



Maisons-Alfort, le 27 octobre 2008

AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
relatif à l'autorisation d'emploi d'une lipase issue d'une souche
d'*Aspergillus niger* modifiée génétiquement pour la production de produits
de biscuiterie, viennoiserie, pâtisserie, panification (à l'exception du pain
de tradition française) et panification spéciale**

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Rappel de la saisine

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le vendredi 27 juin 2008 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à l'autorisation d'emploi d'une lipase issue d'une souche d'*Aspergillus niger* modifiée génétiquement pour la production de produits de biscuiterie, viennoiserie, pâtisserie, panification (à l'exception du pain de tradition française) et panification spéciale.

Méthode d'expertise

Ce dossier entre dans le cadre du décret du 31 juillet 2001 relatif aux auxiliaires technologiques pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine et doit être établi selon le guide pour la constitution d'un dossier relatif à l'emploi de préparations enzymatiques en alimentation humaine (Afssa, 26 septembre 2003).

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie », réuni le 18 septembre 2008, l'Afssa rend l'avis suivant :

Argumentaire

Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

Activité enzymatique principale

L'activité enzymatique principale consiste en une triacylglycérol acylhydrolase (lipase, E.C. 3.1.1.3). En présence d'eau, cette lipase hydrolyse un triacylglycérol en un diacylglycérol et un carboxylate. Elle peut également agir sur des liaisons ester d'autres substrats lipidiques, y compris des lipides de diacycle (polaires), des phospholipides et glycolipides tels que des galactolipides.

Activités enzymatiques secondaires

La présence d'activités enzymatiques secondaires susceptibles de générer un risque sanitaire ou d'interférer d'un point de vue technologique dans les applications revendiquées n'est pas recherchée.

Applications technologiques

La préparation enzymatique est un auxiliaire technologique destiné à la production de produits de biscuiterie, viennoiserie, pâtisserie, panification (à l'exception du pain de tradition française) et panification spéciale.

Souche de production

Sécurité du micro-organisme producteur

Aspergillus niger est un micro-organisme non pathogène, utilisé depuis plusieurs dizaines d'années pour la fabrication de préparations enzymatiques destinées à l'alimentation humaine.

Obtention de la souche de production

La souche de production de la préparation enzymatique est la souche d'*Aspergillus niger* génétiquement modifiée LFS-54. Elle a été classée dans le groupe I, classe 1, confinement L1 par la CGG¹ pour la production de l'enzyme lipase.

Le transgène d'intérêt est une séquence synthétique codant une pré-pro-lipase. 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

La préparation enzymatique est produite selon les Bonnes Pratiques de Fabrication pour l'alimentation et 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.

Le procédé de production de la préparation enzymatique est un procédé classique de fermentation submergée contrôlée suivie d'étapes d'inactivation de la souche de production, de floculation, de purification, d'ultrafiltration et de formulation de l'enzyme. Une solution de méthyl et éthyl parabènes est utilisée au cours de l'étape d'inactivation de la souche de production. Des éléments suffisants doivent être apportés afin d'apprécier le devenir et la présence potentielle de résidus de ces substances dans la préparation enzymatique et dans les denrées alimentaires.

Préparation enzymatique

Critères de pureté

Les critères de pureté chimique et biologique répondent aux exigences de l'arrêté du 19 octobre 2006 relatif à l'emploi d'auxiliaires technologiques dans la fabrication de certaines denrées alimentaires.

Données de sécurité

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.

Le test de toxicité orale subaiguë à 14 jours consécutifs chez le rat n'a pas montré de signes cliniques de toxicité jusqu'à la dose maximale testée et le test de toxicité orale subchronique à 90 jours chez le rat a permis de fixer les valeurs NOAEL³ aux doses les plus fortes testées soit 2100 mg/kg de poids corporel/jour (soit 1008 mg de TOS/kg de poids corporel/jour) chez les mâles et 2300 mg/kg de poids corporel/jour (soit 1062 mg de TOS/kg de poids corporel/jour) chez les femelles.

L'étude de mutagénicité *in vitro* (test d'Ames sur quatre souches de *Salmonella typhimurium* histidine dépendante et une souche d'*Escherichia coli* tryptophane dépendante) n'a révélé

¹ Commission de Génie Génétique

² Organisation de Coopération et de Développement Economiques

³ No Observed Adverse Effect Level

aucune augmentation du nombre de révertants en présence de la préparation enzymatique et donc aucun effet mutagène. Le test d'aberrations chromosomiques sur des lymphocytes humains en culture n'a pas mis en évidence d'effet clastogène de la préparation enzymatique.

Le facteur de sécurité calculé (rapport de la dose sans effet observé, établie par l'étude de toxicité à 90 jours, sur l'estimation de la consommation maximale théorique de l'enzyme susceptible de se trouver dans la denrée alimentaire) est de 10667.

Devenir de la préparation enzymatique dans le produit final

La lipase est inactivée de façon irréversible par la cuisson des aliments, objets de la revendication du pétitionnaire. Le potentiel allergique n'est pas renseigné.

Conclusion

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime qu'en raison de données insuffisantes sur la présence potentielle d'activités enzymatiques secondaires et de résidus de méthyl et éthyl parabènes dans la préparation enzymatique et sur la recherche d'homologies de séquences entre l'enzyme principale et les allergènes connus, l'absence de risque sanitaire pour le consommateur lié à l'emploi d'une lipase issue de la souche d'*Aspergillus niger* modifiée génétiquement LFS-54 pour la production de produits de biscuiterie, viennoiserie, pâtisserie, panification (à l'exception du pain de tradition française) et panification spéciale ne peut être garantie dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire. L'Afssa rend donc un avis défavorable à cette demande.

Mots clés : *Aspergillus niger*, biscuiterie, lipase, panification, panification spéciale, auxiliaire technologique, pâtisserie, viennoiserie.

La Directrice Générale

Pascale BRIAND