

Maisons-Alfort, le 16 août 2006

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une protéase issue d'une souche de *Geobacillus caldoproteolyticus* Rokko non transformée pour la production d'hydrolysats de protéines

Par courrier reçu le 21 avril 2006, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 19 avril 2006 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une protéase issue d'une souche de *Geobacillus caldoproteolyticus* Rokko non transformée pour la production d'hydrolysats de protéines, adressée par le bureau C2. Un complément au dossier a été reçu le 28 avril 2006.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie », réuni le 15 juin 2006, l'Afssa rend l'avis suivant :

Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

Activité enzymatique principale

Considérant que l'enzyme est une protéase, plus précisément une métalloendopeptidase extracellulaire et thermostable (EC 3.4.24.27) ;

Considérant que l'enzyme hydrolyse les liaisons peptidiques avec une segmentation préférentielle pour Leu>Phe ;

Considérant qu'aucune donnée expérimentale ne confirme ces affirmations ;

Activités enzymatiques secondaires

Considérant qu'aucune activité enzymatique secondaire n'a été recherchée à la température d'utilisation de la préparation enzymatique recommandée par le pétitionnaire ;

Considérant qu'une activité phospholipasique faible a été mise en évidence à 37 °C ;

Applications technologiques

Considérant que la préparation enzymatique est un auxiliaire technologique destiné la production d'hydrolysats de protéines ;

Souche de production

Considérant que la souche de production de la préparation enzymatique est la souche *Geobacillus caldoproteolyticus* Rokko AZ3173s, non génétiquement modifiée ;

Procédé de fabrication de la préparation enzymatique

Considérant qu'une préparation enzymatique doit être issue d'un unique protocole précis : conditions de fermentation et procédé de purification jusqu'à la standardisation de la préparation enzymatique ;

Considérant que ce protocole doit être décrit de façon complète dans le dossier de demande d'autorisation ;

Considérant que le pétitionnaire indique des procédés de production différents selon le site de production ;

Préparation enzymatique

Critères de pureté

Considérant que les critères de pureté chimique et biologique répondent aux exigences de l'arrêté du 5 septembre 1989 relatif à l'emploi de préparations enzymatiques dans la fabrication de certaines denrées et boissons destinées à l'alimentation humaine ;

Données de sécurité

Considérant que toutes les études de toxicité ont été réalisées selon les lignes directrices internationales de l'OCDE¹ et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire ;

Considérant que le test de toxicité orale sub-chronique à 90 jours chez le rat n'a pas mis en évidence d'effet délétère et a permis de fixer la valeur NOAEL² à 21,5 mg d'enzyme/kg de poids corporel/jour ;

Considérant que l'étude de mutagénicité *in vitro* (test d'Ames sur des souches de *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli* auxotrophes) n'a révélé aucune augmentation du nombre de révertants en présence de la préparation enzymatique ;

Considérant que 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 ;

Considérant que le facteur de sécurité calculé (rapport de la dose sans effet observé, établie par l'étude de toxicité à 90 jours, sur l'estimation de la consommation maximale de l'enzyme susceptible de se trouver dans la denrée alimentaire) est de 715 pour les hydrolysats de protéines ;

Devenir de la préparation enzymatique dans le produit final

Considérant que l'inactivation de l'enzyme dans le produit fini n'est pas démontrée,

Conclusion :

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime qu'en l'absence de :

- démonstration de l'activité enzymatique principale,
- recherche des activités enzymatiques secondaires,
- présentation d'un procédé de production unique et précis,

l'absence de risque sanitaire pour le consommateur lié à l'emploi d'une protéase issue d'une souche de *Geobacillus caldoproteolyticus* Rokko non transformée pour la production d'hydrolysats de protéines (AZ3173s), ne peut être garantie dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire. L'Afssa rend donc un avis défavorable à cette demande.

Pascale BRIAND

¹ Organisation de Coopération et de Développement Economiques

² No Observed Adverse Effect Level