

Maisons-Alfort, le 13 juin 2003

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande d'autorisation d'emploi d'une alpha-amylase issue d'une souche de *Bacillus stearothermophilus* dans les industries des boissons spiritueuses, de l'amidonnerie, de la brasserie, de la panification et de la boulangerie fine

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

Par courrier reçu le 22 août 2002, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 20 août 2002 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 issue d'une souche de *Bacillus stearothermophilus* dans les industries des boissons spiritueuses, de l'amidonnerie, de la brasserie, de la panification et de la boulangerie fine.

Suite à l'examen de ce dossier par le Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie », réuni le 17 octobre 2002, des compléments d'information ont été demandés sur ce dossier le 10 janvier 2003, portant sur :

- des précisions sur les résultats d'activité enzymatique, les données rapportées aux pages 9 et 10 et dans le tableau de l'annexe 1 n'étant pas cohérentes,
- la méthode d'analyse de l'activité enzymatique employée,
- des précisions sur la souche de production (numéro, méthode de sélection),
- les données de pureté chimique et microbiologique de la préparation enzymatique sur plusieurs lots de fabrication.

En l'absence de réponse aux éléments demandés, l'Afssa rend l'avis suivant.

Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

Considérant que l'alpha-amylase hydrolyse en milieu de chaîne les liaisons alpha-1-4 glycosidiques des polymères du glucose : amylose, amylopectine, glycogène, que cette enzyme peut être utilisée seule ou en association avec d'autres enzymes dans les domaines d'application revendiqués ;

Considérant que cette utilisation permet ainsi une amélioration de la texture et une prolongation de la durée de vie des produits céréaliers, une réduction des résidus glucidiques et une amélioration du rendement en alcool dans les industries de boissons spiritueuses ;

Souche de production

Sécurité du microorganisme producteur

Considérant que *Bacillus stearothermophilus* est une espèce ubiquitaire et communément retrouvée comme contaminant des aliments ou sur la peau de l'homme ou des animaux ; considérant qu'une large recherche bibliographique sur une période allant de la date d'isolation de la souche (1917) jusqu'à 1983 n'a pas mis en évidence de risque particulier pour la santé ;

Considérant que le statut GRAS¹ est attribué par la FDA² depuis 1983 aux préparations enzymatiques d'alpha-amylase obtenues à partir de *Bacillus stearothermophilus* utilisées en agro-alimentaire ;

Identification de la souche de production

Considérant que la production de l'enzyme est assurée par une souche non recombinée de *Bacillus stearothermophilus* ; que le dossier fait référence à une souche ATCC 39709, sans qu'il soit précisé si cette souche est la souche de production de l'enzyme ;

Procédé de fabrication de la préparation enzymatique

Considérant que le procédé de fabrication répond aux bonnes pratiques d'hygiène et que les matières premières et auxiliaires technologiques utilisés sont de qualité alimentaire ;

Considérant qu'un processus de purification (filtration du floculat sous vide, concentration du surnageant par ultrafiltration) aboutit à l'absence des cellules bactériennes dans l'ultrafiltrat ;

Préparation enzymatique

Activité enzymatique

Considérant que les mesures d'activité enzymatique mettent en évidence des contradictions entre les chiffres présentés dans le document fourni et dans l'annexe correspondante ;

Considérant d'autre part que la méthode d'analyse de l'activité est rapportée dans une annexe absente du dossier ;

Critères de pureté

Considérant que, selon le pétitionnaire, 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 toutefois que les bulletins d'analyse chimique et biologique sur trois lots de fabrication n'ont pas été fournis ;

Données de sécurité

Considérant que différentes études ont été réalisées à partir de la préparation enzymatique lyophilisée avant l'addition d'agents conservateurs ;

Considérant que :

- les tests de toxicité orale (toxicité aigue chez le rat et toxicité sub-chronique à 13 semaines chez le chien Beagle et le rat) n'ont pas mis en évidence d'effet toxique ;
- les tests de palatabilité à 2 semaines chez le chien Beagle et le rat n'ont pas mis en évidence de différence de palatabilité jusqu'à la dose maximale testée dans le régime ;
- les tests de mutagenèse *in vitro* (tests d'Ames sur *Salmonella typhimurium*) n'ont pas mis en évidence d'effet mutagène ;
- les tests d'aberration chromosomique *in vitro* sur cellules de lymphocytes humains n'ont pas mis en évidence d'effet clastogène ;
- la marge de sécurité déterminée est satisfaisante (rapport de la dose sans effet observé établie par l'étude de toxicité à 13 semaines, et de l'estimation de la consommation maximale de l'enzyme susceptible de se trouver dans la denrée alimentaire),

¹ Generally Recognized As Safe

² Food and Drug Administration

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que, en l'absence des :

- informations pertinentes sur l'activité enzymatique (résultats et méthode d'analyse),
- précisions sur la souche de production (numéro, méthode de sélection),
- données de pureté chimique et microbiologique de la préparation enzymatique sur plusieurs lots de fabrication,

les éléments fournis dans le dossier ne permettent pas de s'assurer de l'innocuité sanitaire pour le consommateur de l'emploi de cette préparation enzymatique d'alpha-amylase issue d'une souche de *Bacillus stearothermophilus* dans les industries des boissons spiritueuses, de l'amidonnerie, de la brasserie, de la panification et de la boulangerie fine, et rend donc un avis défavorable à cette demande.

Martin HIRSCH