



Maisons-Alfort, le 30 novembre 2007

AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
relatif à l'évaluation du rapport d'évaluation initial établi par les autorités
britanniques relatif à la mise sur le marché d'un nouvel ingrédient alimentaire :
glucosamine hydrochloride d'*Aspergillus niger* utilisée dans des boissons et
produits laitiers, dans le cadre du règlement CE 258/ 97.**

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Par courrier reçu le 22 octobre 2007, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 19 octobre 2007 par la Direction générale de la concurrence, la consommation et de la répression des fraudes (Dgcrf) d'une demande d'évaluation du rapport d'évaluation initial établi par les autorités britanniques relatif à la mise sur le marché d'un nouvel ingrédient alimentaire (NI), la glucosamine hydrochloride d'*Aspergillus niger* utilisée dans des boissons et produits laitiers, dans le cadre du règlement (CE) n° 258/97 relatif aux nouveaux aliments et nouveaux ingrédients alimentaires.

Le rapport d'évaluation initiale a été rédigé par l'Advisory Committee on Novel Foods and Processes (ACNFP) de la Food Standards Agency (FSA).

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Nutrition humaine » réuni le 22 novembre 2007, l'Afssa rend l'avis suivant :

Le NI est un amino-glucide naturel présent dans l'organisme humain, il s'agit d'un des constituants du cartilage.

Le NI est produit par hydrolyse acide de chitine, fibre constitutive des carapaces de crustacés.

En 2004, la FSA a émis un avis favorable concernant l'équivalence substantielle entre la glucosamine hydrochloride (HCl) extraite d'*A. niger* et la forme marine dont l'utilisation est autorisée dans les compléments alimentaires (CA) et les denrées diététiques destinées à une alimentation particulière (DDAP).

Le pétitionnaire souhaite étendre l'utilisation de ce NI aux aliments courants, et notamment à diverses boissons à base de jus de fruits, de lait ou de thé et dans des produits laitiers qui apporteraient une quantité journalière de 750 mg de glucosamine par portion de 100 g ou 100 mL.

Concernant les spécifications de la source et du NI

Le NI est une substance chimiquement définie, son identité et sa qualité sont contrôlées selon les 12 critères de l'USP-NF (United States Pharmacopoeia-National Formulary) définis pour la glucosamine d'origine marine :

- identification par spectre d'absorption dans l'infra-rouge ;
- identification de la forme chlorure (de glucosamine) ;
- identification, comparativement à un témoin, dans le profil chromatographique ;
- pouvoir rotatoire (+70,0° à +73,0°) ;
- pH (3,0 à 5,0) ;
- teneur en eau (\leq 1%, par perte à la dessiccation) ;
- résidu minéral après calcination (\leq 0,1 %) ;
- taux de sulfates (\leq 0,24 %) ;
- arsenic (\leq 3 ppm) ;
- métaux lourds (\leq 10 ppm) ;
- impuretés organiques volatiles ;
- pureté de 98 à 102 %.

Des contrôles supplémentaires sont réalisés par le pétitionnaire :

- contamination microbienne ;
- pesticides résiduels ;

- recherche d'aflatoxines (B1, B2, G1 et G2) ;
- ochratoxine A (\leq 1ppb) ;
- absence de dérivés de protéines (vérifiée par électrophorèse sur gel).

La FSA juge ces données satisfaisantes.

Bien que la matrice utilisée par le pétitionnaire soit différente et plus hétérogène par sa composition que la source marine, l'Afssa juge l'ensemble des contrôles et normes à respecter suffisant, étant donné que la méthode chimique de traitement du NI est identique à celle utilisée pour la source marine.

Concernant les effets du procédé de production appliqué au NI

Le procédé de fabrication du NI est similaire à celui utilisé pour isoler la glucosamine HCl d'origine marine. Il s'agit d'une hydrolyse en présence d'acide HCl suivie d'une filtration, d'une cristallisation et d'une centrifugation.

La FSA juge les données de fabrication satisfaisantes.

L'Afssa relève toutefois que le pétitionnaire ne précise pas comment la chitine utilisée pour produire le NI est obtenue. Le pétitionnaire décrit en effet le procédé de fabrication de la glucosamine à partir de l'étape d'hydrolyse de la chitine d'*Aspergillus niger* et le compare au procédé traditionnel (chitine de crustacés). Le pétitionnaire n'indique pas s'il réalise lui-même l'étape de fermentation qui permet d'isoler la biomasse ou s'il se procure cette biomasse sur un autre site. Dans le cas d'un approvisionnement sur un autre site, des garanties devraient être apportées quant aux conditions de récupération (état, température, conditionnement, transport) et de stockage jusqu'à son traitement pour produire le NI.

Concernant l'historique de l'organisme source du NI

A. Niger est utilisé en alimentation humaine depuis les années 1920. La souche utilisée par le pétitionnaire pour produire le NI est utilisée aux Etats-Unis comme source d'acide citrique depuis 1993. Le pétitionnaire cite par ailleurs une revue de la littérature sur *A. Niger* (Schuster *et al.*, 2002) qui conclut à la sécurité de ce microorganisme. Il ajoute que le choix de cette lignée s'est basé sur la garantie de son caractère non producteur d'ochratoxine A.

La FSA estime que la sécurité d'emploi de l'organisme source du NI est démontrée.

L'Afssa relève toutefois que le pétitionnaire ne fournit aucun élément sur les caractéristiques de la souche du microorganisme source du NI (définition de la lignée, contrôle de stabilité, conservation).

Concernant la consommation prévue du NI

Le pétitionnaire prévoit une utilisation du NI dans diverses boissons à base de jus de fruits, de lait ou de thé et dans des produits laitiers qui apporteraient une quantité journalière de 750 mg de glucosamine. Il précise que la population visée par ces produits serait constituée des individus recherchant une aide nutritionnelle au maintien d'articulations en bonne santé, c'est-à-dire les sportifs et les personnes âgées. Le pétitionnaire prévoit que les aliments contenant le NI constituent une alternative aux CA et aux DDAP contenant de la glucosamine.

Le pétitionnaire a réalisé une simulation d'apports en glucosamine à partir des données de l'enquête nationale de consommation National Diet and Nutrition Survey (NDNS) réalisée en 1992 et en 1997 chez les enfants, et entre 1986 et 1987 chez les adultes. Les plus forts consommateurs seraient les enfants âgés de 4 à 10 ans avec des apports moyens quotidiens de 543 mg, le 95^{ème} percentile correspondant à un apport de 1542 mg.

A la demande de la FSA, le pétitionnaire a réalisé les mêmes calculs à partir de données plus récentes (2000) qui montrent un apport significativement plus élevé chez les adultes (moyenne de 1056 mg et 95^{ème} percentile de 2792 mg). Le pétitionnaire souligne que ces valeurs restent en deçà d'apports sans effets allant jusqu'à 3200 mg/j par la consommation de CA.

La FSA juge ces informations satisfaisantes.

L'Afssa ne dispose pas de la méthode de calcul ayant permis d'obtenir ces données, et ne peut donc pas confirmer ces estimations pour la population française. L'Afssa remarque toutefois que

compte-tenu de la nature des vecteurs proposés, les plus forts consommateurs seraient les enfants, population la moins à même de tirer un bénéfice de cette consommation.

Concernant les informations relatives à une exposition humaine antérieure au NI

Le pétitionnaire évoque la consommation du NI par des CA dans de nombreux pays, notamment en Europe. Il rappelle que la consommation d'aliments courants contenant le NI se substitue à celle de CA ou de DDAP contenant le NI.

Ce point n'appelle pas de remarque de la FSA.

L'Afssa remarque que pour d'autres types d'enrichissement, les enquêtes de consommation ne confirment pas cette hypothèse de substitution.

Concernant les informations d'ordre nutritionnel sur le NI

Le pétitionnaire indique la composition nutritionnelle du NI, qui apporte, pour 750 mg, 745 mg de glucides soit 2,67 calories.

L'apport nutritionnel autre que celui de la glucosamine est jugé négligeable par la FSA.

L'Afssa approuve l'avis de la FSA.

Concernant les informations d'ordre microbiologiques sur le NI

Le NI est une substance chimiquement définie, en poudre (à 1% d'eau au maximum et pure à 98-102 %).

Le pétitionnaire présente les résultats de détermination de la charge microbienne de 5 lots qui montrent un niveau de contamination homogène et inférieur aux normes alimentaires américaines. Les analyses sur d'autres impuretés potentielles telles que pesticides résiduels, aflatoxines et ochratoxine A sont également présentées.

Ce point n'appelle pas de remarque de la FSA.

L'Afssa juge ces informations satisfaisantes, sous réserve que la biomasse soit traitée sans délai après récupération du produit de fermentation.

Concernant les informations d'ordre toxicologique sur le NI

Les informations d'ordre toxicologique présentées par le pétitionnaire sont issues d'une revue de la littérature (Anderson *et al.*, 2005) actualisées par une étude plus récente réalisée chez l'Homme (Clegg *et al.*, 2006).

Métabolisme

La glucosamine exogène peut interférer dans plusieurs voies métaboliques, dont celle des hexosamines, après phosphorylation en glucosamine-6-phosphate. Or, l'accumulation de ce métabolite dans les cellules pourrait induire une diminution de la sensibilité à l'insuline par un mécanisme non expliqué.

Par ailleurs, des données *in vitro* et chez l'animal montrent qu'il existe une interaction entre la voie de la glucosamine et le développement d'une résistance à l'insuline (Robinson *et al.*, 1993 ; Marshall *et al.*, 1991).

Chez l'Homme, les perturbations de l'homéostasie glucidique ne se manifestent qu'à des doses élevées lors d'une utilisation par voie parentérale. Une analyse de 20 essais contrôlés randomisés incluant 2570 patients, évaluant l'efficacité et la toxicité de la glucosamine dans le traitement de l'arthrite, a conclu à une absence de toxicité de la glucosamine (Towheed *et al.*, 2005) mais n'a pas étudié précisément l'effet sur la glycémie.

Toxicité aiguë

Le pétitionnaire indique qu'une dose létale 50 % de 5000 mg/kg de poids corporel (p.c.) a été déterminée chez le rat, et de 6000 mg/kg p.c. chez le lapin.

Toxicité chronique et subchronique

Le pétitionnaire résume plusieurs études réalisées chez l'animal sur des périodes variant entre 12 jours et 1 an. Les résultats de ces études indiquent une NOAEL (No Observed Adverse Effect

Level) de 2130 mg/kg p.c. chez le rat et de 1696 mg/kg p.c. chez le chien, après administration de la glucosamine par voie orale.

Mutagenicité et génotoxicité

L'activité mutagène de la glucosamine a été déterminée par le test d'Ames et le « mammalian-microsome reverse mutation assay ». Les résultats de 5 lots de glucosamine ne montrent aucune augmentation du nombre de revertants.

Allergénicité

Le pétitionnaire fournit des résultats d'une analyse par spectrométrie de masse confirmant l'absence de protéines dans le NI.

Etudes cliniques

Le pétitionnaire joint à son dossier une revue d'experts sur l'effet de la glucosamine sur le métabolisme glucidique chez l'homme. Ce document, rédigé par le Cantox Health Scientists International canadien en 2007, à la demande du pétitionnaire, résume les informations de 20 études cliniques sur les effets de la glucosamine sur la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline chez le sujet normal, pré-diabétique ou diabétique.

Parmi ces études, dix mesuraient le métabolisme glucidique et la résistance à l'insuline, et seules 2 concluent à un effet délétère de la glucosamine sur ces paramètres :

- dans l'étude de Monauni *et al.* (2000) réalisée chez le sujet sain, la glucosamine est apportée par voie intraveineuse avec des taux plasmatiques de l'ordre de 100 fois ceux atteints avec un apport oral. Une détérioration modeste de la tolérance glucidique est observée avec les fortes doses de glucosamine ;
- dans l'étude de Biggee *et al.* (2007), un effet délétère sur la tolérance au glucose est observée après prise de glucosamine par voie orale chez 16 patients souffrant d'arthrite. Dans une épreuve de charge orale en glucose, l'aire sous la courbe n'a pas été modifiée chez les 13 sujets non diabétiques, tandis qu'elle a augmenté chez les 3 patients souffrant d'un diabète précédemment non diagnostiqué.

Au vu des données de toxicologie, la FSA estime que la sécurité globale du NI est démontrée.

Elle émet toutefois une réserve concernant l'éventuelle capacité de la glucosamine à induire une diminution de la sensibilité à l'insuline. La FSA relève en effet que la population ciblée par les produits contenant le NI est susceptible d'inclure une proportion non négligeable de sujets diabétiques. La FSA émet donc une réserve au sujet des effets de la glucosamine sur le métabolisme glucidique chez les individus souffrant de diabète de type 2, étant donné que la revue de la littérature transmise par le pétitionnaire ne permet pas de s'assurer de l'innocuité du NI chez les sujets dont le métabolisme glucidique est perturbé. La FSA cite par ailleurs un rapport de l'European Medicines Evaluation Authority qui considère que l'utilisation de glucosamine chez les sujets souffrant de pathologies ostéo-articulaire présente un rapport bénéfice/risque positif mais recommande une surveillance particulière du métabolisme des glucides chez les personnes prenant des compléments alimentaires contenant de la glucosamine.

Au total, la FSA estime que les données disponibles ne permettent pas de conclure quant à la sécurité du NI chez les individus atteints de diabète.

Elle émet par conséquent une réserve quant à l'utilisation du NI dans une large gamme de produits d'alimentation courante.

Conclusion

L'Afssa approuve pleinement les réserves émises par les autorités britanniques sur l'emploi du NI dans des aliments de consommation courante.

En effet, en l'absence de données sur l'effet à long terme d'une utilisation de glucosamine chez les sujets diabétiques ou intolérants au glucose, l'Afssa estime que l'utilisation de la glucosamine comme NI entrant dans la composition d'aliments consommés par la population générale, et notamment les enfants, n'est pas justifiée.

Par ailleurs, l'Afssa estime qu'avant de conclure sur la sécurité du NI et la qualité du produit fini, il conviendrait d'avoir des précisions sur :

- l'étape de fermentation qui donne lieu à la production de la biomasse ;

- le délai entre la fin de la fermentation et le début de la valorisation de la biomasse ;
- les étapes de préparation de la biomasse avant hydrolyse.

Bibliographie

Anderson JW, Nicolosi RJ, Borzelleca JF (2005) Glucosamine effects in humans: a review of effects on glucose metabolism, side effects, safety considerations and efficacy. *Food Chem Toxicol*, 43, 187-201.

Biggee BA, Blinn CM, Nuite M, Silbert JE, McAlindon TE (2007) Effects of oral glucosamine sulphate on serum glucose and insulin during an oral glucose tolerance test of subjects with osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 66, 260-262.

Clegg DO, Reda DJ, Harris CL (2006) Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. *N Engl J Med* 354, 795-808.

Marshall S, Bacote V, Taxinger RR (1991) Discovery of a metabolic pathway mediating glucose-induced desensitization of the glucose transport system. Role of hexosamine biosynthesis in the induction of insulin resistance. *J Biol Chem* 266, 4706-4712.

Monauni T, Zenti MG, Cretti A (2000) Effects of glucosamine infusion on insulin secretion and insulin action in humans. *Diabetes* 49, 926-935.

Robinson KA, Sens DA, Buse MG (1993) Pre-exposure to glucosamine induces insulin resistance of glucose transport and glycogen synthesis in isolated rat skeletal muscles. *Diabetes* 42, 1333-1346.

Schuster E, Dunn-Coleman N, Frisvad JC, Van Dijck PW (2002) On the safety of *Aspergillus niger*-a review. *Applied Microbiology and Biotechnology* 59(4-5):426-435.

Towheed TE, Maxwell L, Anastassiades TP (2005) Glucosamine therapy for treating osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev* 2, CD002946.

Mots clés

Novel Food, évaluation secondaire, champignon, diabète, arthrite, métabolisme, personnes âgées, sportifs

Pascale BRIAND