

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 xylanase
issue d'une souche de *Trichoderma longibrachiatum* porteuse d'un gène muté
codant une xylanase de *Thermopolyspora flexuosa* (synonyme antérieur
Nonomuraea flexuosa) en biscuiterie, viennoiserie, pâtisserie, biscotterie,
panification courante (à l'exception du pain de tradition française)
et panification spéciale**

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 29 mai 2012 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 la demande d'autorisation d'emploi d'une xylanase issue d'une souche de *Trichoderma longibrachiatum* porteuse d'un gène muté codant une xylanase de *Thermopolyspora flexuosa* (synonyme antérieur *Nonomuraea flexuosa*) en biscuiterie, viennoiserie, pâtisserie, biscotterie, panification courante (à l'exception du pain de tradition française) et panification spéciale.

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, 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

Suite à l'expertise d'un dossier de demande d'autorisation d'emploi d'une xylanase issue d'une souche de *Trichoderma longibrachiatum* porteuse d'un gène muté codant une xylanase de *Thermopolyspora flexuosa* (synonyme antérieur *Nonomuraea flexuosa*) en biscuiterie, viennoiserie, pâtisserie, biscotterie, panification courante (à l'exception du pain de tradition française) et panification spéciale, l'Anses a rendu deux avis défavorables le 17 novembre 2010 et le 5 décembre 2011 en raison de données insuffisantes ou d'imprécisions du dossier.

Le 29 mai 2012, une suite de dossier portée par le pétitionnaire a été transmise à l'Anses par la DGCCRF. Des informations complémentaires ont également été transmises les 14 juin et 25 juillet 2012.

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) ».

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisé (CES) « Biotechnologie », réuni les 12 juillet et 21 août 2012.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

3.1 Identité de l'enzyme alimentaire

3.1.1 Activité enzymatique principale

L'enzyme est une endo-1,4- β xylanase thermorésistante (E.C. 3.2.1.8 ; CAS 9025-57-4). Elle hydrolyse les liaisons 1,4- β -D-xylosidiques à l'intérieur des chaînes de xylanes et d'arabinoxylanes libérant ainsi des sucres réducteurs.

Le clivage de la protéine de fusion et la maturation de la protéine sont documentés ainsi que la formulation de l'enzyme alimentaire.

Les critères de pureté chimique et biologique de l'enzyme alimentaire répondent aux exigences de l'arrêté du 19 octobre 2006 modifié⁴. La recherche de la souche de production et d'une activité antibactérienne est négative dans l'enzyme alimentaire.

3.1.2 Activités enzymatiques secondaires

La préparation enzymatique contient une activité xylanase mésophile (endogène à la souche hôte *Trichoderma longibrachiatum*) à un niveau substantiel. Les activités xylanase thermostable (activité revendiquée issue de l'expression du transgène) et mésophile (activité endogène de la souche de production) représentent chacune une part plus ou moins importante de l'activité xylanase de l'enzyme alimentaire selon les conditions environnementales. D'autres activités enzymatiques secondaires mineures (cellulase et β -glucanase) sont présentes en raison de la nature de l'organisme de production.

⁴Arrêté 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 la préparation enzymatique est la souche de *Trichoderma longibrachiatum* génétiquement modifiée CBS 114044.

La généalogie de la souche de production est présentée de façon détaillée dans les réponses apportées. Le nombre d'insertion de la cassette d'expression et l'absence d'ADN exogène autre que la cassette d'expression du transgène est confirmée par des hybridations de type Southern blot.

L'utilisation de la nomenclature taxonomique la plus récente des micro-organismes est souhaitée comme l'indique le guide de l'EFSA³ et l'avis de l'Anses du 30 juin 2010 (saisine 2010-SA-0091). L'organisme donneur du transgène doit donc être nommé *Thermopolyspora flexuosa*⁵, le synonyme antérieur *Nonomuraea flexuosa* peut être cité entre parenthèses pour rappel.

3.2.2 Procédé de production

La composition du milieu de culture dans le fermenteur ainsi que les données de sécurité de l'agent anti-mousse utilisé ont été fournies et leurs sécurités documentées de façon suffisante.

3.3 Exposition alimentaire

La marge de sécurité est calculée selon la méthode du Budget, en considérant qu'un pourcentage des denrées solides consommées quotidiennement par la population générale est traité par l'enzyme à la dose maximale recommandée et que l'activité enzymatique est conservée intégralement dans les denrées. La marge de sécurité calculée est alors de 1270. Le pétitionnaire présente également un calcul de marge de sécurité en utilisant des données de consommation alimentaire pour les enfants conduisant à une marge de sécurité de 1639.

3.4 Allergénicité

Une recherche bioinformatique ne met pas en évidence de potentiel allergique de l'activité enzymatique principale. L'immunogénicité de l'enzyme est documentée en raison de la glycosylation de cette protéine.

3.5 Conclusion du CES

Au vu des résultats fournis et dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire, le Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie » n'a mis en évidence aucun facteur de risque sanitaire pour le consommateur vis-à-vis de l'emploi de cette xylanase issue d'une souche de *Trichoderma longibrachiatum* (CBS 114044) porteuse d'un gène muté codant une xylanase de *Thermopolyspora flexuosa* (synonyme antérieur *Nonomuraea flexuosa*) en biscuiterie, viennoiserie, pâtisserie, biscotterie, panification courante (à l'exception du pain de tradition française) et panification spéciale.

⁵ Reclassification of *Nonomuraea flexuosa* (Meyer 1989) Zhang *et al.* 1998 as *Thermopolyspora flexuosa* gen. nov., comb. nov., nom. rev. (Goodfellow *et al.*, 2005)

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 mis en évidence aucun facteur de risque sanitaire pour le consommateur vis-à-vis de l'emploi de cette xylanase issue d'une souche de *Trichoderma longibrachiatum* (CBS 114044) porteuse d'un gène muté codant une xylanase de *Thermopolyspora flexuosa* (synonyme antérieur *Nonomuraea flexuosa*) en biscuiterie, viennoiserie, pâtisserie, biscotterie, panification courante (à l'exception du pain de tradition française) et panification spéciale. L'Anses rend donc un avis favorable à cette demande.

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Auxiliaire technologique, enzyme, xylanase, *Trichoderma longibrachiatum*, *Thermopolyspora flexuosa*, *Nonomuraea flexuosa*, biscuiterie, viennoiserie, pâtisserie, biscotterie, panification, panification spéciale