



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Afssa – Saisine n° 2006-SA-0284

Saisine liée n° 2006-SA-0058

Maisons-Alfort, le 21 février 2007

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une alpha-amylase produite par une souche de *Pseudomonas fluorescens* porteuse d'un gène hybride de *Thermococcus* codant l'alpha-amylase en amidonnerie et dans l'industrie de l'alcool

Par courrier reçu le 19 octobre 2006, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 17 octobre 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 alpha-amylase produite par une souche de *Pseudomonas fluorescens* porteuse d'un gène hybride de *Thermococcus* codant l'alpha-amylase en amidonnerie et dans l'industrie de l'alcool, adressée par le bureau C2.

Contexte du dossier :

Suite à l'expertise d'un dossier de demande d'autorisation d'emploi d'une alpha-amylase produite par une souche de *Pseudomonas fluorescens* porteuse d'un gène hybride de *Thermococcus* codant l'alpha-amylase en amidonnerie et dans l'industrie de l'alcool, l'Afssa a rendu un avis défavorable le 14 juin 2006. En raison d'éléments manquants et d'imprécisions dans le dossier (concernant la souche de production, les méthodes de production et de purification de la préparation enzymatique, la recherche des activités enzymatiques secondaires, la pureté et la sécurité 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 17 octobre 2006, le pétitionnaire a apporté des informations complémentaires sur lesquelles, après consultation du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie », réuni le 21 décembre 2006, l'Afssa rend l'avis suivant :

Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

Activité enzymatique principale

Considérant que l'enzyme est une α (1,4) D-glucane glucohydrolase (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 dextrines solubles et oligosaccharides ;

Activités enzymatiques secondaires

Considérant qu'aucune activité enzymatique secondaire en quantité significative n'est indiquée et que les méthodes d'analyse sont présentées ;

Applications technologiques

Considérant que la préparation enzymatique est un auxiliaire technologique destiné à la liquéfaction de l'amidon en amidonnerie et dans l'industrie de l'alcool ;

27-31, avenue
du Général Leclerc
94701

Maisons-Alfort cedex
Tel 01 49 77 13 50
Fax 01 49 77 26 13
www.afssa.fr

REPUBLIQUE
FRANÇAISE

Souche de production

Sécurité du micro-organisme producteur

Considérant que la souche initiale est la souche non-pathogène et non-toxinogène *Pseudomonas fluorescens* Biovar I MB 101 ;

Obtention de la souche de production

Considérant que la souche de production de la préparation enzymatique est la souche *Pseudomonas fluorescens* DC88 génétiquement modifiée ;

Considérant que les séquences des plasmides ayant conduit à la transformation de la souche initiale sont fournies ;

Considérant que la stabilité et la non-mobilisation des plasmides dans la souche de production sont démontrées ;

Procédé de fabrication de la préparation enzymatique

Considérant que le procédé de production de la préparation enzymatique est décrit ;

Considérant que les étapes de la purification et de la formulation de la préparation enzymatique sont suffisamment décrites ;

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 de préparations enzymatiques dans la fabrication de certaines denrées et boissons destinées à l'alimentation humaine ;

Considérant que le pétitionnaire établit la présence d'IPTG (Isopropyl β -D Thiogalactopyranoside) dans la préparation enzymatique en concentration négligeable ;

Considérant que l'endonucléase utilisée pour l'hydrolyse de l'ADN dans la préparation enzymatique est inactivée ;

Considérant que l'identité des conservateurs ajoutés à la préparation enzymatique a été renseignée ;

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 les données initiales des études de toxicité présentées dans le premier dossier ont été fournies ;

Considérant que la valeur NOAEL² peut être fixée à 300 mg TOS³/kg de poids corporel/jour ;

Considérant que le facteur de sécurité calculé est supérieur à 1000 ;

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'inactivation de l'enzyme dans le produit fini est démontrée ;

Conclusion :

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que l'emploi d'une alpha-amylase produite par une souche de *Pseudomonas fluorescens* porteuse d'un gène hybride de *Thermococcus* codant l'alpha-amylase (DC88) en amidonnerie et dans l'industrie 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.

Mots clé : enzyme, auxiliaire technologique, amylase, *Pseudomonas fluorescens*, *Thermococcus*, amidonnerie, alcool.

Pascale BRIAND