu du risque potentiel de formation de citrinine par *Penicillium citrinum*, il convient que le pétitionnaire s'entoure de toutes les précautions nécessaires permettant de garantir l'absence de citrinine dans le produit final ou apporte les preuves de sa dégradation complète et de la non-toxicité des éventuels métabolites produits, et s'en assure par des autocontrôles réguliers.

Martin HIRSCH