

Maisons-Alfort, le 20 octobre 2006

## **AVIS**

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments  
sur la demande d'autorisation d'emploi d'une phospholipase  
d'une souche d'*Aspergillus oryzae* porteuse du gène  
de *Fusarium venenatum* codant une phospholipase dans les fromages  
à l'exception de ceux bénéficiant d'une appellation d'origine**

Par courrier reçu le 3 juillet 2006, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 29 juin 2006 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 phospholipase d'une souche d'*Aspergillus oryzae* porteuse du gène de *Fusarium venenatum* codant une phospholipase dans les fromages à l'exception de ceux bénéficiant d'une appellation d'origine, adressée par le bureau C2.

### **Contexte du dossier :**

Suite à l'expertise d'un dossier de demande d'autorisation d'emploi d'une phospholipase d'une souche d'*Aspergillus oryzae* porteuse du gène de *Fusarium venenatum* codant une phospholipase dans les fromages à l'exception de ceux bénéficiant d'une appellation d'origine, l'Afssa a rendu un avis défavorable le 26 octobre 2005 et le 15 mai 2006. En raison d'éléments manquants et d'imprécisions dans le dossier (concernant la souche de production, la méthode de purification de la préparation enzymatique et le devenir de la préparation enzymatique dans le produit fini), l'Afssa ne pouvait pas garantir l'absence de risque sanitaire pour le consommateur, dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire.

Le 29 juin 2006, le pétitionnaire a apporté des informations complémentaires sur lesquelles, après consultation du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie », réuni le 21 septembre 2006, l'Afssa rend l'avis suivant :

### **Activité enzymatique principale**

Considérant que l'enzyme hydrolyse spécifiquement tous les phospholipides au niveau des liaisons esters sn-1 ;

### **Souche de production**

Considérant que le pétitionnaire indique que la séquence codante du gène d'intérêt est isolée de la souche de *Fusarium venenatum* CC1-3 ;

Considérant que le pétitionnaire fournit la séquence du gène isolé ;

Considérant qu'après comparaison, la séquence codante du gène d'intérêt fournie possède 90 % d'identités avec une séquence unique de *Fusarium graminearum*, séquence présente dans les banques de données et annotée « hypothetical protein » ;

Considérant qu'aucune homologie n'est mise en évidence entre la séquence codante du gène d'intérêt et des séquences nucléiques codant des phospholipases A1, par le pétitionnaire ou par l'expertise ;

Considérant qu'aucune des signatures d'une phospholipase A1 (acides aminés conservés et site actif) n'est présente dans la séquence en acides aminés traduite de la séquence nucléique codante du gène ;

Considérant que le séquençage de l'extrémité N terminale de la protéine fourni ne permet pas de démontrer l'identité de la protéine ;

Considérant qu'aucune donnée n'est fournie ni sur le nombre de copies du gène d'intérêt, intégré dans le génome de la souche d'*Aspergillus oryzae*, ni sur la localisation de ces insertions ;

#### Purification de la préparation enzymatique

Considérant que les étapes de purification de la préparation enzymatique sont décrites de façon suffisamment précise pour garantir l'absence de micro-organisme producteur dans la préparation enzymatique ;

#### Devenir de l'enzyme dans le produit fini

Considérant que le pétitionnaire en mentionnant l'absence de substrat n'apporte pas la preuve de l'inactivation de la préparation enzymatique dans le produit fini, en absence de la fourniture des conditions d'inactivation (température, temps ...) ;

Considérant que la référence à la directive 89/107/CEE<sup>1</sup> est non pertinente puisqu'elle ne concerne pas les auxiliaires technologiques ;

Considérant que l'arrêté du 5 septembre 1989<sup>2</sup> modifié et le décret n°2001-725<sup>3</sup> s'appliquent aux auxiliaires technologiques enzymatiques en droit français ;

Considérant que le « Guide pour la constitution d'un dossier relatif à l'emploi de préparations enzymatiques en alimentation humaine » de l'Afssa (septembre 2003) demande précisément l'inactivation des phospholipases dans le produit fini pour des raisons de sécurité,

#### Conclusion :

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que, compte tenu des éléments manquants et des imprécisions du dossier, et notamment en l'absence de :

- Identification certaine de l'enzyme par homologies de séquences nucléiques ou protéiques avec des séquences annotées comme codant des phospholipases A1 ou des signatures d'une phospholipase A1 ;
- Précisions sur le devenir de la préparation enzymatique dans le produit fini,

l'absence de risque sanitaire pour le consommateur lié à l'emploi d'une phospholipase d'une souche d'*Aspergillus oryzae* porteuse du gène de *Fusarium venenatum* codant une phospholipase dans les fromages à l'exception de ceux bénéficiant d'une appellation d'origine, ne peut être garantie dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire. L'Afssa rend donc un avis défavorable à cette troisième demande.

**Pascale BRIAND**

<sup>1</sup> Directive du conseil du 21 décembre 1988 relative au rapprochement des législations des Etats membres concernant les additifs pouvant être employés dans les denrées destinées à l'alimentation humaine.

<sup>2</sup> 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.

<sup>3</sup> Décret n° 2001-725 du 31 juillet 2001 relatif aux auxiliaires technologiques pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine.