

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 14 décembre 2012

AVIS

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

**relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché d'un nouvel ingrédient
alimentaire par la procédure d'équivalence substantielle : chlorhydrate de
glucosamine**

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a été saisie le 29 mai 2012 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (Dgcrf) d'une demande d'autorisation de mise sur le marché d'un nouvel ingrédient alimentaire par la procédure d'équivalence substantielle : chlorhydrate de glucosamine.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Cette demande s'inscrit dans le cadre du règlement 258/97/CE relatif aux nouveaux aliments et nouveaux ingrédients alimentaires. L'équivalence substantielle est demandée avec le chlorhydrate de glucosamine issu d'*Aspergillus niger*. Ce dernier, aussi dénommé chlorhydrate de glucosamine non issu de crustacés, a été lui-même autorisé dans le cadre d'une procédure d'équivalence substantielle avec la glucosamine issue de crustacés.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisé (CES) « Nutrition humaine » réuni le 18 octobre 2012, sur la base des rapports de 2 rapporteurs.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

3.1. Origine et mode de production du NI

La glucosamine est un amino-glucide présent dans le cartilage articulaire des mammifères. Chez l'Homme, elle est un composant des glycosaminoglycanes et des protéoglycanes du cartilage osseux. Elle entre également, sous forme acétylée, dans la composition de l'acide hyaluronique présent, notamment, dans le liquide synovial.

Le NI, pour lequel une équivalence avec le chlorhydrate de glucosamine, extrait d'*Aspergillus niger* est revendiquée, est également extrait de ce champignon par un procédé similaire à celui classiquement utilisé pour l'extraire de carapaces de crustacés, c'est à dire d'une matrice essentiellement constituée de chitine. La chitine est un polysaccharide constitué de chaînes de N-acétyl-D-glucosamine, branchées en β -(1→4) et présent, non dans le règne végétal, mais chez les champignons et levures (où elle est abondante dans les parois) et dans le règne animal (chez les arthropodes et invertébrés marins dont elle est le principal constituant de l'exosquelette).

Lors de l'hydrolyse chimique à haute température, la chitine libère les unités de glucosamine qui, en présence d'acide chlorhydrique, sont salifiées sous forme de chlorhydrate de glucosamine.

Il s'agit du dérivé 2-amino-2-deoxy du β -D-glucose obtenu de l'organisme source (crustacé ou champignon) où la forme β -D du glucose est conservée, sous forme de pyranose et de chlorhydrate.

Le chlorhydrate de glucosamine ainsi obtenu est donc identique à la substance extraite de crustacés y compris par la structure spatiale de cette molécule.

Le procédé de fabrication de ce NI est très succinctement décrit par le pétitionnaire : le dossier du pétitionnaire fait mention de plusieurs étapes. Il indique notamment une étape de production de biomasse d'*Aspergillus niger* par fermentation sur maïs non OGM sans que ne soient précisés ni les paramètres ni les étapes critiques de la fermentation. La taille des lots fabriqués et le site de fabrication du NI ne sont pas non plus décrits. Il est précisé également que le procédé de récupération du chlorhydrate de glucosamine à partir des résidus de chitine est similaire à celui utilisé pour la chitine de crustacés. Il mentionne en particulier les étapes suivantes : concentration, cristallisation, solubilisation sous forme de chlorhydrate, décoloration sur charbon, filtration, cristallisation, stérilisation et conditionnement. Il n'est pas précisé si, lors de la récupération de chitine par centrifugation de la biomasse traitée par hydrolyse acide, le pétitionnaire procède à une étape d'élimination de composés qui pourraient la contaminer.

Le pétitionnaire affirme que son procédé est similaire à celui permettant d'obtenir une glucosamine non issue de crustacés ayant fait l'objet d'une évaluation précédente (Afssa, 2007). Cependant, le procédé auquel fait référence le pétitionnaire n'est pas précisément décrit, comme indiqué dans un précédent avis de l'Afssa, ce qui ne permet pas une comparaison précise. Néanmoins, il existe au moins deux différences notables. A la différence du procédé cité en référence, la biomasse d'*Aspergillus niger* est obtenue par fermentation de maïs non OGM, ce qui permet une meilleure traçabilité. Il existe une étape supplémentaire de décoloration avec du charbon.

Le CES rappelle que les champignons sont considérés comme un règne à part, distinct du végétal et de l'animal. En conséquence, la valorisation du produit en qualité de glucosamine « végétale » n'est pas recevable.

Le CES estime qu'en raison de l'impossibilité de comparaison précise du mode de production, seul un contrôle d'authenticité et de qualité répondant aux critères d'une monographie validée permettrait d'assurer une sécurité d'emploi du NI.

3.2. Concernant la spécification du NI

La glucosamine est une substance chimiquement définie. En effet, son identité et sa qualité sont contrôlées par des tests réalisés selon les critères de la Pharmacopée des Etats-Unis (United States Pharmacopeia, USP):

- 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 (chromatographie en phase liquide à haute performance, CLHP) ;
- 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 0,001%) ;
- 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.

Les résultats des analyses présentées (sur 3 lots de NI) mettent en évidence que le chlorhydrate de glucosamine est conforme à la spécification et la qualité du chlorhydrate de glucosamine non issu de crustacés dont le pétitionnaire demande l'équivalence. Le pétitionnaire fait remarquer que la pureté de son NI, déterminée par CLHP, est similaire au produit non issu de crustacés, c'est-à-dire environ 75%, ce qui n'est pas conforme aux normes spécifiées (98-102%).

Le CES fait remarquer que les critères retenus dans la monographie de la Pharmacopée européenne sont plus précis et plus contraignants que ceux de l'USP, notamment en ce qui concerne les points suivants :

- **une solubilité de la substance dans l'eau ;**
- **une perte à la dessiccation de 0,5% maximum (au lieu de 1,0% pour l'USP) ;**
- **une contamination microbienne caractérisée ;**
- **un dosage par CLHP par comparaison avec une substance chimique de référence fournie, authentifiée et contrôlée par cette Pharmacopée.**

3.3. Concernant la composition nutritionnelle du NI

La substance pour laquelle une équivalence est revendiquée est une substance chimiquement définie.

Le pétitionnaire compare les valeurs nutritionnelles pour 100 g de NI avec celles obtenues par le pétitionnaire du chlorhydrate de glucosamine non issu de crustacés. Les 2 produits présentent environ 40 % de protéines et 60% de glucides. La valeur énergétique est similaire dans les 2 cas, soit environ 400 kcal / 100 g.

Les résultats d'analyse de 3 lots de NI révèlent une pureté comprise entre 74 et 78 %, qui est similaire à celle des lots du pétitionnaire du chlorhydrate de glucosamine non issu de crustacés. Cependant, la norme retenue par le pétitionnaire selon les critères de la Monographie de l'USP est de 98,0-102,0%.

Le CES estime que la norme de pureté imposée entre 98,0-102,0 % permet de garantir la sécurité d'emploi de la substance. Ainsi, tout lot de NI devrait respecter ce critère.

3.4. Concernant le métabolisme du NI

Le pétitionnaire mentionne dans son dossier des éléments suggérant une interaction entre la consommation de chlorhydrate de glucosamine et un traitement à la warfarine (anticoagulant de type antivitamine K (AVK)). En effet, la Food and Drug Administration (FDA) reporte 20 cas où l'association de compléments alimentaires à base de glucosamine à la dose de 500 mg et de sulfate de chondroïtine à la dose de 400 mg à la warfarine s'est traduite par une altération de la

coagulation (évaluée à partir de l'augmentation de l'International Normalized Ratio (INR) ou des saignements). L'OMS a rapporté 21 cas d'augmentation de l'INR lorsque la consommation de glucosamine était concomitante à celle d'AVK. Chez la majorité des patients (17/21), l'INR est revenu aux valeurs habituelles lorsque la consommation de glucosamine était interrompue. Le pétitionnaire cite également la publication de Knudsen et al (2008) qui décrit un cas d'augmentation de l'INR d'une valeur de 2,3 à 3,9 sous warfarine lorsque la consommation, 2 fois par jour, de chlorhydrate de glucosamine à la dose de 500 mg et de sulfate de chondroïtine à la dose de 400 mg est triplée.

Le CES estime que les données actuelles ne permettent pas, à elles seules de conclure définitivement quant à l'existence ou non d'une interaction entre glucosamine et AVK ; cela doit inciter à une mise en garde des consommateurs prenant des anticoagulants. Par ailleurs, le CES réitère sa mise en garde sur le risque de perturbation du métabolisme du glucose par la consommation du chlorhydrate de glucosamine, évoqué dans l'avis de l'Afssa publié en 2007.

3.5. Concernant la recherche de substances indésirables et d'allergènes

Le pétitionnaire a recherché des aflatoxines et de l'ochratoxine A, ainsi que certains allergènes. En ce qui concerne les aflatoxines et l'ochratoxine A, le pétitionnaire mentionne la précaution de sélection d'une souche non productrice. Les analyses réalisées sur trois lots du NI et sur un lot du chlorhydrate de glucosamine non issu de crustacés pris en référence montrent que les aflatoxines et l'ochratoxine A sont indétectables.

Le pétitionnaire n'apporte pas d'élément relatif à la présence potentielle d'allergènes dans le NI.

Le CES fait remarquer que le caractère allergisant peut provenir de la présence d'éventuelles protéines résiduelles et s'étonne que le pétitionnaire n'ait pas pris soin de réaliser une analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse, comme le suggère le rapport de l'EFSA (The EFSA Journal, 2009) pour s'assurer de l'absence de contamination par des allergènes.

3.6. Concernant la consommation et le niveau d'utilisation prévue

Le pétitionnaire fait référence aux données relatives au chlorhydrate de glucosamine non issu de crustacés déjà présent sur le marché et propose un niveau d'utilisation similaire. Pour illustrer son propos, il présente un tableau dans lequel sont répertoriés différents produits proposant des doses de chlorhydrate de glucosamine comprises entre 500 mg/jour et 2000 mg/jour. Il est rappelé que l'EFSA s'est prononcée en 2009 sur un niveau de consommation maximum de 750 mg/ jour chez l'adulte.

Par ailleurs, bien que le pétitionnaire soit un fournisseur de matière première pour compléments alimentaires et non un fabricant de compléments, il affirme respecter la Directive 2002/46/CE sur les compléments alimentaires et la Directive 2009/39/CE concernant les DDAP. Ainsi, il prévoit :

- de mentionner que la substance n'est pas conseillée chez les diabétiques sans avis médical ou chez les moins de 18 ans ;
- de mentionner l'origine de l'ingrédient pour les consommateurs souhaitant éviter tout allergène de crustacés.

Le CES estime que le pétitionnaire n'est pas suffisamment précis sur le niveau d'utilisation. Le CES approuve les mentions d'étiquetage prévues par le pétitionnaire et estime qu'elles devraient être obligatoires sur tout produit utilisant le NI sans omettre une mention destinée aux personnes suivant un traitement par les AVK.

3.7. Conclusion du CES

Le CES considère que la valorisation du NI en qualité de glucosamine « végétale » n'est pas recevable puisqu'il est issu de champignons, considérés comme un règne à part, distinct du végétal et de l'animal.

Le CES estime que compte tenu de l'absence de description précise du procédé et de résultats d'analyse de pureté non conformes aux normes retenues, il n'est pas possible de garantir un niveau suffisant de qualité et de sécurité des lots. Des analyses complémentaires, par exemple celles décrites dans la Pharmacopée européenne, permettraient de lever ces incertitudes.

En conséquence, le CES estime que le dossier n'est pas suffisamment précis pour juger de l'équivalence en substance.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail estime, à l'instar du CES « Nutrition humaine », que le pétitionnaire n'a pas fourni d'éléments suffisamment précis pour statuer sur une équivalence en substance de ce chlorhydrate de glucosamine avec d'autres glucosamines déjà commercialisées.

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

glucosamine, chlorhydrate, équivalence substantielle, *Aspergillus niger*.

BIBLIOGRAPHIE

AFSSA (2007). Avis de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments relative à l'évaluation du rapport d'évaluation initial établi par les autorités britanniques relative 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, saisine N°2007-SA-0348.

EFSA. Scientific opinion of the safety of glucosamine hydrochloride from *Aspergillus Niger* as food ingredient. The EFSA Journal, 2009, 1099, 1-19

Knudsen JF and Sokol GH. Potential glucosamine-warfarin interaction resulting in increased international normalized ratio: case report and review of the literature and MedWatch database. Pharmacotherapy, 2008, 28, 540-548