

Maisons-Alfort, le 15 mai 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**

LA DIRECTRICE GENERALE

Par courrier reçu le 16 janvier 2006, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 12 janvier 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. En raison d'éléments manquants et d'imprécisions dans le dossier (concernant la définition de l'activité enzymatique, la souche de production, la méthode de purification de la préparation enzymatique, la dose maximale journalière recommandée, le devenir de la préparation enzymatique dans le produit fini et le risque allergique), l'Afssa ne pouvait pas garantir l'absence de risque sanitaire pour le consommateur, dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire.

Le 12 janvier 2006, le pétitionnaire a apporté des informations complémentaires sur lesquelles, après consultation du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie », réuni le 17 mars 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 ;

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 pourrait permettre une identification de l'enzyme ;

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 imprécise et en particulier, les caractéristiques des filtres n'étant pas fournies, l'absence de micro-organisme producteur dans la préparation enzymatique ne peut être garantie ;

Dose maximale journalière recommandée

Considérant que la dose maximale de préparation enzymatique recommandée par le pétitionnaire est indiquée à 5 g / kg de matière grasse du lait, l'estimation de la consommation journalière maximale de l'enzyme susceptible de se trouver dans 40 g de fromage (consommation journalière moyenne par personne) est de 0,023 mg / kg de poids corporel et par jour ;

Considérant que 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 de l'enzyme susceptible de se trouver dans le fromage consommé journellement) est de 250 000 ;

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 ...) ;

Potentiel allergique

Considérant qu'aucune homologie de séquences supérieure à 5 acides aminés consécutifs entre l'enzyme et les banques d'allergènes identifiés n'a été mise en évidence,

Conclusion :

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

- Identification de l'enzyme, peut-être par séquençage de l'extrémité N terminale de la protéine en raison de l'absence d'homologies de séquences nucléiques entre le transgène et les gènes codant des phospholipases A1 ;
- Précisions de la méthode de purification de la préparation enzymatique,
- 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 deuxième demande.

Pascale BRIAND