

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

relatif à une demande d'avis d'autorisation d'un essai avec un additif de la catégorie des enzymes chez les vaches laitières

VERSION POUR PUBLICATION

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 25 février 2011 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes d'une demande d'avis d'autorisation d'un essai avec un additif de la catégorie des enzymes chez les vaches laitières.

2. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Ce dossier concerne une demande d'autorisation d'essai d'un additif de la catégorie des enzymes à base d'alpha-amylase, produit par *Bacillus licheniformis* (IUB N° 3.2.1.1) chez des vaches laitières. Ce produit fait actuellement l'objet d'une demande d'autorisation comme additif pour l'alimentation des animaux, dans la catégorie des additifs zootechniques et pour le groupe fonctionnel « améliorateur de digestibilité ». Il est en cours d'évaluation par l'EFSA qui a demandé des informations complémentaires. L'expertise de l'Anses porte sur l'innocuité du produit dans les conditions de l'essai.

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) ».

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisés (CES) «Alimentation animale» réuni le 24 mai 2011 sur la base des données fournies par le pétitionnaire.

Ce dossier est expertisé en conformité avec les lignes directrices définies par les Règlements (CE) n° 1831/2003 et (CE) n° 429/2008.

4. ANALYSE ET CONCLUSION DU CES

Concernant l'identité, la caractérisation et conditions d'utilisation de l'additif, et les méthodes d'analyse

Le produit est une préparation à base d'alpha-amylase (IUB N° 3.2.1.1) produite par fermentation de *Bacillus licheniformis* génétiquement modifié. Le pétitionnaire affirme que le produit, objet de la demande, ne contient pas de microorganisme génétiquement modifié ni d'ADN provenant d'un organisme génétiquement modifié. Le produit est présenté sous deux formes, liquide ou solide, contenant 240 et 160 KNU¹/g respectivement. Les doses recommandées du produit sont de 1,25 à 2,5 g/kg d'aliment sec pour la forme liquide et de 1,875 à 3,75 g/kg d'aliment sec pour la forme solide. Les deux formes du produit ne diffèrent que par l'ajout d'ingrédients qui sont, soit des constituants naturels des matières premières, soit des composés chimiques dont l'absence de toxicité est documentée à la dose utilisée. Les conclusions de l'étude de tolérance pour l'espèce cible et de toxicité chez le rat conduites sur la forme liquide du produit peuvent donc être considérées comme s'appliquant également à la forme poudre du produit utilisé dans la demande d'autorisation de l'essai.

Concernant la sécurité d'utilisation

Sécurité pour l'espèce cible

Un essai de tolérance a été réalisé pendant huit semaines chez 36 vaches laitières réparties en trois lots : un lot ne recevant pas le produit, un lot recevant le produit (sous forme liquide) au taux maximum d'incorporation et un lot recevant 100 fois le taux maximum recommandé. L'administration du produit à 100 fois le taux maximum recommandé n'a induit aucun effet significatif sur l'ingéré alimentaire, le poids corporel, le nombre de mammites, la production et la composition du lait ; seule une diminution significative du nombre de cellules somatiques est observée. Cet essai de tolérance à 100 fois la dose maximale recommandée montre que le produit étudié dans ce rapport est sans risque pour l'espèce cible.

Sécurité pour le consommateur

Deux essais de toxicité génétique ont été réalisés. Un essai de mutation génique² (essai de mutation reverse sur des bactéries ou test d'Ames), a utilisé quatre souches de *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535 et TA 1537) et deux souches d'*Escherichia coli*. Dans les conditions de cette étude, le produit n'induit pas de mutation génique chez *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli*.

Un essai de mutation chromosomique (essai d'aberration chromosomique)³ sur cellules lymphocytaires humaines en culture a été réalisé en utilisant le produit à différentes doses jusqu'à une dose maximale de 5 mg par ml. Il n'est noté, à toutes les concentrations étudiées, aucune augmentation de la fréquence des cellules comportant des aberrations structurales ou numériques, dans les cultures cellulaires contenant le produit par rapport à celles contenant le témoin négatif. Dans les conditions de cette étude, le produit n'a pas induit de mutation chromosomique dans les cellules lymphocytaires humaines en culture. Ces essais montrent que le produit n'est pas mutagène.

Un essai de toxicité subchronique par voie orale chez le Rat⁴, a été réalisé sur quatre lots de 20 rats (10 mâles et 10 femelles) recevant pendant 13 semaines 0 ; 1 ; 3,33 et 10 ml de produit par kg de poids corporel et par jour (correspondant à 0 ; 1669 ; 5507 et 16 689 KNU par kg de poids corporel et par jour). Aucun effet significatif n'a été noté à aucune des trois doses sur la mortalité, d'éventuels signes cliniques (examen ophtalmologique inclus), la consommation alimentaire, le poids corporel, les paramètres hématologiques et le poids des organes à la fin de l'essai. Les seuls

¹ 1 KNU est la quantité d'alpha-amylase libérant 6 µmol de p-nitrophénol par minute à partir de 1,86 mM d'éthylidene-G7-p-nitrophenyl-maltoheptaoside à 37 °C et à pH 7

² Essai réalisé selon la ligne directrice de l'OCDE n°471 et selon les Bonnes Pratiques de Laboratoires (BPL)

³ Essai réalisé selon la ligne directrice de l'OCDE n°473 et selon les BPL

⁴ Essai réalisé selon la ligne directrice de l'OCDE n°408 et selon les BPL

effets significatifs sont une augmentation de la calcémie et de la phosphatémie chez les mâles recevant la dose la plus élevée, une augmentation de la calcémie chez les mâles recevant la dose intermédiaire, une distension visuelle du cæcum chez mâles et deux femelles recevant la dose la plus élevée et une dilatation de la lumière du cæcum chez quatre mâles et trois femelles recevant la dose la plus élevée. Cet essai conduit à la détermination d'une DSEO (Dose Sans Effet Observé) de 3,33 ml/kg de poids corporel par jour, et non pas de 10 ml/kg de poids corporel par jour comme proposé par le pétitionnaire, pour le produit sous forme liquide.

Sécurité pour l'utilisateur

Des essais d'irritation primaire cutanée et oculaire *in vivo*⁵, indiquent que le produit n'est irritant, ni pour la peau, ni pour l'œil. Par ailleurs, des mesures de contrôle de l'exposition (prenant notamment en compte le potentiel sensibilisant du produit par voies respiratoire et cutanée) sont proposées et sont parfaitement acceptables ; différentes phrases de risque figurent sur la fiche de sécurité à la disposition des utilisateurs. Enfin, le produit n'est pas mutagène. Il peut être considéré sans risque pour la santé de l'utilisateur.

Sécurité pour l'environnement

Par sa nature chimique et du fait des processus digestifs spécifiques chez le ruminant, l'enzyme, alpha-amylase, contenue dans le produit n'est pas susceptible d'avoir d'effets sur la matière organique dans le sol et l'eau.

Conclusion

Le Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale » émet un avis favorable à l'autorisation d'essai chez les vaches laitières avec ce produit de la catégorie des enzymes.

5. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail émet un avis favorable à l'autorisation d'essai chez les vaches laitières avec ce produit de la catégorie des enzymes.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

ALIMENTATION ANIMALE, ADDITIF, ENZYME, VACHE LAITIERE, AUTORISATION ESSAI

⁵ Essai réalisé suivant la ligne directrice de l'OCDE n°405 ou n°405 et selon les BPL