

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 : levure traitée par UV à teneur élevée en vitamine D

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 19 septembre 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 ingrédient alimentaire : levure traitée par UV à teneur élevée en vitamine D ».

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La demande d'avis concerne l'utilisation de levure (*Saccharomyces cerevisiae*) traitée par UV à teneur élevée en vitamine D2. Ce nouvel ingrédient (NI) doit être utilisé dans les procédés de panification, dans les aliments contenant classiquement de la levure et comme complément alimentaire. L'utilisation de ce NI a été autorisée dans les produits de panification au Canada et aux Etats-Unis.

La demande d'utilisation a été réalisée auprès des autorités britanniques 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 britanniques 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 source a déjà été utilisée comme aliment dans la Communauté (classe 2). 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 18 octobre 2012, et le groupe de travail (GT) pérenne « Evaluation des substances et procédés soumis à autorisation en alimentation humaine (ESPA) » réuni également le 18 octobre 2012. Cette expertise a été effectuée sur la base de rapports initiaux rédigés indépendamment par deux rapporteurs (un rapporteur nommé par le CES « Nutrition humaine » et un rapporteur nommé par le GT « ESPA »). En raison du court délai de réponse accordé, les travaux ont été adoptés par correspondance télématique le 30 octobre 2012.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

3.1. Spécification du NI (I)

Le nouvel ingrédient (NI) est une levure (*Saccharomyces cerevisiae*) traitée par UV à teneur élevée en vitamine D2. Les levures sont des micro-organismes eucaryotes dont l'espèce *Saccharomyces cerevisiae* est classiquement utilisée en boulangerie et dans les processus de fermentation des boissons alcooliques. Elles sont capables de produire artificiellement de la vitamine D2 grâce à une réaction photochimique (sous UV) bien décrite dans la littérature qui permet la conversion de l'ergostérol en ergocalciférol (forme autorisée dans les aliments ou les compléments alimentaires par le règlement européen (EC) 1170/2009).

Le pétitionnaire explique, qu'outre le fait que le NI contient des niveaux significatifs de vitamine D2, la levure n'est pas différente de la levure traditionnelle qui n'a pas été traitée, et qui est largement utilisée en panification.

Les quatre points importants de spécification du NI sont : l'apparence des lots de crèmes de levure (levures hâchées sans granule) ; les concentrations en vitamine D2 comprises entre 1,8 et 3,5 millions d'unités internationales (UI) pour 100 g de levure ; l'analyse microbiologique du NI doit démontrer une conformité (limites acceptables) pour les coliformes (>1000/g) dont *Escherichia coli* (>10/g) ; et une absence de salmonelle dans 25 g de levures ; la stabilité du NI conservé sous vide est de 3 ans.

Le pétitionnaire explique que la production de vitamine D3 *in vivo* chez l'Homme suivant une exposition au soleil produit deux stérols : le tachystérol et le lumistérol. Le pétitionnaire a effectué des analyses chromatographiques (HPLC) pour déterminer si le traitement aux UV de la levure produisait ces stérols et/ou d'autres composés. Les résultats de ces analyses montrent qu'avant le traitement aux UV, le seul stérol présent en quantité significative dans la levure est l'ergostérol (7,05 mg/g). Suite à l'exposition aux UV, trois stérols ont été observés : l'ergostérol (6,56 mg/g), l'ergocalciférol (vitamine D2, 1,06 mg/g) et le tachystérol. En complément, une analyse quantitative de deux lots de production a été réalisée par un laboratoire externe. Les teneurs en tachystérol ont été évaluées à 140 mg/kg et 145 mg/kg et celles en vitamine D2 à 672 mg/kg et 825 mg/kg, respectivement.

Afin de s'assurer de la précision de la méthode HPLC, les niveaux de vitamine D2 présents dans un lot unique ont été mesurés en duplicata à trois occasions sur une période de 24 jours. Les résultats montrent une faible variation durant cette période d'étude et une moyenne de 3.290.000 UI de

vitamine D/100 g. Le même lot a été réanalysé par une autre méthode de détection AOAC, avec un résultat similaire (3.230.000 UI/100 g).

Le pétitionnaire a également mesuré le niveau de vitamine D2 présent dans trois pains cuits en utilisant le NI. Pour cette analyse, le NI a été mélangé avec de la levure standard, afin qu'elle apporte 400 UI/100 g de pain. Les niveaux de vitamine D dans le NI et dans le pain étaient de respectivement 3.440.000 et 489 UI/100 g.

Le Comité britannique estime que les données analytiques transmises par le pétitionnaire sont particulièrement rigoureuses et trouve satisfaisant le fait que la composition du NI soit reproductible.

Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » considèrent que la spécification et notamment la quantité de vitamine D2 ont été évaluées par des méthodes d'analyse pertinentes, validées et standardisées. Le CES « Nutrition humaine » et le GT ESPA estiment, néanmoins, que les méthodes analytiques utilisées ne permettent pas d'écarter la possibilité de la présence de composés indésirables issus de l'action des UVB sur les composants des levures, tels que les lipides et protéines. Leur présence en quantité élevée pourrait affecter la sécurité sanitaire du NI. Si tel est le cas, les spécifications devraient inclure des niveaux acceptables pour les principaux composés indésirables issus du procédé de fabrication.

Le GT « ESPA » propose également de préciser dans les spécifications la nature des rayons UVB utilisés lors de l'exposition de la levure (par exemple : fluence, intensité, énergie).

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

Les autorités britanniques rapportent que le pétitionnaire produit de la levure depuis 100 ans. Le pétitionnaire a fourni les détails du procédé de production de levures en quantité commerciale et les méthodes employées pour assurer la pureté.

La levure traitée aux UVB est produite selon les mêmes procédés que la levure traditionnelle de ce pétitionnaire. Afin d'augmenter la teneur en vitamine D, la levure est soumise à des UVB d'une longueur d'onde de 254 nm durant 96h à 4°C avant d'être séchée à l'aide d'un séchoir à lit fluidisé (pour les levures à cuire), ou d'un spray séchant ou d'un rouleau sécheur (pour les levures destinées aux compléments alimentaires). Au terme du procédé, on obtient une levure vivante contenant entre 1.800.000 et 3.500.000 UI de vitamine D/100 g. Quand il est utilisé pour la cuisson, le NI est mélangé avec de la levure conventionnelle, afin que le produit fini contienne la quantité voulue de vitamine D2.

Les autorités britanniques expliquent que le pétitionnaire analyse tous les lots (avec des dosages répétés trois fois), afin de connaître la teneur en vitamine D2 et vérifier la conformité avec la spécification microbiologique.

Les autorités britanniques ajoutent que les UVB sont largement utilisés pour la stérilisation et le pétitionnaire reconnaît que des doses élevées d'UVB peuvent induire des mutations génétiques des microorganismes, particulièrement à la longueur d'onde utilisée pour la production de vitamine D2 (254 nm), avec des effets sur la multiplication cellulaire. Cependant, le pétitionnaire précise que le système employé a peu de répercussions sur la viabilité des cellules car l'intensité et la dose reçues sont faibles (flux rapide, milieu liquide, forte quantité de levures).

Les études scientifiques relatives à la nature des mutations retrouvées dans les levures indiquent qu'il n'y a ni altération génétique, ni réarrangements chromosomiques ni mutation ponctuelle (Bertrand, 2010). Le pétitionnaire rapporte que les doses d'UVB reçues par la levure sont très inférieures à la dose utilisée à des fins sanitaires ou à celles utilisées pour induire des mutations pour des objectifs de recherche (comme, par exemple, le développement de souches). Pour démontrer ce point, le pétitionnaire utilise deux techniques qu'il considère appropriées pour identifier des réarrangements chromosomiques et des mutations : RAPD-PCR (amplification aléatoire d'ADN polymorphe avec des amorces de séquences inter-delta) et RFLP-DNA

(polymorphisme de longueur des fragments de restriction). Afin d'exacerber la probabilité d'induction de mutations, le pétitionnaire a augmenté la durée d'exposition aux UVB de 96h à 160h. Les autorités britanniques rapportent que les résultats du pétitionnaire montrent que toutes les colonies sujettes aux traitements aux UVB ont un profil génétique identique à celui de la colonie contrôle.

Les autorités britanniques rapportent que le niveau de vitamine D2 des trois lots de NI n'a pas diminué sur une période de 3 ans. Le pétitionnaire n'a pas évalué la stabilité dans des produits commerciaux ayant une durée de conservation plus longue (par exemple : les compléments alimentaires).

Le Comité britannique considère que les contrôles mis en place pour vérifier la sécurité du produit final sont appropriés. Le Comité estime que les méthodes employées pour identifier les mutants possibles ne sont pas adéquates car la RT-PCR¹ aurait été plus appropriée. Cependant, le Comité britannique reconnaît que, même si le nombre de mutants pourrait augmenter du fait du traitement aux UV, ils ne deviendraient pas la souche dominante dans le produit final.

Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » sont en accord avec le Comité britannique sur l'inadéquation des méthodes employées par le pétitionnaire pour identifier les éventuelles mutations qui pourraient être induites par le traitement avec les rayons UVB. En outre, ils considèrent nécessaire que les éventuels effets des UVB sur les protéines, les lipides et les autres constituants des levures fassent également l'objet d'analyses. Les résultats de ces analyses permettront de confirmer que le NI ne diffère pas substantiellement des levures traditionnelles. Des précisions devraient également être apportées sur le procédé de fabrication tels que le débit, le volume, le ratio volume/surface au niveau des lampes.

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

La levure *Saccharomyces cerevisiae* est très utilisée dans l'industrie (boulangerie, brasserie, distillerie, industrie du vin, etc.) depuis de nombreuses années sans problème de sécurité. Les autorités britanniques rapportent que l'Efsa a inclus depuis 2007 cette levure dans la liste de présomption d'innocuité reconnue (appelée liste QPS). Le pétitionnaire rapporte un certain nombre d'utilisations de la levure riche en vitamine D2 dans le traitement du rachitisme au début du vingtième siècle et rappelle que le NI est autorisé au Canada dans les pains, les pains enrichis, les pains aux raisins, les pains de blé entier, les pains complets et les produits de boulangerie levés à l'aide de la levure. La limite autorisée est de 2,25 µg/100 g de produit. Le NI est également autorisé aux Etats-Unis. La Food and Drug Administration a fixé pour cet ingrédient la même limite maximale de 90 UI/100 g de produit de boulangerie, soit 2,25 µg/100 g de produit².

Le pétitionnaire rappelle aussi les limites de sécurité établies par l'Efsa pour la vitamine D qui sont de 25 µg/jour pour les enfants entre 0-10 ans et 50 µg/jour pour les adolescents et adultes, y compris les femmes enceintes et allaitantes.

*Le Comité britannique est d'accord avec le fait que la levure et la vitamine D2 sont consommées sans poser de problème de sécurité depuis longtemps. Bien qu'il ait été rapporté des infections dues à des espèces apparentées (*Saccharomyces boulardii*), ce n'est pas une cause d'inquiétude car cette levure n'est pas utilisée pour la production alimentaire.*

Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » n'ont pas d'objection vis-à-vis des arguments du Comité britannique.

¹ Technique d'amplification en chaîne par la polymérase après transcription inverse

² 1 mg de vitamine D équivalent à 40 000 UI de vitamine D

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

Le pétitionnaire souhaite que le NI remplace les ingrédients contenant la vitamine D2 pouvant être ajoutés à certains aliments et compléments alimentaires. Le NI doit être ajouté dans le pain dont le contenu en vitamine D2 ne doit pas dépasser 5 µg (200 UI)/100 g, 100g de pain correspondant donc à la totalité des apports recommandés en vitamine D2. Le pétitionnaire propose le même niveau d'enrichissement (5 µg) pour les compléments alimentaires. Les autorités britanniques rapportent que ce niveau d'enrichissement est compris entre 5,7 et 11 mg de levure enrichie en vitamine D.

Le pétitionnaire a utilisé les données provenant de l'étude britannique de nutrition et diététique (NSDS) 2010 afin d'estimer les consommations de différents types de pains (Bates, 2010). Il a estimé les fortes consommations (97,5^{ème} percentile) comme étant égales à trois fois la valeur moyenne. Le pétitionnaire considère que tous les produits contiennent 5 µg de vitamine D2 pour 100g. Les estimations les plus hautes étaient respectivement de 3,85 µg pour la moyenne et 11,55 µg pour le 97,5^{ème} percentile chez l'homme adulte, 3,75 µg et 11,25 µg chez les adolescents (entre 11 et 18 ans) et 2,4 µg et 7,2 µg chez les garçons (âgés de 4 à 10 ans).

Les autorités britanniques rapportent que l'analyse pratiquée par les experts de la FSA est conforme à l'estimation du pétitionnaire, même si celle-ci n'est basée que sur une approximation des fortes consommations. L'analyse de la FSA, qui fournit effectivement des données basées sur la consommation de tous les types de pains, confirme que les individus ne consomment pas de grandes quantités de pains durant la journée. Les estimations de la FSA sont donc de 4,5 µg pour la moyenne et 10,8 µg pour le 97,5^{ème} percentile chez les adultes (19-64 ans), 4,0 µg et 10,2 µg chez les adultes de plus de 65 ans et 3,6 µg et 8,6 µg chez les garçons (âgé entre 4 et 10 ans).

D'autre part, le pétitionnaire souhaite développer une gamme de compléments alimentaires. Il se fonde sur le principe que la contribution des compléments alimentaires aux apports totaux en vitamine D est faible (12% chez l'homme et 24% chez la femme, selon l'enquête NSDS) et considère que le marché du NI pourra représenter au maximum 2% du marché des compléments alimentaires à base de vitamine D et que, dans ce cas, son utilisation se fera en substitution totale des formulations actuelles.

Les autorités britanniques rapportent ensuite que les données d'apport en vitamine D provenant des compléments alimentaires ne sont pas disponibles.

Le Comité britannique n'exprime pas d'objection sur ce point mais il note qu'il est de la responsabilité du pétitionnaire de fournir des estimations rigoureuses de la consommation de son NI.

En ce qui concerne la population française, les calculs d'estimation des apports ont été réalisés sur la base des données de l'étude Inca 2 et en conservant les mêmes tranches d'âge considérées par le pétitionnaire.

Les consommations moyennes et au 97,5^{ème} percentile de pain³ selon l'Etude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 (INCA 2)⁴ sont pour les adultes de 18 à 64 ans de 119,3 g/jour et de 321,3 g/jour respectivement.

Pour les adultes de 65 ans à 79 ans, la consommation moyenne est de 146,8 g/j et au 97,5^{ème} percentile de 360 g/j. Pour les adolescents de 11 à 17 ans, la consommation moyenne est de 81,1 g/j et au 97,5^{ème} percentile de 232,7 g/j. En ce qui concerne les enfants de 3 à 10 ans, la consommation moyenne est de 48,4 g/j et de 150,4 g/j pour le 97,5^{ème} percentile.

³ Dans la catégorie « pains et panification sèche » et « sandwiches, casse-croûte », sachant que le pain représente en moyenne 56 % des sandwiches

⁴ <http://www.anses.fr/Documents/PASER-Ra-INCA2.pdf>

Tableau 1 : Apports estimés de vitamine D par le biais du NI d'après les consommations de l'étude Inca 2 en considérant un enrichissement de 5 µg de vitamine D pour 100 g de pain. Rappels des valeurs de référence (Apports nutritionnels conseillés et Limites de sécurité)

Tranches d'âge	Consommation moyenne	97,5 ^{ème} percentile	ANC	Limites de sécurité
Enfants de 3 à 10 ans	2,42 µg/j	7,52 µg/j	5 à 10 µg/j*	25 µg/j
Adolescents de 11 à 17 ans	4,05 µg/j	11,63 µg/j	5 µg/j	50 µg/j
Adultes de 18 à 64 ans	5,97 µg/j	16,06 µg/j	5 µg/j	50 µg/j
Adultes de 65 à 79 ans	7,34 µg/j	18 µg/j	5 à 15 µg/j**	50 µg/j

* ANC de 5 µg/j chez les 4 à 10 ans et de 10 µg/j chez les enfants de 3 ans

**ANC de 5 µg/j jusqu'à 74 ans et de 10 à 15 µg/ à partir de 75 ans

En conclusion, ces estimations d'apport montrent que quelque soit la tranche d'âge, on aboutit à un apport journalier supérieur aux apports nutritionnels conseillés (entre 5 µg/j et 10 µg/j suivant la tranche d'âge) pour les forts consommateurs de pain.

Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » considèrent sur la base des calculs d'exposition conduits, qu'il n'existe pas de risque avéré de surexposition ou de dépassements des limites de sécurité établies pour la vitamine D. Toutefois, il convient d'être vigilant sur ce point dans la mesure où les forts consommateurs de pain dépasseraient systématiquement les recommandations. Il est également important que le pétitionnaire définisse les catégories de pain visées par la demande en Europe, notamment en France, car les pains identifiés dans la demande proviennent d'Etats non européens. Par ailleurs, les doses de NI (mg/kg) ajoutées dans la pâte servant à fabriquer le(s) pain(s) visé(s) par la demande, pour atteindre la concentration en vitamine D2 indiquée ici par le pétitionnaire, devront être clairement spécifiées afin d'éviter un surdosage par les utilisateurs de l'ingrédient (boulangers-artisans ou industriels) qui pourrait compromettre la sécurité d'emploi du NI. En conséquence, Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » considèrent qu'il est opportun que soient suivies les consommations du NI au niveau européen, suite à sa commercialisation.

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

Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » notent que ce chapitre n'a pas été traité par les autorités britanniques.

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

Le pétitionnaire a commenté les apports en vitamine D provenant de sources alimentaires en utilisant le rapport de l'Efsa de 2006 sur les limites de sécurité pour les vitamines et minéraux. Les études de consommation britannique et allemande montrent des apports inférieurs aux recommandations. Le pétitionnaire ajoute que la levure *Saccharomyces cerevisiae* est couramment consommée.

Le Comité britannique note qu'il y a une déficience en vitamine D en Europe, et qu'augmenter les apports est un moyen de remédier au problème.

Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » réitèrent leur recommandation concernant le suivi des consommations suite à la commercialisation du NI.

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

Le pétitionnaire teste tous les lots de sa levure pour s'assurer qu'ils respectent les critères microbiologiques (recherche des coliformes, E. coli et Salmonelle).

Le Comité britannique confirme que le procédé de production n'entraîne pas d'inquiétude concernant les critères microbiologiques et le respect de la spécification assurera la production d'un NI exempt de microorganismes pathogènes.

Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » sont en accord avec les arguments du Comité britannique.

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

3.8.1. ADME

L'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion sont bien connus pour la vitamine D.

Le pétitionnaire traite ce sujet sous l'angle de la comparaison entre la vitamine D2 et la D3, afin d'aborder la controverse qui existe quant à l'équivalence métabolique des deux molécules. En effet, bien que le métabolisme des deux composés soit similaire (en ce qu'il nécessite une double hydroxylation pour produire le métabolite actif), certains travaux ont mis en exergue des taux circulants en 25-(OH)-vitamine D plus élevés dans le cas d'une exposition à la vitamine D3. Le pétitionnaire s'attache à démontrer l'absence de consensus sur ce point et insiste sur le fait qu'historiquement c'est la vitamine D2 qui a surtout été utilisée, en particulier chez l'enfant.

Les autorités britanniques rapportent que le pétitionnaire n'a pas fourni d'études particulières pour tester la toxicité du NI. Il ne fait pas référence à une éventuelle toxicité liée à la consommation de doses importantes de levures. En revanche, sur la base de l'équivalence du NI avec la vitamine D2 couramment utilisée, et de la similarité avec la vitamine D3, il mentionne certains travaux relatifs à des études (ou revues) appréhendant la toxicité de la vitamine D. La limite supérieure de toxicité, récemment réévaluée par l'IOM⁵ est de 100 µg/j. Or, la simulation d'exposition réalisée par le pétitionnaire ne prévoit pas d'atteindre cette valeur puisque les plus forts consommateurs ont des apports aux alentours de 15 µg/j.

Les autorités britanniques rapportent que le pétitionnaire se réfère à plusieurs études (depuis 2007) qui montrent que des consommations élevées de vitamine D sur le long terme n'ont pas d'effets néfastes.

Le Comité britannique note qu'il y a eu de nombreuses revues scientifiques portant sur la sécurité de la vitamine D. Les limites de sécurité se situent toutes au-delà des apports élevés du NI.

Le GT « ESPA » observe que l'argumentaire préparé par le pétitionnaire pour soutenir la sécurité d'emploi du NI se fonde sur l'historique de consommation des levures dans l'alimentation courante et sur les connaissances disponibles concernant la vitamine D et sa consommation au sein de l'Union européenne. Aucune étude toxicologique spécifique avec le NI n'a été présentée.

L'évaluation du risque du NI s'est donc fondée sur le rapport de l'Efsa (2006) concernant l'établissement d'une limite de sécurité pour la vitamine D⁶ et sur une recherche bibliographique récente⁷. Dans son analyse, l'Efsa a estimé qu'une ingestion excessive de vitamine D pouvait être à l'origine d'hypercalciurie et d'hypercalcémie avec ses conséquences cliniques. En conséquence, l'Efsa a considéré qu'une dose de 100 µg vitamine D/jour et un taux sérique en 25-(OH)-vitamine D de 200 nmol/L pouvaient être considérés comme les Doses Sans Effet Indésirable Observé (DSEIO). Appliquant un facteur d'incertitude de 2 pour prendre en compte l'intervariabilité individuelle chez l'Homme, une limite de sécurité de 50 µg/jour de vitamine D a été considérée

⁵ Institute of Medicine

⁶ Opinion of the scientific committee on food on the tolerable upper intake level of vitamin D. Expressed on 4 December 2002. Efsa. Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals, 2006.

⁷ dont : Battault S., Whiting SJ., Peltier SL., Sadrin S., Gerber G., Maixent JM. Vitamin D metabolism, functions and needs: from science to health claims. Eur J. Nut. DOI 10.1007/s00394-012-0430-5, 2012.

comme adéquate pour prévenir le risque d'apparition d'hypercalciurie et d'hypercalcémie. Le même raisonnement a été appliqué pour établir les limites de sécurité pour les enfants à 25 µg/jour.

Le GT « ESPA » observe que dans les plus récentes publications, les deux formes de vitamine D2 et D3 sont considérées équipotentes en termes d'ADME. Ainsi, Fisk et al. (2012) montrent qu'après l'ingestion de vitamine D2 et D3, les aires sous la courbe de la 25-OH-vitamine D circulante sont équivalentes pour chacune des deux formes, augmentant de la même manière ses indicateurs respectifs la 25-OH-Vitamine D2 et la 25-OH-Vitamine D3. D'autre part cette étude montre que la supplémentation en vitamine D2 ne modifie pas les concentrations plasmatiques en 25-OH-vitamine D3.

Par ailleurs, une étude chez le rat (Hohman et al 2011) publiée postérieurement à l'évaluation de l'Efsa ainsi qu'une étude clinique non publiée (Lamberg-Allardt et al. 2010) ont comparé les effets d'une diète avec un pain enrichi en levure concentrée en vitamine D2 sur les niveaux circulants de 25-OH-vitamine D2. Ces 2 études ont confirmé la biodisponibilité de la vitamine D2 provenant d'un enrichissement du pain avec les levures à teneur élevée en vitamine D2. De plus, chez l'animal, l'effet dose de cet enrichissement a été étudié pour des valeurs de vitamine D2 de 2,5, 10, 20 et 100 µg/100 g d'aliment. Le GT ESPA observe que ces doses couvrent l'application revendiquée pour le NI. Dans cette publication un effet-dose a été observé également entre les apports de vitamine D2 et le biomarqueur circulant. Cette étude montre aussi que les doses les plus faibles sont aussi efficaces que la plus forte dose testée, l'efficacité étant jugée sur le critère physiologique à savoir la minéralisation osseuse pendant 8 semaines chez l'animal jeune en croissance.

3.8.2. Tachystérol

Comme lors de la synthèse endogène de vitamine D chez l'Homme, le procédé de fabrication utilisant l'irradiation de levures aboutit à la production de tachystérol, tandis que la vitamine D2 présente sur le marché et produite après extraction de levure en est dépourvue.

Le pétitionnaire fait référence à un extrait d'un article publié par Holick mentionnant que le lumistérol et le tachystérol sont des produits « inertes ». Il indique que la non toxicité de cette molécule est également citée dans un livre publié par Gilchrest en 1986. L'absence d'effet biologique serait expliquée par le manque d'affinité de ce composé pour le transporteur de la vitamine D. Toutefois, il faut noter que d'autres auteurs mentionnent que les photo-isomères de la vitamine D peuvent être biologiquement actifs, probablement par l'intermédiaire d'un récepteur différent de celui de la vitamine D (Chen et al. 2000).

L'incorporation du NI aboutit à une ingestion moyenne de tachystérol de 0,93 µg/100 g de pain. Pour les plus forts consommateurs français de pains, cela correspond à un apport quotidien de 3 µg de tachystérol. La FSA a considéré que les niveaux de tachystérol dans le NI étaient très faibles et en dessous d'un seuil de préoccupation toxicologique proposé par l'EFSA (2012).

Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » considèrent qu'étant donné le caractère endogène du tachystérol se formant lors du métabolisme naturel de la vitamine D3, que sa concentration dans le NI est faible, qu'elle conduit à une exposition supplémentaire de l'ordre de 3 µg pour les forts consommateurs du NI – qui n'est pas de nature à entraîner un dépassement de la limite de sécurité - et que les données actuelles de la littérature ne permettent pas d'identifier de danger, concluent que la présence de tachystérol dans le NI aux usages revendiqués par le pétitionnaire ne soulève pas d'inquiétude de sécurité d'emploi particulière.

3.8.3. Etude de l'allergénicité du NI

Le pétitionnaire rappelle l'absence de substance allergène dans le produit. En outre, les autorités britanniques indiquent que les allergies alimentaires aux levures (*S. cerevisiae*) sont très rares.

Le Comité britannique considère que le risque allergique du NI est le même que pour une levure classique. Les individus se sachant allergiques à la levure auront donc également un risque de réaction systémique sévère suite à la consommation du NI.

Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » considèrent, qu'étant donné que l'utilisation du NI pour la panification se fera en substitution de la levure boulangère, les personnes allergiques à la levure seront conscientes de sa présence dans ces produits.

3.9. Conclusions

Compte tenu des estimations d'exposition, calculées pour la population française sur la base de l'étude INCA2 qui sont en moyenne et au 97,5^{ème} percentile, de :

- 2,4 µg et 7,5 µg/j, respectivement, pour les enfants de 3 à 10 ans ;
- 4 µg et 11,6 µg/j, respectivement, pour les adolescents de 11 à 17 ans ;
- 6,0 µg/j et 16 µg/j, respectivement, pour les adultes de 18 à 64 ans ;
- 7,3 µg et 18 µg/j, respectivement, pour adultes de 65 ans à 79 ans.

Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » concluent que ces apports restent inférieurs aux limites de sécurité établies par l'Efsa pour la vitamine D, à savoir, 25 µg/jour pour les enfants entre 0-10 ans et 50 µg/jour pour les adolescents et adultes.

Ainsi, le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » rejoignent les conclusions des autorités britanniques concernant la sécurité sanitaire des niveaux de vitamine D2 apportés par le NI.

Néanmoins, le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » estiment que pour que la sécurité d'emploi du NI soit assurée, il convient de disposer des réponses aux observations formulées dans cet avis.

Notamment, sur celles concernant l'équivalence substantielle du NI avec les formes existantes des levures traditionnelles. Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » rappellent que la présence en quantité élevée des composés néoformés indésirables issus du traitement de levures aux UVB pourrait affecter la sécurité sanitaire du NI. Si tel est le cas les spécifications proposées pour le NI devraient inclure leurs niveaux acceptables.

De même, en raison de l'existence, et la possible émergence, d'autres sources/vecteurs pour la vitamine D, le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » recommandent que soient suivies les consommations du NI après sa commercialisation.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail adopte les conclusions du CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA ».

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Vitamine D2, levure, produits de panification, nouvel ingrédient.

BIBLIOGRAPHIE

Bates B, Lennox A, Swan G (2010). National Diet and Nutrition Survey- Headline results from Year 1 of the Rolling Programme (2008/2009).

Battault S, Whiting SJ, Peltier SL, Sadrin S, Gerber G, Maixent JM. Vitamin D metabolism, functions and needs: from science to health claims. Eur. J. Nut. Accepted Eur J Nutrition, 2012, Aug 12

Bertrand, D. Genetic stability of cream yeast after irradiation with UV light. Lallemand R&D internal report, March 2010.

Chen TC, Persons KS, Lu Z, Mathieu JS, Holick MF. An evaluation of the biologic activity and vitamin D receptor binding affinity of the photoisomers of vitamin D3 and previtamin D3. J Nutr Biochem. 2000 May;11(5):267-72.

Efsa. Introduction of a qualified presumption of safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA: opinion of the scientific committee. The EFSA Journal 2007, 587: 1-16

Efsa. Scientific Opinion on Exploring options for providing advice about possible human health risks based on the concept of Threshold of Toxicological Concern (TTC). The EFSA Journal 2012;10 :2750 [103 pp.] <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2750.pdf>

Fisk CM et al. Fortified Malted Milk Drinks Containing Low-Dose Ergocalciferol and Cholecalciferol Do Not Differ in Their Capacity to Raise Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations in Healthy Men and Women Not Exposed to UV-B. J. Nut 2012 142 :1286-1290.

Hohman et al. Bioavailability and efficacy of vitamin D2 from UV irradiated yeast in growing, vitamin D deficient rats. J. Agric. Food Chem 2011, 59(6) : 2341-2346.

Holick et al. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93:677-81.

Lamberg-Allardt et al. Bioavailability of vitamin D2 from bread baked with vitamin D2-containing baking yeast, 2010. Unpublished.

Mistratta VI et al. Vitamine D2 ou Vitamine D3 ? La revue de médecine interne 29 (2008) 815-820.

Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of vitamin D1. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) EFSA Journal 2012 ; 10(7) :2813.

Roberts et al., Vitamin D2 formation from post-harvest UV-B treatment of mushrooms (*Agaricus bisporus*) and retention during storage. J. Agric. Food Chem. 2008, 56, 4551-4544.