



Maisons-Alfort, le 2 septembre 2008

AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
relatif à l'évaluation du rapport d'évaluation initial établi par les autorités
belges concernant la mise sur le marché d'un nouvel ingrédient alimentaire : la
lactoferrine bovine, dans le cadre du règlement 258/97/CE**

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Par courrier en date du 18 juillet 2008, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 21 juillet 2008 par la Direction générale de la consommation, de la concurrence et de la répression des fraudes (Dgccrf) d'une demande d'évaluation du rapport initial établi par les autorités belges sur une demande d'autorisation de mise sur le marché d'un nouvel aliment (NA), la lactoferrine bovine, dans le cadre du règlement CE 258/97.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Nutrition humaine » par correspondance, le 27 août 2008, l'Afssa rend l'avis suivant :

Contexte réglementaire

La lactoferrine bovine a fait l'objet auprès des autorités belges d'une demande de mise sur le marché au titre du règlement CE n°258/97 relatif aux nouveaux aliments et aux nouveaux ingrédients alimentaires. Sur la base d'une équivalence substantielle de la lactoferrine bovine avec la lactoferrine naturellement présente dans le lait de vache, le nouvel ingrédient alimentaire est présenté comme relevant, selon l'article premier du règlement, de la catégorie f) : « les aliments et ingrédients alimentaires auxquels a été appliqué un procédé de production qui n'est pas couramment utilisé ». Le rapport d'évaluation initial établi par le Conseil Supérieur de la Santé belge (CSS) est soumis à l'Afssa pour observations ou objections éventuelles. En Europe, la lactoferrine est autorisée dans les compléments alimentaires. En France, l'Afssa a rendu un avis en 2006 considérant comme sans risque pour le consommateur, l'utilisation de la lactoferrine bovine dans un complément alimentaire à la dose de 100 mg (Afssa, 2006).

Précisions sur le nouvel ingrédient alimentaire

La lactoferrine est une glycoprotéine d'un poids moléculaire de 80 kDa, composée de 689 acides aminés, dont les glucides associés représentent 7 %. C'est une métalloprotéine dont la chaîne polypeptidique est bilobée, chaque lobe présentant un site de fixation du fer ferrique et un site de liaison aux bicarbonates. Elle a été isolée dans le lait humain et dans la plupart des laits de mammifères. Elle a été détectée dans la plupart des sécrétions exocrines (salive, bile, sucs gastrique et pancréatique,...) et dans les granules des polynucléaires. Cette protéine renferme tous les acides aminés naturels, et les acides aminés indispensables représentent 34 % des acides aminés totaux. Cependant, la lactoferrine est pauvre en méthionine et en tryptophane. Elle appartient à la famille des transferrines et présente une très forte affinité pour les ions ferriques.

Commentaires associés au rapport d'évaluation initiale du Conseil Supérieur de la Santé de Belgique (CSS)

Etablissement d'équivalence substantielle

La détermination des structures tridimensionnelles des lactoferrines humaine et bovine a permis de révéler des similarités de conformation, en particulier au niveau du site de fixation du fer mais aussi des différences notables, notamment de leur structure primaire. L'équivalence substantielle du NA avec la lactoferrine bovine retrouvée dans la plupart des produits laitiers classiques est admise bien qu'elle ait été établie sur la base d'une propriété particulière, la capacité à fixer le fer, qui distingue

principalement l'état dénaturé ou non. Le CSS reconnaît l'équivalence substantielle du produit avec la lactoferrine bovine retrouvée dans la plupart des produits laitiers classiques.

L'Afssa reconnaît également cette équivalence.

Concernant les spécifications du nouvel aliment

Le CSS constate que la spécification du produit est précise et que la pureté en lactoferrine est très élevée (95 % de pureté HPLC), supérieure à celle des isolats protéiques traditionnels. La teneur maximale en métaux lourds, arsenic et fer est indiquée et estimée, respectivement à 10 ppm, 2 ppm et 36 mg. Le CSS estime qu'une attention particulière doit être portée à la capacité de fixation du fer, dépendante de son degré de dénaturation.

L'Afssa n'a pas d'observation particulière à ce sujet.

Concernant l'effet du procédé de production appliqué au nouvel aliment

Le procédé de fabrication est classique et permet de s'assurer de la maîtrise des risques. En ce qui concerne le risque d'interaction avec d'autres substances allergéniques du lait, le pétitionnaire précise qu'il n'a jamais détecté la présence de protéines potentiellement allergéniques et que selon la littérature, il est improbable que les constituants de l'extrait basique du lait génèrent des réactions allergiques chez les personnes sensibles (Goodman et al., 2007). Quoiqu'il en soit, le risque d'interaction avec ces substances allergéniques du lait a été pris en compte dans la démarche qualité (HACCP) ce qui permet de garantir la qualité du NA. Le CSS estime néanmoins qu'il est nécessaire de demander que soit systématiquement indiquée l'origine laitière du produit dans l'aliment commercialisé.

L'Afssa confirme la position des experts belges.

Concernant l'historique de l'organisme utilisé comme source de nouvel aliment

La consommation de lactoferrine sous forme de produits laitiers a été et est effective. Elle est chiffrée à 5,3 mg par jour sous forme de lactoferrine active à partir de lait cru et des fromages au lait cru. Sur la base de la consommation des produits laitiers en France, l'ingestion moyenne de lactoferrine totale par un adulte peut varier de 20 à 50 mg/j, selon la nature des produits laitiers consommés.

Concernant le niveau de consommation attendu du nouvel aliment

Des doses d'enrichissement, dépendante de la population cible, ont été proposées par le pétitionnaire. Il distingue les aliments de type laits de boissons et yaourts et les aliments plus spécifiques à un groupe de population (aliments pour enfants et aliments fonctionnels pour femmes enceintes, sportifs, personnes âgées, personnes souffrant d'hépatite C). Il est estimé par le pétitionnaire, que les doses pourraient varier entre 0,6 mg/kg poids corporel (p.c.)/j (personnes âgées) et 25 mg/kg p.c./j pour l'adulte (hépatite C) et seraient en moyenne de 13 à 15 mg/kg p.c./j pour les nourrissons sains, post diarrhéiques ou prématurés. Le CSS note que les doses proposées sont inférieures à la NOAEL établie à partir des données obtenues chez le rat et estimée à 2 g/kg p.c./j, soit 140 g/j pour un adulte de 70 kg.

L'Afssa considère que, certes, les doses d'enrichissement utilisées pour évaluer la consommation possible de lactoferrine, sont inférieures à la NOAEL établie chez le rat (2000 mg/kg p.c./j) mais sans qu'aucun facteur de sécurité ne soit appliqué (cf. paragraphe concernant les informations d'ordre toxicologique).

Concernant les informations quant à une exposition humaine antérieure du nouvel aliment ou de sa source

La lactoferrine est à l'heure actuelle autorisée dans de nombreux pays (Etats-Unis, Canada, Taiwan, Belgique, France, Japon, Australie) sous différentes formes (compléments alimentaires ou alimentation générale). En 2001, la FDA a considéré la lactoferrine issue du lait ("milk-derived lactoferrin") comme substance GRAS (Generally Recognized as Safe) en tant qu'ingrédient pour l'alimentation sportive et fonctionnelle et en tant que spray anti-bactérien appliqué sur du bœuf cru (FDA, 2001).

Concernant les informations nutritionnelles pour le NA

En ce qui concerne les informations nutritionnelles sur le nouvel aliment, le pétitionnaire évoque les propriétés de la lactoferrine : (i) la lactoferrine jouerait un rôle dans le contrôle de la composition de la flore intestinale en réduisant la croissance des bactéries pathogènes, tout en favorisant celle des lactobacilles et des bifidobactéries ; (ii) elle réduirait les infections bactériennes et mycotiques ; (iii) elle inhiberait l'activité pro-inflammatoire des cytokines et favoriserait la différenciation des cellules T et B ; (iiii) elle protégerait l'organisme contre la peroxydation et les effets néfastes des radicaux libres ; (iiiii) elle favoriserait l'absorption du fer. Des études cliniques ont récemment mis en évidence que, d'une part, l'addition de lactoferrine bovine à une préparation pour nourrissons n'a pas montré d'effet sur l'absorption du fer et que d'autre part, les propriétés de la lactoferrine, notamment l'effet protecteur vis-à-vis des radicaux libres ou vis-à-vis de l'infection, peuvent dépendre de la saturation en fer de la molécule. En conséquence, le CSS s'interroge sur l'intérêt de l'enrichissement des aliments infantiles en lactoferrine bovine compte tenu de sa dénaturation possible par les processus thermiques utilisés pour son incorporation dans la matrice lactée et souhaite que des études complémentaires prouvant son utilité en nutrition infantile soit menées.

L'Afssa confirme la position des experts belges qui conditionnent l'utilisation commerciale pédiatrique de la lactoferrine à des études cliniques démontrant les bénéfices pour le nourrisson.

Concernant les informations d'ordre microbiologique

L'absence d'information spécifique sur les aspects microbiologiques ne pose pas de problème compte tenu des procédures de fabrication et de contrôle (démarche HACCP). Le CSS considère donc qu'il n'y a pas de risque particulier pour la santé humaine, de ce point de vue.

Concernant les informations d'ordre toxicologique

Les informations d'ordre toxicologique reprennent la dose NOAEL de 2g/kg p.c./j évoquée précédemment et suggèrent qu'elle pourrait s'appliquer à l'homme.

L'Afssa note qu'il est bien indiqué que la NOAEL de 2 g/kg p.c./j retenue dans le dossier a été établie à partir d'études chez le rat et que son application à l'homme adulte est suggérée. L'Afssa considère que la valeur de la NOAEL, confirmée par différentes études toxicologiques (Yamauchi et al., 2000, Uchida et al., 2006, Dyer et al., 2008), n'est pas à remettre en cause mais cette valeur ne peut s'appliquer à l'homme sans facteur de sécurité. Un facteur de sécurité de 100 (un facteur 10 pour la variabilité inter espèces et un facteur 10 pour la variabilité interindividuelle) pourraient être appliquée à la NOAEL. Dans l'état actuel des connaissances, les niveaux d'enrichissement seraient ainsi limités au 1/100^{ème} de la NOAEL soit de l'ordre de 20 mg/kg p.c./j.

Divers essais chez l'homme sont rapportés dans la littérature. Des doses croissantes de lactoferrine bovine (1,8 à 7,2 g/j) administrées à 45 patients souffrant d'hépatite C pendant 8 semaines n'induraient aucun effet secondaire (Okada et al., 2002). L'administration de 200 mg/j de lactoferrine bovine saturée en fer à 30% durant 30 jours visant une amélioration des valeurs d'hémoglobine et de fer sérique total chez des femmes au cours de la grossesse (Paesano et al., 2006) serait sans effet secondaire. Chez les nouveau-nés l'administration de lait enrichi en lactoferrine bovine (850 mg/L) durant 12 mois visant à réduire les infections du tractus respiratoire serait sans effet indésirable (King et al., 2007).

A ce jour, les valeurs maximales de lactoferrine utilisées dans ces essais sont de l'ordre de 100 mg/kg p.c./j chez l'adulte et de 300 mg/kg p.c./j chez le nouveau-né.

Il est à noter qu'un lien entre protéines de lait et concentrations circulantes d'IGF-1 est établi (Holmes et al., 2002) et, bien qu'encore discuté, des valeurs élevées d'IGF-1 pourraient être associées à un risque plus élevé de cancer (Ma et al., 2001, Renehan et al., 2004). Il serait donc prudent de mettre en place des études d'intervention analysant l'impact sur les valeurs d'IGF-1 sériques d'un apport élevé de lactoferrine (supérieur à 100 mg/jour).

Compte tenu de son potentiel d'activité et de l'absence de données sur les conséquences à long terme chez l'adulte, il paraît souhaitable d'encadrer l'utilisation de cette substance.

En conclusion, en accord avec l'avis des autorités belges, l'Afssa insiste sur les restrictions mentionnées par le CSS dans le cas d'une mise sur le marché de la lactoferrine bovine, à savoir :

- l'utilisation commerciale de la lactoferrine à des fins de nutrition pédiatrique devra tenir compte de sa dénaturation possible lors de son incorporation aux aliments et faire l'objet d'études cliniques démontrant les bénéfices pour le nourrisson ;
- l'origine laitière bovine de la lactoferrine devra être mentionnée ;
- la lactoferrine ne peut être acceptée comme conservateur ;
- les allégations pour les aliments enrichis en lactoferrine bovine devront faire l'objet d'évaluations spécifiques.

Concernant les doses autorisées, sous les réserves précédentes, l'Afssa estime que les apports devraient être limités à 20 mg/kg p.c./j dans l'alimentation.

L'Afssa souhaite ajouter que l'ensemble des données disponibles à ce jour ne fournit pas de base suffisante pour justifier une supplémentation en lactoferrine pour l'Homme sain recevant une alimentation variée, équilibrée et avec un apport calorique suffisant pour couvrir ses besoins.

Références bibliographiques

- Afssa (2006) Saisine 2005-SA-0240 : Avis du 21 avril 2006 relatif à l'évaluation de l'emploi de lactoferrine dans un complément alimentaire., <http://www.afssa.fr/Documents/NUT2005sa0240.pdf>.
- Dyer, A. R., Burdock, G. A., Carabin, I. G., Haas, M. C., Boyce, J., Alsaker, R. and Read, L. C. (2008) In vitro and in vivo safety studies of a proprietary whey extract, *Food Chem Toxicol*, **46**, 1659-65.
- FDA (2001) GRAS Notice No. GRN 000077: Milk-derived lactoferrin, *Food and Drug Administration*, <http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-g077.html>.
- Goodman, R. E., Taylor, S. L., Yamamura, J., Kobayashi, T., Kawakami, H., Kruger, C. L. and Thompson, G. P. (2007) Assessment of the potential allergenicity of a milk basic protein fraction, *Food Chem Toxicol*, **45**, 1787-94.
- Holmes, M. D., Pollak, M. N., Willett, W. C. and Hankinson, S. E. (2002) Dietary correlates of plasma insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein 3 concentrations, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **11**, 852-61.
- King, J. C., Jr., Cummings, G. E., Guo, N., Trivedi, L., Readmond, B. X., Keane, V., Feigelman, S. and de Waard, R. (2007) A double-blind, placebo-controlled, pilot study of bovine lactoferrin supplementation in bottle-fed infants, *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, **44**, 245-51.
- Ma, J., Giovannucci, E., Pollak, M., Chan, J. M., Gaziano, J. M., Willett, W. and Stampfer, M. J. (2001) Milk intake, circulating levels of insulin-like growth factor-I, and risk of colorectal cancer in men, *J Natl Cancer Inst*, **93**, 1330-6.
- Okada, S., Tanaka, K., Sato, T., Ueno, H., Saito, S., Okusaka, T., Sato, K., Yamamoto, S. and Kakizoe, T. (2002) Dose-response trial of lactoferrin in patients with chronic hepatitis C, *Jpn J Cancer Res*, **93**, 1063-9.
- Paesano, R., Torcia, F., Berlutti, F., Pacifici, E., Ebano, V., Moscarini, M. and Valenti, P. (2006) Oral administration of lactoferrin increases hemoglobin and total serum iron in pregnant women, *Biochem Cell Biol*, **84**, 377-80.
- Rehnan, A. G., Zwahlen, M., Minder, C., O'Dwyer, S. T., Shalet, S. M. and Egger, M. (2004) Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis, *Lancet*, **363**, 1346-53.
- Uchida, T., Oda, T., Sato, K. and Kawakami, H. (2006) Availability of lactoferrin as a natural solubilizer of iron for food products, *International Dairy Journal*, **16**, 95-101.
- Yamauchi, K., Toida, T., Nishimura, S., Nagano, E., Kusuoka, O., Teraguchi, S., Hayasawa, H., Shimamura, S. and Tomita, M. (2000) 13-week oral repeated administration toxicity study of bovine lactoferrin in rats, *Food Chem Toxicol*, **38**, 503-12.

La Directrice Générale

Pascale BRIAND