

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 26 mai 2011

AVIS

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

**relatif à l'évaluation des risques liés aux substances à but nutritionnel ou
physiologique dans l'objectif de restreindre ou interdire leur emploi dans les
denrées alimentaires**

1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 11 septembre 2007 par la Direction générale de la santé, la Direction générale de l'alimentation et la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes d'une demande d'évaluation relative aux substances à but nutritionnel ou physiologique dont l'emploi dans les denrées alimentaires devrait être restreint ou interdit.

Le présent avis est rédigé selon le plan suivant :

1. RAPPEL DE LA SAISINE	1
2. CONTEXTE	2
3. METHODE D'EXPERTISE	3
3.1. Délimitation du champ d'expertise	3
3.2. Méthode de travail	3
4. ARGUMENTAIRE	4
4.1. Introduction générale sur l'enrichissement des denrées alimentaires en nutriments ou substances	4
4.1.1. Considérations générales sur l'enrichissement	4
4.1.2. Niveaux d'enrichissement	7
4.1.3. Spécificité de l'enrichissement en « autres substances » par rapport à l'enrichissement en vitamines et minéraux	7
4.1.4. Vers une analyse bénéfique/risque	8
4.2. Illustration des limites de l'évaluation des risques liés à l'enrichissement en « autres substances ».	9
4.2.1. Cas des acides aminés	9
4.2.2. Cas des glucides (dont les fibres alimentaires)	14
4.2.3. Cas des CLA	17
4.2.4. Cas des phyto-estrogènes	19
5. CONCLUSION GENERALE	22

2. CONTEXTE

La saisine se place dans le cadre du règlement européen n°1925/2006 relatif à l'enrichissement des denrées alimentaires en vitamines et minéraux et en autres substances et ingrédients les contenant. Bien que regroupées par un même règlement, les approches réglementaires concernant les vitamines et minéraux, d'une part, et les autres substances d'autre part, sont différentes. Le règlement prévoit en effet une liste positive de vitamines et minéraux alors que pour les autres substances à but nutritionnel ou physiologique, est prévue une démarche par listes négatives. Le volet relatif aux vitamines et minéraux a été traité dans une précédente saisine (2007-SA-0315).

Le règlement, au chapitre I, article 2, définit comme « autres substances », « toute substance, autre qu'une vitamine ou un minéral, qui possède un effet nutritionnel ou physiologique ».

Le terme « certaines autres substances » est donc susceptible de regrouper « des acides aminés, des acides gras essentiels, des fibres et autres glucides, diverses plantes et des extraits végétaux » comme évoqué dans le considérant préliminaire 1.

Les dispositions liées à l'adjonction des « autres substances » aux denrées alimentaires (chapitre III, article 8) sont appliquées si « une substance autre que des vitamines ou des minéraux, ou un ingrédient contenant une substance autre que des vitamines ou des minéraux, est ajouté à des aliments ou utilisé dans la fabrication d'aliments, de sorte qu'il en résulterait une ingestion de quantités de cette substance dépassant considérablement celles qui sont raisonnablement susceptibles d'être ingérées dans des conditions normales de consommation liées à un régime alimentaire équilibré et varié et/ou pouvant représenter pour d'autres raisons un risque potentiel pour le consommateur ».

De sa propre initiative ou sur la base des informations communiquées par les États membres, la Commission peut prendre la décision, après une évaluation dans chaque cas par l'Autorité des informations disponibles, et conformément à la procédure visée à l'article 14, paragraphe 2, d'inscrire, si nécessaire, la substance ou l'ingrédient à l'annexe III. En particulier :

- a) si un effet nocif pour la santé a été identifié, la substance et/ou l'ingrédient la contenant est inscrit :
 - i) soit à l'annexe III, partie A, et son adjonction à des aliments ou son utilisation dans la fabrication d'aliments est alors interdite ;
 - ii) soit à l'annexe III, partie B, et son adjonction à des aliments ou son utilisation dans la fabrication d'aliments n'est alors autorisée que dans les conditions qui y sont spécifiées ;
- b) si la possibilité d'effets nocifs pour la santé est identifiée, mais qu'il subsiste une incertitude scientifique, la substance est alors inscrite à l'annexe III, partie C.

Dans ce contexte, la demande conjointe de la DGCCRF, DGAL et DGS porte spécifiquement sur les points suivants :

« Dans un premier temps, il est demandé à l'Afssa d'élaborer la synthèse :

- des avis qu'elle a produits concernant l'adjonction à des denrées alimentaires de substances possédant des effets nutritionnels ou physiologiques. [...] C'est par exemple le cas du coenzyme Q10 ou du lycopène.
- des réflexions plus générales que l'Agence a menées sur certaines familles de substances (phyto-estrogènes, CLA...) et qui l'ont dans certains cas conduite à proposer des restrictions à l'emploi de ces familles de substances ou des interdictions.

Dans les deux cas, ces avis devront si nécessaire être actualisés à la lumière d'éventuelles données scientifiques plus récentes. En tout état de cause, les recommandations de l'Afssa pourront alors être exploitées en vue de proposer l'inscription aux annexes III-A et III-B du règlement (CE) n°1925/2006 des substances identifiées.

Dans un deuxième temps, l'Afssa pourra proposer une liste complémentaire de substances pour lesquelles de possibles effets nocifs ont été identifiés et qui devraient en priorité faire l'objet d'une évaluation des risques. Les éléments scientifiques laissant supposer un risque devront être clairement mentionnés. Les recommandations de l'Agence pourront alors être transmises au niveau communautaire pour demander l'inscription de ces substances à l'annexe III-C du règlement (CE) n°1925/2006.

Enfin, le règlement s'appuie sur les quantités de substances « raisonnablement susceptibles d'être ingérées dans des conditions normales de consommation dans le cadre d'un régime alimentaire équilibré et varié ». Cette notion, qui n'est pas définie de manière claire, mérite d'être étudiée si les autorités françaises souhaitent exploiter au mieux les dispositions de ce texte. »

3. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisés (CES) « Nutrition Humaine » réuni les 20 novembre 2008, 23 avril 2009 et 30 septembre 2010, sur la base des travaux préliminaires d'un sous-groupe d'experts du CES « Nutrition Humaine ».

3.1. Délimitation du champ d'expertise

Compte tenu des éléments présentés dans le règlement, sont susceptibles d'être regroupés sous le terme « certaines autres substances » :

- des macro- et micronutriments, autres que vitamines et minéraux, à savoir acides aminés, acides gras essentiels, fibres et autres glucides ;
- des substances chimiquement définies ;
- des probiotiques ;
- des plantes, des algues, des champignons, ainsi que leurs extraits et les denrées qui les contiennent.

Ainsi, la catégorie des certaines autres substances regroupe un ensemble hétérogène de substances, tant au niveau de leur nature que des connaissances scientifiques disponibles.

L'Afssa a rendu plusieurs avis sur :

- les risques liés à la consommation de plantes et de leurs extraits : rapport « Evaluation de la sécurité des denrées alimentaires contenant des plantes destinées à la consommation humaine » (Afssa 2003b), avis du 21 décembre 2007 (Afssa 2007d) concernant un projet d'arrêté relatif à l'emploi de plantes et préparations de plantes dans la fabrication des compléments alimentaires, avis du 14 décembre 2007 (Afssa 2007c) relatif à 6 plantes pour lesquelles l'Afssa dispose de données de vigilance ;
- les risques liés à l'emploi de plantes, algues et champignons et préparations de plantes, algues et champignons dans la fabrication des compléments alimentaires (Afssa 2007d; Afssa 2008c; Afssa 2008d).

L'Anses considère que les conclusions de ces avis sont applicables à l'évaluation des risques liés à la consommation des substances évoquées dans l'ensemble des denrées alimentaires, incluant les compléments alimentaires.

De plus, l'Efsa a mené, en lien avec les Etats Membres, des réflexions sur l'utilisation des plantes en alimentation humaine (ESCO¹ Working group on botanicals) (Efsa 2009a).

De ce fait, l'Anses considèrera dans le présent avis uniquement le cas des substances, regroupées sous le terme « autres substances », en dehors des plantes, des algues, des champignons, ainsi que de leurs extraits et des denrées qui les contiennent.

Par ailleurs, l'Anses considère que la réflexion doit prendre en compte l'ensemble des aliments susceptibles d'apporter « certaines autres substances » au-delà de ceux qui sont spécifiquement enrichis. Ainsi, la présence de ces substances dans les compléments alimentaires sera également considérée, à l'identique de la démarche mise en œuvre au niveau national et communautaire pour l'enrichissement en vitamines et minéraux.

3.2. Méthode de travail

L'expertise de l'Anses a été réalisée en deux étapes. Dans un premier temps, l'Anses a dressé une liste des avis et rapports rendus sur certaines des « autres substances » (**Annexe 1**). Ces précédentes évaluations portaient dans la majorité des cas sur des dossiers industriels concernant

¹ Efsa scientific cooperation

des produits de composition, niveaux de consommation, allégations et justificatifs clairement définis. Dans les autres cas, il s'agissait de questions de portée générale sur des substances ou des ingrédients les contenant (phyto-estrogènes, lycopène, huile de lin, etc.)

Dans les avis portant sur des dossiers industriels, les éléments relatifs au risque n'étaient pas systématiquement évoqués et lorsqu'ils l'étaient, ils l'étaient au regard du produit fini et non de la substance.

L'ensemble de ces avis ne peut donc pas constituer une base à l'évaluation du risque dans le cadre de cette saisine. Une évaluation complète du risque a donc été initiée.

Dans un second temps, et à partir de cette première liste de substances, l'Anses a retenu, à titre d'exemple, quatre familles de substances : phyto-estrogènes, acides linoléiques conjugués (CLA), fibres ou autres glucides, et acides aminés.

Ce choix a été motivé par la disponibilité d'éléments relatifs au risque, évoqués dans la littérature, ou de toute autre donnée d'alerte. Ces familles de substances reflètent, par ailleurs, la réalité du marché. L'évaluation de ces familles de substances permettra d'illustrer les difficultés liées à l'évaluation du risque relatif à l'enrichissement en « autres substances ».

Dans le cas où les substances ont été traitées dans le cadre de précédentes réflexions de portée générale, l'évaluation a consisté en : 1) une mise à jour des données lorsqu'une évaluation du risque avait été réalisée auparavant (CLA, phyto-estrogènes), 2) une évaluation complète du risque lorsque seuls les aspects bénéfiques avaient été considérés (fibres).

La sécurité d'utilisation dans les aliments, incluant les compléments alimentaires, de 31 substances a été récemment évaluée (Afssa 2008b).

L'Anses rappelle que pour chacune des substances retenues dans le présent avis, l'évaluation proposée ne peut être considérée comme exhaustive. L'objectif est d'illustrer, à travers quelques exemples, les risques liés à la démarche d'enrichissement. Ainsi, l'absence de référence à une substance ne signifie pas que celle-ci n'est pas susceptible de présenter un risque pour le consommateur dans le cadre d'une démarche d'adjonction.

4. ARGUMENTAIRE

L'argumentaire de l'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail est fondé sur l'avis du Comité d'experts spécialisé « Nutrition humaine » dont les éléments sont présentés ci-dessous :

4.1. Introduction générale sur l'enrichissement des denrées alimentaires en nutriments ou substances

4.1.1. Considérations générales sur l'enrichissement

Les éléments d'analyse présentés dans ce paragraphe s'appliquent aussi bien aux « autres substances » qu'aux vitamines et aux minéraux.

❖ Effets nutritionnels et physiologiques

Selon le règlement, le nutriment ou la substance faisant l'objet de l'enrichissement doit avoir un effet nutritionnel ou physiologique. Toutefois, la définition d'un effet nutritionnel ou physiologique n'est pas précisée. Dans son rapport intitulé « Démarche d'évaluation de la sécurité, de l'intérêt et de l'allégation des denrées alimentaires, contenant des plantes destinées à la consommation humaine », l'Afssa soulignait que « ce qui est nutritionnel ne peut être dissocié de la physiologie. Les nutriments interviennent selon un aspect énergétique et/ou un aspect non énergétique, sur le plan structurel et dans les diverses fonctions de la physiologie de l'organisme. » (Afssa 2003b).

Dans la suite du document, ces effets seront donc identifiés comme « effets nutritionnels/physiologiques ».

L'Anses propose de prendre en compte les éléments suivants :

- Pour les vitamines et minéraux et les « autres substances », pour lesquels il existe des valeurs de référence (comme les Apports nutritionnels conseillés (ANC) en France ou les Dietary reference values (DRV) au niveau européen), il existe des données montrant qu'à ces niveaux d'apport de référence, ces nutriments exercent effectivement un effet nutritionnel/physiologique. De ce fait, l'effet nutritionnel/physiologique ne peut s'exprimer qu'en cas d'inadéquation des apports dans la population ou dans un sous-groupe de population (Afssa 2004b). Ainsi, les enrichissements proposés par les autorités de santé publique concernent des nutriments pour lesquels une insuffisance d'apport ou une déficience dans une partie de la population est avérée. On peut citer les exemples de la vitamine D dans le lait et les produits laitiers ainsi que celui de l'iode et du fluor dans le sel. Dans ces cas, une étude spécifique d'aliments vecteurs appropriés est réalisée afin de s'assurer que l'enrichissement peut améliorer la couverture des besoins de ces populations tout en évitant une surexposition.
- Pour les vitamines et minéraux et les « autres substances » pour lesquels il n'existe pas de références nutritionnelles, l'Anses considère que seule la démonstration d'un intérêt nutritionnel/physiologique spécifique pouvant faire l'objet d'allégations génériques ou particulières autorisées par la Commission Européenne après avis de l'Efsa, devrait permettre une addition aux denrées alimentaires, sous réserves de la démonstration de la sécurité d'emploi.

❖ Risques liés à l'enrichissement

Les risques liés à l'addition de vitamines et minéraux et d'« autres substances » aux denrées alimentaires peuvent être de différentes natures :

- *Risques intrinsèques*

Ce sont les risques toxiques propres aux substances, analysables avec les méthodes de la toxicologie, ce qui suppose l'existence de données issues d'études expérimentales. Concernant les nutriments et les substances déjà présentes dans les aliments et consommés depuis longtemps aux niveaux apportés par les régimes usuels, les études toxicologiques sont fréquemment absentes. Il est alors nécessaire dans ce cas de prendre en compte les données issues d'études épidémiologiques et cliniques à moyen et long terme, qui peuvent remettre en cause l'intérêt d'enrichissements réalisés à des niveaux d'apport considérés comme toxicologiquement sûrs. A titre d'exemple, des études ont remis en cause la sécurité de la supplémentation en bêta-carotène (ATBC 1994; Omenn et al. 1996) ou en antioxydants divers (Bjelakovic et al. 2008). Plus récemment, il a été suggéré que, même dans le cas d'enrichissements définis par les autorités de santé publique, les risques ne sont pas nuls. Le cas de la vitamine B9 témoigne de cette situation. En effet, celle-ci a fait l'objet dans certains pays d'un enrichissement à un niveau déterminé et concernant un nombre limité de vecteurs (farine et autres produits céréaliers), défini par les autorités de santé publique aux fins de prévenir les anomalies de fermeture du tube neural. Toutefois, des données nouvelles amènent à reconsidérer les risques éventuels liés à cet enrichissement au regard du développement de certains cancers (colo-rectal, prostate, sein) (Efsa 2009b). Par conséquent, la généralisation de l'enrichissement à l'ensemble d'une population à partir de résultats issus d'études limitées comporte toujours un risque. Cela impose, en plus d'une évaluation préalable, la mise en œuvre d'outils de surveillance.

- *Risques liés aux modifications de biodisponibilité et aux effets des matrices alimentaires*

Ces risques dépendent du niveau d'apport, mais également de la biodisponibilité de la substance dans l'aliment. Celle-ci peut varier d'une matrice à l'autre, conduisant à des cinétiques d'absorption et de concentrations plasmatiques très différentes, et donc des effets biologiques potentiellement différents. Dans le cas du lycopène par exemple, la biodisponibilité est plus élevée pour les formes synthétiques dans un complexe huileux que pour les formes naturelles présentes dans des extraits de purée de tomates (Afssa 2004a). Les nouvelles biotechnologies, notamment les nanotechnologies, peuvent également avoir un impact sur les formes d'apport, et par conséquent sur l'exposition biologique aux substances (Afssa 2009b; Efsa 2009c). Par ailleurs, le cas des substances sans effet de seuil toxique, notamment les substances impliquées dans les réactions immuno-allergiques, doit être considéré.

Ces modifications de biodisponibilité et ces effets de matrice peuvent ainsi conduire à un risque sans que les quantités utilisées soient nécessairement « considérablement » supérieures à « celles qui sont raisonnablement susceptibles d'être ingérées dans des conditions normales de consommation liées à un régime alimentaire équilibré et varié ».

- *Risques liés aux procédés de production (transformations physico-chimiques de la substance)*

Les traitements physico-chimiques appliqués aux aliments peuvent modifier les propriétés physicochimiques des substances ajoutées. De même, des interactions peuvent avoir lieu avec d'autres composants des aliments. Ces modifications qui peuvent avoir lieu au cours des traitements industriels et domestiques, peuvent conduire à une altération potentielle des substances impliquées. L'exemple des acides gras *trans* produits par différents traitements technologiques appliqués aux corps gras peut être cité à cet égard (Afssa 2005a).

- *Risques liés à des métabolites secondaires*

Les métabolites issus des substances ajoutées peuvent présenter des effets biologiques propres. Par exemple, le lycopène comme le bêta-carotène présentent des métabolites secondaires, qui pourraient avoir des effets comparables à ceux du rétinol et de l'acide rétinoïque (Avis du 30 avril 2008, saisine 2007-SA-0306).

- *Risques liés aux interactions entre substances*

L'addition de certaines substances peut modifier la biodisponibilité de nutriments : c'est le cas des phytates qui limitent l'absorption du calcium (Gueguen and Pointillart 2000) ou des théoflavines présentes dans le thé qui limitent l'absorption du fer (Zijp et al. 2000). Il peut également exister des phénomènes de compétition entre les différentes substances par exemple du fait de la prise en charge par les mêmes transporteurs ou par les mêmes enzymes : c'est le cas de la compétition entre les acides gras oméga 6 et oméga 3 vis-à-vis des désaturases (Legrand et al. 2001).

- *Risques liés aux interactions entre substances et médicaments*

Par exemple, l'hespéridine (présente dans les agrumes, notamment) est connue pour interagir avec de nombreux médicaments impliqués dans le traitement de diverses pathologies telles que l'anxiété, la dépression, l'hypertension artérielle, ou le cancer (Afssa 2008b).

- *Risques liés aux caractéristiques spécifiques de certaines sous-populations*

Du fait de leurs conditions physiologiques, certains groupes de population peuvent être plus vulnérables que d'autres. Ainsi, les enfants, les femmes enceintes, les femmes allaitantes ou les personnes âgées présentent des caractéristiques ayant conduit à la définition de références nutritionnelles propres à chacun de ces groupes.

Par ailleurs le polymorphisme génétique peut intervenir, même s'il est pris en compte, au moins partiellement, par l'utilisation d'échelles de population larges. Par exemple, l'ingestion d'acide alpha-lipoïque peut entraîner un syndrome auto-immun chez les personnes génétiquement prédisposées (Afssa 2008b). Ce point est pris en compte, au moins pour les risques connus, dans la réflexion sur les allégations génériques menée par l'Efsa, qui est notamment invitée à donner son avis sur les groupes de population pour lesquels la consommation de la substance pourrait présenter un risque. On peut néanmoins noter que, dans le cas où la prévalence du variant génétique dans la population est faible, il est peu probable qu'une sous-population plus vulnérable puisse être facilement identifiée. Enfin, même si les caractéristiques physiologiques ou génétiques de la population à risque peuvent être identifiées, les individus porteurs de ces caractéristiques ou génotypes l'ignorent le plus souvent. Par exemple, les personnes porteuses d'un gène de susceptibilité aux effets immunotoxiques de l'acide lipoïque l'ignorent la plupart du temps.

- *Risque de surexposition liée à la multiplication des sources alimentaires*

Dans le contexte actuel où le cumul d'apport lié à la consommation de plusieurs aliments vecteurs (compléments alimentaires, aliments enrichis, aliments non enrichis, additifs, etc.) est possible, la surexposition aux substances ne peut être négligée. Près de 20 % des adultes ont consommé au moins un complément alimentaire au cours de l'année précédente et un peu plus de 11 % au cours des 7 jours de l'étude INCA2 (Afssa 2009a). Ces données laissent supposer l'existence d'un risque de surexposition non négligeable.

- *Risques comportementaux*

L'Anses rappelle qu'en dehors de situation d'inadéquation d'apport clairement objectivées les niveaux de consommation de ces « autres substances » doivent résulter d'une alimentation diversifiée et équilibrée et non d'apports supplémentaires. La valorisation des enrichissements par les allégations peut conduire à des modifications de comportement alimentaire. Outre la sélection plus ou moins systématique des produits enrichis qui peut conduire à la surexposition précédemment analysée, les consommateurs pourraient délaisser les aliments naturellement vecteurs de ces « autres substances », ce qui entraînerait des déséquilibres alimentaires et nutritionnels (Mariotti et al. 2010; Hasler 2008).

4.1.2. Niveaux d'enrichissement

Le règlement prévoit que les dispositions liées à l'adjonction des « autres substances » aux denrées alimentaires sont appliquées lorsque ces « autres substances » sont ajoutées à des quantités « dépassant considérablement celles qui sont raisonnablement susceptibles d'être ingérées dans des conditions normales de consommation liées à un régime alimentaire équilibré et varié ».

Cela revient donc pour l'Anses à estimer le niveau d'apport en « autres substances » atteint par l'alimentation courante.

Dans le cas des substances pour lesquelles les données de consommation existent, l'Anses estime que les quantités « raisonnablement susceptibles d'être ingérées dans des conditions normales de consommation liées à un régime alimentaire équilibré et varié » pourraient être définies sur la base des niveaux d'apport des plus forts consommateurs (90^{ème} percentile), sous réserve que ceux-ci ne soient pas susceptibles d'induire des risques pour le consommateur. Ce niveau d'apport doit tenir compte de toutes les sources alimentaires de la substance.

Cependant, pour un grand nombre de substances, le niveau de consommation courante n'est pas connu, en raison de l'absence de données de composition des aliments. En effet, il s'agit de substances pour lesquelles il n'existe pas ou peu de données permettant de juger de leur intérêt nutritionnel (notamment lorsqu'un besoin nutritionnel n'a pas été identifié). On pourra citer l'astaxanthine, le lycopène, l'acide alpha-lipoïque ou l'acide gamma-aminobutyrique.

4.1.3. Spécificité de l'enrichissement en « autres substances » par rapport à l'enrichissement en vitamines et minéraux

La démarche suivie par l'Afssa pour l'enrichissement en vitamines et minéraux se fondait sur les données de consommation maximale et sur la limite de sécurité afin de faciliter la détermination d'une limite maximale d'enrichissement qui garantisse un niveau de sécurité considéré comme acceptable. Or, dans le cas des autres substances, bien souvent, aucune limite de sécurité n'est définie et/ou aucune donnée de consommation n'est disponible.

Ainsi, même dans des situations où des effets physiologiques seraient mis en évidence pour une substance (comme c'est le cas des vitamines et minéraux), la seule connaissance des niveaux d'apport efficaces n'est pas suffisante pour justifier la sécurité d'un enrichissement.

❖ Absence de limite de sécurité

Pour les substances ayant fait l'objet d'une évaluation dans le cadre de la procédure « nouveaux aliments » (règlement 258/97), les données concernant la sécurité ont été étudiées. Par contre, elles sont souvent manquantes pour les « autres substances » déjà présentes dans des aliments et ne relevant pas de cette procédure.

Pour pallier l'absence de limites de sécurité, diverses approches ont été développées, notamment celles prenant en compte les quantités les plus élevées n'ayant pas conduit à des effets néfastes dans les études chez l'Homme. Il s'agit par exemple de la méthode de l'OSL (*Observed Safe Level*) qui requiert, en pratique, un ensemble d'études et procède en examinant chaque étude, en partant de la dose la plus forte administrée (Hathcock and Shao 2008). Pour chaque étude n'ayant pas rapporté d'effet indésirable, et qui pourrait être classiquement utilisée pour fixer une NOAEL (*no observed adverse effect level* ou dose sans effet délétère observé), il s'agit de déterminer si l'incertitude est suffisamment faible pour qu'on puisse appliquer un facteur d'incertitude de 1.

Itérativement, au fur et à mesure de la progression de l'examen dans la série d'études de doses décroissantes, on aboutit à une étude (et une dose) pour laquelle l'incertitude est faible (bonne qualité, nombreux paramètres étudiés, longue durée, etc.). L'application d'un facteur d'incertitude de 1 pour cette étude est alors légitimée par l'existence des autres études de moindre qualité mais conduites à de plus fortes doses et qui n'ont pas rapporté d'effets indésirables.

La FAO/OMS a proposé une approche similaire, basée sur la HOI (*highest observed intake*) appliquée en l'absence de danger identifié. Il s'agit de l'apport le plus élevé observé, administré ou rapporté dans des études de qualité acceptable (FAO/WHO, 2006).

Ces approches comportent de nombreuses limites. En effet, les études de supplémentation chez l'homme ont été conduites quasi exclusivement sur de petits effectifs et à court terme. Elles sont donc statistiquement impuissantes pour écarter le risque sur de très vastes populations, ce qui correspond à l'objectif en matière de santé publique. Cela est d'autant plus vrai que les caractéristiques génétiques et environnementales sont très variées dans la population générale. Par ailleurs, la possibilité d'une induction lente de désordres physiopathologiques (par exemple : induction d'une insulino-résistance) peut difficilement être évaluée à court ou moyen termes. Enfin et surtout, la plupart des études considérées n'a pas été conçue pour évaluer la présence d'effets indésirables, mais des effets favorables attendus. En outre, elles n'ont aucun caractère systématique et n'étudient que certaines fonctions ou organes et certains marqueurs. Les études chez l'Homme devraient utiliser comme critères d'évaluation des marqueurs correspondant aux effets indésirables mis en évidence par des études de criblage chez l'animal (Renwick 2004).

Ainsi, dans la majorité des cas, les études chez l'Homme ne peuvent être utilisées que pour examiner la tolérance d'une substance et sa toxicité aiguë, critères insuffisants pour juger de la sécurité de consommation à moyen et long termes.

Par ailleurs en limitant l'enrichissement aux « autres substances » pour lesquelles un effet nutritionnel/physiologique a été reconnu, l'évaluation du risque lié à l'adjonction de cette substance peut se borner aux conditions d'emploi (doses et vecteurs alimentaires) définies pour l'utilisation des allégations. Cette démarche rejoindrait celle préconisée précédemment (Afssa 2008b; Afssa 2007b).

❖ Insuffisance des données d'apport en « autres substances »

Il existe des incertitudes, et souvent des lacunes, sur les données d'apports en nutriments et substances liées aux données de composition (données manquantes, imprécisions sur les données existantes : acides aminés, AGPI-LC), aux difficultés liées aux dosages et à l'évolution des données de consommation.

Si malgré tous ces éléments, d'autres considérations venaient à entraîner la commercialisation de produits enrichis en « autres substances », le consommateur devrait être informé de l'absence d'évaluation du risque par un étiquetage adapté. Une démarche apparentée est mise en œuvre par la FDA dans le cadre de l'évaluation des allégations portées par les compléments alimentaires².

4.1.4. Vers une analyse bénéfique/risque

La réglementation européenne sur l'adjonction de nutriments et substances aux aliments s'articule autour de plusieurs textes relatifs à des notions complémentaires et indispensables. Ainsi l'évaluation des bénéfices se fait à travers une démarche indépendante (règlement 1924/2006 sur les allégations) de celle des risques (règlements 258/97 et 1925/2006). Dans ces conditions, il est difficile de mettre en balance ces deux aspects.

Comme l'illustre l'exemple de l'enrichissement des farines en acide folique, le risque peut parfois n'être évoqué que plusieurs années plus tard, en lien avec l'évolution des données scientifiques. Ainsi, le niveau élevé de maîtrise de l'enrichissement en un nutriment n'est pas nécessairement

² <http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/hclaims.html>

"Structure/function claims may also describe a benefit related to a nutrient deficiency disease (like vitamin C and scurvy), as long as the statement also tells how widespread such a disease is in the United States. The manufacturer is responsible for ensuring the accuracy and truthfulness of these claims; they are not pre-approved by FDA but must be truthful and not misleading. If a dietary supplement label includes such a claim, it must state in a "disclaimer" that FDA has not evaluated the claim. The disclaimer must also state that the dietary supplement product is not intended to "diagnose, treat, cure or prevent any disease," because only a drug can legally make such a claim."

suffisant pour limiter le risque. Dans les situations où les conditions d'utilisation (substance, vecteur alimentaire, quantité, etc.) ne sont pas prévues préalablement, les risques sont *a priori* plus importants.

A fortiori, l'Anses considère qu'en l'absence de bénéfice démontré pour une population, la prise de risque même minime est injustifiée. En outre, même dans des situations où des effets nutritionnels/physiologiques seraient démontrés pour une substance, la seule connaissance des niveaux d'apport efficaces n'est pas suffisante pour justifier un enrichissement. Il est nécessaire d'évaluer également le risque associé à ce potentiel effet bénéfique. La question peut se poser de déterminer si, dans certaines situations spécifiques d'inadéquation des apports, voire de déficiences avérées, la mise à disposition, pour la population cible, des nutriments concernés, sous forme concentrée (complément alimentaire) ou dans des vecteurs très spécifiques n'est pas préférable à un enrichissement des aliments de consommation courante. On pourra citer le cas des végétaliens en ce qui concerne la couverture des besoins en vitamine B12. L'annexe B du règlement, en proposant une utilisation restreinte des substances (conditions d'emploi spécifiées) permet, dans son principe, ce type de limitation.

4.2. Illustration des limites de l'évaluation des risques liés à l'enrichissement en « autres substances ».

4.2.1. Cas des acides aminés

Les considérations évoquées dans cet avis concernent les acides aminés alimentaires protéinogènes, indispensables ou non. Elles excluent les acides aminés non alimentaires et/ou de leurs dérivés endogènes (par exemple 5-hydroxytryptophane, S-adenosyl-méthionine, glutathion). En effet, même si ces substances sont commercialisées et ont fait l'objet, pour certaines, d'avis de l'Agence, les connaissances métaboliques et/ou les données de risque les concernant n'ont rarement fait l'objet de recherche. Cette limite du champ d'expertise concerne également les composés précurseurs d'acides aminés (N-acétyl-cystéine par exemple) pour lesquelles il existe une littérature, mais qui sont des principes actifs de spécialités pharmaceutiques.

❖ Métabolisme des acides aminés et risque de surconsommation

Les apports spontanés en protéines de l'ensemble de la population (à l'exception de sous-populations spécifiques, comme les personnes âgées fragiles) sont très au dessus des apports nutritionnels conseillés (AFSSA 2008a). Les effets physiologiques éventuels, s'ils venaient à être scientifiquement reconnus, correspondent donc à des effets « au-delà » du besoin défini par l'équilibre du bilan azoté. Sur le plan nutritionnel et métabolique, la consommation d'un acide aminé à des niveaux très supérieurs aux autres acides aminés et très supérieurs aux besoins quantitatifs correspondant à la synthèse protéique, induit la modification des pools circulants, la modification des fonctions directement contrôlées par les acides aminés, l'entrée de ces acides aminés de façon conséquente dans les voies de catabolisme (parfois dans des voies métaboliques « secondaires ») ainsi qu'une activation des voies d'excrétion.

Ainsi, un apport en acides aminés, au-delà du besoin, induit une exposition métabolique au-delà de la zone d'homéostasie et la possibilité d'entrer dans une zone toxique, telle que reconnue par la communauté scientifique (**Figure 1**). De ce fait, même si la substance est un nutriment, les facteurs d'incertitude pour calculer les limites supérieures doivent être, *a priori*, les mêmes que ceux utilisés dans le cadre de l'évaluation du risque lié à l'exposition aux xénobiotiques (Renwick 2006).

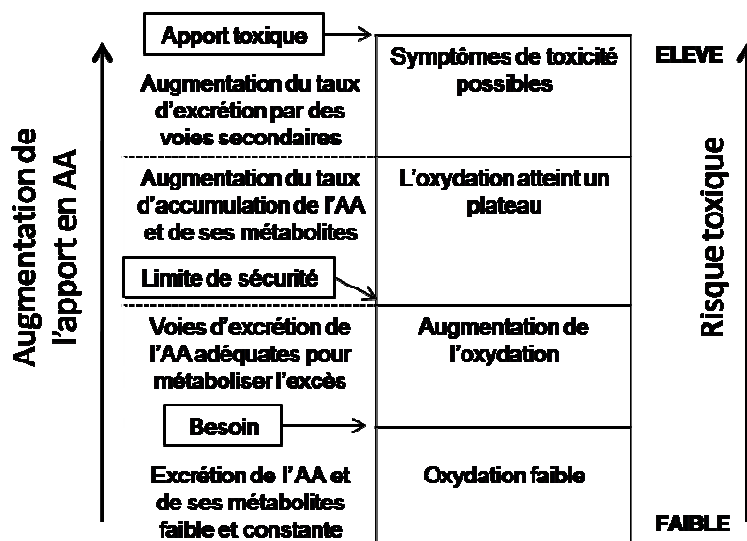


Figure 1. Représentation schématique de la réponse de l'organisme aux apports excessifs d'acides aminés (AA). D'après Pencharz et al. (2008)

Le niveau d'apport en un acide aminé induisant l'activation de son catabolisme sert de base pour établir le besoin mais également la plage potentielle de toxicité de cet acide aminé. En effet, dès lors, le risque toxique est possible (Bier 2003), et il s'agit de déterminer si (1) le niveau d'apport qui entraîne(ra)it un bénéfice resterait inférieur à celui d'apparition de la toxicité, et (2) le niveau d'apport toxique est susceptible d'être atteint dans une fraction de la population, compte-tenu des variations interindividuelles, notamment liées aux polymorphismes génétiques. Plusieurs auteurs (Pencharz et al. 2008; Bier 2003) ont proposé que la réponse métabolique à différents niveaux de consommation d'acides aminés puisse être utilisée comme critère pour définir le niveau maximum d'apport. Il s'agit de définir le point à partir duquel les capacités d'oxydation atteignent un plateau (Pencharz et al. 2008), ou de comparer les courbes décrivant l'oxydation en fonction de la concentration circulante (ou de l'apport alimentaire) et celle décrivant le bénéfice lié à l'apport (Figure 2) (Bier 2003).

Cette approche est rendue difficile pour les acides aminés présentant de nombreuses voies de métabolisme et de catabolisme.

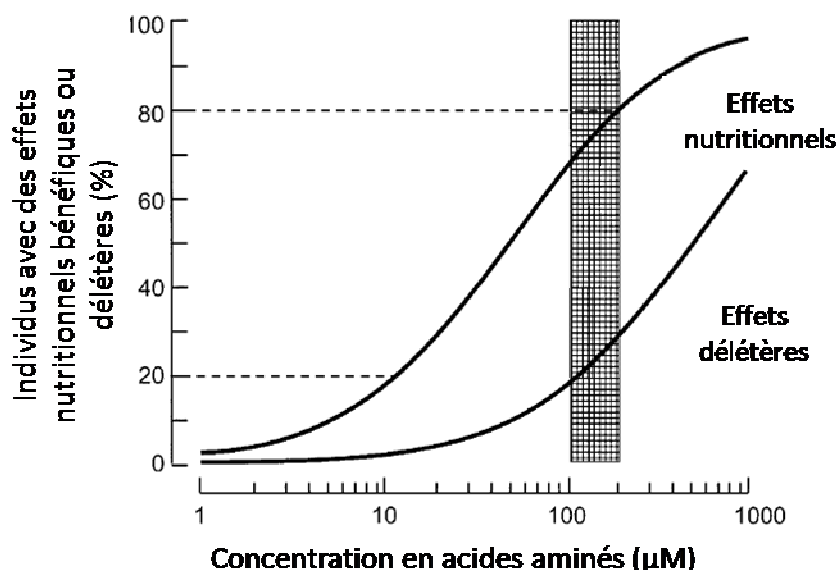


Figure 2. Courbes bénéfiques/risques hypothétiques en fonction de la concentration en acides aminés circulants (ou dose ingérée). L'aire hachurée indique la zone d'apport optimal définie par le maximum d'effets bénéfiques pour le minimum d'effets délétères. D'après Bier et al. (2003).

❖ **Absence de donnée suffisante pour permettre de caractériser les dangers**

L'exemple des acides aminés est illustratif de la rareté, voire de l'absence de données toxicologiques, concernant les « autres substances ».

Les domaines bien établis de la toxicocinétique (relation entre la dose du produit administré et l'ampleur de l'exposition sur son site d'action) et la toxicodynamique (relation entre l'exposition d'un toxique sur son site d'action et les répercussions fonctionnelles en aval) n'ont pas été appliqués au domaine du métabolisme des acides aminés (Bier 2003). Seules la lysine et la leucine ont fait l'objet de travaux assez étendus de modélisation cinétique.

Dans le cas où un danger a pu être identifié, l'absence de ces données empêche de définir des facteurs d'incertitude affinés (Renwick 2004). Ainsi, sur la base des données disponibles, seul un facteur d'incertitude de 100, classiquement utilisé en toxicologie, serait justifié. Cependant, l'application de ce facteur d'incertitude n'est souvent pas très satisfaisante, et il arrive qu'elle renvoie à une définition de la limite supérieure de toxicité qui est inférieure au besoin en acides aminés, ou inférieur à l'apport considéré comme adéquat (« adequate intake »). C'est le cas de la glycine pour laquelle la NOAEL est estimée à 1800 mg/kg de poids corporel ; pour un homme de 60 kg, la limite de sécurité serait de 1,1 g par jour, alors que les apports spontanés sont de plusieurs grammes (Sakai et al. 2004).

Néanmoins, ce constat de surévaluation du facteur d'incertitude de 100 ne doit pas faire rejeter le principe d'un calcul de la limite supérieure sur la base d'une NOAEL et d'un facteur d'incertitude : il pointe le manque crucial de données pour caractériser les cinétiques dose-réponse chez l'homme et l'animal, et leur variabilité intra-espèce.

Les méthodes de l'OSL et de HOI détaillées plus haut permettent d'affiner de façon objective l'usage du facteur d'incertitude, si bien qu'une limite supérieure pourrait être calculée avec une assez bonne rigueur dès lors qu'une NOAEL est documentée (FAO/WHO 2006).

La méthode de l'OSL a été appliquée pour différents nutriments, dont les acides aminés (Shao and Hathcock 2008).

Au contraire, la méthode HOI n'est appliquée qu'en l'absence de danger identifié, ce qui n'est pas le cas des acides aminés, dans la mesure où il existe pratiquement toujours des données ayant rapportés des effets indésirables.

Cependant, ces méthodes présentent plusieurs limites (détaillées précédemment).

Ainsi, dans la majorité des cas, les études chez l'Homme ne peuvent être utilisées, néanmoins avec une confiance relative, que pour examiner la toxicité aiguë, heureusement absente aux doses utilisées, et la tolérance, qui n'est pas un critère de sécurité suffisant à lui seul.

Enfin, comme nous le verrons plus loin, des données précises sont nécessaires pour caractériser le danger. Ces études ne peuvent pas être menées chez l'Homme, et nécessitent le déploiement d'approches toxicologiques classiques, comme pour des additifs ou des contaminants.

❖ **De la nécessité de disposer d'études toxicologiques complètes**

Les données toxicologiques de base sont indispensables, et particulièrement dans le cas des acides aminés (Renwick 2004). Le criblage des dangers possibles liés à la consommation d'acides aminés au-delà des apports spontanés nécessite des études animales traditionnelles. Dans le cadre des acides aminés, des examens très particuliers et approfondis sont requis selon les voies métaboliques et les fonctions physiologiques associées à chaque acide aminé. Par exemple, il est essentiel de disposer de données de neurotoxicité pour des acides aminés précurseurs de neurotransmetteurs (tryptophane par exemple) (Renwick 2004).

La plupart des acides aminés a des voies métaboliques multiples et intriquées (**Tableau 1**). Celles-ci peuvent être liées à celles d'autres acides aminés, de certains composés autacoïdes ou d'autres nutriments (vitamines). Il en découle des possibilités (1) de compétition ou de synergie entre voies métaboliques de différents acides aminés (2), de toxicité portée par un métabolite secondaire très en aval et souvent sous-estimé, (3) d'effets inattendus sur des fonctions, n'ayant pas fait l'objet d'hypothèses fortes (Garlick 2001).

Tableau 1. Quelques produits métaboliques et effets délétères d'acides aminés. D'après Garlick (2001). Les études prises en compte ont examiné les effets lors de supplémentation en acides aminés.

Acide aminé	Métabolisme	Effet délétère observé
alanine	Urée, lactate, glucose	Hyperammonémie
arginine	Urée, ornithine, citrulline, NO, polyamines	Hypotension, stimulation tumorale, acidose, hyperkaliémie, arrêt cardiaque
aspartate	Urée, asparagine, glucose	neurotoxicité
cystéine	SO ₄ ²⁻ , glutamate	Hypercholestérolémie, stéatose hépatique, neurotoxicité
glutamate	Urée, glutamine, glucose	Neurotoxicité, syndrome du restaurant chinois
Glycine	Sérine, NH ₄ ⁺	Neurotoxicité, hypernatrémie
Histidine	Histamine, formimino-glutamate, urocanate, glutamate	Hypercholestérolémie,
Isoleucine	Glutamine, alanine, kétométhylvalérate	Retard mental
leucine	Glutamine, alanine, ketoisocaproate	Hypoglycémie, Retard mental, hypoalbinémie, hypoisoleucinémie
Lysine	Saccharopine, aminoacide	Antagonisme de l'arginine, néphrite tubulointerstitielle
Méthionine	Cystéine, homocystéine, cystathionine	Hyperhomocystéinémie, déficience en folate
phénylalanine	Tyrosine, phénylpyruvate	Retard mental, exacerbe les dyskinésies dans la schizophrénie
Tryptophane	Sérotonine, mélatonine	Syndrome éosinophilie-myalgie, syndrome sérotoninergique
Tyrosine	Tyramine, catecholamines, hormones thyroïdiennes, parahydroxyphénylpyruvate	Lésion des yeux et de la peau, retard mental
Valine	Glutamine, alanine, ketoisovalérate	Retard mental

En outre, ces voies peuvent être sensibles aux interactions avec des médicaments ou des variables environnementales (médicaments, régime, etc.). Enfin, il est fréquent qu'un polymorphisme génétique conséquent modifie considérablement une situation métabolique complexe. Cela a souvent été mis en évidence. Dans le cas contraire, un polymorphisme plus subtil a souvent été suggéré (voir ci-dessous pour le tryptophane).

- *Exemple du tryptophane*

Le métabolisme du tryptophane est complexe. Au-delà de la relation « tryptophane →sérotonine », ce métabolisme comprend de nombreuses ramifications, sensibles au statut en nutriment, notamment en vitamines B6, B2 et B3 (Horwitt et al. 1981), aux interactions environnementales, et au polymorphisme génétique, notamment sur des voies importantes du catabolisme de cet acide aminé (Oxenkrug 2007; Raitala et al. 2005). Ceci laisse présager d'une grande variété de réponses métaboliques et physiologiques à un apport supra-nutritionnel en tryptophane. Enfin, il existe des possibilités d'interactions avec des médicaments (antidépresseurs) agissant sur le métabolisme du tryptophane et de la sérotonine.

- *Exemple de la glutamine*

Un autre exemple de la multitude des dangers possibles est fourni par le cas de la glutamine, qui a une assez bonne tolérance chez l'homme. Cependant, les cibles, en termes métaboliques et en termes d'organes sont multiples, tout comme les voies de signalisation qui peuvent être affectées (Watford 2008). Il existe notamment des inter-conversions entre glutamine, glutamate, proline et ornithine/arginine (Watford 2008). Il est attendu que ces effets puissent être silencieux dans un premier temps, mais puissent se révéler à moyen et long termes.

Enfin, la complexité du métabolisme de la glutamine, et notamment la voie de synthèse de glutamate et d'ammoniaque ayant tous les deux des effets neurologiques, implique la nécessité d'études comportementales et psychologiques spécifiques (Garlick 2001).

- *Autres exemples d'acides aminés*

Le métabolisme des acides aminés souffrés (méthionine, cystéine) constitue un autre exemple d'intrication métabolique, lié à des intermédiaires biologiquement critiques (homocystéine) et connecté au métabolisme crucial des méthyles labiles. Ainsi, certains effets néfastes potentiels d'une supplémentation en méthionine n'ont pas été évalués. Il s'agit notamment de répercussions immunologiques et inflammatoires liées à la supplémentation en cet acide aminé, dont la possibilité a été identifiée *in vitro*, mais est techniquement plus difficile à évaluer *in vivo* (Grimble 2006). Ce cas fournit un exemple de cible pour des études toxicologiques approfondies chez l'animal.

- *Au-delà des études toxicologiques*

Cette complexité métabolique et physiologique de la plupart des acides aminés implique que seules des études de large spectre sont à même de mettre en évidence des effets délétères. De nombreux auteurs plaident ainsi pour des approches de type « omics » (« biologie de système »), en particulier de nutriginomique et de métabolomique (Elliott et al. 2007; Morris 2007). De plus, la variabilité interindividuelle provenant du polymorphisme génétique appelle des données de nutriginétique, pour évaluer les différences métaboliques et donc de toxicité entre individus (Hesketh et al. 2006).

Enfin, il est nécessaire de disposer d'études qui soient à la fois à long terme et suffisamment approfondies en termes de critères d'évaluation. En effet, comme évoqué précédemment, il faudrait être capable de mettre en évidence des répercussions silencieuses sur des marqueurs physiopathologiques susceptibles de correspondre à des modifications fines du risque à long terme. En outre, au delà des études toxicologiques classiques, vues les possibles interférences avec les caractéristiques environnementales, et notamment du régime, il conviendrait d'identifier et de caractériser le danger dans différentes situations susceptibles de modifier l'apparition de la toxicité. Par exemple, ce n'est que très récemment que certains auteurs ont mis en évidence que la supplémentation en acides aminés à chaîne latérale ramifiée augmente la résistance à l'insuline chez des animaux recevant un régime riche en lipides (Newgard et al. 2009). Cette observation fait écho à une différence de signature métabolique concernant ces acides aminés entre sujets obèses et normopondérés (Newgard et al. 2009). Jusqu'alors, les acides aminés à chaîne latérale ramifiée (ou la leucine) étaient crédités au contraire d'un bénéfice global sur la sensibilité à l'insuline, et la tolérance vis-à-vis de ces acides aminés est considérée comme bonne chez l'homme (Baker 2005).

❖ **Des dangers souvent identifiés**

La liste des effets indésirables ou des dangers toxicologiques qui ont pu être mis en évidence chez l'animal est longue, alors même que les études étaient parfois peu systématiques et à spectre étroit. Différents articles de revue ou monographies et expertises ont fait l'inventaire de ces différents effets (FNB/IOM 2005; AFSSA 2008a; Garlick 2001).

Comme l'identification de ces dangers n'a pas été suivie d'étude de caractérisation toxicologique, ils restent disparates et ponctuels, et il est difficile de les utiliser pour fonder une NOAEL (ou une LOAEL). En outre, quand il est envisageable de fonder une NOAEL, la question du facteur d'incertitude a souvent freiné le calcul d'une limite supérieure. L'absence de limite supérieure doit être considérée comme liée à l'absence de données pour évaluer le risque, et non – bien sûr – comme une absence de risque, même à doses modérées.

❖ **Conclusion**

La complexité du métabolisme des acides aminés, le faible niveau de données toxicologiques, et les nombreuses raisons qui indiquent des risques insuffisamment caractérisés, font poser le constat d'une impossibilité d'évaluer correctement le risque. Cela nous renvoie à l'impérieuse nécessité de disposer d'un ensemble complet de données métaboliques, physiologiques et toxicologiques, approfondies et de qualité, pour déterminer les effets bénéfiques et les risques liés à l'adjonction d'acides aminés dans les aliments pour la population générale.

4.2.2. Cas des glucides (dont les fibres alimentaires)

Les glucides constituent une famille très hétérogène en ce qui concerne la taille des molécules concernées et leurs propriétés physiologiques et techno-fonctionnelles. Ainsi, ne seront pris à titre d'exemples que les composés qui ont fait l'objet d'une saisine à l'AFSSA. Les fibres, glucides et dérivés glucidiques précédemment traités dans l'avis du 8 septembre 2008 (Afssa 2008b) : chitosan, chondroïtine, fructo-oligosaccharide (FOS), GABA, glucosamine, inositol, inuline, lactase, pectine, ne seront pas rediscutés dans le présent rapport.

Les molécules glucidiques qui serviront de base à la discussion sont les suivants : tréhalose, galactooligosaccharide (GOS), gamma-cyclodextrine, transgalacto-oligosaccharide (TOS), amidon résistant, (AR), isomaltulose, arabinogalactane, dextrine résistante, D-tagatose, polydextrose, maltodextrine, glucuronolactone, hydrochlorure de glucosamine.

Ces composés font partie des fibres alimentaires ou s'apparentent à cette catégorie ou sont (au moins en partie) digestibles et/ou absorbables dans l'intestin grêle.

Comme tous les autres ingrédients d'un aliment mixte, les types de glucides qui seront discutés dans cet avis sont introduits dans un aliment :

- pour leurs propriétés techno-fonctionnelles :
 - o substance de charge (substance au goût neutre qui occupe du volume) ;
 - o épaississant-gélifiant ;
- pour leurs propriétés biologiques :
 - o substance possédant un effet sur une fonction colique :
 - substance prébiotique ou supposée telle ;
 - substance susceptible d'activer le transit digestif, soit par un effet d'activation de la motricité colique, soit par un effet osmotique ;
 - substance susceptible d'accroître l'excrétion fécale par augmentation du volume des selles soit en raison de sa forte capacité de rétention d'eau et (relativement) faible fermentescibilité ou soit en raison de sa capacité de permettre une prolifération de la microflore colique ;
 - o substance possédant un pouvoir hypoglycémiant (effet en phase post-prandial) et/ou hypocholestérolémiant (effet chronique) ;
 - o piègeur de molécules d'intérêt telles que les arômes.

Plusieurs substances considérées ici sont susceptibles de cumuler plusieurs de ces propriétés.

Ainsi, comme toutes les autres substances, les glucides ont des effets techno-fonctionnels, nutritionnels et/ou physiologiques à des doses très variables mais ces effets dépendent également de la forme sous laquelle ils sont présents dans les aliments.

❖ Définition et classification des glucides (Afssa 2004c)

Définition des glucides

Le terme de « glucides » est synonyme de « hydrates de carbone » ou de « saccharides ». Il s'agit de polyalcools comportant une fonction aldéhyde (CHO) ou cétone (CO). La plupart des oses et des polymères glucidiques répond respectivement aux formules brutes $(\text{CH}_2\text{O}_n)_n$ (avec $n \geq 3$) et $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n + (\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4)_m$

Classification des glucides

Les glucides sont généralement classés en fonction de leur degré de polymérisation (**Tableau 2**) mais cette seule classification ne présage aucunement de leur devenir digestif et métabolique (Afssa 2004c). Ainsi, si certains sucres, oligosaccharides et polysaccharides sont totalement hydrolysés et absorbés au niveau de l'intestin grêle puis métabolisés au niveau hépatique et/ou périphérique, des glucides de tout degré de polymérisation parviennent au niveau colique où ils sont généralement fermentés ou peuvent être excrétés dans les selles. Enfin, de nombreux glucides peuvent n'être que partiellement digérés et/ou absorbés au niveau du tractus digestif supérieur et apparaître en partie dans la lumière du côlon.

Tableau 2 : **Classification structurale proposée des principaux glucides**

Classe (DP)	Sous-groupe	Principaux composés
Sucres (1-2)	Monosaccharides	Glucose, galactose, fructose, tagatose
	Disaccharides	Saccharose, lactose, tréhalose, maltose, isomaltulose

Oligosaccharides (3-9)	Malto-oligosaccharides	Maltodextrines
	Autres oligosaccharides	Raffinose, stachyose, verbascose, ajugose (α -galactosides), fructo-oligosaccharides, galactooligosaccharides
Polysaccharides (>9)	Amidon	Amylose, amylopectine, amidons modifiés
	Polysaccharides non amyliacés	Cellulose, hémicelluloses (ex : galactanes, arabinoxylanes), pectines, inuline, hydrocolloïdes (ex : guar)
Glucides hydrogénés (polyols)	de type monosaccharidique	Sorbitol, mannitol, xylitol, érythritol
	de type disaccharidique	Isomalt, lactitol, maltitol
	de type oligosaccharidique	Sirops de maltitol, hydrolysats d'amidon hydrogénés
	de type polysaccharidique	Polydextrose

Source : Gray, 2003

*Ce tableau est lui-même adapté du rapport FAO/WHO (1998). La principale modification apportée par rapport à la classification FAO/WHO est la distinction des polyols en un sous-groupe distinct alors qu'ils apparaissaient en tant que sous-groupe des sucres (qui n'incluait donc que les polyols de DP 1 et 2) dans le rapport.

❖ **Définition des fibres alimentaires**

La formule générale des fibres est : $(C_6H_{10}O_5)_n + (C_5H_8O_4)_m$

Définition de l'Afssa (Afssa 2002)

Les fibres alimentaires peuvent être :

- soit des polymères glucidiques (DP \geq 3) d'origine végétale, associés ou non dans la plante, à de la lignine ou à d'autres constituants non glucidiques (polyphénols, cires, saponines, cutine, phytates, phytostérols...),
- soit des polymères glucidiques transformés (physiquement, enzymatiquement ou chimiquement) ou synthétiques (DP \geq 3) consignés dans la liste jointe dont le contenu pourra évoluer en fonction des évaluations de l'Afssa.

En outre, les fibres alimentaires ne sont ni digérées, ni absorbées dans l'intestin grêle. Elles présentent l'une au moins des propriétés suivantes :

- augmentation de la production des selles ;
- stimulation de la fermentation colique ;
- diminution de la cholestérolémie à jeun ;
- diminution de la glycémie et/ou de l'insulinémie post-prandiales.

Définition du Codex Alimentarius (2008)

L'annexe II ci-après est ajoutée à la directive 90/496/CEE:

Définition de la substance constituant des fibres alimentaires et méthodes d'analyse, telles que visées à l'article 1^{er}, paragraphe 4, point j)

Aux fins de la présente directive, on entend par "fibres alimentaires" les polymères glucidiques composés de trois unités monomériques ou plus, qui ne sont ni digérés ni absorbés dans l'intestin grêle humain et appartiennent à l'une des catégories suivantes:

- polymères glucidiques comestibles, présents naturellement dans la denrée alimentaire telle qu'elle est consommée ;
- polymères glucidiques comestibles qui ont été obtenus à partir de matières premières alimentaires brutes par des moyens physiques, enzymatiques ou chimiques et ont un effet physiologique bénéfique démontré par des données scientifiques généralement admises ;
- polymères glucidiques comestibles synthétiques qui ont un effet physiologique bénéfique démontré par des données scientifiques généralement admises."

Comme la plupart des composés glucidiques discutés dans cet avis sont des fibres alimentaires, les risques liés à leur consommation seront discutés dans leur ensemble et les spécificités de chacune des fibres qui nous intéressent seront ensuite mentionnées.

❖ **Consommation actuelle et recommandée des diverses fibres alimentaires**

Les premiers résultats d'INCA 2 (2006-2007) comparés à ceux d'INCA 1 (1998-1999) indiquent une stabilité de la consommation en fibres chez les hommes (18,8 g/j) et une faible augmentation, chez les femmes (16,4 g/j, soit 6,7 % d'augmentation) (Afssa 2009a). Ces niveaux restent inférieurs aux recommandations de 25 à 30 g/j. Le PNNS recommandait déjà en 2001 d'« augmenter de 50 % la consommation de fibres et d'augmenter la consommation de glucides pour qu'ils contribuent à plus de 50 % de l'apport énergétique ».

❖ **Risques liés à la consommation des diverses fibres alimentaires**

Les effets physiologiques des fibres alimentaires sont très divers, puisque comme l'indique la définition (cf plus haut), ils concernent à la fois le domaine de la physiologie digestive et donc des troubles intestinaux mais également le métabolisme lipidique (Lairon et al. 2005). D'autres éventuels effets ne sont pas explicitement mentionnés dans la définition ; il s'agit par exemple, d'effets prébiotiques, reconnus pour certains oligosaccharides, d'effets sur l'absorption des minéraux ou le risque de cancer colorectal (Champ et al. 2003).

Les risques liés à la consommation de fibres sont en premier lieu liés au fonctionnement du côlon. Il s'agit en particulier de risques d'inconfort digestif (flatulences, en particulier) mais également de diarrhées et/ou d'irritation du tube digestif. Les flatulences sont liées à la production rapide de gaz, au niveau du côlon, par les bactéries qui fermentent un substrat indigestible par les enzymes endogènes du tube digestif mais très fermentescibles ; elles concernent donc la plupart des oses, diholosides ou oligosaccharides non digestibles et/ou absorbables au niveau de l'intestin grêle. Les diarrhées peuvent être de type osmotique (particulièrement avec des oses et diholosides ingérés en grande quantité, en une seule fois ou en plusieurs fois très rapprochées) ou liées à la très forte capacité de rétention d'eau des fibres (ispaghule, par exemple). Des diarrhées peuvent également accompagner des manifestations de flatulence.

Les autres risques liés à la consommation de certains de ces glucides peu ou pas digestibles et/ou absorbables sont les suivants :

- risque lié à des carences en minéraux accentuées par la consommation de fibres susceptibles de chélater les minéraux ; ce type de risque peut être associé à des molécules portant des fonctions ionisables (carboxyliques, par exemple, comme dans le cas des alginates) ;
- enfin, beaucoup de ces molécules sont obtenues par l'intermédiaire de bactéries ou d'enzymes purifiées. Les produits autorisés font aujourd'hui appel à des bactéries ou des enzymes autorisées en alimentation humaine, mais il faudra surveiller l'introduction possible de nouvelles souches et enzymes tant que l'innocuité n'aura pas été argumentée.

❖ **Risques liés à la consommation des autres glucides**

Les risques liés à la consommation de certains glucides digestibles et/ou absorbables (au moins partiellement) au niveau de l'intestin grêle sont les suivants (**Tableau 3**) :

- risque toxicologique. C'est le cas de la glucuronolactone pour laquelle une suspicion de toxicité rénale est mentionnée dans l'un des rapports de l'AFSSA (boisson énergisante contenant cette molécule) (Afssa 2003a) ;
- risque métabolique. La glucosamine (sous forme d'hydrochlorure) a fait l'objet de plus d'une dizaine d'études ; deux d'entre elles concluent à un effet délétère de la glucosamine sur le métabolisme glucidique et la résistance à l'insuline (Buse 2006) ;
- ces molécules sont fréquemment synthétisées (par voie enzymatiques) à partir de sucres extraits de matrices variées. Lorsque le produit de départ présente des risques allergiques, un étiquetage de précaution signalant la présence possible de ces protéines doit être requis. C'est le cas, par exemple, du D-tagatose obtenu à partir de lactose d'origine laitière ;
- comme pour les fibres, beaucoup de ces molécules sont obtenues par l'intermédiaire de bactéries ou d'enzymes purifiées dont il faut vérifier l'innocuité quand elle n'est pas établie ;
- Enfin, certains de ces composés sont glycémiant (ex : isomaltulose, γ -cyclodextrine). Une information des patients diabétiques est nécessaire.

Comme pour beaucoup d'ingrédients, on ne dispose pas de données de consommation pour la majeure partie des composés discutés dans ce rapport. En outre, peu ou pas de données

quantitatives existent concernant les risques mêmes mineurs de ces composés. Lorsque ceux-ci sont disponibles, ils sont présentés dans le **Tableau en Annexe 2**.

4.2.3. Cas des CLA

❖ Définition, origine et apports

Les isomères conjugués de l'acide linoléique (conjugated linoleic acids, CLA) sont des acides gras *trans* formés au cours de la biohydrogénation ruminale qui, après absorption, se retrouvent dans les tissus et le lait. Ils sont dits acides gras *trans* « naturels ».

Les principaux aliments contributeurs aux apports de CLA sont les produits laitiers avec des teneurs variant de 0,3 à 0,8 %. Dans ces aliments, l'isomère majoritaire des CLA est le 9c,11t ou acide ruménique où il représente 87 % des CLA. L'autre isomère, le 10t,12c représente 4,5 % des CLA (Afssa 2005a).

Les CLA peuvent également provenir de la transformation des matières grasses utilisées dans la fabrication de nombreux produits tels que les viennoiseries, les biscuits. Les teneurs varient de 0,3 à 0,5% des acides gras totaux. Dans ce cas, les formes prépondérantes de CLA sont le 9t,11t et le 10t,12t et l'acide ruménique 9c,11t ne représente que 5 à 8 % des CLA.

Enfin, les CLA peuvent être synthétisés pour être incorporés dans des compléments alimentaires. Les synthèses aboutissent à des mélanges d'isomères 9c, 11 t et 10t, 12c présents à des quantités similaires.

Les plus forts contributeurs aux apports de CLA chez l'adulte sont dans l'ordre : le beurre, les fromages, les viennoiseries, les viandes, le lait et les produits laitiers frais. D'après le rapport de l'Afssa, les apports en CLA sont autour de 200 mg/j chez l'adulte avec des consommations allant de 60 à plus de 400 mg/j. On peut donc estimer que les apports en 9c,11t seraient au maximum de 180 mg/j et de 9 mg/j pour le 10t,12c (Afssa 2005a).

En termes de santé publique, la consommation d'acides gras *trans* totaux augmente significativement les risques cardio-vasculaires et un seuil de consommation à ne pas dépasser a été proposé à 2 % de l'apport énergétique total (AET). Cette valeur regroupe les acides gras *trans* d'origine animale et technologique et reste supérieure à la consommation moyenne estimée (moins de 1% AET) (Afssa, 2009c). Concernant les CLA, aucun seuil n'a été proposé eu égard à leur faible consommation (6 % des acides *trans* totaux) (Afssa 2005a).

Chez l'homme, très peu d'études ont porté sur l'effet des isomères séparés, du moins jusqu'en 2004. Les études portent sur un mélange synthétique de 9c,11t et 10t,12c en quantité équivalente et à des fortes doses, le ratio de ce mélange n'ayant pas d'analogie naturel.

❖ Supplémentation en CLA

Il a été montré que les CLA modifiaient la composition corporelle et conduisaient à une réduction de la masse grasse et à une augmentation de la masse maigre dans différentes espèces animales (Evans et al. 2002). C'est pour un effet potentiellement bénéfique sur la régulation de la masse grasse que des études d'intervention ont été menées à l'aide de compléments alimentaires. On peut considérer que dans la plupart des études, la supplémentation en CLA se fait à hauteur de 3,4 g/j chez l'homme avec des doses qui varient de 1,4 g/j (Mougios et al. 2001) à 6,8 g/j (Blankson et al. 2000). Les CLA incorporés aux compléments alimentaires correspondent à un mélange des 2 isomères 9c,11t et 10t,12c en quantité équivalente, apportant 1,7 g de chaque isomère. Le rapport Afssa avait conclu que l'effet des CLA sur la réduction de la masse grasse n'est pas prouvé chez l'homme, mettant en doute un effet bénéfique du mélange de CLA. Chez l'animal, si la supplémentation conduit à une lipoatrophie, de nombreux effets délétères ont été mis en évidence (Afssa 2005a).

Effets toxiques chez l'animal

Les effets toxiques dépendent de l'espèce mais des études chez des souris, hamsters, rats, et porcs montrent généralement que les CLA réduisent le dépôt de graisses (Afssa 2005a). Cet effet n'est pas retrouvé chez le rat obèse, chez qui la supplémentation en CLA n'a pas d'effet sur la masse adipeuse, voire l'augmente après 5 semaines d'expérimentation (Sisk et al. 2001). L'isomère 10t-12c est considéré comme responsable de la réduction du stockage lipidique. Cependant, cet effet est tissu spécifique. En effet, cet isomère augmente le contenu en lipides dans beaucoup d'autres tissus (muscle et foie), provoque

une résistance à l'insuline et augmente l'insulinémie. Cet effet est particulièrement marqué chez la souris puisqu'on aboutit à une hépatomégalie, une stéatose hépatique et un diabète lipodystrophique avec une supplémentation de 0,4 % pds/pds de l'aliment pendant 4 semaines (Clement et al. 2002). Un enrichissement du régime avec l'isomère 9c,11t ou avec l'acide linoléique n'a pas d'effet significatif sur le stockage lipidique. Cependant une étude récente montre que l'insulino-résistance est induite non seulement par l'administration pendant 6 mois de l'isomère 10t,12c mais aussi par le mélange 9c,11t/10t,12c, alors que l'isomère 9c, 11t la prévient (Halade et al. 2010). Ceci suggère que la présence de l'isomère 9c,11t ne s'oppose pas aux effets délétères du 10t, 12c.

- Absence d'effet génotoxique *in vitro* : l'Efsa estime, dans des avis récents, que les données disponibles (fournies par des pétitionnaires dans le cadre de l'évaluation de produits spécifiques) ne rapportent pas d'effets génotoxiques des CLA (mélanges racémiques des isomères 9c,11t/10t,12c) (Efsa, 2010b, Efsa, 2010a).

En conclusion, un apport de l'ordre de 0,5 % de CLA dans le régime provoque des effets hépatotoxiques et diabéto-gènes. A partir d'une étude toxicologique sur 90 jours, une NOAEL de 2,43 g/kg/j chez le mâle et de 2,73 g/kg/j chez la femelle a pu être déterminée chez le rat (O'Hagan and Menzel 2003).

Effets délétères chez l'homme

Les doses utilisées pour la supplémentation chez l'homme montrent qu'avec une dose de l'ordre de 1,7 g de chaque isomère apportée par une gélule, la consommation est augmentée d'un facteur 10 pour le 9c,11t et de 200 pour le 10t,12c. Si l'effet bénéfique sur la composition corporelle n'est pas prouvé, différents effets délétères ont été rapportés :

- effet athérogène : cet effet a été retrouvé dans plusieurs études montrant une diminution du HDL-C (de 4 à 14 %) après 8 à 12 semaines de supplémentation avec un mélange de 9c, 11t et 10t, 12c (Tholstrup et al. 2008) ou de supplémentation en 10t 12c (Riserus et al. 2002a; Tricon et al. 2004) ;
- effet diabéto-gène : la sensibilité à l'insuline mesurée au cours d'un clamp est diminuée de 19 % après 12 semaines une supplémentation avec l'isomère 10t,12c (Riserus et al. 2002a) ;
- effet sur les marqueurs d'inflammation : induction de peroxydation lipidique plus prononcée après 12 semaines de supplémentation en isomère 10t,12c qu'après 12 semaines de supplémentation avec le mélange (Riserus et al. 2002b) ; augmentation de la protéine réactive C (CRP) et de plasminogen activator inhibitor 1 (PAI 1) après 16 semaines de supplémentation avec le mélange des 2 isomères mais pas avec l'isomère 9c, 11t (Tholstrup et al. 2008) ;
- effet sur le stress oxydant : augmentation *in vitro* par un mélange d'isomères 9c, 11t et 10t,12c de la synthèse de ROS et de la production d'isoprotane par des macrophages (Stachowska et al. 2008) ;
- effet sur la fonction endothéliale : diminution de la production de monoxyde d'azote *in vitro* par chacun des deux isomères (Eder et al. 2003).

❖ **Conclusion**

Au final, l'effet d'un mélange de CLA sur la réduction de la masse adipeuse reste encore à prouver chez l'homme. Les récents avis de l'Efsa sur les allégations de santé relatives notamment au maintien du poids corporel, à l'augmentation de la masse maigre et à l'augmentation de la sensibilité à l'insuline vont dans ce sens (Efsa 2010). De nombreux effets délétères ont été observés chez l'animal comme chez l'homme, notamment chez le sujet diabétique. Dans des avis récents, l'Efsa a conclu en l'absence de risque lié à la consommation (durée de 6 mois) de deux produits contenant un mélange racémique 9c,11t et 10t,12c, en précisant que cette sécurité ne concerne pas les sujets souffrant d'un diabète de type 2. L'Anses réitère ses réserves quant à l'enrichissement des aliments en CLA, compte tenu d'une absence de démonstration de la sécurité à long terme pour la population générale et de l'effet délétère avéré de l'isomère 10t,12c (Afssa 2005a).

4.2.4. Cas des phyto-estrogènes

Les phyto-estrogènes sont des substances présentes naturellement dans les plantes ou issues du métabolisme par la flore colique d'un précurseur végétal ingéré. Ces molécules présentent une similarité de structure chimique avec le 17 β -estradiol qui est à l'origine de leurs similarités fonctionnelles. De ce fait, l'apport de ces substances dans certaines situations physiologiques ou en prévention de certains états pathologiques a été proposé. Cet aspect sera revu brièvement, avant de décrire plus complètement les possibles effets délétères liés à l'introduction de ces substances dans les produits alimentaires courants.

❖ Définition, métabolisme et effets physiologiques

- Définition

Pour qu'une molécule soit répertoriée comme phyto-estrogène, son activité doit avoir été démontrée *in vivo* par des tests consacrés à la démonstration des effets œstrogéniques (tests OCDE d'utéroprolifération et de cornification vaginale). Dans les cas de tests *in vitro*, les molécules seront dites œstrogéniques si les effets sont observés à des doses équivalentes aux concentrations plasmatiques observées après un apport alimentaire courant.

Quatorze molécules appartenant à 6 familles chimiques (isoflavones, isoflavanes, coumestanes, flavanones, chalcones, lignanes et entérolignanes) représentent l'ensemble des phyto-estrogènes. Certains extraits de plantes qui en sont source ont également démontré une activité œstrogénique (trèfle, fenouil, lin, réglisse). Les isoflavones du soja, et parmi elles la génistéine et la daïdzéine, ont été les plus étudiées car ce sont elles qui contribuent à la quasi-totalité de l'apport en phyto-estrogènes des femmes asiatiques. En Occident, en dehors des personnes consommant des produits dérivés du soja (environ 1 % de la population en France) (Afssa 2005b), l'apport en phyto-estrogènes provient essentiellement des aliments contenant des précurseurs des entérolignanes. De nombreux produits végétaux en contiennent mais les baies, les graines de sésame et de lin en sont les sources les plus importantes et à un moindre degré, les légumes riches en caroténoïdes et les crucifères. Cependant, de plus en plus fréquemment, les farines de soja et d'autres légumineuses (fèves) sont utilisées comme ingrédient dans divers aliments, ce qui est susceptible de conduire à une augmentation de la consommation en phyto-estrogènes. Néanmoins, faute de données de consommation et de composition complètes, cette consommation reste difficile à estimer.

- Métabolisme

Par voie orale, les phyto-estrogènes parviennent dans la lumière intestinale majoritairement sous forme de glycosides, puis dans la circulation sanguine sous forme d'aglycones. Cette transformation implique des enzymes entérocytaires mais aussi la participation de la flore colique, qui peut favoriser le métabolisme de la forme glycoside en aglycone puis en d'autres métabolites, parfois plus actifs : c'est le cas de la daïdzéine (glycoside), métabolisée en daïdzéine (aglycone) puis en équol. Ce métabolisme varie d'une espèce à l'autre (par ex. il est plus important chez le rat que chez l'Homme), d'une population à l'autre, et peut varier en fonction de l'alimentation (notamment de l'apport de fibres). Les métabolites des phyto-estrogènes se fixent ensuite sur les récepteurs β et dans une moindre mesure sur les récepteurs α des œstrogènes, mais avec une affinité inférieure à celle des ligands spécifiques, notamment du β -estradiol. L'effet de l'ingestion de ces composés sur les concentrations hormonales est le plus souvent modeste et dans le sens d'une diminution. Un allongement du cycle menstruel, provenant de l'allongement de la phase folliculaire, est régulièrement retrouvé. Enfin une augmentation du métabolisme des œstrogènes vers les catéchol-œstrogènes non génotoxiques (2-OH) est observée dans certaines études, en particulier après une supplémentation en lignanes. Ceci confirmerait un effet hormonal des phyto-estrogènes, qui varie selon les tissus et les doses considérés.

- Effets physiologiques

Plusieurs études ont exploré l'effet d'un apport en phyto-estrogènes sur les troubles de la ménopause (bouffées de chaleur, sècheresse vaginale). Une expertise collective récente (Loprinzi et al. 2008) conclut, après revue des essais randomisés contrôlés, à l'absence d'effet substantiel des phyto-estrogènes sur les bouffées de chaleur, confirmant ainsi les précédentes conclusions de l'Afssa (Afssa 2005b).

En ce qui concerne l'ostéoporose, si les données épidémiologiques étaient insuffisantes en 2005 pour permettre de conclure, le large essai randomisé contrôlé multicentrique PHYTOS (Brink et al. 2008), portant sur 237 femmes ménopausées en bonne santé, a montré qu'une consommation

quotidienne de 110 mg d'isoflavones pendant 1 an n'avait pas d'effet sur la perte osseuse, la formation et la résorption.

En ce qui concerne les effets des isoflavones de soja sur les fonctions cognitives et le vieillissement, la revue de Zhao (Zhao and Brinton 2007) montre que, sur 8 études d'intervention, 4 ont un effet bénéfique. Ainsi malgré de nouveaux résultats, il n'est pas possible d'aller au-delà de la conclusion émise en 2005, à savoir que des études plus rigoureuses sont nécessaires pour conclure.

En ce qui concerne les cancers, les études les plus nombreuses concernent le cancer du sein chez les femmes asiatiques pour lesquelles on retrouve régulièrement une diminution du risque, mais le contexte alimentaire de ces femmes correspond à une alimentation généralement associée à une réduction de risque, évoquant un effet lié aux facteurs de confusion. Une seule étude, qui a introduit dans l'analyse multivariée divers facteurs alimentaires, ne met pas en évidence de réduction de risque associée à la consommation de produits dérivés du soja (Nishio et al. 2007). Des travaux sont nécessaires pour évaluer les effets des phyto-estrogènes chez les femmes caucasiennes. Il n'est donc pas possible actuellement d'accorder un niveau de preuve convaincant ou probable³ aux phyto-estrogènes dans la prévention du cancer du sein. Les études sont moins nombreuses pour le cancer de la prostate, mais les résultats en sont plus cohérents, y compris dans des cohortes multiethniques. Après ajustement sur divers facteurs alimentaires, ces études vont dans le sens d'une réduction du risque, notamment dans les populations caucasiennes, pour des consommations élevées des précurseurs des entérolignanes, le niveau de preuve pouvant être qualifié de possible (Yan and Spitznagel 2009). Pour les autres cancers, il n'existe pas suffisamment d'études pour pouvoir conclure.

En ce qui concerne le système cardio-vasculaire, les données ne sont pas suffisantes pour conclure quant à un effet hypocholestérolémiant spécifique des phyto-estrogènes (Afssa 2005b).

❖ Toxicité, appareil reproductif et carcinogénèse

Le rapport Afssa (2005) concluait ainsi : « Des études de toxicité par administration répétée, de génotoxicité, de carcinogénicité, mais aussi des études portant sur la fertilité, le développement des organes sexuels et leur maturation, ont été conduites le plus souvent chez les rongeurs, plus rarement chez le chien et le singe. Les phyto-estrogènes apparaissent dépourvus de toxicité générale mais ils peuvent être génotoxiques ou carcinogènes dans certains modèles animaux et *in vitro*. La valeur au-delà de laquelle la toxicité potentielle des isoflavones n'est pas suffisamment documentée pour un usage chez l'Homme est de 1 mg/kg pc/j, ce chiffre a donc été provisoirement adopté comme limite de sécurité. Par ailleurs une exposition *in utero* ou périnatale régulière est accompagnée d'altérations du développement des organes sexuels, de leur maturité et parfois aussi de la fertilité. »

- *Etudes de toxicité sur rongeurs*

En 2008, ont été rendues publiques les conclusions du "National Toxicology Program" à partir d'études de toxicologie (National Toxicology Program 2008a) et de cancérogénèse (National Toxicology Program 2008b) classiques sur rats Sprague-Dawley:

Effet sur la reproduction :

La génistéine induit des anomalies du développement des organes de reproduction pour des expositions de 100 ou 500 ppm, doses correspondant à des doses ingérées d'environ 7 et 35 mg/kg de poids par jour pour les mâles et à 10 et 51 mg/kg de poids et par jour pour les femelles (ouverture vaginale accélérée, accentuée chez la femelle, gynécomastie et retard à la descente testiculaire chez le mâle). Cependant, il n'a pas été observé d'effets délétères sur l'appareil reproductif pour des concentrations de génistéine allant de 1 à 100 ppm, ce qui correspond aux concentrations sériques attendues à partir de l'apport en alimentation humaine. Quelques effets clairement toxiques ont été transmis à travers les générations directement exposées et sont apparus chez les descendants non exposés dans les conditions d'exposition de l'étude (100 et 500 ppm).

³En référence aux 3 niveaux de preuve définis par le WCRF : « convaincant », « probable » et « limité mais évocateur » (2007)

Cancérogénicité :

Chez le mâle, il n'a pas été observé d'effet cancérogène pour des expositions de 5, 100 ou 500 ppm. Chez les femelles soumises à la même dose, on a observé une augmentation marginale de tumeurs de la glande pituitaire, d'adénomes et adénocarcinomes mammaires. Des modifications de l'œstrus ont également été observées. Ces effets chez la femelle apparaissent directement liés à la toxicité œstrogénique.

Dans le cas où les phyto-estrogènes auraient un effet cancérogène, celui-ci s'exercerait plutôt à la phase de promotion et de croissance tumorale, et de ce fait, des tests explorant précisément ces étapes de la cancérogenèse sont nécessaires pour apprécier leur cancérogénicité.

- *Etudes expérimentales et d'observation chez l'Homme*

Ces études portent sur l'effet de l'exposition aux phyto-estrogènes du nourrisson ou de l'enfant en bas-âge à travers la consommation de tonyu (jus de soja). Sur ce point, l'Afssa concluait en 2005 : « Les nourrissons de 4 mois alimentés exclusivement depuis la naissance avec des préparations à base de protéines de soja peuvent recevoir de 4 à 9 mg/kg pc/j d'isoflavones. Au vu des études de toxicité, on se doit de souligner le risque potentiel sur la croissance, le développement endocrinien, l'installation de la puberté, et la fertilité, ainsi que l'immunité et le fonctionnement thyroïdien, attaché à la consommation de telles préparations par les nourrissons et les enfants en bas âge même s'il n'existe pas d'études humaines correspondantes. Les enfants consommateurs de tonyus et/ou de desserts à base de soja peuvent également recevoir des quantités élevées d'isoflavones dépassant 1 mg/kg pc/j ». L'Afssa a donc recommandé d'éviter la consommation de telles préparations par les enfants de moins de 3 ans, au moins tant que leur contenu en isoflavones ne serait pas connu.

Depuis, 3 études apportent des arguments à cette restriction : une étude expérimentale chez le marmouset (Tan et al. 2006) et deux études d'observation chez l'Homme (Chavarro et al. 2008; Milerova et al. 2006) :

- l'étude de Tan et al. a été conduite chez 7 couples de jumeaux marmouset de 4 à 5 jours ayant reçu les uns des formules au soja, les autres la formule standard pendant 5 à 6 semaines (Tan et al. 2006). Des prélèvements sanguins ont été réalisés toutes les 10 semaines pour examens hormonaux et les animaux ont été sacrifiés à 120- 138 semaines pour effectuer des examens histologiques. Aucun effet délétère n'a été observé sur l'appareil reproductif, hormis une altération de la taille et de la composition cellulaire des testicules, témoignant de façon indirecte mais constante d'une possible compensation de l'altération des cellules de Leydig ;
- l'étude de Chavarro et al. a été conduite chez 99 hommes recrutés à partir de couples sub-fertiles qui ont été interrogés sur la consommation de 15 aliments contenant du soja dans les 3 mois précédents (Chavarro et al. 2008). L'association de cette consommation avec les caractéristiques qualitatives et quantitatives du sperme a été explorée par une régression linéaire et par quantile. Les résultats montrent qu'il existe une relation inverse entre la consommation d'aliments contenant du soja et la concentration spermatique, mise en évidence après ajustement sur les facteurs individuels de confusion (- 41 millions/mL pour une consommation ≥ 2 portions/semaine contre une absence de consommation) ;
- l'étude de Milerova et al. a recherché chez 268 enfants dépistés pour un déficit en iode, mais sans signes cliniques, une corrélation entre les taux circulants d'isoflavones et la fonction hormonale thyroïdienne (Milerova et al. 2006). Une association positive significative de la génistéine avec des auto-anticorps pour la thyroglobuline et une corrélation négative avec le volume thyroïdien ont été observées. Une régression multiple de la relation entre les taux d'isoflavones et les paramètres thyroïdiens a montré une association faible mais significative entre la génistéine et les variables thyroïdiennes. Un tel effet est donc à considérer dans les cas de déficit en iode.

Ainsi, les résultats de l'ensemble de ces études, qui devront être confortées, soutiennent les recommandations de précautions émises dès 2005 par l'Afssa (Afssa 2005b).

❖ **Conclusion**

Les recommandations de l'Afssa (2005) sur la sécurité liée à la consommation de phyto-estrogènes apparaissent confortées par les études récentes notamment en ce qui concerne la croissance, le développement endocrinien, l'installation de la puberté et de la fertilité, et le fonctionnement

thyroïdien. Cependant, d'autres études d'observation, prenant en compte en particulier les âges de l'exposition et sa durée, restent nécessaires.

Le niveau d'apport dans certaines populations permet de réaliser ce type d'études. Toutefois, la difficulté reste la mesure de l'exposition aux phyto-estrogènes, en raison de l'insuffisance des tables de composition et de l'absence d'étiquetage des aliments contenant du soja ou ses dérivés. De plus, les aliments à base de soja consommés dans les pays occidentaux ne peuvent être considérés comme similaires aux aliments consommés dans les pays asiatiques à base de soja, les méthodes de préparation et les autres ingrédients de l'aliment étant différents. Des analyses de la composition et des enquêtes nutritionnelles sont donc nécessaires pour préciser l'exposition des sujets. Les résultats de ces travaux peuvent conduire à définir la valeur seuil d'isoflavones à partir de laquelle l'étiquetage de leur teneur serait exigé, tel que recommandé dans le rapport de l'Afssa sur l'étiquetage nutritionnel (Afssa 2008e) qui proposait également une mention de restriction concernant les populations à risque.

Les études chez l'animal gardent donc toute leur pertinence pour évaluer la toxicité des phyto-estrogènes, notamment sur le développement des caractères sexuels et la fertilité, mais il est nécessaire de veiller à leur pertinence en matière de cancérogénicité et tenir compte des différents mécanismes, avérés ou suspectés, pouvant agir sur la cancérogenèse : effet sur le métabolisme et la biodisponibilité des hormones sexuelles, promotion et prolifération tumorales.

CONCLUSION GENERALE

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a retenu quatre familles de substances pour illustrer la complexité de l'évaluation des risques liés à l'enrichissement en « autres substances » : acides aminés, fibres ou autres glucides, acides linoléiques conjugués (CLA) et phyto-estrogènes. Ces exemples ont été choisis en raison de l'existence d'éléments de risque évoqués dans la littérature et de toute autre donnée d'alerte. Ils reflètent, par ailleurs, la réalité du marché de l'enrichissement des aliments et des compléments alimentaires. Plusieurs points critiques ressortent de cette évaluation :

- la complexité du métabolisme des acides aminés et l'imbrication dans de nombreuses voies de signalisation, la carence de données toxicologiques alors que de nombreux dangers sont identifiés ;
- la difficulté à extrapoler les données d'une population à une autre, notamment en raison d'une métabolisation différente des substances (effets des phyto-estrogènes différents dans les populations asiatiques et européennes) ou du polymorphisme génétique au sein de la même population (acides aminés) ;
- la nécessité de réaliser une évaluation des risques spécifique à chacune des substances appartenant à une même famille (différents isomères de CLA, différents types de fibres).

De manière générale, l'Anses considère que l'enrichissement des aliments de consommation courante en substances à but nutritionnel ou physiologique (« autres substances ») ne peut être envisagé que dans les deux cas suivants :

- s'il existe une inadéquation des apports dans la population générale ou dans un sous-groupe de la population pour les nutriments pour lesquels il existe des valeurs nutritionnelles de référence (ANC) ;
- si un intérêt nutritionnel/physiologique spécifique est démontré.

Dans ces situations, une évaluation des risques liés à l'addition de vitamines et minéraux et d'« autres substances » aux denrées alimentaires est nécessaire. Ils peuvent être de différentes natures : risques intrinsèques, risques liés aux modifications de biodisponibilité et aux effets des matrices alimentaires, risques liés à des métabolites secondaires, risques liés aux procédés de production, risques liés aux interactions entre substances et entre substances et médicaments, risques de surexposition liée à la multiplication des sources alimentaires, risques liés aux caractéristiques spécifiques de certaines sous-populations, liés aux risques comportementaux, etc.

Pour rappel, la démarche suivie par l’Afssa pour l’enrichissement en vitamines et minéraux se fondait sur les données de consommation maximale et sur la limite de sécurité afin de faciliter la détermination d’une limite maximale d’enrichissement qui garantisse un niveau de sécurité considéré comme acceptable. Or, dans le cas présent des « autres substances », bien souvent, aucune valeur de référence nutritionnelle (ANC ou limite de sécurité) n’est définie et/ou aucune donnée de consommation n’est disponible. L’Anses considère que ces données de consommation doivent intégrer la totalité des sources alimentaires des « autres substances », notamment les apports provenant des compléments alimentaires. Ainsi, l’absence de limite de sécurité ou à défaut de limite maximale d’apport doit être considérée comme liée à l’absence de données permettant d’évaluer le risque, et non comme une absence de risque, même à doses modérées.

L’Anses réitère donc qu’une évaluation au cas par cas des couples « autres substances » et vecteur alimentaire, dans des conditions de supplémentation précises (notamment la dose) est nécessaire afin d’assurer une sécurité maximale au consommateur au regard des données disponibles. L’Anses estime également que cette évaluation du risque en vue d’un enrichissement possible devrait être conjointe à l’évaluation du bénéfice.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

Mots clés : règlement 1925/2006, enrichissement, bénéfiques, risques, acides aminés, CLA, phyto-estrogènes, fibres, glucides

COMPOSITION DU GROUPE DE REFLEXION

M. Champ, M. Gerber, F. Mariotti, J-M Maixent, A. Quignard-Boulangue et D. Turck,

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Afssa (2002) Les fibres alimentaires : définition, méthodes de dosage, allégations nutritionnelles.
- Afssa (2003a) Avis du 5 mai 2003 relatif à l'évaluation de à l'emploi de taurine, D-glucuronolactone, de diverses vitamines et de caféine (à une dose supérieure à celle actuellement admise dans les boissons) dans une boisson dite « énergétique ».
- Afssa (2003b) Evaluation de la sécurité, de l'intérêt et de l'allégation des denrées alimentaires, contenant des plantes destinées à la consommation humaine.
- Afssa (2004a) avis du 18 octobre 2004 relatif aux compléments d'information fournis après la publication de l'avis relatif à l'emploi de lycopène dérivé de *Blakeslea trispora*, comme ingrédient alimentaire.
- Afssa (2004b) Cahier des charges pour le couple nutriment-aliment vecteur.
- Afssa (2004c) Glucides et Santé - Etat des lieux, évaluation et recommandations.
- Afssa (2005a) Risques et bénéfices pour la santé des acides gras *trans* apportés par les aliments.
- Afssa (2005b) Sécurité et bénéfices des phyto-estrogènes apportés par l'alimentation - Recommandations.
- Afssa (2007a) Avis du 7 mai 2007 relatif aux types de constituants glucidiques à introduire dans le dispositif de surveillance des compositions et des apports glucidiques.
- Afssa (2007b) Avis du 10 janvier 2007 relatif aux lignes directrices pour la constitution et l'évaluation de dossiers portant sur les allégations nutritionnelles et de santé revendiquées pour les denrées alimentaires.
- Afssa (2007c) Avis du 14 décembre 2007 relatif à l'emploi dans les compléments alimentaires de plantes ayant fait l'objet de signalements de pharmacovigilance.
- Afssa (2007d) Avis du 21 décembre 2007 relatif à l'évaluation d'un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication des compléments alimentaires.
- Afssa (2008a) Apport en protéines : consommation, qualité, besoins et recommandations. AFSSA.
- Afssa (2008b) Avis du 8 septembre 2008 relatif à l'évaluation d'un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires.
- Afssa (2008c) Avis du 16 mai 2008 relatif à l'évaluation d'un projet relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans les compléments alimentaires.
- Afssa (2008d) Avis du 20 juin 2008 relatif à l'évaluation d'un projet d'arrêté relatif à l'emploi de substances à but nutritionnel ou physiologique et de plantes et préparations de plantes dans la fabrication de compléments alimentaires.
- Afssa (2008e) Modification de l'étiquetage nutritionnel : proposition, arguments et pistes de recherche.
- Afssa (2009a) Etude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 (INCA 2).
- Afssa (2009b) Nanotechnologies et nanoparticules dans l'alimentation humaine et animale.
- Alles, M S, Hartemink, R, Meyboom, S, Harryvan, J L, Van Laere, K M, Nagengast, F M & Hautvast, J G (1999) Effect of transgalactooligosaccharides on the composition of the human intestinal microflora and on putative risk markers for colon cancer. *Am J Clin Nutr*, 69, 980-91.
- Atbc (1994) The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. *N Engl J Med*, 330, 1029-35.
- Baker, D H (2005) Tolerance for branched-chain amino acids in experimental animals and humans. *J Nutr*, 135, 1585S-90S.
- Bier, D M (2003) Amino acid pharmacokinetics and safety assessment. *J Nutr*, 133, 2034S-2039S.
- Bjelakovic, G, Nikolova, D, Gluud, L L, Simonetti, R G & Gluud, C (2008) Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev*, CD007176.

- Blankson, H, Stakkestad, J A, Fagertun, H, Thom, E, Wadstein, J & Gudmundsen, O (2000) Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J Nutr*, 130, 2943-8.
- Brink, E, Coxam, V, Robins, S, Wahala, K, Cassidy, A & Branca, F (2008) Long-term consumption of isoflavone-enriched foods does not affect bone mineral density, bone metabolism, or hormonal status in early postmenopausal women: a randomized, double-blind, placebo controlled study. *Am J Clin Nutr*, 87, 761-70.
- Buse, M G (2006) Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 290, E1-E8.
- Champ, M, Langkilde, a M, Brouns, F, Kettlitz, B & Collet Yle, B (2003) Advances in dietary fibre characterisation. 1. Definition of dietary fibre, physiological relevance, health benefits and analytical aspects. *Nutr Res Rev*, 16, 71-82.
- Chavarro, J E, Toth, T L, Sadio, S M & Hauser, R (2008) Soy food and isoflavone intake in relation to semen quality parameters among men from an infertility clinic. *Hum Reprod*, 23, 2584-90.
- Clement, L, Poirier, H, Niot, I, Bocher, V, Guerre-Millo, M, Krief, S, Staels, B & Besnard, P (2002) Dietary trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid induces hyperinsulinemia and fatty liver in the mouse. *J Lipid Res*, 43, 1400-9.
- Eder, K, Schleser, S, Becker, K & Korting, R (2003) Conjugated linoleic acids lower the release of eicosanoids and nitric oxide from human aortic endothelial cells. *J Nutr*, 133, 4083-9.
- Efsa (2009a) EFSA Scientific Cooperation (ESCO) Working Group on Botanicals and Botanical Preparations; Advice on the EFSA guidance document for the safety assessment of botanicals and botanical preparations intended for use as food supplements, based on real case studies on request of EFSA. *EFSA Journal*, 7, 280-384. www.efsa.europa.eu.
- Efsa (2009b) ESCO Report on Analysis of Risks and Benefits of Fortification of Food with Folic Acid
- Efsa (2009c) The Potential Risks Arising from Nanoscience and Nanotechnologies on Food and Feed Safety. Scientific Opinion of the Scientific Committee
(Question No EFSA-Q-2007-124a) Adopted on 10 February 2009.
- Efsa (2009d) The use of taurine and D-gluuronolactone as constituents of the so-called "energy drinks" - Scientific opinion of the panel on food additives and nutrient sources added to food. *Efsa Journal*, 935, 1-31.
- Efsa (2010) Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to conjugated linoleic acid (CLA) isomers and contributin to he maintenance or achievement of a normal body weight (ID 686, 726, 1516, 1518, 2892, 3165), increase in lean body mass (ID 498, 731), increase in insulin sensitivity (ID 1517), protection of DNA, proteins ans lipids from oxidative damage (ID 564, 1937), and contribution to immune defences by stimulation of production of protective antibodies in response to vaccination (ID 687, 1519) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) N° 1924/2006. *Efsa Journal*, 8, 1794.
- Elliott, R, Pico, C, Dommels, Y, Wybranska, I, Hesketh, J & Keijer, J (2007) Nutrigenomic approaches for benefit-risk analysis of foods and food components: defining markers of health. *Br J Nutr*, 98, 1095-100.
- Evans, M, Brown, J & Mcintosh, M (2002) Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *J Nutr Biochem*, 13, 508.
- Fao/Who (2006) A model for establishing upper levels of intake for nutrients and related substances. Geneva, FAO/WHO Technical Workshop on Nutrient Risk Assessment.
- Flood, M T, Auerbach, M H & Craig, S A (2004) A review of the clinical toleration studies of polydextrose in food. *Food Chem Toxicol*, 42, 1531-42.
- Fnb/lom (2005) Protein and Amino acids. *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients)*. Washington, D.C., The National Academies Press.
- Garlick, P J (2001) Assessment of the safety of glutamine and other amino acids. *J Nutr*, 131, 2556S-61S.
- Grimble, R F (2006) The effects of sulfur amino acid intake on immune function in humans. *J Nutr*, 136, 1660S-1665S.
- Gueguen, L & Pointillart, A (2000) The bioavailability of dietary calcium. *J Am Coll Nutr*, 19, 119S-136S.
- Halade, G V, Rahman, M M & Fernandes, G (2010) Differential effects of conjugated linoleic acid isomers in insulin-resistant female C57Bl/6J mice. *J Nutr Biochem*, 21, 332-7.
- Hasler, C M (2008) Health claims in the United States: an aid to the public or a source of confusion? *J Nutr*, 138, 1216S-20S.

- Hathcock, J N & Shao, A (2008) Expanded approach to tolerable upper intake guidelines for nutrients and bioactive substances. *J Nutr*, 138, 1992S-1995S.
- Hesketh, J, Wybranska, I, Dommels, Y, King, M, Elliott, R, Pico, C & Keijer, J (2006) Nutrient-gene interactions in benefit-risk analysis. *Br J Nutr*, 95, 1232-6.
- Horwitt, M K, Harper, a E & Henderson, L M (1981) Niacin-tryptophan relationships for evaluating niacin equivalents. *Am J Clin Nutr*, 34, 423-7.
- Koutsou, G A, Storey, D M & Bar, A (1999) Gastrointestinal tolerance of gamma-cyclodextrin in humans. *Food Addit Contam*, 16, 313-7.
- Lairon, D, Arnault, N, Bertrais, S, Planells, R, Clero, E, Hercberg, S & Boutron-Ruault, M C (2005) Dietary fiber intake and risk factors for cardiovascular disease in French adults. *Am J Clin Nutr*, 82, 1185-94.
- Legrand, P, Bourre, J, Descomps, B, Durand, G & Renaud, S (2001) Apports Nutritionnels Conseillés pour la population française. Lipides. IN MARTIN, A. (Ed.).
- Lina, B A, Jonker, D & Kozianowski, G (2002) Isomaltulose (Palatinose): a review of biological and toxicological studies. *Food Chem Toxicol*, 40, 1375-81.
- Loprinzi, C L, Barton, D L, Sloan, J A, Novotny, P J, Dakhil, S R, Verdirame, J D, Knutson, W H, Kelaghan, J & Christensen, B (2008) Mayo Clinic and North Central Cancer Treatment Group hot flash studies: a 20-year experience. *Menopause*, 15, 655-60.
- Mariotti, F, Kalonji, E, Huneau, J F & Margaritis, I (2010) Potential pitfalls of health claims from a public health nutrition perspective. *Nutr Rev*, 68, 624-38.
- Milerova, J, Cerovska, J, Zamrazil, V, Bilek, R, Lapcik, O & Hampl, R (2006) Actual levels of soy phytoestrogens in children correlate with thyroid laboratory parameters. *Clin Chem Lab Med*, 44, 171-4.
- Morris, S M, Jr. (2007) Arginine metabolism: boundaries of our knowledge. *J Nutr*, 137, 1602S-1609S.
- Mougiou, V, Matsakas, A, Petridou, A, Ring, S, Sagredos, A, Melissopoulou, A, Tsigilis, N & Nikolaidis, M (2001) Effect of supplementation with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat. *J Nutr Biochem*, 12, 585-594.
- Munro, I C, Newberne, P M, Young, V R & Bar, A (2004) Safety assessment of gamma-cyclodextrin. *Regul Toxicol Pharmacol*, 39 Suppl 1, S3-13.
- National Toxicology Program (2008a) NTP Multigenerational Reproductive Study of Genistein (CAS No. 446-72-0) in Sprague-Dawley Rats (Feed Study). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser*, 1-266.
- National Toxicology Program (2008b) NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Genistein (CAS No. 446-72-0) in Sprague-Dawley Rats (Feed Study). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser*, 1-240.
- Newgard, C B, An, J, Bain, J R, Muehlbauer, M J, Stevens, R D, Lien, L F, Haqq, a M, Shah, S H, Arlotto, M, Slentz, C A, Rochon, J, Gallup, D, Ilkayeva, O, Wenner, B R, Yancy, W S, Jr., Eisenson, H, Musante, G, Surwit, R S, Millington, D S, Butler, M D & Svetkey, L P (2009) A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metab*, 9, 311-26.
- Nishio, K, Niwa, Y, Toyoshima, H, Tamakoshi, K, Kondo, T, Yatsuya, H, Yamamoto, A, Suzuki, S, Tokudome, S, Lin, Y, Wakai, K, Hamajima, N & Tamakoshi, A (2007) Consumption of soy foods and the risk of breast cancer: findings from the Japan Collaborative Cohort (JACC) Study. *Cancer Causes Control*, 18, 801-8.
- O'hagan, S & Menzel, A (2003) A subchronic 90-day oral rat toxicity study and in vitro genotoxicity studies with a conjugated linoleic acid product. *Food Chem Toxicol*, 41, 1749-60.
- Omenn, G S, Goodman, G E, Thornquist, M D, Balmes, J, Cullen, M R, Glass, A, Keogh, J P, Meyskens Jr, F L, Valanis, B, Williams Jr, J H, Barnhart, S & Hammar, S (1996) Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *New Engl J Med*, 334, 1150-1155.
- Oxenkrug, G F (2007) Genetic and hormonal regulation of tryptophan kynurenine metabolism: implications for vascular cognitive impairment, major depressive disorder, and aging. *Ann N Y Acad Sci*, 1122, 35-49.
- Pencharz, P B, Elango, R & Ball, R O (2008) An approach to defining the upper safe limits of amino acid intake. *J Nutr*, 138, 1996S-2002S.
- Raitala, A, Pertovaara, M, Karjalainen, J, Oja, S S & Hurme, M (2005) Association of interferon-gamma +874(T/A) single nucleotide polymorphism with the rate of tryptophan catabolism in healthy individuals. *Scand J Immunol*, 61, 387-90.

- Renwick, a G (2004) Establishing the upper end of the range of adequate and safe intakes for amino acids: a toxicologist's viewpoint. *J Nutr*, 134, 1617S-1624S; discussion 1630S-1632S, 1667S-1672S.
- Renwick, a G (2006) Toxicology of micronutrients: adverse effects and uncertainty. *J Nutr*, 136, 493S-501S.
- Richards, a B, Krakowka, S, Dexter, L B, Schmid, H, Wolterbeek, a P, Waalkens-Berendsen, D H, Shigoyuki, A & Kurimoto, M (2002) Trehalose: a review of properties, history of use and human tolerance, and results of multiple safety studies. *Food Chem Toxicol*, 40, 871-98.
- Riserus, U, Arner, P, Brismar, K & Vessby, B (2002a) Treatment with dietary trans10cis12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*, 25, 1516-21.
- Riserus, U, Basu, S, Jovinge, S, Fredrikson, G N, Arnlov, J & Vessby, B (2002b) Supplementation with conjugated linoleic acid causes isomer-dependent oxidative stress and elevated C-reactive protein: a potential link to fatty acid-induced insulin resistance. *Circulation*, 106, 1925-9.
- Sakai, R, Miura, M, Amao, M, Kodama, R, Toue, S, Noguchi, Y & Kimura, T (2004) Potential approaches to the assessment of amino acid adequacy in rats: a progress report. *J Nutr*, 134, 1651S-1655S; discussion 1664S-1666S, 1667S-1672S.
- Shao, A & Hathcock, J N (2008) Risk assessment for the amino acids taurine, L-glutamine and L-arginine. *Regul Toxicol Pharmacol*, 50, 376-99.
- Sisk, M B, Hausman, D B, Martin, R J & Azain, M J (2001) Dietary conjugated linoleic acid reduces adiposity in lean but not obese Zucker rats. *J Nutr*, 131, 1668-74.
- Stachowska, E, Baskiewicz-Masiuk, M, Dziedziejko, V, Gutowska, I, Baranowska-Bosiacka, I, Marchlewicz, M, Dolegowska, B, Wiszniewska, B, Machalinski, B & Chlubek, D (2008) Conjugated linoleic acid increases intracellular ROS synthesis and oxygenation of arachidonic acid in macrophages. *Nutrition*, 24, 187-99.
- Tan, K A, Walker, M, Morris, K, Greig, I, Mason, J I & Sharpe, R M (2006) Infant feeding with soy formula milk: effects on puberty progression, reproductive function and testicular cell numbers in marmoset monkeys in adulthood. *Hum Reprod*, 21, 896-904.
- Tholstrup, T, Raff, M, Straarup, E M, Lund, P, Basu, S & Bruun, J M (2008) An oil mixture with trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid increases markers of inflammation and in vivo lipid peroxidation compared with cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in postmenopausal women. *J Nutr*, 138, 1445-51.
- Tricon, S, Burdge, G C, Kew, S, Banerjee, T, Russell, J J, Jones, E L, Grimble, R F, Williams, C M, Yaqoob, P & Calder, P C (2004) Opposing effects of cis-9,trans-11 and trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. *Am J Clin Nutr*, 80, 614-20.
- Van Can, J G, Ijzerman, T H, Van Loon, L J, Brouns, F & Blaak, E E (2009) Reduced glycaemic and insulinaemic responses following isomaltulose ingestion: implications for postprandial substrate use. *Br J Nutr*, 102, 1408-13.
- Watford, M (2008) Glutamine metabolism and function in relation to proline synthesis and the safety of glutamine and proline supplementation. *J Nutr*, 138, 2003S-2007S.
- Who (2001) Safety evaluation of certain food. Gamma-cyclodextrin. WHO Food Additive Series, 42, 183-202.
- Wisker, E (2003) [Probiotics]. *Zentralbl Gynakol*, 125, 475-9.
- Yan, L & Spitznagel, E L (2009) Soy consumption and prostate cancer risk in men: a revisit of a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*, 89, 1155-63.
- Zentek, J, Marquart, B & Pietrzak, T (2002) Intestinal effects of mannanoligosaccharides, transgalactooligosaccharides, lactose and lactulose in dogs. *J Nutr*, 132, 1682S-4S.
- Zhao, L & Brinton, R D (2007) WHI and WHIMS follow-up and human studies of soy isoflavones on cognition. *Expert Rev Neurother*, 7, 1549-64.
- Zijp, I M, Korver, O & Tijburg, L B M (2000) Effect of tea and other dietary factors on iron absorption. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 40, 371-98.

ANNEXES

Annexe 1. Liste des substances qui ont fait l'objet d'un avis de l'Afssa

substance	saisines	Limite/informations sur le risque	Expertise en cours
Galacto-oligosaccharide (GOS)	2000-SA-0332 2000-SA-0147b	Mélange FOS+GOS 0,8g/dL produit accepté dans des préparations pour nourrissons	Voir également présent avis
Gamma-cyclodextrine	2001-SA-0119 (additif, procédure novel food)	Pour la gamma-cyclodextrine une DJA « non-spécifiée » a été établie par le JECFA en 1999 ; aucune intolérance gastro-intestinale n'a été mise en évidence pour une consommation atteignant 8 g/personne/jour	
Transgalacto-oligosaccharide (TOS)	2001-SA-0191 (préparations pour nourrissons et enfants en bas âge)	Mélange FOS-TOS (10%/90%) accepté à hauteur de 0,8g/100 mL (prép. nourrissons) et de 0,4g/100 mL (prép enfants en bas âge)	
Amidon résistant	2003-SA-0162	Tolérance digestive de l'ingrédient bonne chez l'adulte aux doses maximales attendues dans l'alimentation (< 30 g/j). Eviter chez le jeune enfant	
Isomaltulose	2004-SA-0410/2004-SA-0169 (NF)	Pas de données de seuil. Une étude citée dans rapport M. Vialettes : pas de troubles digestifs si consommation < 48g/j.	
Arabinogalactane	2005-SA-0098	La consommation d'arabinogalactanes ne comporte pas de risques pour la sécurité du consommateur. Cependant, le risque d'inconfort digestif (flatulences, ballonnements) lié à la consommation d'arabinogalactanes devrait être mentionné sur l'étiquetage des produits contenant de l'arabinogalactane.	
Dextrine	2005-SA-0283	Considérée comme fibre soluble, pas de valeur limite sup. définie. Seuil de tolérance digestive estimé à 45 g/j pour sujets adultes sains	
D-tagatose	2005-SA-0305	Seuil de tolérance 10-25g/j	

Polydextrose	2003-SA-0232 liée à 2002-SA-0183 Additif alimentaire autorisé E1220	Seuils de tolérance digestive (« mean laxative threshold ») déterminés par le Comité scientifique de l'alimentation humaine (CSAH), soit 90 g/j ou 50 g en prise unique ; en ce qui concerne la tolérance digestive, des épisodes diarrhéiques sont rapportés chez quelques volontaires ayant reçu 15 g de polydextrose par jour ; il est cependant plausible, d'après les données scientifiques disponibles, que le seuil de tolérance digestive du polydextrose soit supérieur à celui des FOS par exemple (30 g/j), étant donné que ces derniers seraient beaucoup plus fermentescibles ; en outre, d'après les données scientifiques disponibles, la présence de flatulence suite à la consommation de produits enrichis en polydextrose ne peut être exclue ;	
Maltodextrine	2006-SA-0140 (avis sucres), 2007-SA-0102	Les maltodextrines (DE 5 à 20) sont aussi hyperglycémiantes que du glucose ou du maltose. Les réponses insuliniques sont dose-dépendantes → inclus dans matières sucrantes dont la consommation doit être réduite. Formule pour nourrissons contre diarrhées contenant 68 g/100 g de maltodextrine, considérée comme sans risque	
Glucuronolactone	2006-SA-0236, 2005-SA-0111 2002-SA-0260 2000-SA-0191	Suspicion de toxicité rénale pour le D-glucuronolactone	
Acide docosahexaénoïque (DHA)	Voir nouveaux ANC (2006-SA-0359)	Pas de risque évoqué	
Acide eicosapentaénoïque (EPA)		Pas de risque évoqué	
Acide stéaridonique (SDA)	2007-SA-0389 lié à 2007-SA-0242 huile d'échium	Pas de risque évoqué	
Acide arachidonique (ARA)	2005-SA-0375 (2006-SA-0201) Voir nouveaux ANC (2006-SA-0359)	L'utilisation de l'AA (apporté par une huile provenant du champignon <i>Mortierella alpina</i>) dans les préparations destinées aux prématurés et aux enfants nés à terme est largement acceptée et l'utilisation de cette huile en tant que source d'AA est donc justifiée	
Acide oléique / oméga 9	Voir nouveaux ANC (2006-SA-0359)	Pas de risque évoqué	


Acide linoléique conjugué (CLA)	2002-SA-0332, 2003-SA-0388 (rapport AG trans), 2006-SA-0156, 2008-SA-0176	Chez la souris, l'administration de régimes supplémentés à 1 % de CLA entraîne une disparition totale de la masse adipeuse associée à une hypertrophie et une stéatose hépatiques. Les résultats des études cliniques mettant en évidence des effets délétères ou bénéfiques des CLA sur divers paramètres sont contradictoires et controversés. Les CLA induisent un stress oxydant <i>in vitro</i> par un mécanisme dépendant au moins partiellement de PPAR α , observation confirmée par plusieurs études cliniques	Voir présent avis
Lécithine	2000-SA-0181 Additif alimentaire autorisé E322	Considérant que le produit (lécithine) ne présente pas de toxicité particulière à travers les données présentées mais qu'en l'absence d'étude réalisée sur un grand nombre de sujets et avec un suivi régulier, l'absence de toxicité au long cours ne peut être établie.	
Diacylglycérophosphatidylcholine (GPC)	2000-SA-0181	L'emploi de diacylglycérophosphatidylcholine (GPC) appartenant à la famille des lécithines dans les aliments destinés à une alimentation particulière ; que la finalité est d'accroître l'apport de GPC, source d'acides gras polyinsaturés, de choline, et qui sont par ailleurs les constituants lipidiques de nombreuses structures biologiques ; en l'absence de données, il n'est pas possible de conclure à l'absence d'effet néfaste sur une grande population et à long terme de la consommation de ce produit.	
Phytostérol / phytostanol			Saisine 2010-SA-0057 en cours
Acides aminés et dérivés d'acide aminés	Rapport protéines (2007)		Voir présent avis
Antioxydants : Gallate d'épigallocatechol, Flavonoïde, Polyphénols, Caroténoïde, Proanthocyanidine, Bêta-carotène			Réflexion en cours sur les antioxydants
Phyto-estrogènes, Isoflavone, génistéine	Rapport de 2005 2008-SA-0201		Voir présent avis

Acide α -linoléique, Acide linoléique, Acide α lipoïque, Astaxanthine, Bétaïne, Caféine, Carnitine, Chitosan, Chondroïtine, Coenzyme Q10, Créatine, Fructo- oligosaccharide, GABA, glucosamine, Glutathion, Hespéridine, Inositol, Inuline, L-5 hydroxytryptophane lactase, Lactoferrine, Lutéine, Lycopène, Pectine, Propolis, Quercétine, Rutine, Superoxyde dismutase, Taurine, Troxérutine, Tryptophane	Voir avis 2007-SA-0231		
---	------------------------	--	--

Annexe 2. Liste des fibres, glucides et dérivés glucidiques qui ont fait l'objet d'un avis de l'Afssa

Substance	Nature et origine de la substance	Utilisation agroalimentaire et pharmacologie	Saisines	Limite/informations sur le risque
Polymères glucidiques digestibles (au niveau de l'intestin grêle)				
Maltodextrines (digestibles)	Polymères d'unités glucose liées en α 1-4 et α 1-6	Fréquemment utilisées comme « substance de charge », ne sont pas sucrantes mais sont aussi énergétiques que le glucose (en fait, un peu plus que le glucose) ou l'amidon	2006-SA-0140 2007-SA-0102	Les maltodextrines (dextrose équivalent 5 à 20) sont aussi hyperglycémiantes que du glucose ou du maltose. Les réponses insuliniques sont dose-dépendantes. Incluses dans la liste des matières sucrantes dont la consommation doit être réduite (Afssa 2007a). Une formule pour nourrissons contre diarrhées contenant 68g/100g de maltodextrines a été considérée comme sans risque.
Gamma-cyclodextrine	Oligosaccharide cyclique composé de 8 sous-unités glucopyranose liées en α -(1,4) $C_{48}H_{80}O_{40}$	Excipient de formulation de médicaments – complexation de principes actifs sensibles. Exhausteur de goût, stabilisation des émulsions et protection de molécules volatiles. Incorporés dans de nombreux aliments liquides ou solides à des teneurs allant jusqu'à 8% dans des boissons, 10% dans des barres nutritives ou 20% dans les crèmes à tartiner à faible teneur en matière grasse.	2001-SA-0119	Pour la gamma-cyclodextrine (γ -CD) une DJA « non-spécifiée » a été établie par le JECFA en 2001. La molécule est rapidement métabolisée en glucose (dose 1g/kg PV), chez le rat (WHO 2001). Aucune intolérance gastro-intestinale n'a été mise en évidence pour une consommation atteignant 8 g/personne/jour (Koutsou et al. 1999; Munro et al. 2004). Aucun effet tératogène ni génotoxique n'a été observé (doses allant jusqu'à 20% de la ration). Les autres études toxicologiques portent sur des périodes allant de 3 mois à 1 an chez le rat ; elles ne révèlent pas d'effet toxique et les γ -CD étaient bien tolérées chez les animaux. Toxicité orale en aigu LD50>8000 mg/kg (rat). Etude 90 jours chez le rat et le chien : NOAEL : 20 % du régime. Etudes tératologies sur rongeurs : pas tératogène, embryotoxique ou fetotoxique à des doses \leq 20 % du régime chez les rats et les lapins.
Polymères glucidiques ayant le statut de fibre alimentaire ou susceptibles de l'obtenir				

Arabinogalactane	Galactane (polymère de galactose) possédant des chaînes latérales d'arabinane (polymère d'arabinose) extrait de bois de mélèze mais susceptible d'être extrait d'autres bois et végétaux.	L'arabinogalactane a obtenu le statut de fibre alimentaire mais l'allégation « fibre prébiotique » a été refusée par l'AFSSA	2005-SA-0098	La consommation d'arabinogalactanes (AG) ne comporte pas de risques pour la sécurité du consommateur. Cependant, le risque d'inconfort digestif (flatulences, ballonnements) lié à la consommation d'AG devrait être mentionné sur l'étiquetage des produits contenant de l'AG. Dans l'une des études, un inconfort digestif (flatulence et/ou ballonnements) est observé chez environ 3% des sujets pour des consommations quotidiennes $\geq 8,4, 15$ ou 30 g/j. La DL50 chez le rat est de $12,9$ g/kg de poids corporel. L'AG a le statut GRAS aux USA (depuis 2000) et il a reçu une autorisation d'emploi par la FDA en tant qu'additif alimentaire à but technologique sur la base du <i>quantum satis</i> .
Polydextrose	Polymère de glucose à liaisons aléatoires avec quelques groupes terminaux sorbitol. Il est obtenu par fusion et polycondensation de glucose en présence de sorbitol et de catalyseurs. DP moyen : 12	Fibre alimentaire. Les allégations relatives au transit intestinal revendiquées par le pétitionnaire ont été refusées par l'AFSSA (2002-SA-0183).	2003-SA-0232 liée à 2002-SA-0183	Le polydextrose a obtenu le statut de fibre alimentaire. Seuils de tolérance digestive (« mean laxative threshold ») déterminés par le Comité scientifique de l'alimentation humaine (CSAH), soit 90 g/j ou 50 g en prise unique (Flood et al. 2004) ; En ce qui concerne la tolérance digestive, des épisodes diarrhéiques sont rapportés chez quelques volontaires ayant reçu 15 g de polydextrose par jour ; il est cependant plausible, d'après les données scientifiques disponibles, que le seuil de tolérance digestive du polydextrose soit supérieur à celui des FOS par exemple (30 g/j), étant donné que ces derniers seraient beaucoup plus fermentescibles ; en outre, d'après les données scientifiques disponibles, la présence de flatulence suite à la consommation de produits enrichis en polydextrose ne peut être exclue ;
Amidon résistant (type 3)	Amidon ($C_6H_{10}O_5$) _n , (liaisons α 1-4, très majoritairement) rétrogradé dont la fraction la plus digestible est éventuellement éliminée par voie enzymatique	Utilisé en tant que fibre alimentaire ; d'autres allégations (effet bifidogène, notamment) ont été demandées mais refusées par l'AFSSA	2005-SA-0285 2003-SA-0162,	L'amidon résistant de type 3 a obtenu le statut de fibre alimentaire (stimulation de la production de butyrate au niveau colique). La tolérance digestive de l'ingrédient est bonne chez l'adulte aux doses maximales attendues dans l'alimentation (< 30 g/j). Les simulations prédisent une consommation de 5 à 9 g/j si cet amidon résistant est utilisé dans les produits céréaliers, les produits laitiers et boissons lactées (Saisine 2003-SA-0162). Eviter chez le jeune enfant
Dextrine résistante	($C_6H_{10}O_5$) _n Liaisons α -(1,4) \pm α -(1,6) entre les unités glucoses Dextrines rétrogradées	Fibre alimentaire dont les allégations revendiquées mais refusées par l'AFSSA concernent principalement un effet prébiotique	2005-SA-0283	Considérée comme fibre soluble, pas de valeur limite supérieure définie. Seuil de tolérance digestive estimé à 45 g/j pour sujets adultes sains

Galacto-oligosaccharide (GOS) ou Transgalacto-oligosaccharide (TOS)	β-galacto-oligosaccharide constitué d'une unité lactose et d'unités galactose liées en β-1,6, β-1,4 ou β-1,3. DP : 3-4 (mélange de DP 1 à 6). Produits à partir de lactose par transgalactosylation.	Effet bifidogène chez les nourrissons (préparations pour nourrissons)	<u>Sous nom de GOS</u> 2000-SA-0332 2000-SA-0147 <u>Sous nom de TOS</u> 2001-SA-0191	Un mélange FOS-GOS (10/90) a été accepté à hauteur de 0,8 g/100 mL (préparations pour nourrissons) et de 0,4 g/100 mL (préparations pour enfants en bas âge). L'effet bifidogène du mélange est prouvé. L'innocuité à long terme, bien que probable, reste à démontrer. En conséquence, il est nécessaire « de rester vigilant sur les éventuels effets à long terme liés à l'utilisation de telles préparations et un suivi attentif est vivement recommandé. ». (Alles et al. 1999; Wisker 2003; Zentek et al. 2002) Dans certaines publications (antérieures à 2000), les GOS sont des α-gluco-oligosaccharides.
Oses et diholosides ne faisant pas partie des « sucres » (au sens réglementaire du terme)				
Tréhalose	α-D-glucopyranosyl- α - D-glucopyranoside C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ (liaison α-1-1'). Diholosite non réducteur naturel (champignons dont levures, miel) mais obtenu par voie enzymatique 	Stabilisation de certains aliments pendant les procédés de séchage (lait en poudre, soupe sèche...)	2000-SA-0250	Il manque des informations concernant l'innocuité de deux des enzymes (maltooligosyl tréhalose synthase et maltooligosyl tréhalose tréhalohydrolase, produites par <i>Arthrobacter ramosus</i> et des souches d' <i>A. ramosus</i> et <i>Pseudomonas amyloclavata</i>) utilisées pour la production du tréhalose. Le tréhalose est normalement hydrolysé en 2 molécules de glucose par la tréhalase intestinale. Des doses de 50 g seraient parfaitement tolérées par l'Homme, qui possède la capacité de le digérer (Richards et al. 2002). Cette information doit être fournie au consommateur (particulièrement aux diabétiques). Il existe des personnes qui sont intolérantes au tréhalose car déficientes en tréhalase (intestinale) mais elles sont moins nombreuses que les personnes déficientes en lactase. Le tréhalose a fait l'objet de plusieurs études (dont génotoxicité et toxicité aiguë), chez plusieurs espèces animales, qui ont démontré l'innocuité de la molécule chez ces animaux. Les doses d'utilisation revendiquées par le pétitionnaire (3,9 à 8 g/jour) ne sont pas recevables (problème des études de simulation et marge de sécurité avancée). Le tréhalose ne semble pas présenter de risque majeur pour la santé du consommateur. La FAO et l'OMS (Comité d'experts) n'ont pas jugé nécessaire de proposer une valeur de DJA pour le tréhalose.

Isomaltulose	Isomère du saccharose avec liaison α 1-6 entre le glucose et le fructose ; $C_{12}H_{22}O_{11}$ Présent dans le miel et le sucre de canne ; obtenu par biotechnologie (<i>Protaminobacter rubrum</i>)	Utilisé comme édulcorant (malgré un pouvoir sucrant de 0,42) dans les boissons et confiseries pour réduire l'apport en sucre (et autres édulcorants caloriques)	2004-SA-0410 2004-SA-0169 (NF)	Il est hydrolysé par le complexe enzymatique isomaltase-sucrase de l'intestin grêle, en glucose et fructose. Digestion plus lente que celle du saccharose mais aussi énergétique (van Can et al. 2009) => nécessité d'informer le consommateur sur le fait qu'il s'agit d'un édulcorant « calorique » et glycémiant. Les études sur sujets sains et diabétiques révèlent une bonne tolérance jusqu'à 50 g par jour sans signe d'inconfort digestif. Le formaldéhyde étant utilisé pour la destruction des bactéries <i>P. rubrum</i> , il faut accorder une attention particulière aux procédés d'élimination de ce composé. Parmi les études de toxicité orale, l'une porte sur 13 semaines, chez le rat (mâle et femelle) à des doses de 7,0 à 8,1 g/kg de poids corporel ; elle ne révèle aucun signe de toxicité et une bonne tolérance des animaux (Lina et al. 2002).
D-tagatose	Epimère du D-fructose, détecté à faible concentration dans des produits laitiers traités à haute température (c'est à dire lait déshydraté et stérilisé) ; synthétisé à partir du lactose par la lactase d' <i>Aspergillus oryzae</i> .	Edulcorant glucidique de faible valeur énergétique (1,5 kcal/g, selon le pétitionnaire). Il est aussi humectant, texturant, épaississant et est utilisé comme agent de charge.	2005-SA-0305	Statut GRAS par la FAO/WHO depuis 2001. Seuil de tolérance 10-25 g/j. L'Afssa déconseille la consommation de ce produit aux enfants de moins de 3 ans et demande des études chez des enfants de plus de 3 ans. Le fait que le D-tagatose soit obtenu à partir du lactose nécessite l'information du consommateur sur le risque de présence de protéines lactées (amendement CE/2003/89 de la directive CE/2000/13) sauf demande d'exemption par le pétitionnaire.
Glucurono-lactone	Lactone (ester cyclique) dérivé de l'acide glucuronique $C_6H_8O_6$	Utilisé dans certaines boissons énergisantes car supposé permettre de lutter contre la fatigue	2006-SA-0236 2005-SA-0111 2002-SA-0260 2000-SA-0191	Suspicion de toxicité rénale pour le D-glucuronolactone – Non confirmée par étude chez le rat pendant 13 semaines. Allemagne < 2400mg/L dans les boissons gazeuses (German Fed. Risk Institute, Mars 08). NOAEL : 1000 mg/kgPV/jour (rats). Pas d'études sur les effets génotoxiques, tératogénicité, carcinogénicité (Efsa 2009d)