

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 aliment ou
ingrédient alimentaire : citicoline (choline cytidine 5'-pyrophosphate)

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'Anses a été saisie le 30 juillet 2012 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (Dgccrf) pour la réalisation de l'expertise suivante : « Evaluation relative à une demande d'autorisation de mise sur le marché d'un nouvel aliment ou ingrédient alimentaire : citicoline (choline cytidine 5'-pyrophosphate) ».

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La demande d'avis concerne l'utilisation de citicoline comme ingrédient dans des compléments alimentaires et des aliments courants, en tant que source de choline et de cytidine. Il s'agit d'un ester de cytidine-5'-diphosphate et de choline, obtenu par synthèse enzymatique à partir d'acide orotique et de chlorure de choline. Cette molécule est naturellement présente dans l'organisme où elle est synthétisée à partir de choline et cytidine, et intervient dans la synthèse endogène des phosphatidylcholines.

D'autres formes d'apport de choline et de cytidine, telles que la choline, le chlorure de choline, le bitartrate de choline, le citrate de choline et l'acide adénosine-5'-phosphorique sont à ce jour autorisées en Europe dans les denrées alimentaires destinées à une alimentation particulière¹, y compris dans les préparations pour nourrissons et de suite. Le pétitionnaire envisage d'introduire le nouvel ingrédient (NI) dans de nombreux aliments et boissons de consommation courante à une concentration maximale de 250 mg par portion, et dans des compléments alimentaires pour un apport recommandé de 500 mg de NI par jour.

La demande d'utilisation a été réalisée auprès des autorités irlandaises au titre du Règlement CE N° 258/97 relatif aux nouveaux aliments et aux nouveaux ingrédients alimentaires. Le rapport d'évaluation initiale établi par les autorités irlandaises est soumis à l'Anses pour observations ou objections éventuelles.

La recommandation 97/618 de la Commission européenne définit une classification des nouveaux aliments et ingrédients ainsi que les informations à fournir pour chaque classe dans le cadre d'une demande de mise sur le marché. Le pétitionnaire positionne le NI dans la classe des produits chimiques purs ou mélanges simples issus de sources non génétiquement modifiées, dont la

¹ Règlement (CE) 953/2009 de la Commission du 13 octobre 2009 relatif aux substances qui peuvent être ajoutées dans un but nutritionnel spécifique aux denrées alimentaires destinées à une alimentation particulière (JOUE 14 octobre 2009)

source a déjà été utilisée comme aliment dans la Communauté. Les informations requises pour les NI de cette classe, d'après la recommandation 97/618, sont les suivantes :

- I. Spécification du NI
- II. Effet du procédé de production appliqué au NI
- III. Utilisation antérieure de l'organisme utilisé comme source de NI
- IX. Consommation/Niveau d'utilisation prévu du NI
- X. Informations fournies par une exposition humaine antérieure au NI ou à sa source
- XI. Informations d'ordre nutritionnel sur le NI
- XII. Informations d'ordre microbiologique sur le NI
- XIII. Informations d'ordre toxicologique sur le NI

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 20 septembre, le CES « Biotechnologie » réuni le 21 août 2012 et le groupe de travail (GT) « Evaluation des substances et procédés soumis à autorisation en alimentation humaine (ESPA) ». En raison du court délai de réponse accordé, les travaux ont été adoptés par le GT « ESPA » par correspondance. Cette expertise a été réalisée sur la base de rapports initiaux rédigés indépendamment par 4 rapporteurs.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

3.1. Spécification du NI (I)

Le nom chimique du NI est choline cytidine 5'-pyrophosphate (numéro CAS 987-78-0).

Le NI se présente sous la forme d'une poudre blanche cristalline de pureté supérieure à 98 % (p/p) en citicoline. Le poids moléculaire du NI est de 488,32 g/mol.

Les spécifications concernant l'aspect, le pH et les teneurs en métaux lourds, ammonium, arsenic, acide phosphorique et acide 5'cytidilique de la poudre, ainsi que les spécifications d'ordre microbiologique sont fournies.

L'analyse sur 3 lots consécutifs démontre la conformité de la production avec les limites acceptables, la concentration mesurée atteignant 100 % en citicoline, les traces de métaux lourds étant inférieures à 10 ppm et celles de l'arsenic inférieures à 2 ppm. D'autres lots ont été analysés pour les traces de solvants de synthèse (méthanol et éthanol), et les résultats montrent des niveaux acceptables. Le xylène, utilisé pour inactiver les 2 souches bactériennes, n'a pas été recherché, mais, selon le pétitionnaire, il est totalement évaporé. Des produits de dégradation, tels que l'acide phosphorique et l'acide 5' cytidique, ont été recherchés ; ils représentent moins de 0,1 % en masse du NI.

Le pétitionnaire garantit la stabilité du NI en poudre sur une période de 3 ans à 25°C et 60 % d'humidité et en solution sur une période de 6 mois.

Le Comité irlandais estime que les niveaux en métaux lourds, contaminants microbiens et solvants, tels que le méthanol et l'éthanol, sont maintenus à des niveaux acceptables par les biais du respect des spécifications du NI et en conséquence ces niveaux ne présentent pas de préoccupation toxicologique.

Le GT « ESPA » remarque que les spécifications proposées pour les métaux lourds du NI ne sont pas définies en niveaux individuels de cadmium, plomb et mercure. En règle générale, une spécification en métaux lourds sous la base uniquement du plomb n'est plus utilisée et il est donc conseillé de définir les niveaux individuels en cadmium,

plomb et mercure pour ce NI. Cela est d'autant plus important que le NI est proposé également comme complément alimentaire.

Le CES « Biotechnologie » estime que les contaminants chimiques (xylène, acide sulfurique) et microbiologiques (souches microbiennes, ADN microbien) issus du procédé de production du NI devraient être recherchés.

3.2. Effet du procédé de production appliqué au NI (II)

La citicoline est produite à partir de l'acide orotique et du chlorure de choline en faisant intervenir des enzymes des souches bactériennes *Corynebacterium ammoniagenes* et *Escherichia coli* inactivées. Les bactéries cultivées sont d'abord inactivées avec du xylène avant d'ajouter au milieu de culture l'acide orotique et le chlorure de choline. Le procédé enzymatique est terminé par l'addition d'acide sulfurique et à 60 °C. La citicoline est ensuite isolée et purifiée. Le pétitionnaire précise que les enzymes intervenant dans la production de citicoline sont des auxiliaires technologiques et sont inactivées pendant le procédé de fabrication du NI. Selon le pétitionnaire la citicoline est produite suivant des lignes directrices de bonne pratique de production, avec des précurseurs de qualité alimentaire et en employant un procédé enzymatique sous contrôle qualité.

Ce point ne soulève pas de remarques de la part du comité irlandais.

Le CES « Biotechnologie » regrette que le procédé de production soit insuffisamment décrit dans le dossier de demande d'autorisation. Dans le cadre de l'expertise, une recherche bibliographique a été nécessaire pour mieux appréhender ce procédé. Les enzymes nécessaires aux réactions en cascade aboutissant au NI sont présentes dans des extraits bruts de fermentation de deux bactéries inactivées par ajout de xylène. Ces extraits ne font l'objet d'aucune purification vis-à-vis des autres constituants des bactéries sachant que les deux espèces bactériennes utilisées ne font pas partie des agents biologiques classés en « Présomption d'Innocuité Reconnue » (QSP) par l'EFSA.

Le procédé de purification du NI est également insuffisamment décrit. Le CES « Biotechnologie » s'interroge de la pertinence du test utilisé pour la détection des protéines pour vérifier l'absence d'enzymes et d'autres protéines d'origine bactérienne. La recherche d'ADN bactérien n'est pas renseignée. *Escherichia coli* est absente du NI mais *Corynebacterium ammoniagenes* n'est pas recherchée.

Le GT « ESPA » remarque que, selon la description disponible dans le dossier du pétitionnaire, les enzymes utilisées dans la fabrication du NI ne sont pas purifiées et proviennent d'un extrait bactérien brut.

3.3. Utilisation antérieure de l'organisme utilisé comme source de NI (III)

Le pétitionnaire indique que la source du NI, l'acide orotique, se trouve naturellement dans le lait de certains ruminants à des teneurs entre 20 et 100 mg/L. Le chlorure de choline est une forme d'apport de choline autorisée dans l'Union européenne dans les denrées alimentaires destinées à une alimentation particulière¹.

Le Comité irlandais note que, bien que la citicoline soit considérée comme un NI selon la législation européenne, les différentes formes de molécules qui la constituent sont déjà consommées au sein de l'Union européenne à partir de certaines denrées alimentaires et que la citicoline est actuellement disponible en Europe sous la forme d'une préparation pharmaceutique.

Le CES « Biotechnologie » indique que le classement en auxiliaires technologiques des enzymes et autres constituants bactériens issus des fermentations nécessite une vérification de leurs absences dans le produit final. Il note également que la souche d'*Escherichia coli* utilisée est une souche génétiquement modifiée et que les deux

souches utilisées (*Corynebacterium ammoniagenes* et *Escherichia coli*) ne sont pas classées QPS par l'EFSA.

Le GT « ESPA » rejoint les conclusions du Comité irlandais en ce qui concerne la citicoline et ses constituants (l'acide orotique et le chlorure de choline). Mais le GT « ESPA » estime que le procédé de fabrication du NI, tel que décrit par le pétitionnaire en utilisant des extraits bactériens bruts, permet de considérer le NI comme un nouvel ingrédient qui n'est pas couramment utilisé en alimentation humaine selon les considérations du règlement (CE) N° 258/97 concernant un procédé de production appliqué.

Le CES « Nutrition humaine » note que les constituants de la citicoline (acide orotique et chlorure de choline) sont naturellement présents dans différentes sources alimentaires. En outre, le pétitionnaire précise que le microorganisme présent dans le procédé de fabrication est détruit au cours de celui-ci et n'est pas présent dans le produit final, mais il n'apporte pas de justification quant à l'utilisation d'un tel procédé impliquant un OGM.

3.4. Consommation/niveau d'utilisation prévu du NI (IX)

Le pétitionnaire envisage d'utiliser le NI dans une gamme variée d'aliments de consommation courante à une concentration maximale de 250 mg par portion (soit 0,02 à 8,33 g/100 g d'aliment, selon le produit), équivalente à 53 mg de choline. Les aliments concernés sont :

- les céréales de petit déjeuner et les barres céréalières ;
- les jus de fruits, les boissons à base de fruits, les eaux minérales, les boissons pour sportifs ;
- les yaourts, les produits à base de lait de soja, les boissons à base de lait ;
- les chewing gums, les barres de chocolat, les bonbons solides et les pastilles rafraichissantes.

Le pétitionnaire envisage également d'utiliser le NI comme ingrédient dans des compléments alimentaires à des niveaux allant jusqu'à 500 mg par jour.

Le pétitionnaire a réalisé une estimation d'apport de citicoline à partir des données de consommation britanniques issues de l'enquête National Diet and Nutrition Survey (NDNS).

Sur la base des niveaux de consommation les plus élevés, le pétitionnaire estime que la plus forte consommation de citicoline serait observée chez les adolescents masculins, à hauteur de 497 mg/j en moyenne et de 1 310 mg/j pour le 95^{ème} percentile de cette population. Sur la base du poids corporel, les enfants de 1,5 à 4,5 ans sont identifiés comme la population présentant la consommation de citicoline la plus élevée, avec 23,5 mg/kg p.c./j en moyenne et 64,1 mg/kg p.c./j pour le 95^{ème} percentile de cette population.

Le Comité irlandais estime que les niveaux d'utilisation ainsi simulés, qui correspondent à un scénario maximaliste, ne présentent pas de risque pour la santé de la population générale.

Le GT « ESPA » remarque que le pétitionnaire n'a pas pris en compte dans ses calculs d'exposition la possibilité d'une consommation cumulée provenant des aliments dans lesquels le NI est ajouté et des compléments alimentaires contenant le NI. Selon un tel scénario, l'exposition au NI pourrait s'élever à 1 800 mg/j (1 310 mg/j dans le 95^{ème} percentile des adolescents masculins + 500 mg/j par la consommation de compléments alimentaires contenant le NI). Des lors, la consommation du NI pour le 95^{ème} percentile de la population à partir d'aliments enrichis, aux doses proposées par le pétitionnaire, ajoutée à la consommation des compléments alimentaires serait équivalente à 30 mg/kg p.c./j pour un adulte (sur la base d'un poids corporel de 60 kg) et de 64 mg/kg p.c./j pour un enfant (en considérant que les enfants ne consommeront pas de compléments alimentaires contenant de la citicoline).

Le CES « Nutrition humaine » souligne les apports très élevés de citicoline pouvant être atteints chez les jeunes enfants. En outre, les estimations d'apport ont été réalisées à partir des données de consommation de la population britannique et ne préfigurent pas de la consommation dans d'autres pays européens qui présentent des habitudes alimentaires différentes. De même, le segment de la population âgée de plus de 65 ans, une des populations cible des produits contenant le NI, n'est pas abordé dans cette simulation de consommation.

Le CES « Nutrition humaine » relève par ailleurs l'absence d'argumentaire concernant le choix des vecteurs alimentaires et le niveau d'incorporation de la citicoline dans ces vecteurs, que ce soit pour des raisons technologiques, ou des stratégies de cibles de population, ces dernières n'ayant pas été non plus explicitées. Le règlement 258/97 n'exige pas explicitement de justification de dose ou de vecteur et l'absence de ces justifications n'a pas été soulevée dans l'expertise initiale conduite par l'autorité irlandaise. Cependant, considérant que le niveau d'utilisation attendu et l'éventuel intérêt nutritionnel dépendent du choix des vecteurs alimentaires et du niveau d'incorporation, il conviendrait que le pétitionnaire motive ses choix.

Compte-tenu des choix de vecteurs proposés par le pétitionnaire et de l'exposition élevée des jeunes enfants au NI, le CES « nutrition humaine » estime que les niveaux d'enrichissement en NI des aliments vecteurs doivent être diminués.

3.5. Informations fournies par une exposition humaine antérieure au NI ou à sa source (X)

Selon le pétitionnaire, la citicoline pourra être additionnée aux aliments proposés comme une source de choline et de cytidine.

La choline est largement représentée dans les aliments sous forme de phosphatidylcholine. Le pétitionnaire, citant les données de composition rapportées par Zeisel et al. (2003) estime les apports quotidiens de choline entre 300 et 1000 mg. Le CES « Nutrition humaine » note que les données disponibles dans la littérature ne recourent pas totalement ces estimations (Detopoulou et al., 2008 ; Cho et al., 2006 ; Jensen et al., 2007 ; Fischer et al., 2005 ; Bidulescu et al., 2009). Le pétitionnaire indique que les principales sources de choline sont la viande rouge (130 mg par portion de 125 g), les œufs (110 mg par portion de 100 g), le foie, le soja, et le porc.

L'Institut de médecine américain (IOM) a reconnu l'existence d'un besoin en choline et a proposé un « Apport Adéquat » de 450 mg/j pour les femmes âgées de 14 à 18 ans, 425 mg/j pour les femmes âgées de 19 et plus et 550 mg/j pour les hommes de 14 ans et plus. L'IOM a également proposé une limite de sécurité de 3,5 g/j pour la choline.

La cytidine est un des constituants des acides ribonucléique (ARN) et désoxyribonucléique (ADN) et serait présente dans l'alimentation sous cette forme. L'apport quotidien d'acides nucléiques (ADN et ARN) est estimé entre 100 et 1 000 mg en fonction du type de régime (Doerfler & Schubbert, 1998).

Le pétitionnaire indique que la citicoline est actuellement disponible au Japon, en Espagne, en Italie et en France sous la forme d'une formulation pharmaceutique (Citicoline PanPharma voie intraveineuse et intramusculaire) utilisée principalement dans le traitement des déficiences vasculaires cérébrales afin de stimuler la synthèse d'acétylcholine. Le NI est également disponible aux Etats-Unis dans des compléments alimentaires à des doses de 200 à 1 000 mg/j.

Ce point ne soulève pas de remarques particulières du Comité irlandais.

Le GT « ESPA » remarque que la choline et la cytidine apportées par le NI se trouvent naturellement dans l'alimentation sous des formes chimiques différentes. En conséquence il peut être considéré qu'il n'existe pas d'information relative à une exposition humaine antérieure au NI sous sa forme chimique commerciale.

Le CES « Nutrition humaine » note l'absence de données pour juger de l'innocuité d'apports exogènes de cytidine.

Le CES rappelle que la cytidine intervient dans la synthèse des acides nucléiques pyrimidiques dont l'équilibre intervient dans de nombreux mécanismes, tels que la

réparation de l'ADN et la régulation de l'expression des gènes, par l'intermédiaire notamment de microARNs (Rodwell, 2002). Ainsi, un déséquilibre des différents acides nucléiques dont les voies de synthèse sont contrôlées par des mécanismes faisant intervenir la concentration en bases pyrimidiques, peut avoir des implications dans les processus de cancérogenèse (Sinha Roy et al., 2008).

En outre, comme le catabolisme des bases pyrimidiques consomme des équivalents réduits de type NADPH^+H^+ , une augmentation des apports de cytidine est susceptible d'entraîner une diminution de la disponibilité du NADPH pour les autres voies métaboliques d'oxydoréduction, et modifier ainsi la réponse au stress oxydant intracellulaire. Enfin, ce catabolisme produisant du CO_2 et du NH_3 , on ne peut pas exclure la survenue d'effets indésirables de l'utilisation de ce produit chez les sujets qui présentent un déficit du cycle de l'urée ou une insuffisance rénale ou hépatique.

Par ailleurs, bien que la littérature ne rapporte pas d'effets systémiques cholinergiques, de tels effets ne peuvent être exclus pour certaines populations particulières, comme le sujet âgé présentant une altération de la fonction rénale. Le risque d'interaction médicamenteuse est d'autant plus envisageable que certains sujets âgés consomment simultanément plusieurs médicaments de natures diverses.

3.6. Informations d'ordre nutritionnel sur le NI (XI)

Après absorption par voie orale, la citocoline exogène est hydrolysée en choline et en cytidine qui est ensuite métabolisée en uridine chez l'Homme. Elle passe la barrière hématoencéphalique et pénètre aussi dans l'œil. C'est un précurseur naturel de la synthèse (par condensation avec des diglycérides) des phospholipides essentiels aux membranes biologiques, en particulier la phosphatidylcholine et la sphingomyéline (liaison choline avec céramide). Ces phospholipides jouent un rôle majeur dans la neuroprotection en renforçant la structure membranaire (Kennedy & Weiss, 1956 ; Secades & Lorenzo, 2006) et dans la constitution des lipoprotéines qui exportent les excès hépatiques de triglycérides (Fardet & Chardigny, 2011).

L'uridine-5'-P, la cytidine-5'-P et la choline sont inscrits dans la liste des substances pouvant être ajoutées dans un but nutritionnel spécifique aux denrées alimentaires destinées à une alimentation particulière.

A partir d'une revue récente (Conant & Schauss, 2004), le pétitionnaire rappelle que la citocoline est une molécule organique complexe, précurseur des phospholipides membranaires. Cette molécule est composée de ribose, de pyrophosphate, de la base cytosine et de choline. Elle est transformée dans l'organisme en choline et cytidine. La choline participe à 3 voies métaboliques importantes : la production des phospholipides, la synthèse d'acétylcholine, et le maintien d'une réserve de groupements méthyl par l'intermédiaire de sa conversion en bêtaïne. La cytidine est un composant majeur des ARN, par l'intermédiaire de sa bioconversion en cytidine triphosphate (CTP).

Ce point ne soulève pas d'observation de la part du Comité irlandais.

Le CES « Nutrition humaine » souligne qu'aucune valeur nutritionnelle de référence n'a été fixée à ce jour pour la choline au niveau européen. La choline n'est pas incluse dans la plupart des tables de composition des aliments et il n'existe pas à ce jour de données sur la consommation de choline dans la population européenne.

Ainsi, seul l'IOM a proposé une recommandation d'apport en choline, sous la forme d'un « apport adéquat », fixé à 550 mg/j pour les hommes adultes et 425 mg/j pour les femmes adultes. La choline apparaît en effet conditionnellement indispensable, pour une fraction importante de la population. Des données épidémiologiques suggèrent que la consommation de choline quotidienne chez l'adulte serait légèrement en-deçà des recommandations (entre 250 et 400 mg/j environ). Toutefois, d'autres travaux considèrent les apports de choline seraient sous-estimés (par les questionnaires alimentaires) et qu'ils seraient en réalité soit en adéquation avec les recommandations, soit supérieurs (Detopoulou et al., 2008 ; Cho et al., 2006 ; Jensen et al., 2007 ; Fischer et al., 2005 ; Bidulescu et al., 2009). Par ailleurs, comme tous les nucléosides, la cytidine n'est pas un nutriment indispensable puisqu'elle est synthétisée dans l'organisme en quantité suffisante à partir du carbamoyl-phosphate.

Le CES « nutrition humaine » note que les conséquences nutritionnelles de la consommation du NI n'ont pas été évaluées par le pétitionnaire, notamment en termes d'impact sur le statut en choline. Pour ce nutriment, des limites de sécurité ont été proposés par l'IOM : 3500 mg/j chez l'adulte et 3000, 2000 et 1000 pour les tranches 14-18 ans, 9-13 ans et 1-8 ans respectivement. Si ces limites n'ont pas de valeur réglementaire au niveau européen, il conviendrait que le pétitionnaire compare ces limites de sécurité à l'apport total moyen et maximum en choline après introduction du NI.

Concernant l'éventuel intérêt nutritionnel du NI, le pétitionnaire cite des études pré-cliniques et cliniques montrant le rôle joué par la citicoline dans différentes fonctions de l'organisme (réparation membranaire, intégrité neuronale...) qui pourraient permettre d'expliquer son effet sur les déficits cognitifs, la récupération à la suite d'accidents vasculaires cérébraux, les maladies neurologiques et oculaires. Le CES indique toutefois qu'une méta-analyse récente (Bustamante et al., 2012) conclut à la nécessité d'études cliniques supplémentaires avant une utilisation de cette molécule dans le cadre de la prévention maladies précédemment citées. Au-delà des aspects nutritionnels et sur le plan thérapeutique, une autre étude publiée en 2012 (Davalos et al., 2012), révèle que cette molécule manque d'efficacité dans le traitement des AVC ischémiques modérés à sévères.

Enfin, le CES note l'absence d'information concernant le mode de préparation et le potentiel impact anti-nutritionnel de la molécule comme demandé dans les recommandations de la Commission (97/618/CE).

3.7. Informations d'ordre microbiologique sur le NI (XII)

Le pétitionnaire a recherché la présence de contaminants microbiologiques dans trois lots de NI et indique que les résultats sont soit en-dessous des limites de détection, soit en-dessous des limites de spécification.

*Le Comité irlandais estime que le statut microbiologique du nouvel ingrédient est contrôlé par le biais des spécifications et confirmé par les résultats des tests sur des lots dans lesquels *Escherichia coli* n'a pas été détectée.*

Le CES « Biotechnologie » indique que l'utilisation de lysats bruts bactériens dans le procédé de production impliquerait que les recherches de contamination biologique soient renseignées plus précisément par le pétitionnaire pour confirmer l'absence dans le produit final de colonies bactériennes de ces souches et de leurs ADN bactériens en particulier des gènes de résistance à des antibiotiques utilisés comme marqueurs de sélection.

Ce point ne soulève pas de remarques de la part du GT « ESPA ».

Ce point n'appelle pas de remarque du CES « Nutrition humaine ».

3.8. Informations d'ordre toxicologique sur le NI (XIII)

Absorption, distribution, métabolisme, excrétion

Le pétitionnaire rappelle des éléments existants sur l'ADME de la citicoline, la choline ou la cytidine. En résumé, chez l'animal la citicoline semble être absorbée au niveau du tractus gastro-intestinal à un taux élevé et être biodisponible. Les taux sanguins de citicoline montreraient une biodisponibilité de 90 % après 24 heures chez l'animal (souris CD-1 Swiss). Chez l'Homme, la biodisponibilité de la citicoline, reflétée par l'augmentation des niveaux plasmatiques de cytidine, semble plus faible (30 % en choline après ingestion de 2 g de citicoline).

Des tests conduits chez l'animal avec de la citicoline marquée radioactivement ([méthyl ¹⁴C citicoline) montrent qu'elle est distribuée notamment dans les membranes cellulaires des tissus cérébraux. Une fois absorbée, la citicoline est métabolisée enzymatiquement en cytidine et en

choline chez l'animal, à la différence de l'Homme chez qui la citicoline est métabolisée en uridine. Une faible part de la citicoline ingérée est éliminée dans les fèces, l'élimination se faisant majoritairement par le biais des urines ou du CO₂ expiré. L'élimination de la citicoline exprimée en demi-vie se fait en 2 phases : la première phase par la voie urinaire (environ 6 h) et pour la seconde phase, par la voie respiratoire (environ 56 h sous forme de CO₂ expiré) et par excrétion urinaire (environ 71 h).

a. Etudes de mutagénicité

Génotoxicité

La recherche des potentialités mutagènes au niveau génique de la citicoline (en notant qu'il s'agissait vraisemblablement du NI) et de son sel de sodium a été réalisée – *in vitro* – au moyen du test d'analyse des mutations reverses sur le génome bactérien (test d'Ames). Les potentialités clastogènes ont été testées sur des lignées cellulaires de fibroblastes de poumon de hamster Chinois (CHL).

Les potentialités clastogènes et/ou aneugènes ont été testées *in vivo* au moyen du test des micronoyaux dans la moelle osseuse de souris.

Ces trois études *in vitro* et *in vivo* ont été réalisées par le même prestataire et les tests ont été menés en accord avec les guides de bonnes pratiques japonais.

In vitro : recherche des mutations géniques par test de mutation réverse sur bactéries

Un test classique de type Ames avec pré-incubation a été pratiqué en 1993 sur 4 souches de *Salmonella typhimurium* (TA 98 et TA 1537 pour les mutations par frameshift, TA 100 et TA 1535 pour les substitutions de paires de bases) et sur une souche *Escherichia coli* WP2 uvrA (par substitutions de bases).

La cytotoxicité a été déterminée par une étude préliminaire utilisant 5 doses, la dose maximale étant de 5000 µg/boîte. Aucun effet cytotoxique n'a été mis en évidence pour aucune des doses testées et cela que le test ait été conduit en présence ou en absence d'activation métabolique (par la fraction microsomale S9 mix). En conséquence, 2 expériences distinctes ont été réalisées - avec et sans activation métabolique - couvrant un intervalle de 5 doses : 312,5 ; 1250 ; 2500 et 5000 µg/boîte. Des cultures « témoins négatifs » et « témoins positifs » ont également été réalisées simultanément.

Résultats : sur la base de la fréquence des mutations reverses, la citicoline s'avère ne pas induire une augmentation du nombre de révertants que ce soit en présence ou en absence de S9 mix, dans aucune des souches et pour aucune des doses testées. L'augmentation du nombre de colonies de revertants observés dans les témoins positifs cautionne la validité expérimentale de l'étude.

Conclusions de l'étude : sur base de ces résultats, aux doses testées et dans les conditions expérimentales des tests réalisés, on peut considérer la citicoline et son sel de sodium dépourvus de propriétés mutagènes au niveau génique dans des cellules procaryotes.

In vitro : recherche des anomalies chromosomiques induites dans cellules des lignées cellulaires de fibroblastes pulmonaires de hamster chinois (CHL) (2009)

Ce test permet la détection de propriétés clastogènes de la citicoline (il s'agissait vraisemblablement du NI) et de son sel de sodium en étudiant les anomalies chromosomiques induites. Comme mentionné précédemment, il a été réalisé en accord avec les guides de bonnes pratiques japonais (1993).

Un essai préliminaire de cytotoxicité a été réalisé avec 3 doses (doses maximum 10 mM). Aucune modification significative de la prolifération cellulaire n'a été mise en évidence quelle que soit la dose testée. Dès lors, 2 séries expérimentales distinctes ont été réalisées avec 3 doses : 2.5, 5 et 10 mM.

Deux procédures expérimentales distinctes ont été utilisées. L'une sans S9 mix comprend une exposition des cellules CHL à la citicoline et à son sel de sodium pendant 24 ou 48 heures suivie

d'une exposition de 2 heures à 0,2 µg/ml de colcemide. L'observation de l'index mitotique n'indique pas de cytotoxicité, quelle que soit la dose prise en compte.

Dans le protocole avec S9 mix, les cellules CHL ont été exposées pendant 6 heures à la citicoline et à son sel de sodium, suivie d'une période de culture de 18 heures avec et sans activation métabolique S9, et les métaphases ont été obtenues avec la même procédure que précédemment.

Dans les deux conditions en présence et en absence d'activation métabolique, 100 métaphases ont été analysées par dose. La fréquence d'anomalies chromosomiques éventuellement induites a été comparée à celle obtenues dans les cultures « témoins négatifs » et « témoins positifs » (milieu de culture, mitomycine-C, B(a)P).

Résultats : aucune augmentation significative de la fréquence des anomalies chromosomiques n'a été mise en évidence dans les 2 tests réalisés (le critère de positivité étant placé à > 10 %), avec et sans activation, jusqu'à la dose maximale testée (10 mM). Les fréquences d'anomalies chromosomiques observées dans les cultures contrôle positif valident la bonne conduite expérimentale de l'étude.

Conclusions de l'étude : *in vitro*, dans les conditions expérimentales utilisées, la citicoline et son sel de sodium n'induisent pas d'augmentation des anomalies chromosomiques sur des lignées cellulaires de fibroblastes pulmonaires d'hamster chinois. La citicoline et son sel de sodium peuvent donc être considérés comme dépourvus de propriétés clastogènes dans le modèle expérimental et les conditions expérimentales testées.

In vivo : test des micronoyaux dans la moelle osseuse de souris

Cette étude, réalisée en 1993, et en accord avec les guides de bonnes pratiques japonais, a pour objectif d'évaluer les potentialités clastogènes et/ou aneugènes de la citicoline (il s'agissait vraisemblablement du NI) et de son sel de sodium. Le test consiste en l'étude de la fréquence de survenue d'Erythrocytes Polychromatiques micro-nucléés (PCEs) de la moelle osseuse de souris induite par la substance testée.

Etant donnée la faible toxicité de la citicoline, le protocole choisi a inclus trois doses uniques (500, 1000, 2000 mg/kg p.c.) administrées par injection intrapéritonéale.

Cinq souris mâles ICR par groupe (témoins négatifs, témoins positifs) ont été sacrifiées 24 ou 48 heures après l'administration de la citicoline et son sel de sodium. La présence d'érythrocytes micronucléés a été déterminée par prélèvement des cellules de la moelle osseuse 24 et 48 heures après les traitements uniques. Pour chaque dose et par animal, 500 érythrocytes polychromatiques ont été examinés pour détecter la présence de micronoyaux et le ratio PCE/NCE a été calculé comme indicateur de toxicité médullaire. Témoins positifs : mytomycine C (2 mg/kg p.c. par voie intrapéritonéale).

Résultats : les résultats ont été comparés à ceux obtenus dans le groupe témoin négatif. Aucune augmentation statistiquement significative de la fréquence des Erythrocytes Polychromatiques micro-nucléés n'a été observée en fonction de la dose de citicoline ou son sel de sodium administrée. Aucune diminution biologiquement significative du ratio PCE/NCE n'a été mise en évidence après 24 et 48 heures de traitement. Cette observation confirme la faible toxicité de la citicoline et de son sel de sodium sur la moelle osseuse de souris.

Conclusions de l'étude : les résultats de ce test permettent de conclure que la citicoline et son sel de sodium sont dépourvus de propriétés clastogènes et/ou aneugènes dans les conditions expérimentales de cette étude. Il permet également de caractériser la citicoline et son sel de sodium comme très faiblement cytotoxiques.

b. Etudes réalisées chez l'animal

Une étude de 90 jours réalisée sur le Rat Sprague-Dawley pour tester des doses de 0, 100, 350 et 1 000 mg de citicoline /kg p.c./j par gavage (le GT « ESPA » considère qu'il s'agit du NI) n'a rapporté aucun effet concernant le taux de mortalité et l'apparence générale des animaux, le poids corporel, l'ingestion de nourriture ou d'eau, les paramètres ophtalmologiques testés, ou l'apparence et le poids des organes étudiés (Schauss et al., 2009). Chez les mâles des augmentations

significatives des taux sanguins de créatinine et des diminutions du volume urinaire ont été rapportées aux deux plus fortes doses testées (350 et 1 000 mg/kg p.c./j). Chez les femelles, des augmentations dans le décompte de globules blancs et de lymphocytes ont été rapportées à la plus forte dose testée (1 000 mg/kg p.c./j), ainsi que dans les taux sanguins d'urée à toutes les doses testées. Une augmentation dose-dépendante de l'incidence et de la gravité de la minéralisation des tubules rénaux a été observée chez les femelles à toutes les doses testées et chez deux mâles (2/20) à la plus forte dose testée. Les auteurs ont considéré que l'effet observé, particulièrement chez les femelles, pouvait être lié à une perturbation de l'homéostasie du calcium induite par une augmentation de l'apport de phosphore (à partir du 5'-pyrophosphate). Le pétitionnaire précise que la citicoline contient jusqu'à 12,69 % de phosphore en poids. L'augmentation des taux sériques de l'urée chez les femelles et de la créatinine chez les mâles n'a pas été accompagnée d'une augmentation des taux de protéines dans l'urine ni de changements dans le poids des reins. L'examen histopathologique complet conduit sur au moins 31 organes, notamment sur les reins n'a pas montré de variations histologiques ni de réactions inflammatoires ou de nécrose au niveau des tissus présentant des dépôts minéraux.

Une autre étude publiée en 1983 menée chez 6 chiens Beagle auxquels une dose de 1,5 g/kg poids corporel/jour a été administrée par gavage pendant 6 mois ne rapporte pas d'effets associés au traitement sur le taux de mortalité, les poids corporels ou les poids des organes étudiés, ou sur les paramètres urinaires ou hématologiques étudiés (Romero et al., 2003). Aucun effet toxique associé au traitement n'est rapporté au niveau du foie, des reins, de la rate, des testicules ou des ovaires des animaux. Au niveau des reins, hormis deux animaux, tous les autres ont montré des granulomes du cortex rénal, accompagnés dans quelques cas de néphrites septiques. Toutefois, les auteurs ont attribué ces effets à des probables infections parasitaires provoquées par des larves de *Toxocara canis*. Au niveau du cœur, seule une femelle a montré des signes de nécrose du myocarde mais aucun autre animal n'a montré cette affection. Au niveau des poumons tous les animaux ont présenté des signes de pneumonie interstitielle à différents degrés de gravité mais ces effets ont été observés également chez les témoins. Les auteurs ont considéré que les effets observés pouvaient être considérés comme restant dans la variabilité normale. Toutefois, compte-tenu de l'effectif très limité (6 chiens) et des caractéristiques du groupe témoin (2 individus, l'un mâle, l'autre femelle), les auteurs n'ont pas pu conduire des analyses statistiques pour comparer les groupes. Les résultats de cette étude ne peuvent donc pas être considérés dans l'évaluation de la sécurité du NI.

Le résumé d'une étude de tératogénicité menée chez le lapin albinos (sans préciser le nombre d'animaux) à dose unique de citicoline de 800 mg/kg p.c./j administrée pendant le 7^{ème} et le 18^{ème} jour de gestation, n'a pas rapporté de toxicité maternelle ou fœtale (Secades & Frontera, 1995). Aucun effet sur l'embryogenèse n'a été rapporté, et seulement 10 % de fœtus exposés à la citicoline ont présenté un léger retard dans la formation du crâne.

c. Données chez l'Homme

Métabolisme chez l'Homme

Chez l'Homme jeune sain, les concentrations plasmatiques de choline et de cytidine augmentent respectivement de 48 % et 136 %, 2 h après l'ingestion de 2 g de citicoline (Lopez G-Coviella et al., 1987). Dans cette étude, 3 doses de 2 g de citicoline ont été administrées à des volontaires sains. Le pic de concentration maximale de choline a été mesuré à 4 h post-ingestion, avec un taux de 30 % supérieur comparativement à la concentration de base. Pour la cytidine, la concentration maximale a été notée au bout de 6h avec un taux 5 fois supérieur au taux basal. Cette augmentation est toutefois contestée par des études plus récentes qui retrouvent une augmentation d'uridine, et non de cytidine suite à la consommation de citicoline (Wurtman, 2000). L'augmentation de l'uridine plasmatique peut être attribuée à la forte activité cytidine déaminase au sein du tractus digestif et du foie.

Les mêmes études pharmacocinétiques, rapportées par le pétitionnaire, ont été menées chez des sujets hypertendus. En résumé, un apport de 0,5 à 4g de citicoline induit une augmentation plasmatique de choline au bout de 2 et 3 heures et d'uridine après 1,5 à 3h (Wurtman, 2000).

Etudes cliniques

Le pétitionnaire a identifié 10 études réalisées chez l'Homme avec la citicoline, dont il fournit les principaux résultats. Ces études ont été menées chez des volontaires sains mais également chez des patients souffrant de démence, d'accidents vasculaires cérébraux ou de dépendance à

certaines drogues dures. A noter que parmi ces études, une seule a été menée spécifiquement avec le NI. Cette investigation clinique a été réalisée chez le volontaire sain et n'a signalé aucun effet secondaire (Killgore et al., 2010). Une autre étude chez le volontaire sain âgé a observé des effets secondaires (migraines, insomnie, arythmies...) à une fréquence plus élevée dans le groupe placebo (Spiers et al., 1996). Les autres études ont porté sur des populations de patients et montrent que les effets secondaires décrits sont les mêmes voire moins importants comparativement aux groupes placebo.

Enfin, le pétitionnaire décrit les résultats d'une étude de surveillance dans laquelle 2817 patients espagnols âgés de 10 à 91 ans et traités par la citicoline ont été examinés. Les maladies étaient représentées par des démences séniles, des accidents vasculaires cérébraux et des insuffisances vasculaires cérébrales. Chaque sujet consommait 600 mg/j de citicoline et était suivi 15, 30 et 60 jours après le début du traitement. Aucun arrêt de traitement pour effets indésirable n'était signalé dans cette étude. Parmi les 2817 sujets, 151 (5 %) effets secondaires légers (douleurs épigastriques, diarrhées) étaient rapportés. Une autre étude de surveillance chez 4194 patients (0,5 à 4 g/j durant 6 semaines) souffrant d'accidents vasculaires cérébraux a été menée plus récemment par Cho et Kim (2009). Un total de 37 effets secondaires a été observé, relatifs à des désordres du système nerveux et du tractus digestif. Les auteurs signalaient que ces effets n'étaient pas liés à la consommation de citicoline.

Conclusions du Comité irlandais sur les aspects toxicologiques :

Le Comité irlandaise estime que les études toxicologiques chez l'animal n'ont surligné aucun signe particulier de préoccupation concernant la sécurité sanitaire de la citicoline comme nouvel ingrédient dans l'alimentation générale ou comme complément alimentaire aux niveaux d'utilisation prévus.

Sur les informations d'ordre toxicologique du dossier, le GT « ESPA » observe que concernant l'absorption, la distribution, le métabolisme ou l'excrétion (ADME), le pétitionnaire présente des données chez l'animal obtenues avec la citicoline ou avec ses constituants (choline ou cytidine) pour soutenir la biodisponibilité du NI. Le GT « ESPA » observe aussi que les données ADME publiées ont été obtenues également en testant le NI marqué radioactivement et que les informations fournies permettent de conclure que le NI est biodisponible *in vivo*.

Au vu des études *in vitro* et *in vivo* présentées, correctement documentées dans le dossier du pétitionnaire, la citicoline (en notant qu'il s'agit vraisemblablement du NI) ne présente pas d'effet mutagène ni clastogène.

Concernant les études de toxicité répétées réalisées chez l'animal, le GT « ESPA » remarque, que le pétitionnaire argumente, à propos de l'augmentation dose-dépendante de l'incidence et la gravité de minéralisation des tubules rénaux observée chez les femelles à toutes les doses testées, que les résultats de cette étude seraient peu pertinents pour l'Homme, étant donné que l'Homme est moins sensible à une perturbation dans l'équilibre calcium/phosphore et que le métabolisme de la citicoline est différent de celui des rats. Le pétitionnaire argumente encore sur le fait que les niveaux proposés d'utilisation du NI ne résulteraient qu'en une faible augmentation de l'exposition au phosphore, par comparaison aux recommandations journalières en phosphore qui seraient de 700 mg/jour (équivalent à 12 mg/kg p.c./j pour un individu de 60 kg).

Le GT « ESPA » note que les effets de minéralisation au niveau de reins sont observés dans cette étude chez tous les rats femelles à partir de la dose la plus faible ainsi que chez deux mâles à la plus forte dose testée. Le GT « ESPA » rejoint les conclusions du pétitionnaire sur la sensibilité accrue du rat femelle aux effets de minéralisation de tubules rénaux due à une perturbation de l'équilibre homéostasique calcium/phosphore qui est un effet connu et documenté. Aucun autre effet histopathologique ou fonctionnel au niveau des reins n'ayant été rapporté, le GT « ESPA » considère que les effets de minéralisation observés chez les rats sont spécifiques à cette espèce. Dans ces conditions, la dose sans effet indésirable observé (DSEIO) retenue par le GT « ESPA » pour le NI est la plus forte dose testée dans l'étude 90-jours chez le rat, soit 1 000 mg NI/kg p.c./j.

Le CES nutrition humaine estime que l'ensemble de ces études démontre que le métabolisme de la citicoline est différent chez le rongeur et chez l'Homme. Alors que la consommation orale de citicoline induit une augmentation plasmatique de choline et de cytidine chez le rongeur, celle-ci provoque une augmentation de choline et d'uridine chez l'Homme. L'uridine traverse la barrière hématoencéphalique et est transformée en uridine 5'-triphosphate puis en cytidine tri-phosphate au sein du cerveau. Cette dernière molécule est utilisée pour re-synthétiser de la citicoline.

Concernant les données chez l'Homme, le CES « Nutrition Humaine » rappelle que les études présentées n'ont pas été conçues pour étudier les effets secondaires indésirables ou toxiques du produit, et qu'elles n'ont été conduites qu'à court/moyen terme : elles n'apportent donc qu'une faible contribution à l'évaluation toxicologique systématique du produit. Néanmoins, le CES « Nutrition Humaine » relève un fort taux d'effets indésirables (5 %) rapportés dans une étude de large effectif. Même si ces effets observés sont de faible gravité, leur éventualité doit être intégrée dans les mentions d'étiquetage.

Enfin, le CES « Nutrition humaine » relève qu'un effet secondaire potentiel est mentionné dans la notice de la spécialité pharmaceutique à base de citicoline disponible en France : la possibilité de phénomènes réversibles d'agitation. Si le mode d'administration (intra-musculaire et intra-veineux) du médicament diffère de celui du NI, les doses journalières sont du même ordre : la posologie s'établissant entre 500 et 1000 mg pour le médicament tandis que l'exposition considérée pour le NI par l'alimentation courante se situerait entre 300 et 1300 mg. Aussi semble-t-il probable que ces mêmes effets indésirables puissent se produire avec un apport alimentaire du NI.

Cet élément n'est pas présent dans le dossier du pétitionnaire et n'a pas été soulevé dans l'expertise initiale de la FSAI.

Etude de l'allergénicité du NI

Le Comité irlandais note que le NI contiendra au moins 98 % de citicoline selon les spécifications chimiques proposées par le pétitionnaire et que la présence de protéines serait improbable en raison des étapes de séparation et de purification du procédé de fabrication. Par ailleurs, les analyses des lots n'ont détecté aucun résidu de protéines et en conséquence le risque d'allergénicité n'est pas un problème pour le NI.

Le GT « ESPA » rejoint les dernières considérations du comité irlandais, mais rappelle que la détection de protéines résiduelles dans le NI dépendra des sensibilités des méthodes analytiques utilisées et qu'il faudrait en conséquence appliquer les méthodes analytiques les plus adaptées et les plus sensibles.

Le CES « Nutrition humaine » souhaite qu'une analyse plus fine des allergènes potentiels au sein des vecteurs du NI soit conduite et qu'une recherche bibliographique exhaustive soit réalisée sur l'allergénicité de la choline.

3.9. Conclusions

Conclusions du Comité irlandais

Le Comité irlandais estime que la citicoline est produite de façon endogène chez l'Homme, et que son absorption, sa distribution, son métabolisme et son élimination ainsi que ceux de ses principaux constituants (la choline et la cytidine) sont bien caractérisés. Il estime que l'utilisation du NI tel que proposée par le pétitionnaire ne présente pas de risque nutritionnel ou toxicologique pour le consommateur.

Conclusion du CES « Biotechnologie »

Le CES « Biotechnologie » considère que le procédé de production est insuffisamment décrit et qu'il convient de rechercher les contaminants chimiques et microbiologiques issus de la production du NI.

Conclusions du GT « ESPA »

Le GT « ESPA » considère que les spécifications chimiques en métaux lourds devraient être adaptées aux exigences actuelles en la matière, à savoir, des spécifications individuelles pour le cadmium, le plomb et le mercure.

Le GT « ESPA » remarque que les études de biodisponibilité conduites avec du NI marqué radioactivement montrent que le NI est biodisponible *in vivo*.

Au vu des études *in vitro* et *in vivo* présentées, correctement documentées dans le dossier du pétitionnaire, la citicoline (il s'agit vraisemblablement du NI) ne démontre pas d'effet mutagène génique ou chromosomique.

Du point de vue de la toxicologie, le GT « ESPA » observe que l'exposition calculée au NI chez les enfants de 1 à 4 ans et chez les adultes, serait respectivement au moins 16 et 30 fois inférieure à la DSEIO établie pour le NI à partir d'une étude 90 jours chez le rat (1 000 mg/kg p.c./jour, la plus forte dose testée). Ces marges d'exposition semblent acceptables compte-tenu que la DSEIO établie est la plus forte dose testée et que les calculs d'exposition au NI sont très conservateurs.

Par ailleurs, les essais cliniques présentés dans le dossier de demande, allant de 4-12 semaines d'exposition à des doses de 500-2 000 mg NI par jour tendent à montrer la sécurité d'emploi du NI dans les conditions testées, bien que les durées d'exposition testées soient relativement courtes.

En conséquence, le GT « ESPA », sur la base des informations fournies dans le dossier de demande, rejoint les considérations du comité irlandais concernant la sécurité d'emploi du NI du point de vue toxicologique.

Conclusions du CES « Nutrition humaine »

Le CES « Nutrition humaine » :

- regrette l'absence de justification quant au choix des matrices alimentaires et du niveau d'adjonction du nouvel ingrédient ;
- souligne l'absence d'information sur les conséquences de la consommation du NI dans les conditions prévues par le pétitionnaire sur les apports en choline, au regard des limites de sécurité proposées par l'IOM pour la choline ; cette donnée est indispensable pour évaluer la sécurité d'emploi du NI ;
- estime que compte-tenu du manque d'information concernant la cinétique et la dynamique de la substance chez le rat et chez l'Homme et la variabilité interindividuelle du métabolisme chez l'Homme, et compte-tenu de la différence de métabolisme entre l'animal et l'Homme, le rapport entre la DSEIO et l'exposition maximale des enfants (égal à 16) est trop faible ;
- rappelle la survenue possible d'une agitation réversible chez le consommateur mentionnée avec la forme pharmaceutique.

Compte-tenu de ces éléments et de la gamme des vecteurs envisagés, le CES estime que les niveaux d'enrichissement en NI des aliments vecteurs doivent être diminués.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Considérant :

- que les données fournies par le pétitionnaire ne montrent pas de risque toxicologique lié à l'utilisation du NI dans les conditions prévues ;
- que les données bibliographiques disponibles à ce jour ne mettent pas en évidence un intérêt nutritionnel à enrichir l'alimentation en citicoline.

Mais considérant par ailleurs :

- que les incertitudes sur la pharmacocinétique du NI chez l'Homme et les différences de métabolisme documentées entre l'Homme et l'animal ne permettent pas d'apprécier l'impact nutritionnel du rapport entre la DSEIO calculée chez le rat et l'exposition maximale au NI chez les enfants ;
- l'inadéquation du modèle utilisé et des incertitudes sur les effets chroniques à plus long terme ;

l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail ne peut pas statuer à ce jour sur la sécurité d'emploi de ce NI.

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Nouvel ingrédient, citicoline, choline, cytidine 5'-pyrophosphate

BIBLIOGRAPHIE

Bidulescu A, Chambless L, Siega-Riz A, Zeisel S, Heiss G (2009) Repeatability and measurement error in the assessment of choline and betaine dietary intake: The atherosclerosis risk in communities (aric) study. *Nutrition Journal* 8:14

Bustamante A, Giralt D, Garcia-Bonilla L, Campos M, Rosell A, Montaner J (2012) Citicoline in pre-clinical animal models of stroke: a meta-analysis shows the optimal neuroprotective profile and the missing steps for jumping into a stroke clinical trial. *J Neurochem* 10.1111/j.1471-4159

Cho E, Zeisel SH, Jacques P, Selhub J, Dougherty L, Colditz GA, Willett W C (2006) Dietary choline and betaine assessed by food-frequency questionnaire in relation to plasma total homocysteine concentration in the framingham offspring study. *American Journal of Clinical Nutrition* 83:905-911

Cho HJ & Kim YJ (2009) Efficacy and safety of oral citicoline in acute ischemic stroke: drug surveillance study in 4,191 cases. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 31(3):171-6

Conant R & Schauss AG (2004) Therapeutic applications of citicoline for stroke and cognitive dysfunction in the elderly: a review of the literature. *Altern Med Rev* 9(1):17-31

- Dávalos A, Alvarez-Sabín J, Castillo J, Díez-Tejedor E, Ferro J, Martínez-Vila E, Serena J, Segura T, Cruz VT, Masjuan J, Cobo E, Secades JJ (2012) Citicoline in the treatment of acute ischaemic stroke: an international, randomised, multicentre, placebo-controlled study (ICTUS trial). *The Lancet* 380 (9839):349-357
- Detopoulou P, Panagiotakos DB, Antonopoulou S, Pitsavos C, Stefanadis C (2008) Dietary choline and betaine intakes in relation to concentrations of inflammatory markers in healthy adults: The attica study. *American Journal of Clinical Nutrition* 87:424-430
- Doerfler W & Schubert R (1998) Uptake of foreign DNA from the environment: the gastrointestinal tract and the placenta as portals of entry. *Wiener Klinische Wochenschrift* 110:40-44
- Fardet A & Chardigny JM (2010) Plant-based foods as a source of lipotropes for human nutrition: a survey of in vivo studies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, DOI: 10.1080/10408398.2010.549596
- Fischer LM, Searce J A, Mar MH, Patel JR, Blanchard RT, Macintosh BA, Busby MG, Zeisel SH (2005) Ad libitum choline intake in healthy individuals meets or exceeds the proposed adequate intake level. *Journal of Nutrition* 135:826-829
- Jensen HH, Batres-Marquez SP, Carriquiry A, Schalinske KL (2007) Choline in the diets of the us population: Nhanes, 2003-2004. *Faseb Journal* 21: LB46-c-
- Kennedy EP & Weiss SB (1956) The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipids. *J Biol Chem*, 222:193-214.
- Killgore WD, Ross AJ, Kamiya T, Kawada Y, Renshaw PF, Yurgelun-Todd DA (2010) Citicoline affects appetite and cortico-limbic responses to images of high-calorie foods. *Int J Eat Disord* 43(1):6-13
- Lopez G-Coviella I, Agut J, Von Borstel R, Wurtman RJ (1987) Metabolism of cytidine (5')-diphosphocholine (CDP-choline) following oral and intravenous administration to the human and the rat. *Neurochem Int* 11(3), 293-297
- Rodwell (2002) Métabolisme des nucléotides puriques et pyrimidiques, in *Biochimie de Harper* 25^{ème} édition, Les presses de l'Université de Laval, Editions de Boeck université
- Romero A, Grau T, Sacristán A, Ortiz JA (2003) CDP-Choline: 6 months study on toxicity in dogs. *Drug Res*. 33 (II):1038-1042
- Schauss AG, Somfai-Relle S, Financsek I, Glavits R, Parent SC, Endres JR, Varga T, Szücs Z, Clewell A (2009) Single- and repeated-dose oral toxicity studies of citicoline free-base (choline cytidine 5'-pyrophosphate) in Sprague-Dawley rats. *Int. J. Toxicol.* 28:479-487
- Secades & Frontera (1995) CDP-choline: pharmacological and clinical review. *Methods and Findings in experimental and clinical toxicology* 17, suppl B:1-54
- Secades JJ, Lorenzo JL (2006) Citicoline: pharmacological and clinical review. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 28 suppl B: 1-56.
- Sinha Roy S, Mukhopadhyay S, Mukherjee S, Das SK (2008) Breast cancer is associated with an increase in the activity and expression of cholinephosphotransferase in rats. *Life Sci* 83 (19-20):661-5
- Spiers PA, Myers D, Hochanadel GS, Lieberman HR, Wurtman RJ (1996) Citicoline improves verbal memory in aging. *Arch Neurol* 53:441-448
- Wurtman RJ, Regan M, Ulus I, Yu L (2000) Effect of oral CDP-choline on plasma choline and uridine levels in humans. *Biochem Pharmacol* 60(7):989-92
- Zeisel SH, Mar MH, Howe JC, Holden JM (2003) Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods. *The Journal of Nutrition* 133: 1302-1307