

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 31 mars 2022

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

relatif à une demande d'extension d'autorisation d'emploi d'une triacylglycérol lipase issue d'une souche non génétiquement modifiée de *Limtongozyma cylindracea* (anciennement nommé *Candida cylindracea*) pour le traitement de la viande et de produits à base de viande

*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 à 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 publiés sur son site internet.*

L'Anses a été saisie le 7 décembre 2021 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'extension d'autorisation d'emploi d'une triacylglycérol lipase issue d'une souche non génétiquement modifiée de *Candida cylindracea* pour le traitement de la viande et des produits à base de viande.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

L'enzyme principale est une triacylglycérol lipase (E.C. 3.1.1.3). Elle hydrolyse préférentiellement les triacylglycérols contenant des acides gras à courtes et moyennes chaînes. Elle est produite par la souche de levure *Candida cylindracea* AE-LAYH non génétiquement modifiée.

Cette triacylglycérol lipase a fait l'objet d'un avis favorable de l'Anses le 31 mars 2017 (Anses, 2017 ; saisine n° 2016-SA-0215) pour la panification (à l'exception du pain de tradition française) et la panification spéciale ainsi que pour la production de produits laitiers utilisés à des fins aromatiques et de matières grasses concentrées en EPA et en DHA. L'emploi de cette enzyme alimentaire a été autorisé suite à son inscription à l'annexe I-C de l'arrêté du 19 octobre 2006 modifié.

L'objet de cette nouvelle saisine est une demande d'extension d'autorisation d'emploi de cette enzyme alimentaire à de nouvelles applications technologiques : le traitement de la viande et de produits à base de viande.

Ce dossier entre dans le cadre du décret 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. Selon l'article 1 de l'arrêté du 7 mars 2011, le dossier doit être établi selon le guide de l'Autorité européenne de sécurité des aliments/European Food Safety Authority (EFSA) (EFSA CEP Panel, 2021) pour la soumission d'un dossier sur les enzymes alimentaires.

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 menée par le groupe de travail (GT) « Biotechnologie » les 20 janvier et 17 février 2022 sur la base d'un rapport initial rédigé par un rapporteur.

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 publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT

Les caractéristiques de l'enzyme alimentaire, le procédé de production et la souche de production (AE-LAYH) ne sont pas modifiés dans cette demande d'extension d'autorisation d'emploi par rapport à la demande d'autorisation initiale.

3.1 Applications technologiques envisagées

En plus des usages déjà autorisés en France, la demande concerne l'utilisation de l'enzyme alimentaire pour le traitement de la viande et des produits à base de viande en tant qu'auxiliaire technologique.

Selon le pétitionnaire, l'ajout de la triacylglycérol lipase dans les pâtes de viande conduirait à la libération d'acides gras à partir des graisses présentes. Les propriétés technologiques de ces acides gras limiteraient la séparation graisse-eau entraînée par les étapes de cuisson des produits à base de viande. La présence de ces acides gras conduirait alors à une moindre évaporation de l'eau et ainsi à une augmentation de la jutosité et à une meilleure répartition des graisses dans les produits à base de viande.

3.2 Réaction et devenir dans les denrées alimentaires

Les produits de réaction de la triacylglycérol lipase sont des acides gras, des mono et diglycérides et du glycérol. Le pétitionnaire montre expérimentalement que l'activité enzymatique de la triacylglycérol lipase est inférieure à la limite de détection dans des aliments transformés à base de viande.

Dans les conditions recommandées par le pétitionnaire, la triacylglycérol lipase est donc inactivée par les étapes de chauffage intervenant dans le traitement de la viande et des produits à base de viande.

3.3 Critères de pureté

Les bulletins d'analyse présents dans le dossier initial (saisine n° 2016-SA-0215) montrent que les critères de pureté chimique et biologique répondent aux exigences de l'arrêté du

19 octobre 2006 modifié.

3.4 Données de sécurité

Depuis 2014, l'EFSA a classé l'espèce *Candida cylindracea*, « qualified presumption of safety » (QPS) uniquement pour la production d'enzyme (EFSA BIOHAZ Panel, 2014). L'actualisation la plus récente de la liste QPS par l'EFSA en 2021 maintient la qualification QPS pour cette espèce et y apporte deux changements en indiquant le nouveau nom de l'espèce *Limtongozyma cylindracea* (synonyme *Candida cylindracea*) et en remplaçant « uniquement pour la production d'enzyme »¹ par « uniquement à des fins de production »² (EFSA BIOHAZ Panel, 2022).

L'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le Rat, présente dans le dossier initial de demande d'autorisation d'emploi de l'enzyme alimentaire (saisine n° 2016-SA-0215), avait permis d'établir une dose sans effet néfaste observée (NOAEL³) de 570 mg TOS⁴/kg de poids corporel/jour.

Le pétitionnaire présente deux modes de calcul de l'exposition alimentaire chronique à la triacylglycéril lipase pour les quatre types d'usage (les trois usages déjà autorisés et le nouvel usage revendiqué) : la méthode du budget et un calcul d'exposition alimentaire en utilisant des données françaises de consommation alimentaire.

La marge de sécurité est calculée selon la méthode du budget pour la population générale (FAO, 2009). Les niveaux de consommation alimentaire utilisés ici sont basés sur la consommation physiologique maximale, c'est-à-dire une consommation quotidienne hors boissons (sauf pour le lait) de 50 g de denrées alimentaires/kg de poids corporel. La méthode du budget n'est plus une méthode conseillée dans le guide de l'EFSA (2021). Toutefois, un calcul selon la méthode du budget étant présenté dans l'avis de l'Anses du 31 mars 2017 (saisine n° 2016-SA-0215), le GT « Biotechnologie » a expertisé ce nouveau calcul et y a apporté une modification mentionnée ci-dessous.

L'exposition alimentaire a été calculée par le GT « Biotechnologie » en considérant que 50 % des denrées alimentaires consommées quotidiennement par la population générale sont traitées par l'enzyme à la dose maximale recommandée pour les usages revendiqués, avec une activité enzymatique conservée intégralement dans les denrées alimentaires. Le choix des 50 % est basé sur l'étendue des catégories de denrées alimentaires où l'usage de l'enzyme est autorisé et pour le nouvel usage, objet de la demande d'extension d'autorisation d'emploi de l'enzyme. Les produits traités par l'enzyme étant des ingrédients entrant dans la composition de denrées complexes, le pétitionnaire présente des pourcentages correctifs sur les calculs d'exposition pour les différentes applications et utilise la dose d'enzyme la plus élevée pour une application, en dehors d'un usage pour la fabrication de compléments alimentaires. Selon les recommandations du pétitionnaire, la dose maximale d'enzyme est celle pour le traitement de la viande et des produits à base de viande, nouvel usage de l'enzyme alimentaire, objet de la demande.

Le rapport de la NOAEL, établie par l'étude de toxicité subchronique pendant 90 jours chez le Rat (570 mg TOS/kg de poids corporel/jour), divisée par la consommation maximale de l'enzyme *via* les denrées alimentaires permet de calculer une marge de sécurité de 1767.

Le pétitionnaire présente également des calculs d'exposition alimentaire chronique à la triacylglycéril lipase, moyennes et au 95^{ème} percentile, pour différentes classes d'âge de la population en utilisant des données de consommation alimentaire françaises présentes dans

¹ QPS only applies when the species is used for enzyme production

² 'QPS applies for 'production purposes only'. QPS applies for 'production purposes only' (the qualification 'for production purpose only' implies the absence of viable cells of the production organism in the final product and can also be applied for food and feed products based on microbial biomass)

³ NOAEL : No Observed Adverse Effect Level/dose sans effet néfaste observé

⁴ Total Organic Solids

la base de données européenne FoodEx⁵ pour les catégories de denrées alimentaires correspondantes à l'ensemble des usages de l'enzyme « Lait et produits laitiers » « Céréales et produits à base de céréales » et « Viande et produits à base de viande ». Pour la catégorie « Produits de régime non standard, substituts d'aliments et compléments alimentaires » dans laquelle sont utilisées les matières grasses concentrées en EPA et en DHA, le pétitionnaire a utilisé les valeurs de consommation les plus élevées en Europe, en raison de l'absence de données de consommation françaises dans la base de données.

Les marges de sécurité les plus faibles, calculées à partir de ces données de consommation et de la NOAEL de l'enzyme sont retrouvées pour la classe d'âge « autres enfants » (3 à 9 ans) et sont de 4638 pour une consommation moyenne et de 2102 chez les forts consommateurs (95^{ème} percentile).

3.5 Allergénicité

Comme indiqué dans l'avis de l'Anses du 31 mars 2017, la comparaison de séquences de la triacylglycérol lipase de *Candida cylindracea* avec la séquence de la cholestérol estérase de *Candida rugosa* identifiée comme allergène respiratoire potentiel (Allergome.org) montre une identité de 86,5 %. Ces homologues laissent supposer un potentiel allergique respiratoire de la triacylglycérol lipase, objet de la demande.

La consommation orale de la triacylglycérol lipase de *Candida cylindracea* via les denrées traitées n'est pas une voie à risque pour ce potentiel allergénique. Mais sur le site de production et lors de la mise en œuvre de l'enzyme, il conviendra de prévenir par des mesures spécifiques de protection des personnels, le risque de sensibilisation par inhalation et par contact cutané d'aérosols ou de particules de cette enzyme alimentaire.

3.6 Conclusion du GT

Au vu des résultats fournis et dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire, le Groupe de travail « Biotechnologie » n'a pas mis en évidence de risque sanitaire pour le consommateur vis-à-vis de l'extension d'autorisation d'emploi de la triacylglycérol lipase issue d'une souche non génétiquement modifiée de *Limtongozyma cylindracea* (anciennement nommé *Candida cylindracea*) (souche AE-LAYH) pour le traitement de la viande et des produits à base de viande.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) endosse les conclusions du GT « Biotechnologie » qui ne met pas en évidence de risque sanitaire pour le consommateur vis-à-vis de l'extension d'autorisation d'emploi de la triacylglycérol lipase issue d'une souche non génétiquement modifiée de *Limtongozyma cylindracea* (anciennement nommé *Candida cylindracea*) (souche AE-LAYH) pour le traitement de la viande et des produits à base de viande. L'Anses rend donc un avis favorable à cette demande.

Au-delà, les travaux d'évaluation conduits ont permis d'identifier un risque de sensibilisation potentiellement associée à l'exposition des travailleurs dans le cadre de la production de cette enzyme. Si cette problématique n'avait pas vocation à faire l'objet d'une instruction particulière dans le cadre de la présente saisine, cette question pourrait, en tant que de besoin, faire l'objet d'évaluation complémentaire.

Dr Roger Genet

⁵ <http://www.efsa.europa.eu/en/datexfoodcdb/datexfooddb.htm>

MOTS-CLÉS

Enzyme, auxiliaire technologique, triacylglycérol lipase, *Candida cylindracea*, *Limtongozyma cylindracea*, viandes, produits à base de viande

Enzyme, processing aid, triacylglycerol lipase, Candida cylindracea, Limtongozyma cylindracea, meat, meat products

BIBLIOGRAPHIE

Anses. 2017. Avis de l'Anses du 31 mars 2017 relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une triacylglycérol lipase issue d'une souche non génétiquement modifiée de *Candida cylindracea* en panification (à l'exception du pain de tradition française) et panification spéciale ainsi que pour la production de produits laitiers utilisés à des fins aromatiques et de matières grasses concentrées en EPA et en DHA. Saisine n° 2016-SA-0215.

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

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.

Décret n° 2011-509 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.

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), 2014. Statement on the update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 1: Suitability of taxonomic units notified to EFSA until October 2014. EFSA Journal 2014;12(12):3938, 41 pp. <https://doi:10.2903/j.efsa.2014>.

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), 2022. Statement on the update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 15: suitability of taxonomic units notified to EFSA until September 2021. EFSA Journal 2022;20(1):7045, 40 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7045>

EFSA CEP panel. 2021. Scientific guidance for the submission of dossiers on Food Enzymes. The EFSA Journal (2021) 19 (10):6851, 37 pp.

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

NF X50-110:2003 Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2022). Avis relatif à une demande d'extension d'autorisation d'emploi d'une triacylglycérol lipase issue d'une souche non génétiquement modifiée de *Limtongozyma cylindracea* (anciennement nommé *Candida cylindracea*) pour le traitement de la viande et des produits à base de viande. (Saisine n° 2021-SA-0215). Maisons-Alfort : Anses, 5 p.