

AVIS

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

relatif à la demande d'autorisation d'emploi d'une alpha-amylase maltogène d'une souche de *Bacillus subtilis* porteuse d'un gène de *Geobacillus stearothermophilus* pour la panification (à l'exception du pain de tradition française), la panification spéciale, la biscuiterie, la pâtisserie et la viennoiserie

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.

1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a été saisie le 30 mars 2011 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 alpha-amylase maltogène d'une souche de *Bacillus subtilis* porteuse d'un gène de *Geobacillus stearothermophilus* pour la panification (à l'exception du pain de tradition française), la panification spéciale, la biscuiterie, la pâtisserie et la viennoiserie.

2. 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, il 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

3. 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 CES « Biotechnologie », réuni le 16 juin 2011, l'Anses a effectué une demande de compléments d'information auprès de la DGCCRF, le 23 juin 2011. Les 4 et 19 juillet et 7 et 13 septembre 2011, l'Anses a reçu des éléments de réponse permettant de poursuivre l'expertise.

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisé (CES) « Biotechnologie », réuni les 16 juin, 11 juillet, 15 septembre 2011 et par voie télématique le 10 octobre 2011.

4. ANALYSE ET CONCLUSION DU CES

4.1 Identité de l'enzyme alimentaire

L'enzyme principale est une glucane 1,4- α -maltodihydrase (ou alpha-amylase maltogène, EC 3.2.1.133). Elle appartient à la famille des glycosyl transférases. Elle dégrade l'amylopectine et réduit le poids moléculaire de l'amylose en générant du maltose à partir des extrémités non réductrices des chaînes.

Aucune activité enzymatique secondaire en quantité significative n'est indiquée par le pétitionnaire.

Les critères de pureté chimique et biologique de la préparation enzymatique répondent aux exigences de l'arrêté du 19 octobre 2006 modifié⁴.

4.2 Organisme de production et procédé de fabrication

4.2.1 Organisme de production

Sécurité du micro-organisme producteur

La souche initiale de *Bacillus subtilis* 168 utilisée est non-pathogène et non-toxinogène.

Obtention de la souche de production

La séquence codante du gène d'intérêt a été isolée d'une souche de *Geobacillus stearothermophilus*, organisme de classe 1. Le transgène est présent sur un plasmide multicopie. La sélection de la souche transformée et le maintien du plasmide se fait sans recours à un gène de résistance à des antibiotiques.

La souche de production de la préparation enzymatique est la souche de *Bacillus subtilis* MAMB-1 (DS 63113). Le HCB⁵ a classé cette souche dans la classe 1, groupe I, confinement L1, pour la production d'alpha-amylase maltogène envisagée.

⁴Arrêté du 19 octobre 2006 modifié relatif à l'emploi d'auxiliaires technologiques dans la fabrication de certaines denrées alimentaires

⁵ Haut Conseil des Biotechnologies

4.2.2 Procédé de fabrication

Le procédé de production de la préparation enzymatique est un procédé de fermentation submergée contrôlée, suivie d'étapes d'inactivation de la souche de production, filtrations, ultrafiltration, atomisation, granulation sur un support de maltodextrine et standardisation de l'enzyme. Les additifs et auxiliaires technologiques utilisés dans cette production doivent être indiqués et leurs sécurités documentées.

La préparation enzymatique est produite selon les Bonnes Pratiques de Fabrication pour l'alimentation et le système de gestion de la qualité appliqué au processus de production. L'usine de production est certifiée à la norme ISO 9001 : 2008. Les matières premières utilisées sont de qualité alimentaire.

4.3 Réaction et devenir dans les denrées alimentaires

Les produits de la réaction de l'alpha-amylase maltogène sont des constituants normaux des aliments. L'alpha-amylase maltogène est inactivée par la cuisson des denrées alimentaires dans les conditions recommandées par le pétitionnaire.

4.4 Utilité technologique et conditions d'utilisation proposées

La préparation enzymatique est un auxiliaire technologique destiné à la biscuiterie, la viennoiserie, la pâtisserie, la panification courante (à l'exception du pain de tradition française) et à la panification spéciale.

Les conditions d'utilisation de la préparation enzymatique dans les denrées alimentaires revendiquées sont présentées par le pétitionnaire.

4.5 Exposition alimentaire

La marge de sécurité calculée est de 392 selon la méthode du Budget, méthode maximaliste qui considère que la moitié des denrées solides consommées quotidiennement par la population générale est traitée par l'enzyme à la dose maximale recommandée et que l'activité enzymatique est conservée intégralement.

4.6 Données toxicologiques

Toutes les études de toxicité ont été réalisées selon les lignes directrices internationales de l'OCDE⁶ et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

Le test de toxicité orale aiguë par gavage à la dose maximale de 18900 mg de préparation enzymatique/kg de poids corporel chez le Rat n'a révélé aucun effet néfaste.

L'étude de toxicité orale sub-chronique pendant 90 jours chez le Rat conclut à une NOEL⁷ de 18900 mg de préparation enzymatique/kg de poids corporel/jour soit 1000 mg TOS⁸/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 révélé

⁶ Organisation de Coopération et de Développement Economiques

⁷ No Observed Adverse Effect Level

⁸ Total Organic Solids

aucune augmentation du nombre de révertants en présence de la préparation enzymatique et donc aucun effet mutagène. Le test d'aberrations chromosomiques sur des lymphocytes périphériques humains, en culture, n'a pas mis en évidence d'effet clastogène de la préparation enzymatique. On peut donc conclure de ces deux tests que la préparation enzymatique n'est pas génotoxique.

4.7 Allergénicité

L'évaluation de l'allergénicité de l'alpha-amylase maltogène réalisée par comparaison de séquences, n'identifie pas d'homologies de séquences avec des allergènes et toxines connus.

4.8 Conclusion du CES

Le Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie » estime que l'emploi d'une alpha-amylase maltogène d'une souche de *Bacillus subtilis* porteuse d'un gène de *Geobacillus stearothermophilus* pour la panification (à l'exception du pain de tradition française), la panification spéciale, la biscuiterie, la pâtisserie et la viennoiserie ne présente pas de risque sanitaire pour le consommateur, dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire. Le CES « Biotechnologie » rend donc un avis favorable à cette demande.

5. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) estime que l'emploi d'une alpha-amylase maltogène d'une souche de *Bacillus subtilis* porteuse d'un gène de *Geobacillus stearothermophilus* pour la panification (à l'exception du pain de tradition française), la panification spéciale, la biscuiterie, la pâtisserie et la viennoiserie ne présente pas de risque sanitaire pour le consommateur, dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire. L'Anses rend donc un avis favorable à cette demande.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

Enzyme, auxiliaire technologique, alpha-amylase, *Bacillus subtilis*, *Geobacillus stearothermophilus*, panification, panification spéciale, biscuiterie, pâtisserie, viennoiserie