

**Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
sur la réponse à la question du Comité scientifique de la nutrition animale
(SCAN) relative à la sécurité d'emploi d'enzymes produites par
Bacillus amyloliquefaciens DSM 9553**

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 13 septembre 2001 d'une demande d'avis sur la réponse à une question du Comité scientifique de la nutrition animale (SCAN) relative à la sécurité d'emploi d'enzymes produites par *Bacillus amyloliquefaciens* DSM 9553.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale » le 21 novembre 2001, l'Afssa rend l'avis suivant :

Considérant que le produit est une préparation enzymatique composé d'une α -amylase et d'une endo 1,3 (4)- β -glucanase, obtenues par fermentation d'une souche de *Bacillus amyloliquefaciens* DSM 9553 non génétiquement modifiée ;

Considérant que la préparation enzymatique est autorisée provisoirement par le règlement 654/2000 du 29 mars 2000 dans l'alimentation des poulets et des dindons à l'engraissement ;

Considérant l'avis du Comité scientifique de la nutrition animale du 17 février 2000 sur la sécurité d'utilisation des *Bacillus* en alimentation animale ;

Considérant que le Comité scientifique de la nutrition animale recommande dans son avis, pour les souches de *Bacillus* autres que *Bacillus cereus* productrices d'enzymes utilisées en tant qu'additif en alimentation animale, la recherche spécifique de deux des entérotoxines par des tests immunologiques, ainsi qu'une recherche non spécifique de toxines par deux techniques de cytotoxicité ;

Considérant que les tests immunologiques visant à mettre en évidence la présence de fractions protéiques de l'entérotoxine hémolytique et de l'entérotoxine non-hémolytique se sont révélés négatifs pour la souche de *Bacillus amyloliquefaciens* DSM 9553, comparativement à des souches témoins négatives et positives ;

Considérant que le test de cytotoxicité pour la recherche d'autres entérotoxines a été effectué sur cellules d'ovaires de hamster chinois, cellules CHO et non sur cellules de rein de singe, cellules Vero, comme le recommande le SCAN ;

Considérant que les souches de *Bacillus* ont été cultivées selon la technique décrite dans l'opinion du SCAN mais que le surnageant obtenu ne semble pas avoir été concentré après filtration afin de détecter de faibles quantités de toxines ; considérant qu'une autre technique a été utilisée car elle favoriserait la toxino-genèse et que la révélation de la cytotoxicité a été effectuée avec un sel de tétrazolium, qui est l'une des techniques quantitatives de choix ;

Considérant que, malgré ces variantes dans la technique utilisée, la comparaison des résultats de cytotoxicité de souches de *Bacillus cereus* de référence productrices de toxines et d'une

souche de *Bacillus licheniformis* de référence non-toxinogène montre que la souche de *Bacillus amyloliquefaciens* se comporte comme la souche non-toxinogène ;

Considérant que le SCAN recommande aussi la recherche de la toxine émétique sur cellules Hep-2 afin d'éliminer la production éventuelle de cette toxine ou de toxines proches ;

Considérant que le pétitionnaire n'a pas effectué cette recherche car il indique que le gonflement mitochondrial traduisant la présence d'une toxine est transitoire et qu'il peut disparaître rapidement et alors que la mise en œuvre d'une méthode alternative utilisant le sel de tétrazolium a été recommandée dans ce cas par le SCAN,

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments considère que les éléments apportés, en réponse à la question du Comité scientifique de la nutrition animale sur la sécurité des enzymes produites par la souche de *Bacillus amyloliquefaciens* DSM 9553, ont été obtenus en suivant en grande partie les recommandations du SCAN mais que cependant l'absence d'essais sur cellules Vero et sur cellules Hep-2 tels que recommandés par le Comité scientifique de la nutrition animale ne permet pas de conclure définitivement sur le pouvoir toxinogène éventuel de cette souche.

Martin HIRSCH