

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 17 juin 2013

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

**relatif à la demande d'autorisation de mise sur le marché d'un nouvel aliment ou d'un ingrédient alimentaire : poudre d'extrait de canneberge, dans le cadre du règlement (CE) 258/97**

### **VERSION POUR PUBLICATION**

---

*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 (Anses) a été saisie le 23 août 2011 par Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes d'une demande d'avis relatif à l'autorisation de mise sur le marché d'un nouvel aliment ou d'un nouvel ingrédient alimentaire : poudre d'extrait de canneberge, dans le cadre du règlement (CE) 258/97 relatif aux nouveaux aliments et ingrédients alimentaires (saisine 2011-SA-0232).

#### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

Le nouvel ingrédient (NI) est une poudre d'extrait de canneberge destinée à être utilisée dans des boissons aromatisées aux fruits, thés glacés, eaux aromatisées et des yaourts, pour attendre 80 mg de proanthocyanidines par portion. Des extraits de canneberge sont déjà commercialisés en Europe, notamment sous forme de compléments alimentaires. Cette demande concerne une poudre concentrée en substances polyphénoliques qui ne présente pas de recul de consommation en Europe avant 1997 et entre donc dans le cadre du règlement (CE) 258/97 relatif aux nouveaux aliments et nouveaux ingrédients alimentaires.

Après examen du dossier initial (saisine 2011-SA-0232) par les comités d'experts spécialisés (CES) « Nutrition humaine » et « Additifs, arômes et auxiliaires technologiques (AAAT) », l'Anses a émis une demande d'informations complémentaires le 14 novembre 2011. Dans cette demande il était précisé qu'il conviendrait de compléter le dossier par les éléments suivants :

- une étude toxicologique de 90 jours chez l'animal avec l'extrait de canneberge objet de la demande ;
- la réalisation d'études de mutagénicité avec le nouvel ingrédient ;
- des calculs d'exposition réalisés à partir de la Comprehensive European Food Consumption Database établie par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (Efsa)<sup>1</sup>.

Cette demande d'informations complémentaires était accompagnée d'une annexe contenant les considérations techniques du Comité d'experts spécialisé (CES) « Additifs, arômes et auxiliaires technologiques (AAAT) » lui ayant permis d'arriver à ces conclusions.

---

<sup>1</sup> <http://www.efsa.europa.eu/en/datexfoodcdb/datexfooddb.htm>

En réponse à cette demande, le pétitionnaire a transmis des compléments d'information qui ont été reçus par l'Anses le 21 novembre 2012 (saisine 2012-SA-0254).

## **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 CES « Nutrition humaine » réuni le 20 octobre 2011 et le 21 février 2013 et le groupe de travail pérenne (GT) « Evaluation des substances et procédés soumis à autorisation en l'alimentation humaine (ESPA) » réuni les 15 septembre 2011, 21 février 2013 et 18 avril 2013.

Cette évaluation entre dans le cadre du règlement (CE) 258/97 relatif aux nouveaux aliments et ingrédients alimentaires, dont les aspects scientifiques sont précisés dans la recommandation 97/618 de la Commission européenne.

Selon la classification proposée dans cette recommandation, le pétitionnaire positionne le NI dans la classe des nouveaux aliments complexes issus de sources non génétiquement modifiées, dont la source a déjà été utilisée comme aliment dans la Communauté (classe 2.1). Les informations requises pour évaluer la sécurité des 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

## **3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DES COLLECTIFS D'EXPERTS**

### **1.1. Spécifications du NI**

Le NI est un extrait de jus concentré de canneberge (*Vaccinum macrocarpon*). Il a un aspect de poudre fine très fluide de couleur rouge intense, sans odeur, de granulométrie définie et il présente un goût amer et astringent. Sa teneur en eau est inférieure à 5 %. Le NI est soluble dans l'eau et est riche en composés phénoliques, majoritairement des proanthocyanidines (PAC), oligomères et polymères de catéchines (monomère(+)-catéchine de PAC, dimère B-1 de PAC, trimère C-1 de PAC). La teneur PAC est comprise entre 55 et 60 %. D'autres constituants sont regroupés sous le terme « composés phénoliques » :

- différents glycosides d'anthocyanines : galactosides, arabinosides, glucosides basique de cyanidine et de péonine ;
- des flavonols dont la quercétine, la quercitrine, l'hypéroside et la myricétine ;
- des acides phénols : acide caféique, acide chlorogénique et acide hydroxycinnamique.

Le pétitionnaire fournit des spécifications pour 3 lots en précisant la méthode de dosage utilisée. Les composés phénoliques totaux sont mesurés par la réaction de Folin-Ciocalteu et les PAC selon la méthode DMAC (diméthylaminocinnamaldehyde), qui utilise comme standard un extrait global de PAC obtenues par fractionnement de sources spécifiques de canneberge, et dose donc les oligomères et les polymères.

Les spécifications chimiques précisées par le pétitionnaire dans sa réponse du 21 novembre 2012 font état d'une composition du NI de :

- 3,18 % d'anthocyanes totaux ;

- 17,07 % de PAC (exprimé en mg équivalents de procyanidine A2 ou de procyanidine B2 par 100 mg de poudre) ;
- 43,71 % de composés phénoliques ;
- 6,241 µmol TE/g d'ORAC<sup>2</sup> ;
- 4,82 % de glucides ;
- 5,98 % d'acides organiques totaux.

*Le CES « Nutrition humaine » estime que la fraction polymérique du NI est bien décrite. Il regrette cependant l'absence de dosage de chacun des polyphénols regroupés sous l'appellation « composés phénoliques ».*

*Dans son évaluation initiale, le CES « AAAT » avait observé que la description des PAC dans l'extrait de canneberge semblait différente de celle disponible dans la littérature (Bruneton, 2009 ; Kalt et al, 2008 ; Nuñez et al, 2006). La composition de la canneberge dans la littérature est décrite comme étant des dimères de PAC de type A2 et B2, avec spécifiquement dans la canneberge des trimères de l'épicatechol avec une liaison interflavanique de type A3. Or, la composition du NI rapportée dans le dossier initial contenait des dimères de type B1 et des trimères de type C1.*

*Dans sa réponse du 21 novembre 2012, le pétitionnaire précise que la composition des PAC dans le NI ne diffère pas de celle trouvée dans le jus de canneberge. Les données internes du pétitionnaire indiqueraient que la distribution des monomères, des dimères et des oligomères qui composent les PAC du NI est semblable à celle des PAC dans le jus de canneberge. La différence constatée auparavant par le CES « AAAT » proviendrait du fait que le dossier initial visait uniquement à illustrer l'omniprésence de ces substances dans, par exemple, les extraits de pépins de raisin.*

*Le GT « ESPA » estime ces explications recevables et propose, en conséquence, de ne pas reprendre les structures chimiques des PAC provenant des extraits de pépins de raisin à des fins de comparaison avec celles du NI.*

Concernant les éventuels contaminants externes, le pétitionnaire s'engage à s'assurer que le concentré de canneberge utilisé comme matière première est conforme à la réglementation européenne.

Il n'existe pas de limites réglementaires concernant les contaminations des extraits de canneberge. Le règlement 1881/2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires propose des valeurs maximales pour les métaux lourds dans les baies et petits fruits auxquelles le pétitionnaire compare les teneurs du NI. Les teneurs en cadmium, plomb, mercure et arsenic sont fournies pour 3 lots d'extrait et sont inférieures à ces seuils réglementaires. Pour les autres contaminants, le pétitionnaire indique que le concentré de canneberge utilisé comme matière première de l'extrait sera conforme à la réglementation européenne.

*Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » regrettent que le pétitionnaire ne s'assure pas en outre de l'absence, dans le NI, de pesticides, d'aflatoxines et de polluants organiques résistants. Le CES « Nutrition humaine » estime par ailleurs qu'il conviendrait de disposer d'informations sur le mode de culture de la plante, sur le procédé de fabrication du jus et sur le facteur de concentration de l'extrait sec utilisé comme matière première.*

Le NI est fabriqué à partir de concentré de jus de canneberge, par une série de phases de séparation en chromatographie sur résine adsorbante. Deux éluions sont réalisées avec un mélange éthanol/eau et la deuxième élution est évaporée et séchée pour obtenir la poudre de l'extrait.

L'éthanol utilisé comme solvant est conforme au règlement des ingrédients alimentaires et son taux résiduel pour 3 lots est inférieur aux limites de détection.

Le pétitionnaire utilise le dioxyde de silicium comme agent d'écoulement (0,6 à 0,8 % du produit final) et la maltodextrine comme excipient (9 à 22 % du produit final). Le dioxyde de silicium est un additif alimentaire autorisé (E551) et ses spécifications sont, selon le pétitionnaire, conformes à la réglementation européenne.

<sup>2</sup> Oxygen radical absorbance capacity (ORAC), exprimée en µmol de Trolox équivalent (TE)

*Ces données n'appellent pas de remarque du CES « Nutrition humaine » ou du GT « ESPA »*

Concernant la stabilité de la poudre, le pétitionnaire indique que des études sont actuellement en cours. Selon le pétitionnaire, la poudre conservée dans un endroit sec à température ambiante serait stable pendant une période de 12 mois.

Des données de stabilité supplémentaires indiquent que la poudre est stable dans les boissons jusqu'à 22 semaines à compter de la date de production. Cette durée varie en fonction du taux de PAC et de la teneur totale en composés phénoliques.

*Le CES « Nutrition humaine » estime que ces informations sont insuffisantes et que des données de stabilité devaient être fournies pour 3 lots.*

*Le CES « AAAT » avait observé que l'évaluation de la stabilité du NI reposait sur le dosage des PAC et des composés phénoliques totaux. Or, ces deux constituants du NI sont connus pour être des composés relativement stables, bien que les premières puissent se polymériser. Le CES « AAAT » avait suggéré qu'un meilleur marqueur de stabilité du NI pouvait être la mesure des anthocyanines présentes dans l'extrait de canneberge à hauteur de 5 à 8 % (w/w).*

*Le GT « ESPA » estime que les résultats des études de stabilité de la poudre, actuellement en cours, devraient permettre de mieux définir la durée et les conditions de stockage permettant de conserver le NI.*

## **1.2. Effets du procédé de production appliqué au NI**

*Le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » estiment que le procédé de fabrication du NI à partir du jus concentré est bien décrit et qu'il est réalisé conformément aux bonnes pratiques de fabrication. Toutefois, le CES « Nutrition humaine » estime qu'il conviendrait de disposer des données de production à partir de la plante fraîche, afin de s'assurer que le concentré de jus de canneberge matière première du NI est obtenu de façon reproductible.*

*Le CES « Nutrition humaine » relève l'absence de mesure de composition en PAC du concentré utilisé comme matière première de l'extrait, ce qui ne permet pas de juger de l'éventuelle modification de la composition ou de la structure du NI par rapport à son équivalent traditionnel.*

## **1.3. Utilisation antérieure de l'organisme utilisé comme source de NI**

Le pétitionnaire fournit la classification taxonomique de la canneberge utilisée comme matière première, *Vaccinium macrocarpon*, Ericaceae. Cette plante est actuellement consommée en Europe et dans le monde sous forme de boissons (jus et nectars de jus), fraîche, séchée, ou d'extraits dans des compléments alimentaires.

Les jus de canneberge présents sur le marché européen contiennent, selon le pétitionnaire :

- des PAC (576 mg par portion de 240 mL) ;
- des composés phénoliques (736 mg par portion) ;
- et des anthocyanines (53 mg par portion) ;

soit des quantités (par portion) supérieures à celles proposées par le pétitionnaire dans les utilisations envisagées pour le NI. Une comparaison des quantités (par portion de 240 mL) de ces composés dans les utilisations prévues pour le NI avec ceux des utilisations actuelles est présentée dans le tableau ci-après.

Tableau 2 : comparaison des compositions de vecteurs du NI avec les composition du jus de canneberge et celle du nectar de jus de canneberge

	<b>Boissons aromatisées aux fruits et eaux enrichies en vitamines</b>	<b>Jus de canneberge</b>	<b>Nectar de jus de canneberge</b>
NI (mg)	150	0	0
PAC (mg)	80	576	90
Composés phénoliques (mg)	61	736	211
Anthocyanines (mg)	12	53	1,2
Acide quinique (mg)	0,1	2304	648
Acide malique (mg)	0,4	1872	504
Acide citrique (mg)	0,4	2520	672
Quercétine (mg)	0,4	-	3,12
Acide galacturonique (mg)	-	-	288
Dextrose (mg)	0	7512	16 272
Fructose (mg)	0	1824	12 408
Sucrose (mg)	0	120	1512
Acide ascorbique (mg)	-	-	69,6
Eau (mL)	239-846	222-482	207-600

Le pétitionnaire présente par ailleurs plusieurs estimations des apports alimentaires en flavonoïdes rapportées dans la littérature. Ces estimations varient entre 20 mg/j (Beecher, 2003) et 250 mg/j (Erdman et al, 2007). Ces variations semblent provenir surtout des nombreuses approximations dans la composition en flavonoïdes des aliments.

Les anthocyanines sont présentes en grandes quantités dans certains fruits et légumes et il s'agit des flavonoïdes parmi les plus représentés dans l'alimentation (Wu et al, 2006). Ainsi, des apports supérieurs à 100 mg/jour d'anthocyanines peuvent être atteints par à la consommation régulière de certains fruits, notamment des baies (Wu et al, 2006).

Erdman et al (2007) proposent une estimation de la consommation moyenne de 58 mg/j de PAC aux Etats-Unis.

*Le CES « Nutrition humaine » estime que la plante utilisée est bien définie d'un point de vue botanique.*

#### **1.4. Consommation/niveau d'utilisation prévus du NI**

Le NI est destiné à être ajouté à diverses boissons à base de fruits ou de thé, isotoniques, enrichies en vitamines, sous forme liquide ou en poudre, ainsi que dans des yaourts et yaourts à boire. Selon le pétitionnaire, cette utilisation a pour objectif de porter à 80 mg par portion les quantités de PAC dans chacun des produits dans lesquels le pétitionnaire envisage d'utiliser le NI. Pour ce faire, le NI est ajouté à la dose de 150 mg par portion, soit une concentration variant entre 0,045 et 0,12 % (poids/volume) selon le vecteur. Différents exemples d'utilisation sont présentés dans le tableau ci-après.

Tableau 3 : utilisations prévues du NI

<b>Vecteur du NI</b>	<b>NI (mg/portion)</b>	<b>Portion (g ou mL)</b>	<b>Taux d'utilisation du NI (%)</b>
Boissons aromatisées aux fruits	150	250	0,06
Boissons isotoniques	150	250	0,06
Boissons aromatisées aux fruits hypocaloriques	150	250	0,06
Boissons à base de thé	150	250	0,06
Eaux enrichies en vitamines	150	330	0,045
Yaourts	150	125	0,12
Yaourts à boire	150	200	0,075

Comme demandé par l'Anses dans sa demande du 14 novembre 2011, le pétitionnaire a réalisé des calculs d'exposition en utilisant les données de la Comprehensive European Food Consumption Database établie par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (Efsa). L'exposition a été calculée pour différentes tranches d'âge, chez la population totale et chez les consommateurs du NI uniquement. En fonction des tranches d'âge considérées, les données proviennent de 2 (pour ce qui concerne les nourrissons) à 20 (pour les adultes) états membres, pour un total de 32 enquêtes décrivant les consommations de 22 états membres.

Chez les consommateurs des produits vecteurs du NI, le pétitionnaire a réalisé des calculs distincts pour les apports de NI provenant des produits laitiers fermentés et pour les apports issus des boissons gazeuses, car la base de donnée de l'Efsa présente les données de consommation par catégorie d'aliments.

Les résultats de cette estimation sont résumés dans le tableau ci-après :

**Tableau 4 : estimations d'exposition au NI**

	Population totale en mg/lj ( <i>mg/kg poids corporel/j</i> )		Consommateurs uniquement en mg/lj ( <i>mg/kg poids corporel/j</i> )			
			Produits à base de lait fermenté		Boissons gazeuses	
Population	Moyenne	95 <sup>ème</sup> percentile	Moyenne	95 <sup>ème</sup> percentile	Moyenne	95 <sup>ème</sup> percentile
nourrissons	7,03-122,59 (0,72-15,29)	62,4-591,69 (6,57-76,79)	56,2-278,81 (5,78-34,82)	62,4-753 (6,57-102,11)	99,5 (9,65)	450 (39,13)
1-3 ans	43,46-193,43 (4,02-16,46)	137,7-579,62 (13,24-47,97)	75,11-240,42 (6,14-17,31)	210-651,6 (16,68-58,67)	32-114,16 (2,35-8,3)	32-458 (2,56-45,71)
3-9 ans	36,59-241,41 (1,52 à 12,39)	136,56-676,76 (6,19-34,97)	84,71-282,39 (3,35-14,53)	170-696,6 (8-36,22)	52,38-161,68 (2,2-6,52)	120-510 (4-19,38)
10-17 ans	50,94-273,03 (0,99-5,49)	145,83-785,66 (3,63-12,44)	35,51-171,5 (0,73-3,66)	98-384 (2,61-9,09)	85,49-314,82 (1,72-5,14)	230-792 (4,57-13,07)
18-64 ans	42,89-362,85 (0,65-4,88)	166,67-885,45 (2,56-11,92)	54,88-370,63 (0,76-3,46)	135,43-716,64 (1,92-9,45)	77,28-305,94 (1,16-4,09)	198-819,03 (2,82-12,09)
65-74 ans	22,74-146,25 (0,33-1,94)	154,83-548,69 (2,07-7,3)	98-259,96 (1,44-3,48)	180-612 (2,68-8,85)	55,57-167,63 (0,74-2,08)	128-597 (2,18-5,94)
> 75 ans	20,07-94,94 (0,31-1,29)	152,26-329,86 (2,03-4,33)	99,05-159,92 (1,35-2,29)	187,2-394,5 (3-5,82)	33,74-152,75 (0,53-2,01)	98,57-450 (1,37-6,53)

Ces estimations restent, selon le pétitionnaire, inférieures à l'apport de polyphénols lié aux sources alimentaires tel qu'il a été estimé et rapporté dans la littérature (Scalbert et Williamson, 2000), c'est-à-dire un apport égal à 460 mg à 1 g par jour, dans la moyenne de la population totale adulte et son 95<sup>ème</sup> percentile.

*Le CES « Nutrition humaine » note que l'exposition des enfants au NI, rapportée au poids corporel, représente 2 à 5 fois celle des adultes. Il estime que cette exposition, majorée par la consommation d'autres sources alimentaires de polyphénols, conduirait à des apports susceptibles de présenter des risques pour la santé.*

*Concernant les apports en polyphénols totaux, le CES « Nutrition humaine » note que l'exposition au 95<sup>ème</sup> percentile par le NI, aussi bien chez l'adulte que chez le jeune enfant est proche des plus forts niveaux de consommation provenant de l'alimentation courante (Scalbert et Williamson, 2000). Si on la rapporte au poids corporel, l'exposition des enfants aux polyphénols est de 2 à 7 fois supérieure à celle des adultes, à partir de la seule consommation du NI, à laquelle il faut ajouter la consommation de polyphénols apportés par l'alimentation courante estimée à 460 mg à 1 g pour les adultes. Le CES « Nutrition humaine » s'interroge donc sur l'exposition totale des jeunes enfants aux polyphénols provenant de l'alimentation courante.*

### **1.5. Informations fournies par une exposition humaine antérieure au NI ou à sa source**

La canneberge est consommée sous forme de boissons et de fruit séché en Europe et à travers le monde. A ce jour, aucun problème d'allergénicité d'ordre clinique, lié à cette consommation, n'a été signalé dans la littérature scientifique.

Au Canada, le NI est autorisé dans les boissons sur la base d'un taux d'utilisation de 80 mg de PAC par portion de 240 mL (soit 150 mg de NI).

Aux Etats-Unis, le NI a obtenu le statut « Generally Recognized As Safe » (GRAS) pour être utilisée dans de l'eau et des boissons à la canneberge, sur la base d'un taux d'utilisation de 80 mg de PAC par portion de 240 mL.

*Ces informations n'appellent pas de remarques de la part du CES « Nutrition humaine »*

### **1.6. Informations d'ordre nutritionnel sur le NI**

Le pétitionnaire indique uniquement que l'utilisation du NI vise à compléter les apports quotidiens de polyphénols. Il ajoute que les polyphénols sont présents naturellement dans de nombreux aliments et que la consommation de certains fruits et légumes permet d'atteindre des apports élevés en certains polyphénols.

*Ces informations n'appellent pas de remarques de la part du CES « Nutrition humaine ».*

### **1.7. Informations d'ordre microbiologique sur le NI**

Une analyse microbiologique sur trois lots du NI a été réalisée selon différentes méthodes. Les résultats des taux de levure, de colonies aérobies, de coliformes, d'E. coli et de Salmonelles sont inférieurs aux spécifications proposées pour les 3 lots testés. Les résultats montrent que la poudre d'extrait de canneberge peut être produite de manière reproductible conformément aux spécifications proposées.

### **1.8. Informations d'ordre toxicologique sur le NI**

Le pétitionnaire n'a pas conduit d'étude toxicologique de 90 jours chez l'animal avec le NI, ni d'études de mutagénicité comme demandé par l'Anses dans son courrier du 21 novembre 2011. Le pétitionnaire « n'a pas jugée nécessaire la conduite de ces études, car l'innocuité a été démontrée à travers l'historique de la consommation et les données pré-cliniques et cliniques utilisant des produits de canneberge avec un contenu de PAC similaire ». Le



pétitionnaire a transmis dans son courrier de réponse, les résultats des trois études cliniques avec le NI réalisées chez l'homme, qui n'étaient pas disponibles lors de la première évaluation de la demande.

Par ailleurs, le pétitionnaire a argumenté que « la composition des PAC et des autres composés phénoliques présents dans l'extrait de canneberge en poudre du NI ne diffère pas de celle naturellement présente dans les canneberges et le jus de canneberge, lesquels ont de longs antécédents de consommation sans danger, car un simple procédé d'adsorption est utilisé pour isoler l'ingrédient. Les données de marché récentes (2012) estimant la consommation d'environ 300 millions de litres de cocktail de jus de canneberge au sein de l'Union européenne a fourni la garantie de l'innocuité des extraits de canneberges dont le NI ». Par ailleurs, le pétitionnaire a rappelé que des produits similaires à ceux présentés dans la demande actuelle de mise sur le marché du NI sont actuellement disponibles dans l'UE et en France. Pour le cas de la France, le pétitionnaire rappelle que « l'Anses a conclu qu'en l'état actuel des connaissances, il n'existait aucune préoccupation relative à la sécurité en ce qui concerne la consommation de canneberge par le grand public » (Anses, 2011).

### **1.8.1. Evaluation toxicologique**

Il n'a pas été réalisé d'études toxicologiques spécifiques sur le NI. Des données toxicologiques bibliographiques présentes dans le dossier de demande sur d'études conduites avec d'autres extraits et/ou ses principaux constituants sont présentées séparément.

#### Données de toxicité aiguë

Les résultats obtenus en administration aiguë permettent d'écarter tout risque de toxicité pour des doses de canneberge nettement supérieures à 4 g/kg poids corporel (p.c.).

#### **Etudes conduites avec d'autres extraits de canneberge ou avec des constituants des extraits de canneberge**

#### Données de toxicité réitérée

Une étude (Palikova et al, 2010) a été réalisée chez le rat Wistar mâle adulte exposé pendant 14 semaines par l'aliment à trois extraits de canneberge, ajoutés à une concentration de 1 500 mg/kg de régime, obtenus à partir de poudre et de jus de fruit de canneberge. Cette dose serait équivalente à 75 mg/kg p.c./jour. Les doses moyennes administrées en PAC des trois extraits seraient donc de 0 (témoin); 1,05; 3,6 et 1,1 mg/kg/p.c./jour. Il n'a été observé aucune différence significative sur le poids corporel ni aucun signe de toxicité. Les examens histologiques portant sur le foie, l'intestin, les reins et le cœur n'ont révélé aucune atteinte particulière. Les paramètres biochimiques et hématologiques n'ont montré aucune différence significative chez les animaux traités. Les divers dérivés phénoliques sont métabolisés en acide benzoïque puis en acide hippurique (retrouvés au niveau du plasma et de l'urine). Ce qui est démontré par les quantités d'acide hippurique urinaire particulièrement élevées après traitement passant de 29 (témoin) à 262 µg/g de créatinine.

#### Données de génotoxicité

La publication susmentionnée de Palikova et al (2010) mentionne la réalisation d'un test des comètes sur lymphocytes périphériques (100 cellules examinées par échantillon) en milieu alcalin ne montrant pas d'incidence accrue de cassures simple et double brins de l'ADN par rapport à celles des valeurs témoins. La publication ne mentionne pas le pourcentage d'ADN mesuré dans la queue des comètes analysés.

## **Flavonoïdes**

### Données cinétiques

La biodisponibilité des polyphénols est très variable selon chaque composé. Les taux plasmatiques sont d'une manière générale assez faibles. Il est rapporté que l'acide gallique et les isoflavones figurent parmi les représentants les mieux absorbés suivi des catéchines, des flavanones et des glucosides de quercétine (Manach et al, 2005).

### Données de toxicité réitérée

Une analyse bibliographique est présentée sur la base d'études réalisées avec des composés à base d'extraits de pépin de raisin (EPR) et d'extraits de peau de raisin (EPER) tous riches en divers polyphénols. Le pétitionnaire souligne le manque général de données de toxicité pour les flavonoïdes très consommés ou utilisés dans le domaine alimentaire et reconnus pour leurs propriétés antioxydantes.

Une étude (Yamakoshi et al, 2002) a été réalisée chez le rat Fisher F344 des 2 sexes qui a reçu par l'aliment pendant 90 jours des doses d'EPR de 0, 13, 129 et 1409 mg/kg/p.c./jour pour les mâles et 0, 15, 154 et 1500 mg/kg p.c./jour pour les femelles. Les divers examens hématologiques n'ont montré aucune différence significative comparée aux témoins. Il est rapporté une baisse de poids des épидидymes et du thymus (femelles) uniquement à 129 mg/kg/p.c./jour ainsi qu'une baisse du rapport estomac/poids corporel chez les femelles exposées à la faible dose. Les examens histologiques qui ont porté sur environ 40 tissus et/ou organes n'ont révélé aucune anomalie particulière. Une NOAEL de 1409 et 1500 mg/kg p.c./jour peut être établie dans cette étude, respectivement, pour les mâles et les femelles.

Une autre étude (Bentivegna et al, 2002) a également été réalisée selon les principes de bonnes pratiques de laboratoire (BPL) avec des extraits de pépins de raisin (GSE) et de peau de raisin (GSKE) chez le rat Sprague-Dawley des 2 sexes recevant pendant 3 mois, par l'aliment, des doses de 0, 430, 860 et 1788 (mâles) et de 0, 540, 1052 et 2167 mg/kg p.c./jour (femelles) pour le GSH ; et de 1778 mg/kg p.c./jour (mâles) et de 2111 mg/kg p.c./jour (femelles) pour le GSKE. Le poids corporel est resté inchangé malgré une tendance à une consommation alimentaire plus élevée à la plus forte dose avec les deux extraits testés. Les examens hématologiques ne montrent pas d'effets notables à l'exception d'une élévation de certains paramètres érythrocytaires et d'une baisse des neutrophiles chez les femelles recevant le GSKE. Au plan biochimique, une élévation de la chlorémie est rapportée chez les mâles recevant la plus forte dose des deux extraits testés. Il est également signalé une baisse du rapport albumine/globuline chez les femelles recevant les deux plus fortes doses de GSE. Le poids du cœur montre une élévation significative chez les femelles exposées au GSKE. L'histologie a porté sur une liste d'environ 40 tissus et organes. Il a été observé des infiltrations lymphocytaires du cortex rénal chez les mâles recevant GSKE, qui d'après l'expérimentateur ne seraient pas liées au traitement. Compte tenu de la moyenne des doses administrées pendant la durée de l'étude, des NOAEL pour le GSE et pour le GSKE d'environ 2150 mg/kg/p.c./jour chez les femelles et d'environ 1780 mg/kg p.c./jour chez les mâles ont été identifiées par les auteurs.

La toxicité des polyphénols a également été testée chez la souris mâle pendant 4 semaines et pendant 6 mois (environ 24 semaines) (Fujii et al, 2007). Un mélange de PAC (aux doses de 0 ; 3,3 ; 26,6 et 200 mg/kg/p.c./jour) et un extrait de pépins de raisin (200 mg/kg p.c./jour) ont été administrés par l'aliment dans l'étude de 4 semaines. Des doses assez voisines ont été utilisées dans l'étude de 6 mois. Aucun effet significatif n'a pu être mis en évidence ni sur le poids corporel, ni sur la consommation, ni sur les marqueurs hépatiques. Aucune détermination hématologique ou histologique n'a été pratiquée.

Un complément de cette étude (Fujii et al, 2008) a été réalisé pendant 90 jours chez le rat Sprague-Dawley des 2 sexes selon les principes de BPL. Les animaux ont reçu par gavage des doses de 0, 100, 300 et 1000 mg/kg/p.c./jour du mélange de PAC susmentionné. Ni le poids corporel, ni la consommation alimentaire n'ont été modifiés. Une coloration des urines jaune orangée a été rapportée chez les animaux exposés à la forte dose. Au plan hématologique, une élévation du temps de thromboplastine est observée chez les mâles

recevant la plus forte dose. Une baisse du pourcentage des réticulocytes est visible chez les femelles recevant la plus forte dose. Au plan biochimique, une baisse de l'urée sanguine est visible chez les mâles et une baisse des protéines totales et des triglycérides chez les femelles à la dose de 1000 mg/kg/p.c./jour. Tous les animaux de la plus forte dose présentent une coloration grise des muqueuses duodénales. Le poids du thymus est diminué uniquement chez les mâles de la dose intermédiaire ainsi que le poids des ovaires à la forte dose. Les examens histologiques ne révèlent pas d'effets sauf la présence de pigments liée à la dose au niveau de la lamina duodénale à partir de la dose de 300 mg/kg/p.c./jour, qui pourrait probablement être constitués de phénols oxydés. Une NOAEL de 1000 mg/kg p.c./jour est proposée par les auteurs.

#### Données de génotoxicité

Dans le cadre de la publication de Yamakoshi et al (2002), des tests de génotoxicité ont été réalisés *in vitro* et *in vivo* sur l'extrait de pépins de raisin (EPR). Des test d'AMES sur *Salmonella thyphimurium* souches TA 98 et TA 100 ainsi que sur les souches TA1535, TA1537 n'ont montré aucune élévation du nombre des revertants avec et sans activation métabolique jusqu'à des doses de 5000 µg/boîte. Une cytotoxicité a contraint de réduire les doses à 1250 µg/boîte pour les 2 premières souches. Il a été également réalisé un test d'aberrations chromosomiques sur cellules CHL avec et sans activation métabolique, avec des résultats négatifs.

Le test du micronoyau *in vivo* sur souris mâle a été réalisé par voie orale aux doses de 1 et 2 g/kg p.c. incluant des témoins négatif et positif (mitomycin C). Aucune différence significative d'élévation du nombre des érythrocytes polychromatiques au niveau des cellules de la moelle osseuse n'a été observée par rapport aux animaux témoins (Yamakoshi et al, 2002).

La publication de Fujii et al (2008) comportait également des études de génotoxicité sur un mélange de PAC. Un test d'AMES a été pratiqué sur les souches TA98, TA100, TA1537 et TA1538 de *Salmonella thyphimurium* ainsi que sur *Escherichia coli*. Après des tests préalables, 6 doses ont été retenues s'échelonnant de 1250 à 156 µg/boîte, limitées par la survenue de précipité, avec et sans activation métabolique. Aucune élévation du nombre de revertants n'a été observée. Un test sur CHL a également été réalisé. Une inhibition de croissance a été observée à partir de 156 µg/ml sans S9 et 625 µg/ml avec S9. Dans les conditions de ce test une élévation dose-dépendante du nombre des chromosomes (aneuploïdie) a été observée mais sans aberrations chromosomiques.

Un test du micronoyau *in vivo* sur souris Cr1 :CD avec des doses administrées par gavage de 500, 1000 et 2000 mg/kg p.c. du même mélange de PAC n'a pas mis en évidence d'élévation du nombre des érythrocytes polychromatiques au niveau des cellules de la moelle osseuse en comparaison d'un témoin positif (mitomycine C) (Fujii et al, 2008).

#### **Acides phénoliques**

Les acides phénoliques sont largement représentés dans l'alimentation essentiellement par l'acide caféique et l'acide chlorogénique (café, certains fruits et légumes), l'apport quotidien pouvant être estimé, selon le pétitionnaire, à environ 1000 mg/jour.

Les informations fournies dans le dossier du pétitionnaire ne précisent pas les concentrations en acides phénoliques du NI. Les informations disponibles à partir de la littérature semblent indiquer des valeurs basses en acides phénoliques pour les extraits de canneberge (inférieures à 0,02%), en comparaison de celles susceptibles d'être présentes dans le café. Bien que le pétitionnaire présente une analyse bibliographique des principales données de toxicité sur les acides phénoliques, le GT « ESPA » estime qu'eu égard aux faibles concentrations dans le NI selon les données de la littérature, cette analyse ne sera pas reprise dans cet avis.

*Concernant l'évaluation toxicologique expérimentale, le GT « ESPA » conclut sur les données de toxicité réitérée :*

- L'étude de Pakilova et al (2010) ne peut être considérée comme une étude réglementaire n'ayant comporté que six animaux par groupe, d'un seul sexe et dont la finalité était seulement d'évaluer le potentiel antioxydant du composé. Cette étude ne revendique pas le statut BPL. Elle n'a comporté que l'administration d'une seule dose de chacun des extraits testés. Les examens histologiques n'ont porté que sur 4 organes, ce qui est insuffisant. Les élévations urinaires d'acide hippurique peuvent être considérées comme une preuve de la bonne absorption de la canneberge par les animaux, ne suggérant pas de risque, car ce métabolite est un constituant normal de l'urine chez l'homme jusqu'à 1,5 g/g créatinine. En raison de ces insuffisances méthodologiques, il n'a pas été possible d'établir une NOAEL à partir de cette étude. Le GT « ESPA » remarque, toutefois, que la dose de 75 mg/kg p.c./jour n'a pas présenté d'effets adverses sur les paramètres limités étudiés dans cette étude.

Le GT « ESPA » remarque qu'il est difficile d'extrapoler directement les résultats des études de Yamakoshi et al, (2002) et de Bentivegna et al, (2002) conduites avec des extraits de pépin de raisin et des extraits de peau de raisin qui ne présentent pas les mêmes liaisons interflaviques que celles de la canneberge. Toutefois, ces études donnent des indications utiles pour l'évaluation du NI.

- L'étude de Yamakoshi et al (2002), conduite selon les principes BPL, est de bonne qualité. Les quelques effets observés ont peu de signification en raison de l'absence d'effet-dose. L'étude a été initiée sur des animaux pré-matures (4 semaines). Aucune mesure chimique n'a été réalisée. Une NOAEL de 1409 et 1500 mg/kg p.c./jour peut être établie dans cette étude, respectivement, pour les mâles et les femelles.
- L'étude de Bentivegna et al (2002) est également de bonne qualité. Les NOAEL proposées pour l'extrait de pépin de raisins GSE et l'extrait de peaux de raisins GSKE de 1780 mg/kg p.c./jour (mâles) et 2150 mg/kg/p.c./jour (femelles) peuvent être acceptées. En revanche, pour le GSKE il ne peut être défini de NOAEL à partir de cette étude en raison des observations cardiaques et rénales. Il est cependant fait état dans cette publication d'une autre étude de même durée sur la même souche de rat n'ayant montré aucune atteinte rénale (Vallet et al, 1994).
- L'étude de Fujii et al (2007) chez la souris est incomplète au plan méthodologique (un seul sexe, absence de données biochimiques et histologiques) réalisée sur une espèce peu étudiée et il est donc difficile d'extraire des conclusions pertinentes.
- L'étude de Fujii et al (2008) chez le rat est de bonne qualité méthodologique. Mise à part la présence de coloration des organes à partir de la dose de 300 mg/kg/p.c./jour, qui pourrait résulter d'une oxydation des phénols, aucun autre effet lié à l'administration de polyphénols n'a été rapporté. Une NOAEL de 1000 mg/kg p.c./jour peut être établie à partir de cette étude.

Sur les données de génotoxicité, le GT « ESPA » estime que malgré certaines insuffisances méthodologiques, les résultats négatifs des tests *in vitro* et *in vivo* permettent de valider l'absence de génotoxicité sur des composants de structure voisine, mais pas totalement identique.

## Données cliniques

Le GT « ESPA » observe que plusieurs études ont été réalisées chez l'homme avec de la canneberge.

L'étude de Nantz (2009) a inclus 54 sujets des deux sexes dans le but de tester l'effet de l'extrait de canneberge (36 mg de PAC/jour pendant 70 jours) sur les fonctions immunitaires sur la base d'observations portant sur la survenue de rhume et grippe. Les effets indésirables rapportés se traduisaient par l'apparition de bouche et doigts rouges, des céphalées, une congestion nasale et des mictions fréquentes.

Un autre essai a porté sur l'impact d'extraits de canneberge sur des biomarqueurs du fonctionnement hépatique (ALT, AST, GGT, albumine, ALP, bilirubine totale), des biomarqueurs du fonctionnement rénal (BUN, créatinine, eGFR), des paramètres chimiques sériques (glucose, électrolytes, calcium, protéines) et des analyses hématologiques (KGG Synergic, 2011). Cet essai a inclus pendant 12 semaines 140 sujets qui ont consommé des boissons à base de canneberge (72 mg de PAC/jour pendant 12 semaines). Aucune différence n'a pu être mise en évidence sur les taux de cholestérol HDL et LDL ni sur les triglycérides. Les marqueurs des fonctions hépatique, rénale et cardiaque n'ont pas présenté de variations particulières. Il n'a pas été rapporté de différences dans la survenue d'effets indésirables entre les groupes placebo et traités.

Une étude réalisée chez la femme ayant des antécédents d'infections chroniques des voies urinaires et recevant 500 mg/j d'un extrait de canneberge pendant 6 mois a montré une bonne tolérance (Mc Murdo et al, 2009). Il en a été de même chez 65 femmes consommant 400 ou 1200 mg de jus de canneberge pendant 8 semaines (Valentova et al, 2007).

Une méta-analyse (Jepson et al, 2008) a porté sur une évaluation globale de 1049 sujets ayant consommé jusqu'à 7500 mg/j d'extrait de canneberge, sous forme de boisson ou de comprimés. Les effets indésirables répertoriés portent sur la survenue de reflux acide, de légères nausées, de troubles gastro-intestinaux.

Le pétitionnaire discute également l'interaction possible de la canneberge avec la warfarine. Paeng et al (2007) ont montré une élévation du rapport normalisé international (INR) prenant en compte le temps de Quick lorsque la warfarine est associée à la prise de canneberge. Lilja et al (2007) mettent en évidence une potentialisation de l'effet anticoagulant de la warfarine sur la base du taux de prothrombine. Chez le volontaire sain, il ne semble pas y avoir d'inhibition des CYP 2C9, 1A2 et 3A4. Pham et al (2007) soulignent que l'inhibition du CYP3A n'est pas prouvée avec la cyclosporine ni celle du CYP2C9 avec le flurbiprofène mais constate des courbes plasmatiques différentes avec le fluconazole (CYP 2C9) et le jus de canneberge. Il préconise par précaution une mise garde de cette association.

Dans l'étude de Fujii et al (2007), 30 volontaires recevaient soit 200 mg/jour de polyphénols de pépins de raisin soit 100 mg ou 200 mg/jour d'un mélange de PAC pendant 92 jours. Sur la base de contrôles sanguins et urinaires, aucune différence significative n'a été observée par rapport au jour 0.

Sur la base de plusieurs études cliniques, des effets indésirables sont listés après consommation de différents flavonoïdes. Des effets antinutritionnels au niveau intestinal représentés par une moindre absorption du glucose ou de minéraux sont rapportés pour des doses élevées. Une possible carence en fer est souvent évoquée ainsi qu'une interférence avec la biosynthèse de l'hormone thyroïdienne (Erdman et al, 2007 ; Ferreira et al, 2002).

*Le CES « Nutrition humaine » rappelle l'existence de plusieurs revues de la littérature (Halliwell, 2007 ; Dai & Mumper, 2010 ; Hooper & Frazier, 2012) faisant état de l'effet pro-oxydant des polyphénols, flavonoïdes et PAC à doses élevées, soit dans des situations de pression élevée d'O<sub>2</sub> (dans le cas notamment du β-carotène), soit par l'intermédiaire des métaux de transition (Fe, Cu) par la réaction de Fenton. Par ailleurs, la littérature évoque des risques liés à l'effet inhibiteur des composés phénoliques sur le métabolisme de certains médicaments, par exemple la warfarine (Pham & Pham, 2007 ; Hooper & Frazier, 2012 ; Mohammed Abdoul et al, 2008). Cependant, dans le cas de la warfarine, une relation dose-effet n'a pas été montrée et certaines données ne confirment pas l'existence d'une interaction avec les composés phénoliques (Zikria et al, 2010).*

*De la lecture de la littérature, il apparaît clairement que la consommation de polyphénols à des doses supérieures à l'apport alimentaire habituel devrait être assortie d'une grande prudence, tant que les risques liés n'ont pas été mieux caractérisés (Halliwell, 2007 ; Dai & Mumper, 2010 ; Hooper & Frazier, 2012).*

*Le GT « ESPA » note que pour affirmer l'innocuité clinique du NI, le dossier original du pétitionnaire s'appuyait sur diverses études réalisées avec d'autres extraits de*

canneberge ou des produits à base de canneberge (jus, nectars, sirops). Dans son courrier du 21 novembre 2012 le pétitionnaire a inclus 3 nouvelles études cliniques, non publiées, réalisées avec le NI chez l'adulte, pendant 3 mois au maximum. Dans ces études, il n'est fait mention d'aucun événement indésirable, à l'exception de quelques troubles gastro-intestinaux, et des effets bénéfiques très modestes sur les marqueurs de risque cardio-vasculaires. Les effets sur la réponse immunitaire sont mentionnés comme également bénéfiques. Cependant la prolifération des lymphocytes  $\gamma\delta$ -T ainsi que l'augmentation du malondialdéhyde (MDA) dans une des études réalisées avec le NI chez l'adulte amènent à proposer l'éventualité d'effets pro-oxydants des flavonoïdes dans le cadre de ces études.

Les trois nouvelles études cliniques portant sur le NI sont des études menées chez des sujets adultes (des deux sexes) sains ou à risques cardiovasculaires, en parallèle en double aveugle et pour des durées allant jusqu'à 12 semaines et des doses de 36 à 72 mg PAC/jour (administrées sous forme de liquide en flacons de 450 ml en une ou deux fois par jour). Le pétitionnaire considère que le « poids des preuves » est suffisant pour conclure à l'absence de risque sanitaire lié à la consommation de l'extrait de canneberge et qu'il n'était donc pas nécessaire de réaliser les études expérimentales demandées.

Le GT « ESPA » observe que les études cliniques consistent en fait pour la plupart en un suivi pendant la durée de l'étude, de quelques paramètres physiologiques généraux sur les populations étudiées. Ces études apportent des informations sur les effets éventuels de la consommation du NI sur les infections urinaires et par conséquent, il s'agirait plutôt d'études de tolérance. Dans l'étude d'Uberos et al (2012), les seules données fournies sur les effets biologiques résultant de la consommation de l'extrait pendant un an chez les enfants, ont été obtenues après contact téléphonique auprès des parents sur l'état de santé général des enfants. Dans l'étude de Nantz et al (2011) aucun paramètre biologique clinique (hématologique, urinaire) n'a été suivi.

En revanche, dans deux autres études confidentielles (unpublished report ; KGK Synergize) les paramètres hématologiques et urinaires classiquement suivis pour ces études n'ont montré aucune variation entre les individus adultes recevant l'extrait de canneberge et ceux recevant le placebo.

Une autre publication communiquée n'a pas été considérée par le GT « ESPA » dans cet avis, s'agissant d'un résumé présenté à un congrès qui ne contient que très peu de détails expérimentaux utiles (Juturu et al, 2011).

Le GT « ESPA » constate que le pétitionnaire reconnaît que peu d'études ont été réalisées pour examiner les paramètres de sécurité liés à la consommation d'extraits de canneberge. Peu de détails sont communiqués sur les études cliniques, par exemple, la quantité consommée est rarement indiquée ce qui rend difficile leur interprétation. Néanmoins, il semble résulter de ces études que les extraits de canneberge n'ont pas d'impact notable sur l'organisme ni sur les principales fonctions vitales ni sur les lipides sanguins. D'une manière générale, selon le pétitionnaire une bonne tolérance est observée pour les différentes doses testées apportant 36 mg et 72 mg de PAC par jour.

Le GT « ESPA » remarque que l'aspect « interaction avec d'autres substances » n'est sans doute pas suffisamment étudié et c'est peut-être la raison de certaines mises en garde rapportées en cas de prise concomitante de dérivés de la warfarine.

### 1.9. Conclusions du CES « Nutrition humaine » et du GT « ESPA »

Concernant les spécifications du NI, le CES « Nutrition humaine » et le GT « ESPA » estiment que la fraction polyphénolique du NI est bien décrite qualitativement.

Concernant le procédé de fabrication, le CES « Nutrition humaine » estime que le NI est obtenu selon un procédé conforme aux bonnes pratiques de fabrication. Il regrette cependant l'absence d'information sur les étapes de fabrication à partir de la plante fraîche, ingrédient de départ de l'élaboration du jus concentré. Le GT « ESPA » regrette que le pétitionnaire ne décrive pas dans les spécifications du NI la composition en différentes classes de polyphénols. Seule la quantité en polyphénols totaux et en PAC est spécifiée.

Le CES « Nutrition humaine » note par ailleurs qu'il manque une évaluation de la teneur en PAC du concentré de jus canneberge utilisé comme source du NI pour permettre d'apprécier l'effet du procédé de production sur sa composition, comparativement à la matière première pour laquelle il existe un antécédent de consommation.

Concernant l'exposition anticipée au NI, les données fournies par le pétitionnaire montrent une exposition élevée des enfants de moins de 3 ans.

Le CES « Nutrition humaine » estime que les apports de polyphénols des enfants (par la consommation du NI qui s'ajoutent à ceux provenant de l'alimentation courante) atteindraient des niveaux élevés susceptibles d'avoir des effets négatifs sur la santé par des mécanismes déjà identifiés.

**Sur la base des données nutritionnelles transmises par le pétitionnaire, le CES « Nutrition humaine » estime, qu'avant de statuer sur la sécurité d'emploi du NI, le pétitionnaire doit :**

- **apporter des précisions sur le mode de culture de la plante et le procédé de préparation du jus utilisé pour la préparation des extraits ;**
- **détailler la composition en polyphénols et acides phénoliques du NI et la comparer aux apports moyens journaliers de ces différents composés organiques, notamment chez les jeunes enfants;**
- **présenter des données supplémentaires concernant la consommation de polyphénols à des doses supérieures à l'apport alimentaire habituel permettant de s'assurer de l'absence d'effets néfastes.**

**Le GT « ESPA » observe, sur la partie toxicologique du dossier, que le pétitionnaire n'a pas réalisé d'études toxicologiques spécifiques sur le NI. Le pétitionnaire a réuni une large bibliographie sur les différents constituants du NI ou sur des composants de structure voisine, mais pas totalement identiques.**

**Les données toxicologiques bibliographiques présentes dans le dossier de demande, conduites avec d'autres extraits de canneberge ou ses principaux constituants, ne montrent pas d'effets toxiques adverses associés à la consommation d'extraits ou de constituants de la canneberge dans les conditions expérimentales pratiquées.**

**L'étude de Palikova et al (2010) apporte des informations utiles sur la sécurité d'emploi d'autres extraits de canneberge présentant une composition semblable à celle du NI, selon les explications du pétitionnaire. Cette étude ne montre pas d'effets adverses chez le rat à la dose de 75 mg/kg p.c./jour, mais en raison des faiblesses méthodologiques il n'a pas été possible d'identifier une NOAEL dans cette étude.**

**L'ensemble des données de génotoxicité portant sur les proanthocyanidines et les flavonoïdes, les principaux constituants du NI ou sur des composants de structure voisine, mais pas totalement identique permettent de valider l'absence d'effets génotoxiques.**

**En termes de composition chimique (voir section dans cet avis 1.1 Spécifications du NI), les explications fournies par le pétitionnaire dans son courrier du 21 novembre 2012 montrant une similarité chimique entre les niveaux de PAC présents dans la canneberge et celle d'autres extraits de canneberge, sont recevables pour le GT « ESPA ». D'un point de vue qualitatif, le pétitionnaire montre que la distribution en monomères, dimères et oligomères du NI est semblable à celle du jus de canneberge. Ces résultats supportent l'utilisation des données issues d'autres extraits de canneberge (Palikova et al, 2010) pour évaluer le risque sanitaire du NI.**

Concernant les nouvelles études cliniques conduites avec le NI, les quelques effets adverses rapportés dans les études humaines sont surtout de type digestifs et apparemment associés à des consommations élevées de canneberge sur le long terme. Pour la grande majorité des effets considérés, aucun changement n'apparaissait entre les groupes témoins et ceux recevant la canneberge.

Le GT « ESPA » remarque que les calculs d'exposition du NI ont bien été refaits en utilisant les données de consommation de la Comprehensive European Food Consumption Database. Sur la base des usages envisagés, ces calculs d'exposition montrent une exposition théorique aux PAC et aux polyphénols inférieure à celle provenant de l'alimentation courante. En outre, le GT « ESPA » remarque que le calcul d'exposition au NI pour le 95<sup>ème</sup> percentile de la population des enfants de 1 à 3 ans (d'environ 13 – 48 mg/kg p.c./jour) est inférieure à la dose de 75 mg/kg p.c./jour n'ayant pas occasionné d'effets adverses dans l'étude chez le rat conduite avec trois extraits différents de canneberge.

Le GT « ESPA » rejoint la conclusion du CES « NUT » concernant la nécessité de considérer les apports de polyphénols des enfants (par la consommation du NI qui s'ajoute à ceux provenant de l'alimentation courante) susceptibles d'atteindre des niveaux élevés.

Le GT « ESPA » rappelle qu'une évaluation menée par l'ANSES en 2011 (Avis du 18 mars 2011- saisine 2010-SA-0214) concluait que « *concernant la sécurité d'emploi de la canneberge, dans l'état actuel des connaissances, sa consommation ne présente pas de risque pour la population générale* » (Anses, 2011).

Ainsi, compte tenu de tous les éléments précédents y inclus les NOAEL identifiées dans les études conduites avec les différents constituants de la canneberge et l'absence de potentiel de génotoxicité des ces constituants ou des composants de structure voisine, mais pas totalement identique, le GT « ESPA » estime que du point de vue toxicologique, il n'y a pas de risque sanitaire lié à la consommation du NI, chez l'adulte, aux doses d'utilisation envisagées. Le GT « ESPA » rappelle toutefois la conclusion de l'avis de l'Anses du 18 mars 2011 qui précisé que : « *des effets de type troubles digestifs peuvent être observés pour des consommations élevées et/ou sur de longues périodes. Compte-tenu des données indiquant une augmentation de l'élimination urinaire d'oxalates de calcium, la consommation de canneberge chez les individus sujets aux lithiases rénales oxaliques est déconseillée* ».



#### 4. CONCLUSION DE L'AGENCE

***Concernant les spécifications du NI et les données de production du NI***

L'Anses estime que le NI est bien décrit qualitativement, ainsi que son mode de fabrication à partir du jus de canneberge.

L'Anses considère que ces données devraient être complétées par les étapes de fabrication à partir de la plante fraîche, ainsi que la composition du NI en différentes classes de polyphénols.

***Concernant les informations d'ordre toxicologique***

Compte tenu des éléments disponibles dans la littérature, l'Anses estime que du point de vue toxicologique, le risque sanitaire lié à la consommation du NI aux doses d'utilisation peut être écarté.

***Concernant les informations d'ordre nutritionnel***

L'Anses estime que, compte-tenu :

- de l'exposition élevée des enfants de moins de 3 ans au NI ;
- de l'absence de données exactes sur la composition en polyphénols et acides phénoliques du NI ;
- de l'absence de données sur les effets d'apports de polyphénols à des doses supérieures à l'apport alimentaire habituel ;

les données fournies par le pétitionnaire sont insuffisantes pour s'assurer de l'absence de risque nutritionnel chez les enfants.

Par ailleurs, l'Anses rappelle que les données bibliographiques disponibles à ce jour ne mettent pas en évidence un intérêt nutritionnel à enrichir l'alimentation en PAC. Elle rappelle également ses précédentes conclusions relatives aux troubles digestifs qui pourraient être observés pour des consommations élevées de canneberge et/ou sur de longues périodes.

Le directeur général

Marc Mortureux

## **MOTS-CLES**

Nouvel ingrédient ; canneberge ; extrait ; proanthocyanidine ; polyphénols

## **BIBLIOGRAPHIE**

Anses (2011) Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des effets potentiels de la canneberge dans le champ des infections urinaires communautaires. 18 mars 2011.

Beecher GR (2003) Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J Nutr* 133(10):3248S-3254S

Bentivegna SS & Whitney KM (2002) Subchronic 3-month oral toxicity study of grape seed and grape skin extracts. *Food Chem Toxicol* 40 (12), 1731-1743

Bruneton, J. 2009. Pharmacognosie. Phytochimie Plantes médicinales, 4ème édition. Tec et Doc, 1269 pp.

Dai J, Mumper RJ (2010) Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules* 15, 7313-7352

Erdman JW, Balentine D, Arab L, Beecher G, Dwyer JT, Folts J, Harnly J, Hollman P, Keen CL, Mazza G, Messina M, Scalbert A, Vita J, Williamson G, Burrowes J (2007) Flavonoids and heart health: proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, May 31-June 1, 2005, Washington, DC. *J Nutr.* 137(3 Suppl 1):718S-737S

Fujii H, Nishioka H, Wakame K, Magnuson BA, Roberts A. (2008) Acute, subchronic and genotoxicity studies conducted with Oligonol, an oligomerized polyphenol formulated from lychee and green tea extracts. *Food Chem Toxicol* 46(12), 3553-3562

Fujii H, Sun B, Nishioka H, Hirose A, Aruoma OI (2007) Evaluation of the safety and toxicity of the oligomerized polyphenol Oligonol. *Food Chem Toxicol* 45, 378-387

Gu L, Hammerstone JF, Beecher G, Holden J, Haytowitz, Gebhardt S, Prior RL (2004) Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimation of normal consumption. *The journal of Nutrition* 134, 613-617

Halliwel B (2007) Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health? *Cardiovasc Res* 73, 341-7

Hooper B & Frazier R (2012) Polyphenols in the diet: friend or foe? *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin* 37, 297-308

Jepson RG, Mihaljevic L, Craig JC (2008) Cranberries for treating urinary tract infections (Review). *Cochrane Database of Systematic Review*, Issue 4, Art. No.: CD001322. DOI: 10.1002/14651858.CD001322

Jepson RG, Williams G, Craig JC (2012) Cranberries for preventing urinary tract infections (Review). *Cochrane Database Syst Rev.* 10:CD001321. doi: 10.1002/14651858.CD001321

Juturu V, Wilson D, Evans M, Kasper K, Roderick R, Khoo C (2011) Effect of daily cranberry beverage consumption on oxidative stress in moderately hypercholesterolemic overweight/obese adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. 52nd Annual Meeting of the American College of Nutrition "Emergence of Nutrition as Core Medicine" November 16-19

Kalt W, MacKinnon S, McDonald J, Vinqvist M, Craft C, Howell A (2008) Phenolics of Vaccinium berries and other fruit crops. *J Sci Food Agric* 88 : 68-76

KGK Synergize Inc. (2011) Effect of a cranberry beverage on cardiovascular risk factors in moderately hypercholesterolemic overweight/obese adults: a randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial. (Confidential final report)

Lija JJ, Backman JT, Neuvonen PJ (2007) Effects of daily ingestion of cranberry juice on the pharmacokinetics of warfarin, tizanidine, and midazolam – Probes of CYP2C9, CYP1A2, and CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther* 81, 833-839

- Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C (2005) Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* 81, 230S-42S
- McMurdo ME, Argo I, Phillips G, Daly F, Davey P (2009) Cranberry or trimethoprim for the prevention of recurrent urinary tract infections? A randomized controlled trial in older women. *J Antimicrob Chemoth* 63, 389-395
- Mohammed Abdul MI, Jiang X, Williams KM, Day RO, Roufogalis BD, Liauw WS, Xu H, McLachlan AJ (2008) Pharmacodynamic interaction of warfarin with cranberry but not with garlic in healthy subjects. *Br J Pharmacol* 154(8),1691-700
- Nantz MP, Rowe CA, Muller CE, Creasy R, Colee J, Khoo C, Percival SS (2011) Consumption of cranberry polyphenols enhances human  $\gamma$ -Tcell proliferation and reduces severity of cold and influenza. University of Florida, Department of Food Science & Human Nutrition, Gainesville, FL / Ocean Spray Cranberries, Inc., Lakeville, MA (Confidential draft manuscript).
- Neto CC (2007) Cranberry and phytochemicals: a review of in vitro anticancer studies. *The Journal of Nutrition* 137, 186S-193S
- Núñez V, Gomez-Cordovés C, Bartolomé B, Hong YJ Mitchell AE (2006) Non-galloylated and galloylated proanthocyanidin oligomers in grape seeds from *Vitis vinifera* L. Cv. graciano, tempranillo and cabernet sauvignon. *J Sci Food Agric* 86:915-921
- Paeng CH, Sprague M, Jackevicius CA (2007) Interaction between warfarin and cranberry juice. *Clin Ther* 29,1730-1735
- Palikova I, Vostalova J, Svobodova A, Kosina P, Vecera R, Stejskal D, Proskova J, Hrbac J, Bednar P, Maier V, Cernochova D, Simanek V, Ulrichova J (2010) Long-term effects of three commercial cranberry products on the antioxidative status in rats : a pilot study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 1672-1678
- Pham DQ & Pham AQ (2007) Potential interaction between Cranberry juice and warfarin. *Amer. J. Health Systems-Pharmacy* 14, 484-94
- Prior RL, Fan E, Ji H, Nio C, Payne MJ, Reed J (2010) Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying proanthocyanidins in cranberry powders. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90, 1473-1478
- Prior RL, Gu I (2005) Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. *Phytochemistry* 66, 2264-2280
- Scalbert A & Williamson G (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition* 130 : 2073S-2085S
- Uberos J, Nogueras-Ocana M, Fernandez-Puentes V, Rodriguez-Belmonte R, Narbona-López E, Molina-Carballo A, Munoz-Hoyos A (2012) Cranberry syrup vs trimethoprim in the prophylaxis of recurrent urinary tract infections among children: a controlled trial. *Journal of Clinical Trials* 4: 31-38.
- Unpublished report. The influence of cranberry beverage on systemic immune functions, urinary and systematic biomarkers of health and fecal characteristics of human subjects during a 10 week administration (project report).
- Vallet J, Rouanet JM, Besancon P (1994) Dietary grape seed tannins effects on nutritional balance and on some enzymic activities along the crypt-villus axis of rat small intestine. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 38:75-84
- Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL (2006) Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *J Agric Food Chem* 31;54(11):4069-75.
- Yamakoshi J, Saito M, Kataoka S, Kikuchi M (2002) Safety evaluation of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Food Chem Toxicol* 40, 599-607
- Zikria J, Goldman R, Ansell J (2010) Cranberry juice and warfarin: when bad publicity trumps science. *Am J Med.* 123, 384-92.