



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Maisons-Alfort, le 13 décembre 2007

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* génétiquement modifiée en panification courante (à l'exception du pain de tradition française) et panification spéciale

Rappel de la saisine

Par courrier reçu le 31 août 2007, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 28 août 2007 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* génétiquement modifiée en panification courante (à l'exception du pain de tradition française) et panification spéciale, adressée par le bureau C2.

Méthode d'expertise

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).

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie », réuni le 15 novembre 2007, l'Afssa rend l'avis suivant :

Argumentaire

Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

Activité enzymatique principale

Considérant que l'enzyme est une endo-1,4- β -xylanase (E.C. 3.2.1.8.) ;

Considérant que cette enzyme hydrolyse les liaisons 1,4- β -D-xylosidiques à l'intérieur des chaînes de xylanes et d'arabinoxylanes libérant ainsi des sucres réducteurs ;

Considérant que le pétitionnaire présente une méthode de mesure de l'activité xylanase sur de l'arabinoxylane de blé et exprime cette activité en NBXU¹ ;

Activités enzymatiques secondaires

Considérant qu'aucune activité enzymatique secondaire en quantité significative n'a été mise en évidence ;

Applications technologiques

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

¹ New Bakery Xylanase Unit

Souche de production

Sécurité du micro-organisme producteur

Considérant que la souche initiale de *Bacillus subtilis* 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 subtilis* XAS-3, souche asporogène ;

Considérant que la séquence codante du gène d'intérêt a été isolée de la souche de *Bacillus subtilis* 168 ;

Considérant que dans la souche de production, le plasmide multicopie porteur du gène d'intérêt est stable et non-mobilisable ;

Considérant que cette souche a été classée dans le groupe 1, classe 1, confinement L1 par la Commission de Génie Génétique pour la production de xylanase envisagée ;

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 submergée contrôlée, suivie d'étapes de floculation, filtrations, ultrafiltration, granulation 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 19 octobre 2006 relatif à l'emploi d'auxiliaires technologiques dans la fabrication de certaines denrées alimentaires ;

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 subaiguë à 14 jours consécutifs chez le rat n'a pas montré de signes cliniques de toxicité jusqu'à la dose maximale testée ;

Considérant que le test de toxicité orale sub-chronique à 90 jours chez le rat a permis de fixer la valeur NOAEL³ à 1 g/kg de poids corporel/jour soit 17 400 NBXU/kg de poids corporel/jour ;

² Organisation de Coopération et de Développement Economiques

³ No Observed Adverse Effect Level

Considérant que l'étude de mutagénicité *in vitro* (test d'Ames sur quatre souches de *Salmonella typhimurium* 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 ;

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

Considérant que les facteurs de sécurité calculés sont de 3 480 par la méthode du budget [rapport de la dose sans effet observé, établie par l'étude de toxicité à 90 jours, sur la dose journalière maximale théorique] et de 8 286 en utilisant les données de consommation [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] ;

Devenir de la préparation enzymatique dans le produit final

Considérant que l'endo-1,4- β -xylanase est inactivée de façon irréversible par la cuisson des aliments ;

Conclusion

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que l'emploi d'une xylanase produite par une souche de *Bacillus subtilis* génétiquement modifiée (XAS-3) en 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.

Mots clé : *Bacillus subtilis*, xylanase, panification, auxiliaire technologique, enzyme.

La Directrice Générale

Pascale BRIAND