



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

Maisons-Alfort, le 4 mai 2010

AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une protéine glutaminase
issue d'une souche de *Chryseobacterium proteolyticum* non génétiquement
modifiée, pour une modification des propriétés technologiques
des protéines dans des ingrédients à base de protéines
et des denrées alimentaires**

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 20 janvier 2010 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une protéine glutaminase issue d'une souche de *Chryseobacterium proteolyticum* non génétiquement modifiée pour une modification des propriétés technologiques des protéines dans des ingrédients à base de protéines et des denrées alimentaires.

2. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisé (CES) « Biotechnologie », réuni le 15 avril 2010.

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).

3. ARGUMENTAIRE

L'argumentaire de l'Afssa est fondé sur l'avis du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie » dont les éléments sont présentés ci-dessous :

3.1 Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

3.1.1 Activité enzymatique principale

L'enzyme est une protéine glutaminase (protéine-L-glutamine amidohydrolase, E.C. 3.5.1.44). Elle catalyse la désamidation des résidus glutaminyl des polypeptides en résidus glutamyl avec production d'ammoniac.

27-31, avenue
du Général Leclerc
94701

Maisons-Alfort cedex
Tel 01 49 77 13 50
Fax 01 49 77 26 13
www.afssa.fr

REPUBLIQUE
FRANÇAISE

3.1.2 Activités enzymatiques secondaires

La recherche d'activités enzymatiques secondaires et l'analyse par chromatographie haute performance en perméation de gel montrent que la protéine glutaminase est hautement purifiée et qu'aucune autre enzyme mesurée ne présente une activité significative.

3.1.3 Applications technologiques

La préparation enzymatique est un auxiliaire technologique destiné à la modification des ingrédients à base de protéines et les denrées alimentaires. La désamidation améliorerait la solubilité des protéines, augmentant ainsi leur pouvoir émulsifiant, moussant ou gélifiant.

3.2 Sécurité du micro-organisme producteur

La souche de production est la souche de *Chryseobacterium proteolyticum* non génétiquement modifiée, déposée sous la dénomination FERM P-17664. Ce micro-organisme, isolé du sol, est de la famille des *Flavobacteriaceae*.

Des études sur la pathogénicité et la toxigénicité de cette souche, réalisées chez la souris, ne révèlent pas de potentiel pathogène ou toxigène.

3.3 Procédé de production de la préparation enzymatique

Le procédé de production de la préparation enzymatique est une fermentation aérobie, suivie d'étapes de filtration, ultrafiltration, chromatographie, concentration et formulation.

La production de la préparation enzymatique se fait selon les Bonnes Pratiques de Fabrication pour l'alimentation. Les matières premières et auxiliaires technologiques utilisés sont de qualité alimentaire.

3.4 Préparation enzymatique

3.4.1 Critères de pureté

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

3.4.2 Données de sécurité

Toutes les études de toxicité ont été réalisées selon les lignes directrices internationales de l'OCDE¹ et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

L'étude de toxicité orale sub-chronique 90 jours chez le Rat conclut à une NOAEL² de 2538 mg/kg de poids corporel/jour, correspondant à la dose la plus forte testée.

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 aucune augmentation du nombre de révertants en présence de la préparation enzymatique et donc aucun effet mutagène. Le test d'aberrations chromosomiques sur des cellules pulmonaires de hamster chinois, en culture, n'a pas mis en évidence d'effet clastogène de la préparation enzymatique. On peut donc conclure de ces deux tests que la préparation enzymatique n'est pas génotoxique.

¹ Organisation de Coopération et de Développement Economiques

² No Observed Adverse Effect Level

La marge de sécurité calculée en prenant l'exposition théorique la plus conservatrice est de 2200.

3.5 Devenir de la préparation enzymatique dans le produit final

La protéine glutaminase est inactivée thermiquement (au-delà de 70 °C). Le pétitionnaire indique que les ingrédients et denrées alimentaires susceptibles d'être traités devront être soumis à une cuisson dans des conditions supérieures à celles de cette inactivation enzymatique.

La recherche d'homologies de séquences entre la protéine glutaminase et les allergènes connus (5 bases de données interrogées) ainsi que les résultats de digestibilité *in vitro* permettent de conclure que la protéine glutaminase ne présente pas de potentiel allergique avéré.

4. CONCLUSION

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que l'emploi d'une protéine glutaminase issue de la souche de *Chryseobacterium proteolyticum* non génétiquement modifiée FERM P-17664, pour une modification des propriétés technologiques des protéines dans des ingrédients à base de protéines et des denrées alimentaires ne présente pas de risque sanitaire pour le consommateur, dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments rend donc un avis favorable à cette demande.

Le directeur général,

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

Enzyme, auxiliaire technologique, protéine glutaminase, *Chryseobacterium proteolyticum*, protéines, ingrédients, denrées alimentaires, émulsifiant, moussant, gélifiant.