

Maisons-Alfort, le 20 janvier 2006

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande d'autorisation d'emploi d'une alpha-amylase produite par une souche de *Bacillus licheniformis* porteuse du gène codant une alpha-amylase de *Bacillus stearothermophilus* en amidonnerie, en brasserie et dans les industries sucrière et de l'alcool

Par courrier reçu le 13 octobre 2005, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 7 octobre 2005 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 alpha-amylase produite par une souche de *Bacillus licheniformis* porteuse du gène codant une alpha-amylase de *Bacillus stearothermophilus* en amidonnerie, en brasserie et dans les industries sucrière et de l'alcool, adressée par le bureau C2.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé «Biotechnologie», réuni le 17 novembre 2005, l'Afssa rend l'avis suivant :

Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

Activité enzymatique principale

Considérant que l'enzyme est une 1,4- α -D-glucane glucanohydrolase (ou α -amylase, EC 3.2.1.1.) ;

Considérant que l'enzyme hydrolyse les liaisons endo- α -1,4-D-glucosidiques des polysaccharides de l'amidon en dextrans solubles et oligosaccharides en présence d'une faible concentration en calcium ;

Activités enzymatiques secondaires

Considérant qu'aucune activité enzymatique secondaire en quantité significative n'est indiquée ;

Applications technologiques

Considérant que la préparation enzymatique est un auxiliaire technologique destiné à la liquéfaction de l'amidon dans l'industrie alimentaire, en amidonnerie, en brasserie et dans les industries sucrière et de l'alcool ;

Souche de production

Sécurité du micro-organisme producteur

Considérant que la souche initiale de *Bacillus licheniformis* DN2717 est utilisée depuis de nombreuses années pour la production de préparations enzymatiques destinées à l'alimentation humaine ;

Considérant que la souche initiale de *Bacillus licheniformis* utilisée est non-pathogène et non-toxinogène ;

Obtention de la souche de production

Considérant que la souche de production de la préparation enzymatique est la souche de *Bacillus licheniformis* SJ7199 génétiquement modifiée ;

Considérant que la souche de production a été classée dans le Groupe I, classe 1, confinement L1 par la CGG¹ pour la production d'alpha-amylase envisagée ;

Considérant que la séquence codante du gène d'intérêt est isolée à partir d'une souche de *Bacillus stearothermophilus* (non-pathogène et non-toxinogène) et que les mutations créées sont signalées ;

Considérant qu'un nombre connu de copies du transgène est intégré de façon stable dans le génome hôte dans des sites identifiés et en absence de gène marqueur de résistance aux antibiotiques ;

Procédé de fabrication de la préparation enzymatique

Considérant que la préparation enzymatique est produite selon les Bonnes Pratiques de Fabrication pour l'alimentation et que 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 ;

Considérant que le procédé de production de la préparation enzymatique est un procédé de fermentation immergée, suivie d'étapes de purification, concentration, filtration et standardisation de l'enzyme ;

Considérant que les matières premières et auxiliaires technologiques utilisés sont de qualité alimentaire ;

Préparation enzymatique

Critères de pureté

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 l'ADN du transgène n'est pas retrouvé dans la préparation enzymatique ;

Données de sécurité

Considérant que 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 ;

Considérant que le test de toxicité orale sub-chronique à 90 jours chez le rat n'a pas mis en évidence d'effet délétère et a permis de fixer la valeur NOAEL³ à 660 mg TOS⁴/kg de poids corporel/jour ;

Considérant que l'étude de mutagénicité *in vitro* (test d'Ames sur des souches de *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli* auxotrophes) n'a révélé aucune augmentation du nombre de révertants en présence de la préparation enzymatique et donc aucun effet mutagène ;

¹ Commission de Génie Génétique

² Organisation de Coopération et de Développement Economiques

³ No Observed Adverse Effect Level

⁴ Total Organic Solids

Considérant que le test d'aberrations chromosomiques sur des lymphocytes périphériques humains en culture n'a pas mis en évidence d'effet clastogène de la préparation enzymatique ;

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 l'alimentation (sucres et bière)] est de 5200 ;

Devenir de la préparation enzymatique dans le produit final

Considérant que l'enzyme est inactivée et éliminée ;

Considérant que le risque allergique n'a pas été documenté,

Conclusion :

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que l'emploi d'une alpha-amylase produite par une souche de *Bacillus licheniformis* SJ7199 porteuse du gène codant une alpha-amylase de *Bacillus stearothermophilus* en amidonnerie, en brasserie et dans les industries sucrière et de l'alcool ne présente pas de risque sanitaire pour le consommateur, dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire. L'Afssa rend un avis favorable à cette demande.

Pascale BRIAND