

Maisons-Alfort, le 28 mai 2004

## AVIS

### de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'emploi d'un édulcorant néotame comme additif alimentaire

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 29 décembre 1999, par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes, d'une demande d'avis relatif à l'emploi d'un édulcorant néotame comme additif alimentaire.

L'évaluation de ce dossier avait donné lieu, le 8 juillet 2002, à une demande d'informations complémentaires portant sur des aspects technologiques et chimiques, pharmacocinétiques, du métabolisme et toxicologiques. Des compléments d'information ont été envoyés à l'Afssa, par courrier daté du 28 juillet 2003.

Sur la base des éléments de réponse apportés par le pétitionnaire au dossier initial et après consultation du Comité d'experts spécialisé « Additifs, arômes et auxiliaires technologiques » (CES AAAT), réuni le 2 mars 2004, l'Afssa émet l'avis suivant.

#### Sur les aspects technologiques

Considérant que le néotame est un ester monométhyle du N-(3,3-diméthylbutyl)-L-aspartyl-L-phénylalanine synthétisé en une étape par une réaction d'alkylation réductrice en présence de 3,3-diméthyl-butaraldéhyde ;

Considérant que le pouvoir sucrant du néotame est 7 000 à 13 000 fois supérieur à celui du saccharose ;

Considérant que le néotame présente un goût sucré persistant retrouvé pour tous les édulcorants intenses autorisés ;

Considérant que le pétitionnaire souhaite utiliser le néotame, entre autres, pour les applications suivantes : boissons non alcoolisées gazeuses ou non gazeuses, boissons à base de concentrés, préparations pour boissons (instantanées pré-sucrées, à base de cacao, ou à base de café), boissons lactées, boissons alcoolisées, desserts non-lactés, flans, crèmes glacées, sorbets et leurs préparations ainsi que d'autres préparations pour desserts, nappages, préparations pour nappages, fourrages et préparations pour fourrages, yaourts, desserts lactés, produits de confiserie tels que bonbons durs ou mous, confiseries de chocolat, chewing-gum, produits d'hygiène dentaire, pâtes à tartiner et autres préparations à base de fruits, assaisonnements, condiments, céréales, produits de cuisson des céréales et préparations pour gâteaux, et comme édulcorant de table ;

#### Sur les aspects chimiques

Considérant que le néotame dans certaines conditions auxquelles il est soumis pendant les traitements technologiques, notamment de pH et de température, génère des produits de dégradation ;

Considérant que le pétitionnaire fournit pour les aliments une méthode de dosage validée par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) avec des limites de quantification de 80

µg/ml pour le néotame et de 2 µg/ml pour son principal métabolite le L-phénylalanine, N-[N-(3,3-diméthylbutyl)-L-α-aspartyl] (NC-00751) ;

Considérant que la perte de masse de 4 % durant les 15 premières minutes de chauffage à 60 °C provient, selon le pétitionnaire, de l'évaporation d'eau retenue dans la maille cristalline du néotame ;

Considérant que la stabilité du néotame dans le chewing-gum sera assurée, selon le pétitionnaire, par une encapsulation de la molécule au sein du chewing-gum ;

Considérant que le néotame présente une stabilité proche de 80 % après 23 semaines de stockage dans un mélange contenant 40 % d'éthanol ;

### **Sur les aspects pharmacocinétiques et du métabolisme**

Considérant que le néotame contient de la phénylalanine, qui bien que retrouvée en très faible quantité dans les produits finis, nécessiterait vis-à-vis des personnes souffrant de phénylcétonurie une mention d'étiquetage « contient de la phénylalanine » informant le consommateur ;

Considérant que les études pharmacocinétiques menées chez la souris, le lapin et, plus particulièrement, le rat et le chien montrent que le néotame est rapidement métabolisé ;

Considérant que les études menées chez le rat montrent que 20 % de la radioactivité du néotame marqué, administré par voie orale, sont absorbés rapidement et retrouvés sous forme de métabolites ;

Considérant qu'à des doses inférieures à 300 mg/kg poids corporel (p.c.)/jour le néotame n'est pas détecté dans le sang, et que des administrations répétées chez le rat ne conduisent pas à son accumulation ni à celle de son principale métabolite le NC-00751 ;

Considérant que le principal métabolite du néotame est rapidement éliminé avec un temps de demi-vie selon l'espèce et le sexe entre 20 et 40 minutes et que chez le chien le temps de demi-vie du NC-00751 est de 2 heures ;

Considérant que le néotame et son principal métabolite sont fortement liés aux protéines plasmatiques (> 90 %) en particulier à l'albumine (80 %) ; qu'après administration par voie orale chez le rat, le néotame et son principal métabolite sont retrouvés essentiellement dans le tractus gastro-intestinal, le foie et les reins ;

Considérant que la principale voie d'élimination du néotame et de son principal métabolite après administration orale chez le rat est les fèces (90 %) ;

Considérant que chez l'homme, des études réalisées en administrant par voie orale du néotame à des doses uniques ou répétées sur une journée pendant 14 jours ou 13 semaines ont montré que le néotame est rapidement absorbé et métabolisé en son principal métabolite (NC-00751) ;

Considérant qu'un métabolite spécifique à l'homme, l'acyl-ester carnitine (NC-00784), a été détecté dans l'urine dans des proportions comprises entre 0,5 et 3,4 % de la dose initiale de néotame administrée ;

Considérant toutefois qu'aucun effet inducteur sur les enzymes hépatiques n'a été montré pour ce métabolite conjugué et que selon le pétitionnaire il est constitué du métabolite acide N-(3,3-diméthylbutyl)-L- aspartique (NC-00754) identifié chez le rat et le chien, conjugué à la carnitine chez l'homme ;

Considérant que la capacité du néotame ou de ses produits de dégradation, de franchir la barrière hémato-encéphalique n'est pas documentée, mais qu'aucun effet neurotoxique n'a été constaté lors des études toxicologiques chez l'animal ;

Considérant que la présence de néotame ou de ses métabolites dans le lait maternel n'est pas documentée mais qu'aucun effet indésirable n'a été observé lors des études de lactation chez l'animal ;

### **Sur les aspects toxicologiques du néotame et de ses métabolites**

#### **GENOTOXICITE :**

Considérant que des études de toxicologie génétique avec le néotame conduites, *in vitro* (test d'Ames, test de lymphome de souris et test d'aberrations chromosomiques sur des cellules ovariennes d'hamster chinois) et *in vivo* (test du micronoyau chez la souris), ont montré l'absence d'effet génotoxique du néotame et de ses principaux métabolites ;

#### **TOXICITE SUB-CHRONIQUE :**

Considérant que les études de toxicité sub-chronique de 13 semaines chez la souris et le rat ont montré une diminution du gain de poids corporel aux fortes doses, 4 000 mg/kg p.c./jour chez la souris et 1 000 mg/kg p.c./jour chez le rat ;

Considérant que les mêmes études chez le rat ont montré une augmentation statistiquement significative et dose dépendante de l'activité des phosphatases alcalines plasmatiques à partir de 1 000 mg/kg p.c./jour ;

Considérant que lors des études réalisées chez le chien, il a été observé une augmentation statistiquement significative et dose dépendante de l'activité des phosphatases alcalines plasmatiques chez les femelles à partir de 200 mg/kg p.c./jour à 13 semaines pour l'étude de 13 semaines, et à 26 et 52 semaines pour l'étude d'un an, sans que d'autres signes d'atteinte hépatique ne soient identifiés ;

Considérant que l'augmentation de l'activité des phosphatases alcalines plasmatiques chez le chien concerne uniquement les enzymes d'origine hépatique, et que cet effet pourrait être indicateur du développement d'une cholestase ;

Considérant que l'augmentation de l'activité des phosphatases alcalines plasmatiques était réversible dans les études réalisées chez le chien ;

Considérant toutefois que la réversibilité de cet effet ne peut pas être prise en compte dans un scénario d'exposition durant la vie entière ;

Considérant donc que sur la base de l'augmentation de l'activité des phosphatases alcalines plasmatiques la dose sans effet observé (DSEO) pour ces deux études est de 60 mg/kg p.c./jour ;

#### **TOXICITE CHRONIQUE ET CANCEROGENESE :**

Considérant que les études de toxicité chronique et de cancérogenèse, menées chez le rat et chez la souris ont montré l'absence d'effet cancérigène du néotame jusqu'aux doses maximales testées, 4 000 mg/kg de p.c./jour chez la souris et 1 000 mg/kg p.c./jour chez le rat ;

Considérant que ces mêmes études ont montré une diminution du gain de poids chez le rat femelle à partir de 100 mg/kg p.c./jour dans l'étude de 52 semaines et à partir de 50 mg/kg p.c./jour dans l'étude de 104 semaines chez les rats femelles et mâles ;

Considérant que ces mêmes études ont montré une diminution du gain de poids chez la souris à partir de 400 mg/kg p.c./jour dans l'étude de 104 semaines ;

#### **TOXICITE SUR LA REPRODUCTION ET TERATOGENESE :**

Considérant qu'une étude de reproduction sur deux générations chez le rat a montré l'absence d'effet du néotame et de son métabolite principal sur les paramètres de la reproduction retenus jusqu'à la dose maximale de néotame testée (1 000 mg/kg p.c./jour) ;

Considérant que l'étude de tératogenèse chez le rat a montré l'absence d'effet tératogène du néotame et de son métabolite principal jusqu'à la dose maximale de néotame testée (1 000 mg/kg p.c./jour) ;

Considérant que l'étude de tératogenèse chez le lapin ayant reçu du néotame par gavage n'a pas permis de mettre en évidence de potentiel tératogène du néotame jusqu'à des doses de 500 mg/kg p.c./jour ;

Considérant que dans l'étude précédente chez le lapin, aux doses de 150 et 500 mg/kg p.c./jour une embryotoxicité non spécifique liée à une perte de poids maternel, due à une diminution de la consommation alimentaire, a été identifiée ;

#### **EFFETS DE PALATABILITE :**

Considérant que le pétitionnaire attribue la baisse de la consommation alimentaire et la réduction de gain de poids observées chez les espèces de laboratoire testées à un effet de « palatabilité » provoqué par le néotame sans rapport avec les doses administrées, et que pour soutenir cette affirmation le pétitionnaire fait mention des analyses de deux publications scientifiques récentes<sup>1</sup> ;

Considérant toutefois qu'après examen du dossier initial, le CES AAAT avait demandé au pétitionnaire de réaliser des expérimentations complémentaires pour confirmer ou infirmer l'explication fournie concernant les réductions des prises alimentaires du rat, de la souris, du chien, et du lapin, par un effet sensoriel de « palatabilité » de l'aliment :

- études de gavage chez le rat à des doses variées durant 4 semaines, suivies d'études de réversibilité accompagnées d'études de la microstructure des repas sur 24 heures, avant, pendant, et immédiatement après la période de gavage ;
- étude sur la perception du goût du néotame comparativement au saccharose et à la saccharine ;
- étude de la microstructure des repas par enregistrement de 24 heures, en fonction des doses, précisant les délais entre les prises alimentaires, la taille et le nombre de prises durant les périodes diurne et nocturne ;
- études comportementales approfondies qui permettraient de vérifier la pérennité ou la réversibilité des troubles comportementaux, dans l'hypothèse où un effet central serait confirmé ;
- études de neurobiochimie recherchant le contenu de différents noyaux en divers neuropeptides et neuromodulateurs ;

Considérant que le pétitionnaire n'a pas présenté de résultats sur ces études et qu'en conséquence, le CES AAAT ne dispose pas à ce jour d'éléments pour infirmer ou confirmer l'affirmation du pétitionnaire ;

#### **Sur les aspects toxicologiques des produits de dégradation du néotame**

Considérant que des études de génotoxicité conduites avec les principaux produits de dégradation du néotame n'ont pas montré d'effets génotoxiques *in vitro* et *in vivo* ;

Considérant que des études de toxicité après administration unique par gavage d'un mélange des produits de dégradation du néotame conduites chez le rat n'ont pas montré d'effet toxique aux doses maximales testées, qui restent faibles : 6 mg/kg p.c./jour pour l'ester N-[N-(3,3-diméthylbutyl)-L-β-aspartyl]-L-phenylalanine 1-méthyle (NC-00764) ; 6 mg/kg p.c./jour pour l'ester N-[N-(3,3-diméthylbutyl)-L-aspartamidyl]-L-phenylalanine 1-méthyl (NC-00767) et 3 mg/kg p.c./jour pour le N-[N-(3,3-diméthylbutyl)-L-aspartamidyl]-L-phenylalanine (NC-00779) ;

<sup>1</sup> Flamm W.G., Blackburn G.L., Corner C.P., Mayhew D.A., Stargel W.W. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2003, **38**,144-156 et Mayhew DA, Comer CP, Stargel WW. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2003, **38**,124-143.

Considérant l'absence d'études toxicologiques spécifiques pour deux produits de dégradation, l'acide N-(3,3-diméthylbutyl)-L-aspartique (NC-00754) et le N-[N-(3,3-diméthylbutyl)-L-β-aspartyl]-L-phenylalanine (NC-00769), retrouvés après 26 semaines de stockage de boissons contenant du néotame ; mais considérant toutefois que ce sont des métabolites connus chez l'homme et l'animal qui apparaissent par hydrolyse du néotame et destéréification du métabolite NC-00764 ;

Considérant en conséquence qu'il est acceptable d'estimer que la toxicité de ces produits de dégradation a été testée dans les études réalisées avec le néotame et avec le métabolite NC-00764 ;

Considérant en outre que les produits de dégradation, NC-00754 et NC-00769, se trouvent à des concentrations inférieures à 1 µg/L de boisson et que selon les estimations du pétitionnaire l'exposition à ces produits des consommateurs au 90<sup>ème</sup> percentile serait inférieure à 0,25 µg/kg p.c./jour,

L'Afssa retient comme effet toxique pertinent pour fixer une dose journalière admissible (DJA) pour le néotame, l'augmentation de l'activité des phosphatases alcalines plasmatiques détectée dans les deux études de 13 et 52 semaines chez le chien, en appliquant un facteur de sécurité de 100 à la DSEO de 60 mg/kg p.c./jour identifiée dans ces études.

Cependant, l'Afssa considérant que des études complémentaires pourraient infirmer l'atteinte hépatique suspectée en raison de l'augmentation de l'activité des phosphatases alcalines plasmatiques, propose de fixer une DJA provisoire pour deux ans en attente d'études complémentaires que le pétitionnaire est encouragé à fournir.

L'Afssa propose en conséquence une DJA provisoire de 0,6 mg/kg de poids corporel (p.c.) pour le néotame<sup>2</sup>.

En outre, les calculs de l'exposition théorique au néotame, réalisés par l'Observatoire des consommations alimentaires de l'Afssa, qui prévoient une consommation maximale chez l'adulte toutes sources confondues entre 0,1 et 0,2 mg/kg p.c./jour, et chez l'enfant diabétique de 0,25 mg/kg p.c./jour au 97,5<sup>ème</sup> percentile, sont, dans tous les cas, inférieurs à la DJA provisoire du néotame de 0,6 mg/kg p.c. établie par l'Afssa.

En conséquence, l'Afssa estime que l'utilisation du néotame dans les applications et aux concentrations proposées par le pétitionnaire ne fait pas courir de risque sanitaire au consommateur.

**Martin HIRSCH**

<sup>2</sup> Le Comité Mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires, réuni le mois de juin 2003, a proposé une DJA de 0 à 2 mg/kg p.c. pour le néotame. (Summary and conclusions. JECFA Sixty-first meeting. Rome, 10-19 June 2003).