

Maisons-Alfort, le 20 octobre 2006

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relative à l'emploi d'une poudre de krill et d'un hydrolysate enzymatique de chair d'huîtres dans un complément alimentaire, et à l'utilisation de l'allégation « prépare, renforce, prolonge le bronzage »

LA DIRECTRICE GENERALE

Par courrier reçu le 19 décembre 2005, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 15 décembre 2005 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (Dgcrf) d'une demande d'évaluation relative à l'emploi d'une poudre de krill et d'un hydrolysate enzymatique de chair d'huîtres dans un complément alimentaire, et à l'utilisation de l'allégation « prépare, renforce, prolonge le bronzage ».

Le complément alimentaire faisant l'objet de la saisine est composé d'huile de poisson (100 mg), d'hydrolysate de chair d'huître (40 mg), de poudre de Krill (30 mg), de lycopène (15 mg), d'extrait de la micro-algue *Dunaliella Salina* (10,1 mg), de vitamine E d'origine naturelle (10,1 mg). La dose journalière préconisée par le pétitionnaire est de 2 comprimés. Le complément alimentaire est présenté comme « destiné aux personnes adultes concernées par l'exposition solaire dont l'alimentation peut être déficiente en antioxydants ».

Les revendications du pétitionnaire sont les suivantes :

- 1/ « Prépare, renforce, prolonge le bronzage »,
- 2/ « Il réunit trois familles d'ingrédients : un complexe marin breveté, associé à d'autres actifs marins anti-radicalaires reconnus pour aider à se protéger des méfaits du soleil, ainsi que des actifs pigmentants pour donner un joli hâle naturel au visage et au corps, et des actifs protecteurs prévenant la déshydratation de la peau pour sublimer le bronzage ».

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Nutrition humaine » réuni le 18 mai 2006, l'Afssa rend l'avis suivant :

En ce qui concerne l'origine et les spécifications des ingrédients utilisés pour la fabrication du complément alimentaire

L'origine de l'huile de poisson (« familles des sardines et anchois ») est imprécise. Toutefois, elle ne pose pas de problème particulier en termes de peroxydes. Ses teneurs en métaux lourds et en dioxines, de même que sa qualité bactériologique, sont conformes aux normes.

Si l'origine de l'hydrolysate de chair d'huître est connue, à savoir l'huître creuse *Crassostrea gigas*, le processus d'hydrolyse enzymatique n'est pas détaillé, ce qui ne permet pas une analyse précise du produit obtenu. Par ailleurs, une interrogation subsiste quant à une éventuelle classification de cet ingrédient en tant que nouvel aliment, en lien avec le procédé de fabrication. Les teneurs en métaux lourds ne sont pas fournies, contrairement à ce qui est préconisé pour les substances d'origine marine.

En ce qui concerne la poudre de Krill, aucune information n'est fournie sur la nature du produit brut (utilisation des crustacés avec ou sans carapace), ni sur le procédé d'obtention. Sa teneur en astaxanthine n'est pas précisée. Les données microbiologiques ne posent pas de problème particulier. En revanche, les teneurs en métaux lourds ne sont pas fournies. De plus, le certificat d'alimentarité fourni ne présente pas de garanties suffisantes, notamment les documents ayant permis son établissement ne sont pas joints au dossier.

Le lycopène provient d'un extrait de tomate présentant une teneur de 10 %. Les données d'analyse concernant les teneurs en métaux lourds et la microbiologie sont conformes aux normes.

Le mélange de caroténoïdes naturels est issu d'une micro-algue, *Dunaliella salina*. Il contient principalement du bêta-carotène (94,5 %), de l'alpha-carotène (3,5 %) et des caroténoïdes divers (cryptoxanthine, lutéine et zéaxanthine, etc.) en solution dans l'huile d'olive raffinée. Ce produit n'appelle pas de remarque particulière.

Une étude de toxicité aiguë réalisée chez le rat selon les lignes directrices de l'OCDE a permis de déterminer une DL50 supérieure à 5000 mg/kg de poids corporel (données non publiées). Aucune donnée n'est fournie quant à la toxicité chronique du complément alimentaire.

Aucune donnée n'est fournie à l'appui de la stabilité du complément alimentaire pendant la durée d'utilisation.

En ce qui concerne les allégations revendiquées pour le complément alimentaire

Les études sur lesquelles s'appuie le pétitionnaire pour étayer les allégations proposées sont soit des essais *in vitro* sur culture cellulaire, notamment une étude spécifique réalisée avec le complément alimentaire, soit des études d'intervention chez l'Homme.

Des études *in vitro* ont testé les effets des caroténoïdes, en association avec les vitamines C et E, sur la protection des cellules de la peau contre les rayonnements ultra-violet (UV) et sur le processus de bronzage :

- la multiplication cellulaire et la pigmentation (synthèse de mélanine) sont augmentées sur des cultures de mélanocytes humains ayant subi une irradiation UV et traitées avec un mélange d'extrait de tomate, de lycopène et d'alpha et bêta-carotènes provenant d'huile de palme (Smit et al. 2002) ;
- Offord et al. (2002) ont étudié les effets d'une préparation de lycopène et bêta-carotène, en association avec l'acide carnosique, sur des fibroblastes humains exposés à une irradiation UV A à la dose minimale déclenchant un érythème cutané chez l'homme. Le lycopène et le bêta-carotène démontrent une action photoprotectrice, uniquement en présence de vitamine E (retour à la normale de la synthèse de l'ARNm d'une collagénase interstitielle, le MMP-1 préalablement « up-régulée » par l'irradiation UV).

L'étude *in vitro* réalisée avec le complément alimentaire a porté sur des cultures de kératinocytes humains de type NCTC irradiées ou non avec des UV A et UV B, après avoir été incubées en présence de concentrations croissantes du complément alimentaire, de l'hydrolysate de chair d'huître, de bêta-carotène ou de vitamine E. Le test de viabilité cellulaire montre que le complément alimentaire et chacun des ingrédients (hydrolysate de chair d'huître, bêta-carotène et vitamine E) protègent de façon dose-dépendante les cellules (augmentation de la viabilité), et que l'effet du complément alimentaire est supérieur à celui de chacun des ingrédients considérés séparément : les cellules « témoins » (absence d'antioxydants dans le milieu de culture) présentent un taux de survie de 23 % après irradiation ; ce taux est augmenté, après 24 h, de 49 % en présence de 0,01 % de bêta-carotène, de 44 % en présence de 0,01 % de vitamine E et de 75 % en présence de 0,01 % du complément alimentaire.

Cette étude appelle plusieurs remarques :

- ces effets ne peuvent être pertinemment comparés entre eux : les concentrations des substances testées (complément alimentaire ou ingrédients) sont arbitraires, l'expression sur une base pondérale étant utilisée dans la mesure où les mélanges ne sont pas définis chimiquement ;
- les graphes ne présentent que des valeurs uniques sans aucune mention d'écart-type, ce qui ne permet pas d'attester que les résultats sont issus d'un nombre suffisant d'expérimentations indépendantes. Dans le dossier, le pétitionnaire fait mention d'études statistiques (tests de Mann-Whitney) mais les résultats ne sont pas présentés ;
- le protocole opératoire indique l'utilisation d'une lampe SOL 500, précisant qu'il s'agit d'une lampe UV A, UV B. Or, d'après la fiche technique, il s'agit d'un spectre plus large qui englobe également le rayonnement visible et les infra rouge. Par ailleurs, aucune donnée n'est fournie quant à l'intensité de l'irradiation subie.

Plusieurs études d'intervention sont fournies par le pétitionnaire à l'appui des allégations :

- chez 36 sujets sains, un apport, soit de 24 mg/j de bêta-carotène, soit de 8 mg/j de bêta-carotène + 8 mg/j de lycopène + 8 mg/j de lutéine, conduit à des effets anti-érythémateux comparables, mesurés par chromamétrie (Heinrich et al., 2003). Ainsi, les doses et les types de substances utilisées ne permettent pas de conclure que le complément alimentaire présente un effet anti-érythémateux ;
- l'étude de Micozzi et al. (1989) montre, chez des sujets sains recevant 30 mg/j de bêta-carotène, un développement de caroténodermie par rapport à d'autres groupes recevant soit 12 mg de bêta-carotène, soit 12 mg de lycopène. Cet effet n'apparaît que lorsque le niveau plasmatique de caroténoïdes dépasse 4 mg/L. Cette étude indique que le seuil d'apparition de la caroténodermie se situe au delà de 4,8 mg/j de caroténoïdes, apport atteint par la consommation de 2 comprimés du complément alimentaire ;
- une étude portant sur les effets de la vitamine E montre que son effet protecteur vis à vis de l'érythème solaire n'est visible qu'en association avec la vitamine C, non présente dans le complément alimentaire (Sies & Stahl, 2002). La vitamine E seule, à des niveaux d'apport jusqu'à 100 fois supérieurs à ceux réalisés par la dose journalière du complément alimentaire, n'a aucun effet photoprotecteur ;
- l'étude en double aveugle contre placebo de Basset et al. (2002) examine l'effet d'acides gras d'origine marine (200 mg) sur le vieillissement cutané (tonicité cutanée, rides, ridules, etc.), en association avec l'huile d'onagre (150 mg) très riche en acides linoléique et alpha-linolénique (50 %), et en différents vitamines et minéraux. Si les résultats montrent que les signes du vieillissement cutané sont améliorés par une bonne hydratation, ces effets ne peuvent être repris pour ce complément alimentaire, dont la composition est très différente de celle du produit utilisé dans cette étude.

Plusieurs études d'intervention sont à l'appui de l'effet protecteur des acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGPI-LC) de la famille oméga 3, EPA et DHA, vis à vis de l'érythème solaire : une consommation journalière avoisinant 4 g d'EPA conduit, après 3 mois de traitement, à une apparition plus tardive de l'érythème (augmentation significative de la dose érythémale minimale) (Rhodes et al., 2003), ce qui n'est pas assimilable à une protection vis-à-vis du coup de soleil, comme l'indique le pétitionnaire. Plus généralement, une revue montre que les niveaux d'apport en AGPI-LC oméga 3 utilisés dans ces études sont très éloignés de ceux préconisés pour l'utilisation du complément alimentaire, à savoir un apport en DHA ou en EPA 100 à 180 fois supérieur à celui réalisé avec le complément alimentaire (Boelsma et al., 2001).

Au total :

- les études *in vitro* réalisées sur les mélanges d'ingrédients ou avec le complément alimentaire pourraient indiquer que la vitamine E, le lycopène et le bêta-carotène ont à des divers titres, et dans ce contexte expérimental, des propriétés potentiellement protectrices vis-à-vis des rayons UV. Toutefois, ces résultats ne sont pas transposables *in vivo* chez l'homme dans le contexte d'un apport alimentaire dans la mesure où, pour chaque ingrédient, la biodisponibilité et l'utilisation tissulaire (notamment au niveau de la peau) sont différentes.
- les résultats d'études d'intervention portent sur des mélanges d'ingrédients différents de celui du complément alimentaire soit par leur teneur, soit par leur nature, et qui constituent des niveaux d'apport relativement élevés pour certains d'entre eux (bêta-carotène, lycopène, vitamine E, EPA ou huile de poisson), ce qui ne permet pas d'avoir des informations convaincantes sur les propriétés revendiquées pour le complément alimentaire. En particulier, les études de référence mentionnent l'acquisition d'une couleur orangée (pigmentation liée aux caroténoïdes) et non d'un bronzage (synthèse de mélanines). Dans ce contexte, le terme « hâle » également proposé semble plus adéquat en ce qui concerne l'évolution de la carnation du teint.

Les allégations revendiquées par le pétitionnaire pour le complément alimentaire faisant l'objet de cette évaluation, à savoir « Prépare, renforce et prolonge le bronzage ... » et « ...prévenant la déshydratation pour sublimer le bronzage », ne sont donc pas scientifiquement étayées.

En conclusion, l'Afssa estime que les données fournies par le pétitionnaire sont insuffisantes, à savoir celles relatives :

- à la composition et aux teneurs en contaminants de la poudre de Krill et de l'hydrolysate de chair d'huître ;
- à la stabilité et la toxicité chronique du complément alimentaire.

De plus, elle insiste sur la nécessité de prendre en compte le risque de dépassement des doses admissibles en bêta-carotène en cas de consommation simultanée d'autres compléments alimentaires apportant des quantités comparables de ce micro-constituant.

Enfin, elle estime que les allégations « prépare, renforce, prolonge le bronzage » et « ...prévenant la déshydratation pour sublimer le bronzage » ne sont pas scientifiquement étayées.

Mots clé : complément alimentaire, poudre de Krill, chair d'huîtres, allégation cosmétique

Références bibliographiques

Albino AP, Juan G, Traganos F, Reinhart L, Connolly J, Rose DP, Darzynkiewicz Z (2000) Cell cycle arrest and apoptosis of melanoma cells by docosahexaenoic acid: association with decreased pRb phosphorylation. *Cancer Res* 60: 4139-4145.

Basset L et al. (2002) Evaluation de l'effet d'un complément alimentaire à base d'acides gras polyinsaturés d'origine marine sur le vieillissement cutané. *Les Nouvelles Dermatologiques* 21: 116-119.

Boelsma E, Handricks HF, Roza L (2001) Nutritional skin care: health effects of micronutrients and fatty acids. *Am J Clin Nutr* 73: 853-64.

Heinrich U, Gartner C, Wiebusch M, Eichler O, Sies H, Tronnier H, Stahl W. (2003) Supplementation with beta-carotene or a similar amount of mixed carotenoids protects humans from UV-induced erythema. *J Nutr* 133: 98-101.

Micozzi MS, Brown ED, Taylor PR, Wolfe E. (1988) Carotenoderma in men with elevated carotenoid intake from foods and beta-caroten supplements. *Am J Clin Nutr* 48: 1061-1064.

Offord EA, Gautier JC, Avanti O, Scaletta C, Runge F, Kramer K, Applegate LA (2002) Photoprotective potential of lycopene, beta-carotene, vitamin E, vitamin C and carnolic acid in UVA-irradiated human skin fibroblast. *Free Rad Biol Med* 32: 1293-1303.

Rhodes LE, Shahbakhti H, Azurdia RM, Moison RM, Steenwinkel MJ, Homburg MI, Dean MP, McArdle F, Beijersbergen van Henegouwen GM, Epe B, Vink AA. (2003) Effect of docosahexaenoic acid, an omega-3 polyunsaturated fatty acid, on UVR-related cancer risk in humans. An assessment of early genotoxic markers. *Carcinogenesis* 24: 919-925.

Sies H & Stahl W (2002) Carotenoids and protection against solar UV radiation. *Ann Rev Nutr* 15: 291-296.

Smit N, Vicanova J, Cramers P, Vrolijk H, Pavel S (2002) The combined effects of extracts containing carotenoids and vitamins E and C on growth and pigmentation of cultured human melanocytes. *Skin Pharmacol.Physiol* 17: 238-245.

Takaichi S, Matsui K, Nakamura M, Muramatsu M, Hanada S (2003) Fatty acids of astaxanthin esters in krill determined by mild mass spectrometry. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 136: 317-322.

Pascale BRIAND