



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

Afssa – Saisine n° 2009-SA-0250

Saisine liée n° 2009-SA-0113

Maisons-Alfort, le 4 novembre 2009

AVIS

De l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif aux réponses aux questions sur la demande d'autorisation définitive d'un additif de la catégorie des enzymes à base d'un mélange d'endo-1,3(4)- bêta-glucanase, d'endo-1,4-bêta-glucanase, d'alpha-amylase, de bacillolysine et d'endo-1,4-bêta-xylanase destiné aux porcelets sevrés et aux dindes d'engraissement

Rappel de la saisine :

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 9 septembre 2009 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif aux réponses aux questions sur la demande d'autorisation définitive d'un additif de la catégorie des enzymes à base d'un mélange d'endo-1,3(4)-bêta-glucanase, d'endo-1,4-bêta-glucanase, d'alpha-amylase, de bacillolysine et d'endo-1,4-bêta-xylanase destiné aux porcelets sevrés et aux dindes d'engraissement.

Contexte

L'additif est autorisé de façon définitive chez le poulet à l'engrais (EC 358/2005). Il a été autorisé provisoirement jusqu'au 23 novembre 2004 chez le porcelet, il est autorisé provisoirement jusqu'au 7 mars 2010 chez la dinde à l'engraissement, et jusqu'au 22 octobre 2011 chez la poule pondeuse.

L'additif est une préparation multi-enzymatique contenant au moins 2350 U¹/g d'endo-1,3(4)-bêta-glucanase produite par *Aspergillus aculeatus* (CBS 589.94), 4000 U²/g d'endo-1,4-bêta-glucanase produite par *Trichoderma longibrachiatum* (CBS 592.94), 400 U³/g d'alpha-amylase produite par *Bacillus amyloliquefaciens* (DSM 9553), 450 U⁴/g de bacillolysine produite par *Bacillus amyloliquefaciens* (DSM 9554) et 20 000 U⁵/g d'endo-1,4-bêta-xylanase produite par *Trichoderma viride* (NIBH FERM BP 4842). Les activités minimales recommandées par le pétitionnaire dans l'aliment du porc après sevrage sont de 1175 U/g d'endo-1,3(4)-bêta-glucanase, de 2000 U/g d'endo-1,4-bêta-glucanase, de 200 U/g d'alpha-amylase, de 225 U/g de bacillolysine et de 10 000 U/g d'endo-1,4-bêta-xylanase⁶. En dinde, les activités minimales recommandées par le pétitionnaire sont de 587 U/g d'endo-1,3(4)-bêta-glucanase, de 1000 U/g d'endo-1,4-bêta-glucanase, de 100 U/g d'alpha-amylase, de 112 U/g de bacillolysine et de 5 000 U/g d'endo-1,4-bêta-xylanase⁷ par kg d'aliment.

¹ 1 U d'endo-1,3(4)-bêta-glucanase est la quantité d'enzyme libérant 0,0056 µmoles de sucres réducteurs (équivalents glucose) à partir de bêta-glucane d'orge par min à pH 7,5 et 30°C.

² 1 U d'endo-1,4-bêta-glucanase est la quantité d'enzyme libérant 0,0056 µmoles de sucres réducteurs (équivalents glucose) à partir de carboxyméthylcellulose par min à pH 4,8 et 50°C.

³ 1 U d'alpha-amylase est la quantité d'enzyme libérant 1 µmole de glucose à partir d'amidon réticulé par min à pH 7,5 et 37°C.

⁴ 1 U de bacillolysine est la quantité d'enzyme qui solubilise 1 µg de substrat azocaséine par min à pH 7,5 et 37°C.

⁵ 1 U d'endo-1,4-bêta-xylanase est la quantité d'enzyme libérant 0,0067 µmoles de sucres réducteurs (équivalents xylose) à partir de xylane de bouleau par min à pH 5,3 et 50°C.

⁶ Ceci correspond donc théoriquement à l'addition de 0,5 kg de l'additif/tonne d'aliment complet

⁷ Ceci correspond donc théoriquement à l'addition de 0,25 kg de l'additif/tonne d'aliment complet

27-31, avenue
du Général Leclerc
94701

Maisons-Alfort cedex
Tel 01 49 77 13 50
Fax 01 49 77 26 13
www.afssa.fr

REPUBLIQUE
FRANÇAISE

Dans son avis du 22 juillet 2009, l'Afssa considérait que les éléments scientifiques fournis étaient insuffisants pour démontrer l'efficacité de l'additif, compte tenu du fait que :

- il n'avait pas été démontré que les activités de certaines enzymes étaient représentatives de toutes les enzymes du produit.
- certaines activités enzymatiques du produit étaient supérieures à celles revendiquées.
- des mesures systématiques d'activité enzymatique des aliments étaient absentes.

Suite à cet avis, le pétitionnaire a apporté des réponses aux questions de l'Afssa. Il est donc demandé à l'Agence de se prononcer sur ces nouveaux éléments.

Méthode d'expertise

La demande initiale ayant été déposée avant la date d'application du règlement CE n°429/2008, ce dossier entre dans le cadre de la directive 70/524/CEE modifiée et doit être établi selon les lignes directrices fixées par la directive 87/153/CEE modifiée, conformément à l'article 25 du règlement (CE) n°1831/2003 qui énonce les mesures transitoires applicables aux demandes d'autorisation d'additifs pour l'alimentation animale présentées conformément à la directive 70/524/CEE avant la date d'application du règlement (CE) n°1831/2003.

Le dossier est expertisé en conformité avec les lignes directrices définies par le SCAN : "Guidelines for the assessment of additives in feedingstuffs - Part II : Enzymes and microorganisms." (octobre 2001).

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale », réuni le 20 octobre 2009, l'Afssa émet l'avis suivant :

Argumentaire

Le dossier présente, outre une réponse à une question émanant de l'Allemagne, les réponses du pétitionnaire à la conclusion générale de l'avis, à la question relative à l'essai d'efficacité 1 chez les porcelets ainsi qu'à la question relative à l'essai d'efficacité 1 chez les dindes d'engraissement.

Essais d'efficacité chez le porcelet

Pour ces essais, quatre remarques avaient été formulées par l'Afssa dans l'avis du 22 juillet 2009 :

- 1- Le pétitionnaire revendiquait cinq activités enzymatiques présentes dans son additif, mais toutes ces activités n'avaient pas été déterminées dans les aliments testés : seules deux activités étaient déterminées dans les deux premiers essais (à Ukzuz et Piacenza), et une ou deux activités selon les aliments dans le troisième essai (à Piacenza).
- 2- Les activités cellulases, protéases et xylanases étaient beaucoup plus élevées que les activités minimales déclarées.
- 3- L'essai 1 avait été réalisé dans trois élevages différents sur des porcs de deux types génétiques [LW x (LW x LR) et Piétrain x Hampshire x (LW x LR)] : ces facteurs n'avaient pas été pris en compte dans l'analyse statistique.
- 4- Les données brutes du deuxième essai n'étaient pas fournies.

Analyse des réponses du pétitionnaire :

- 1- Pour le pétitionnaire, le rapport entre les cinq activités enzymatiques présentes dans le mélange initial reste constant, quelles que soient les manipulations ultérieures. L'Afssa estime que ce fait n'est pas forcément vérifié, notamment en cas de traitement thermique (utilisé lors de la granulation). Par ailleurs, l'Afssa avait estimé que, en présence de plusieurs activités enzymatiques, chaque activité devait être mesurée dans les aliments utilisés pour les essais.
- 2- Le pétitionnaire indique que, compte tenu du système de production et du procédé de purification basique des protéines, le produit enzymatique brut peut renfermer d'autres enzymes en faible quantité, d'où une augmentation possible des niveaux d'activités enzymatiques déjà présentes, variable d'une fabrication à l'autre. Ces activités supplémentaires sont prises en compte dans la détermination par calcul de toutes les activités enzymatiques non mesurées. L'Afssa indique que les activités cellulase, protéase et xylanase estimées sont beaucoup plus élevées, et de façon très variable, que les activités minimales revendiquées (avec des facteurs multiplicatifs compris entre 2 et 9). Par ailleurs, les activités réellement mesurées sont elles aussi très supérieures aux doses revendiquées.
- 3- Le pétitionnaire précise qu'il a réalisé l'essai 1 en cinq répétitions à trois endroits différents, avec deux types génétiques. Dans chaque répétition, tous les porcelets étaient élevés dans des conditions identiques. Le pétitionnaire estime que les différences de type génétique peuvent augmenter la variance inter-essais, ce qui rend plus difficile la démonstration de différences significatives entre les lots. L'Afssa considère que, faute d'analyse appropriée, cet essai n'est pas recevable.
- 4- Les données brutes de l'essai 2 ne sont pas présentées. Par conséquent, cet essai n'est toujours pas recevable.

Essais d'efficacité chez la dinde d'engraissement

Pour ces essais, l'Afssa avait formulé plusieurs remarques :

- 1- Le pétitionnaire n'avait mesuré que deux activités enzymatiques dans l'essai 1 (et pas dans tous les aliments) et une seule dans les essais 2 et 3, alors qu'il revendique cinq activités enzymatiques.
- 2- Les activités alpha-amylase et cellulase mesurées variaient de 65 à 373% de la dose revendiquée.
- 3- Dans l'essai 1, la dose revendiquée n'était pas testée.
- 4- Dans l'essai 2, des réductions d'effectifs étaient réalisées chez les dindons mâles à 12 semaines, sans justification.

Analyse des réponses du pétitionnaire :

- 1- Les remarques concernant les dindes sont les mêmes que pour les porcelets. Le dosage de toutes les activités enzymatiques dans les aliments aurait dû être effectué sur tous les aliments de l'essai 1.
- 2- Le pétitionnaire ne fournit pas de réponse quant à la variabilité des taux de recouvrement.
- 3- Le pétitionnaire modifie la dose recommandée à 500 g/t, qui correspond à l'une des doses de l'essai 1.
- 4- Le pétitionnaire n'apporte pas de réponse concernant les critères de tri des animaux en cours d'essai.

Conclusions et recommandations

Considérant que toutes les activités enzymatiques dans tous les aliments n'ont pas été mesurées pour le porc et la dinde à l'engraissement ;

Considérant que certaines activités mesurées sont très supérieures à celles revendiquées ;

Considérant le caractère inapproprié de l'analyse statistique chez le porc ;

Considérant que les données brutes de l'essai 2 chez les porcelets ne sont pas fournies ;

Considérant qu'il manque des précisions sur la conduite des essais 1 et 2 chez les dindes à l'engraissement ;

L'Afssa émet un avis défavorable sur les réponses aux questions apportées par le pétitionnaire et, par conséquent, à la demande permanente d'autorisation d'un additif de la catégorie des enzymes à base d'un mélange d'endo-1,3(4)-bêta-glucanase, d'endo-1,4-bêta-glucanase, d'alpha-amylase, de bacillolysine et d'endo-1,4-bêta-xylanase destiné aux porcelets sevrés et aux dindes d'engraissement.

Le Directeur général de l'Agence française de
sécurité sanitaire des aliments

Marc MORTUREUX

Mots clés : enzymes, autorisation définitive, dinde, porcelet, additif, alimentation animale