

Maisons-Alfort, le 22 juin 2006

AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
relatif à la demande d'autorisation d'emploi d'une xylanase produite par
une souche de *Bacillus subtilis* porteuse d'un gène codant une xylanase
de *Pseudoalteromonas haloplanktis* en biscuiterie, biscotterie, viennoiserie,
pâtisserie, panification courante (à l'exception du pain de tradition française)
et panification spéciale**

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Par courrier reçu le 7 mars 2006, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 27 février 2006 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à la demande d'autorisation d'emploi d'une xylanase produite par une souche de *Bacillus subtilis* porteuse d'un gène codant une xylanase de *Pseudoalteromonas haloplanktis* en biscuiterie, biscotterie, viennoiserie, pâtisserie, panification courante (à l'exception du pain de tradition française) et panification spéciale, adressée par le bureau C2.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie », réuni le 20 avril 2006, l'Afssa rend l'avis suivant :

Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

Activité enzymatique principale

Considérant que l'enzyme est une endo $\beta(1-4)$ xylanase (EC 3.1.2.8) ;

Considérant que l'enzyme hydrolyse préférentiellement les longues chaînes de xylo-oligosaccharides (supérieures à 6 résidus) ;

Activités enzymatiques secondaires

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

Applications technologiques

Considérant que la préparation enzymatique est un auxiliaire technologique destiné à la biscuiterie, biscotterie, viennoiserie, pâtisserie, panification courante (à l'exception du pain de tradition française) et panification spéciale ;

Souche de production

Sécurité du micro-organisme producteur

Considérant que la souche initiale est la souche non-pathogène et non-toxinogène *Bacillus subtilis* DB105 ;

Obtention de la souche de production

Considérant que la souche de production de la préparation enzymatique est la souche *Bacillus subtilis* Giza 3508 génétiquement modifiée ;

27-31, avenue
du Général Leclerc
BP 19, 94701
Maisons-Alfort cedex
Tel 01 49 77 13 50
Fax 01 49 77 26 13
www.afssa.fr

REPUBLIQUE
FRANÇAISE

Considérant que la séquence codante du gène d'intérêt a été isolée de la souche *Pseudoalteromonas haloplanktis* TAH3a, organisme de classe I ;

Considérant qu'un nombre connu de copies du transgène est intégré de façon stable dans le génome hôte et en l'absence de tout autre ADN exogène ;

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, séchage avec granulation sur farine de blé de qualité alimentaire ;

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 sauf pour *Staphylococcus aureus* ;

Considérant que le critère de pureté s'appliquant à *Staphylococcus aureus* est « absence de souche dans 1 g de préparation enzymatique » ;

Données de sécurité

Considérant que 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 ;

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 NOAEL² à 36 mg TOS³/kg de poids corporel/jour ;

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

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 le pain] est de 4000 ;

¹ Organisation de Coopération et de Développement Economiques

² No Observed Adverse Effect Level

³ Total Organic Solids

Devenir de la préparation enzymatique dans le produit final

Considérant que l'enzyme est inactivée par la cuisson des produits (pain, viennoiserie...) ;

Considérant que le risque allergique n'a pas été documenté par une recherche d'homologies de séquences avec des protéines connues comme allergènes,

Conclusion :

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que l'emploi d'une xylanase produite par la souche de *Bacillus subtilis* Giza 3508 porteuse d'un gène codant une xylanase de *Pseudoalteromonas haloplanktis* en biscuiterie, biscotterie, viennoiserie, pâtisserie, panification courante (à l'exception du pain de tradition française) et panification spéciale 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 à condition que le critère de pureté pour *Staphylococcus aureus* soit suivi.

Pascale BRIAND