

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 24 février 2015

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une phosphodiesterase I
produite par une souche non génétiquement modifiée de *Leptographium procerum*
pour la production d'extraits de levures**

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Anses a été saisie le 9 décembre 2013 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) pour la réalisation de l'expertise suivante : Demande d'avis relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une phosphodiesterase I produite par une souche non génétiquement modifiée de *Leptographium procerum* pour la production d'extraits de levures.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Ce dossier entre dans le cadre du décret du 10 mai 2011¹ fixant les conditions d'autorisation et d'utilisation des auxiliaires technologiques pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine.

Selon l'article 1 de l'arrêté du 7 mars 2011², le dossier doit être établi selon le guide³ de l'EFSA pour la soumission d'un dossier sur les enzymes alimentaires.

¹ Décret n° 2011-529 du 10 mai 2011 fixant les conditions d'autorisation et d'utilisation des auxiliaires technologiques pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine.

² Arrêté du 7 mars 2011 relatif aux lignes directrices pour la constitution des dossiers de demande d'autorisation d'emploi d'auxiliaires technologiques en alimentation humaine

³ Guidance of EFSA prepared by the Scientific Panel of Food Contact Material, Enzymes, Flavourings and Processing Aids on the Submission of a Dossier on Food Enzymes. *The EFSA Journal* (2009) 1305, 1-26

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

Après consultation du GT « Biotechnologie », réuni les 20 février et 18 septembre 2014, l'Anses a effectué deux demandes de compléments d'information auprès de la DGCCRF, le 5 mars et le 2 octobre 2014. Elles ont fait l'objet de réponses respectivement les 31 juillet 2014 et 22 janvier 2015 permettant de poursuivre l'expertise.

L'expertise collective a été menée par le Groupe de travail (GT) « Biotechnologie » les 20 février 2014, 18 septembre 2014 et 18 février 2015, sur la base de rapports initiaux rédigés par quatre rapporteurs.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT

3.1 Identité de l'enzyme alimentaire⁴

L'enzyme alimentaire est nommée par le pétitionnaire phosphodiesterase I (E.C. 3.1.4.1). Cependant, par comparaison de séquences dans des bases de données, le GT « Biotechnologie » constate que la séquence protéique fournie présente davantage d'identité avec des nucléases S1 (35 %) qu'avec des phosphodiesterases I (10 %).

Une unité d'activité enzymatique de la phosphodiesterase I (5'FDU) est définie dans le dossier, comme la quantité d'enzyme libérant 1 µmol de phosphate à partir de guanosine 2' et 3' monophosphate par minute, à 65 °C et à pH 5,6.

Les caractéristiques de l'enzyme alimentaire sont décrites. Les solides organiques totaux (TOS⁵) sont calculés selon la formule TOS = 100 % - humidité - cendres - diluants. La formulation finale de l'enzyme alimentaire se présente sous forme de poudre ou liquide.

La présence d'activités enzymatiques secondaires est indiquée. L'emploi de la phosphodiesterase I étant réservé à la production d'extraits de levure enrichis en 5' nucléotides, le pétitionnaire n'a pas recherché à identifier ces activités enzymatiques n'étant pas susceptibles de jouer un rôle négatif dans cet usage.

Les critères de pureté chimique et biologique de l'enzyme alimentaire répondent aux exigences de l'arrêté du 19 octobre 2006 modifié⁶. La recherche de souche de production et d'une activité antibactérienne est négative dans l'enzyme alimentaire.

⁴ Définition dans le Règlement (CE) 1332/2008 du parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 : *produit obtenu à partir de plantes, d'animaux ou de micro-organismes ou de produits dérivés, y compris un produit obtenu par un procédé de fermentation à l'aide de micro-organismes qui contient une ou plusieurs enzymes capables de catalyser une réaction biochimique spécifique et qui est ajouté à des denrées alimentaires à des fins technologiques à toute étape de leur fabrication, transformation, préparation, traitement, conditionnement, transport ou entreposage.*

⁵ Total Organic Solids

⁶ Arrêté du 19 octobre 2006 modifié relatif à l'emploi d'auxiliaires technologiques dans la fabrication de certaines denrées alimentaires

3.2 Organisme de production et procédé de fabrication

3.2.1 Organisme de production

La souche de production de l'enzyme alimentaire est la souche de *Leptographium procerum* DS14595 non génétiquement modifiée, sélectionnée après mutagenèse induite par des UV.

Une revue de la littérature sur *Leptographium procerum* montre que cet organisme est un champignon ascomycète ne présentant ni virulence, ni pathogénicité pour l'Homme.

3.2.2 Procédé de fabrication

L'enzyme alimentaire est obtenue par fermentation aérobie suivie d'étapes de séparation du micro-organisme, de concentrations, de purifications et de formulation de l'enzyme. Les additifs et auxiliaires technologiques utilisés dans cette production sont indiqués et leur sécurité documentée.

L'enzyme alimentaire est produite selon les Bonnes Pratiques de Fabrication pour l'alimentation humaine (GMP) et les principes de l'HACCP. L'usine de production est certifiée ISO 22000 : 2011. Les matières premières utilisées sont de qualité alimentaire.

3.3 Réaction et devenir dans les denrées alimentaires

Les produits de réaction de l'activité revendiquée sont des 5' nucléotides et des oligonucléotides.

L'enzyme alimentaire est inactivée par chauffage lors d'évaporation, d'atomisation ou de traitement UHT, étapes présentes dans les procédés de fabrication des extraits de levure présentés par le pétitionnaire.

3.4 Utilité technologique et conditions d'utilisation proposées

L'enzyme alimentaire serait un auxiliaire technologique destiné uniquement à la production d'extraits de levures enrichis en 5' nucléotides, utilisés comme exhausteur de goût. Ces extraits seraient ensuite incorporés dans des denrées et ingrédients alimentaires solides. Le pétitionnaire ne revendique pas d'autorisation d'emploi dans des boissons.

3.5 Exposition alimentaire

La marge de sécurité est calculée selon la méthode du Budget⁷ pour la population générale. Les niveaux de consommation alimentaire utilisés sont basés sur la consommation physiologique maximale, c'est-à-dire une consommation quotidienne de 50 g/kg p.c. de denrées alimentaires solides. Le calcul de la marge de sécurité est fait en considérant que 25 % des denrées solides consommées quotidiennement par la population générale contiennent des extraits de levure à la concentration maximale indiquée par le pétitionnaire et que ces extraits de levure ont été synthétisés en utilisant l'enzyme alimentaire à la dose maximale recommandée avec une activité enzymatique conservée intégralement dans les extraits de levure. La NOAEL⁸ obtenue avec l'étude de toxicité orale sub-chronique pendant 90 jours chez le Rat est de 1000 mg TOS/kg p.c./jour. La marge de sécurité calculée en utilisant cette NOAEL et la consommation quotidienne d'enzyme alimentaire estimée est alors de 654.

3.6 Données toxicologiques

Toutes les études de toxicité ont été réalisées selon les lignes directrices internationales de l'OCDE⁹ et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

⁷ FAO/WHO (2009). Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food: Chapter 6. Dietary exposure assessment of chemicals in food. Environmental health criteria 240, World Health Organization 2009. http://whqlibdoc.who.int/ehc/WHO_EHC_240_9_eng_chapter6.pdf

⁸ No Observed Adverse Effect Level

⁹ Organisation de Coopération et de Développement Economiques

L'étude de toxicité orale sub-chronique pendant 90 jours chez le Rat conclut à une NOAEL¹⁰ de 1000 mg TOS/kg de poids corporel/jour, correspondant à la dose la plus forte testée.

L'étude de mutagénicité *in vitro* (test d'Ames sur quatre souches de *Salmonella* Typhimurium histidine dépendante et une souche d'*Escherichia coli* tryptophane dépendante) n'a pas révélé d'augmentation du nombre de révertants en présence de l'enzyme alimentaire et donc pas d'effet mutagène. Le test d'aberrations chromosomiques *in vitro* sur des lymphocytes périphériques humains, en culture, n'a pas mis en évidence d'effet clastogène ou aneugène de l'enzyme alimentaire. Ces deux tests ne révèlent pas d'effet génotoxique de l'enzyme alimentaire.

3.7 Allergénicité

Le pétitionnaire présente une argumentation sur l'allergénicité de l'enzyme alimentaire. Une recherche bioinformatique réalisée par le GT « Biotechnologie », avec la séquence protéique fournie par le pétitionnaire dans le dossier, ne met pas en évidence d'homologies avec les séquences d'allergènes et de toxines connus selon les deux protocoles (recherche d'une identité supérieure à 35 % sur les différents blocs de 80 acides aminés ou une identité sur 8 acides aminés contigus) et donc ne laisse pas suspecter un potentiel allergique de cette enzyme.

3.8 Conclusion du GT

Au vu des résultats fournis et dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire, le Groupe de travail (GT) « Biotechnologie » n'a mis en évidence aucun facteur de risque sanitaire pour le consommateur vis-à-vis de l'emploi de l'activité enzymatique phosphodiésterasique produite par une souche non génétiquement modifiée de *Leptographium procerum* DS14595 pour la production d'extraits de levures.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Au vu des résultats fournis et dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) n'a pas mis en évidence de risque sanitaire pour le consommateur vis-à-vis de l'emploi de l'activité enzymatique phosphodiésterasique produite par une souche non génétiquement modifiée de *Leptographium procerum* DS14595 pour la production d'extraits de levures. L'Anses rend donc un avis favorable à cette demande.

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Enzyme, auxiliaire technologique, phosphodiésterase I, *Leptographium procerum*, extraits de levure

¹⁰ No Observed Adverse Effect Level