



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

Maisons-Alfort, le 16 juin 2009

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation d'essai d'un additif de la catégorie des enzymes à base de protéase pour les porcelets sevrés

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Rappel de la saisine :

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 6 avril 2009 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis sur une autorisation d'essai d'un additif de la catégorie des enzymes à base de protéase pour les porcelets sevrés.

Contexte et méthode d'expertise

Ce dossier concerne une demande d'autorisation d'essai d'un additif de la catégorie des enzymes à base de protéase pendant la période de post-sevrage des porcelets. En complément d'un descriptif succinct de l'essai envisagé, le dossier fournit des éléments sur l'identité, la caractérisation et les méthodes d'analyse de l'additif, ainsi que les résultats des études de toxicité.

Par ailleurs, ce produit est en cours d'évaluation par l'AESA dans le cadre d'une demande d'autorisation pour les poulets à l'engrais.

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

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale », réuni le 26 mai 2009, l'Afssa émet l'avis suivant :

Argumentaire

Ce dossier comporte un descriptif du protocole expérimental envisagé et un dossier technique sur l'additif en deux parties :

- La 1^{ère} partie correspond à la section II relatif à l'identité, la caractérisation et les conditions d'utilisation de l'additif, et les méthodes d'analyse ;
- La 2^{ème} partie correspond à la section IV relative à la sécurité d'utilisation de l'additif.

Concernant le protocole envisagé

L'essai prévu porte sur 360 porcelets pendant la phase de post-sevrage (entre 8 et 30 kg de poids vif). Les animaux sont répartis entre trois lots : un lot témoin négatif (- 4% de protéines et d'acides aminés de synthèse), et deux lots recevant le même aliment supplémenté par

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

10 000 ou 20 000 PROT¹/kg d'aliment. Ces animaux sont ensuite élevés pendant toute la période d'engraissement (12 semaines jusqu'à leur abattage).

Il n'est pas prévu de lot témoin positif dans le protocole présenté.

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

Le produit est une préparation à base de protéase à sérine (IUB No.3.4.21-) produite par fermentation de *Bacillus licheniformis* génétiquement modifié. Le pétitionnaire affirme que le produit ne contient pas de microorganisme génétiquement modifié ni d'ADN provenant d'un organisme génétiquement modifié, et que sa fabrication ne fait appel à aucun matériaux d'origine animale ou humaine. La taille moyenne des particules est de 500 µm. L'additif, présenté sous forme granulée, a une activité de 75 000 PROT/g. Cette activité est déterminée par dosage colorimétrique à 405 nm du chromogène p-nitroaniline (pNA) libéré. La dose d'additif recommandée est de 200 g/t d'aliment.

Concernant la section IV relative à la sécurité d'utilisation

Essai sur espèce cible

Les résultats d'un essai réalisé en France sur 124 porcelets âgés de 28 jours et supplémentés pendant 32 jours par de la protéase sont présentés.

L'essai comporte quatre lots : un témoin négatif (aliment pauvre en lysine), un témoin positif (aliment « normal ») et deux lots dont l'aliment est pauvre en lysine et supplémenté par 20 000 et 100 000 PROT/kg d'aliment. Les résultats de cet essai indiquent que le gain moyen quotidien (GMQ) et l'indice de consommation (IC) sont meilleurs chez les porcs consommant l'aliment « normal » (respectivement +9% et -18%) ou l'aliment supplémenté par 20 000 PROT/kg (respectivement +12% et -7%) que chez les témoins négatifs. Par rapport au témoin négatif, le GMQ est plus faible (-8%) et l'IC peu modifié (+2%) à la dose de 100 000 PROT/kg d'aliment. Aucun animal n'est mort ou n'a dû être abattu en cours d'essai dans ce lot, mais les performances sont dégradées par rapport au lot supplémenté par 20 000 PROT/kg d'aliment (-18% pour le GMQ, +10% pour l'IC). Le rapport ne fait état d'aucune autre mesure sur des lésions d'organes des animaux supplémentés et les résultats ne sont pas analysés statistiquement. Cet essai ne peut donc pas être considéré comme un test de tolérance.

Autres essais de toxicité

Le dossier présente les essais suivants :

- un essai de toxicité par administration orale répétée pendant 13 semaines chez le rat Sprague-Dawley, aux doses de 0, 50, 165 et 500 mg de TOS (total organic solids) par kg de poids corporel, sous un volume de 5 ml/kg, qui permet de conclure à une dose sans effet toxique (NOAEL) supérieure à 500 mg de TOS/kg de poids corporel/jour, correspondant sensiblement à 487 500 unités de protéase/kg/j et à 6,5 g d'additif/kg de poids corporel/j, donc très supérieure à la dose recommandée ;
- deux tests de mutagenèse, avec et sans activation métabolique (Ames et lymphocytes humains), qui sont négatifs ;
- un test d'irritation primaire cutanée chez le Lapin, qui montre que l'additif est irritant pour la peau ;
- un test d'irritation primaire oculaire chez le Lapin, qui est négatif.

Ces essais ont été conduits selon les bonnes pratiques de laboratoires.

¹ Une unité de protéase Ronozyme[®] ProAct[™] (PROT) est la quantité d'enzyme libérant 1 µmol de p-nitroaniline à partir de 1 mM de substrat (Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA) par minute, à pH 9,0 et à 37°C.

Ces données toxicologiques sont recevables et valident les recommandations de manipulation de l'additif.

Conclusions et recommandations

En l'absence d'un essai de tolérance sur espèce cible, l'Afssa émet un avis défavorable à la demande d'autorisation d'essai d'un produit à base d'enzyme chez le porcelet sevré.

Mots clés : alimentation animale, enzyme, protéase, porcelets sevrés, autorisation d'essai

**La Directrice Générale
Pascale BRIAND**