



AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
DES ALIMENTS

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Afssa – Saisine n° 2006-SA-0308

Saisine liée n° 2006-SA-0132

Maisons-Alfort, le 22 février 2007

## AVIS<sup>1</sup>

### 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 7 novembre 2006, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 3 novembre 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.

#### Contexte du dossier :

Suite à l'expertise d'un dossier de 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, l'Afssa a rendu un avis défavorable le 16 août 2006. En raison d'éléments manquants et d'imprécisions dans le dossier (concernant la démonstration des activités enzymatiques principale et secondaires, la restriction de la demande à un seul procédé de production et l'inactivation de l'enzyme dans le produit fini), l'Afssa ne pouvait pas garantir l'absence de risque sanitaire pour le consommateur, dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire.

Le 3 novembre 2006, le pétitionnaire a apporté des informations complémentaires sur lesquelles, après consultation du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie », réuni le 21 décembre 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 permet de prouver que la seule activité protéase est celle de la protéine résultante du gène ;

Considérant qu'un zymogramme réalisé sur la préparation enzymatique, à 50 °C, serait susceptible d'exclure l'existence de protéases endogènes de la souche et de montrer que l'activité protéase revendiquée est majoritaire ;

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

<sup>1</sup> Cet avis intègre les modifications apportées par l'erratum du 25 juin 2007, dans le chapitre Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action sous-chapitre Activité enzymatique principale, rectifiant le mot « transgène » en « gène » dans le troisième paragraphe et la proposition « souche hôte » en « souche » dans le quatrième paragraphe.

#### 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, soit 50 °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 des lots de préparation enzymatique issus de différents sites de production devraient être comparés entre eux en terme de profil protéique, d'activités enzymatiques principale et secondaires ;

#### Devenir de la préparation enzymatique dans le produit final

Considérant que l'inactivation de l'enzyme dans le produit fini n'est pas démontrée car à la température d'inactivation indiquée, l'enzyme présente 60 % de son activité maximale,

#### 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 fabrication de la préparation enzymatique,
- preuve de l'inactivation de l'enzyme dans le produit fini,

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 deuxième demande.

**Mots clé :** enzyme, auxiliaire technologique, protéase, *Geobacillus caldoproteolyticus*, hydrolysats de protéines.

Pascale BRIAND