



AVIS DU CONSEIL SUPERIEUR DE LA SANTE N° 9223

L'utilisation de L-tryptophane provenant de la fermentation dans les compléments alimentaires et les aliments enrichis

In this scientific policy advisory report the Superior Health Council of Belgium provides an expert opinion on the safety of placing L-tryptophane from fermentation on the market.

Version validée par le Collège de
14 octobre 2015¹

Version adaptée du
Octobre - 2016

I INTRODUCTION ET QUESTION

Le L-tryptophane [acide (2S)-2-amino-3-(1H-indol-3-yl) propanoïque] (Fig1) est l'un des 8 acides aminés essentiels de l'alimentation humaine, c'est-à-dire qui ne peut être synthétisé *de novo* par l'organisme. C'est le précurseur métabolique de la sérotonine, de la mélatonine et de la niacine (vitamine B3). La sérotonine [5-hydroxytryptamine (5-HT)] est une monoamine neurotransmetteur du système nerveux central. La mélatonine (N-acétyl-5-methoxytryptamine), est l'hormone centrale de régulation des rythmes chronobiologiques, du sommeil en particulier. La vitamine B3, précurseur du NAD⁺ (nicotinamide adénine dinucléotide) et du NADP⁺ (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate), est un cofacteur d'oxydoréduction indispensable pour le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines.

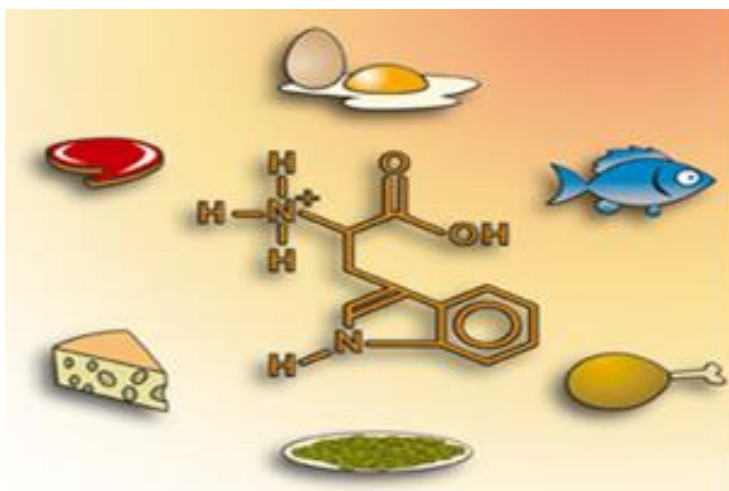


Fig 1: Le tryptophane et ses sources alimentaires (NutraNews 01/12/2006)

¹ Le Conseil se réserve le droit de pouvoir apporter, à tout moment, des corrections typographiques mineures à ce document. Par contre, les corrections de sens sont d'office reprises dans un erratum et donnent lieu à une nouvelle version de l'avis.

On trouve le tryptophane dans divers aliments et cela pourrait en principe couvrir les besoins d'un humain en bonne santé (entre 500 mg et 2 g/jour). Néanmoins, l'apport alimentaire quotidien peut être à la limite des besoins et ainsi conduire à un état de subcarence en cet acide aminé essentiel.

En conséquence, le tryptophane avait trouvé depuis longtemps sa place dans les compléments alimentaires et la pharmacopée. Le L-tryptophane est un agent anti dépressif, facilitateur de l'endormissement et aide à la perte de poids. C'est également une aide à la musculation pour les adeptes du body building.

La production de tryptophane se faisait à partir d'hydrolysats de protéines mais aussi par voie bactérienne. Néanmoins en 1989, suite à l'apparition de cas d'une maladie mortelle auto-immune, reliés à un lot de tryptophane produit par voie bactérienne, les importations de tryptophane et son utilisation dans les suppléments nutritionnels ont été interdites, d'abord aux Etats Unis et ensuite en 1990 en Europe.

Depuis lors la situation a changé et on a de nouveau autorisé dans de nombreux pays le tryptophane dans les suppléments nutritionnels ; par exemple en France et en Italie à hauteur de 220 mg/jour sur la base du Règlement CE 953/2009 sans pour autant préciser la méthode d'obtention de l'acide aminé.

Le tryptophane défectueux qui avait abouti à son bannissement provenait en fait d'une seule firme japonaise la Showa Denko qui le produisait par fermentation et qui a laissé un métabolite bactérien toxique s'introduire dans le processus de purification. On considère de nos jours que ce problème n'existe plus.

En Belgique, la législation actuelle interdit le tryptophane non obtenu par hydrolyse des protéines, donc en conséquence celui obtenu par fermentation bactérienne (AR du 3 mars 1992 actualisé AR 2014-04-24/55 – Art 8 §1 – Annexe 3). De fait, on trouve sur le marché belge plusieurs préparations de gélules contenant du tryptophane obtenu par voie hydrolytique dosé à 200 mg ou 500 mg (ex. Be Life, SciTec).

Le Conseil Supérieur de la Santé (CSS) via le groupe de travail permanent NASSA (Nutrition, Alimentation et Santé y compris Sécurité Alimentaire) a été saisi en juin 2014 d'une demande d'avis concernant l'innocuité pour la santé publique en Belgique de l'utilisation du tryptophane provenant de la fermentation dans les compléments alimentaires et les aliments enrichis.

II CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Ce rapport se limite aux critères auxquels les demandes de dérogation pour le tryptophane provenant de la fermentation devraient répondre et ce afin de pouvoir évaluer son innocuité pour la santé publique en Belgique. Le Conseil n'a pas procédé à une évaluation des doses recommandées/acceptables, ni de l'aspect efficacité.

Le tryptophane doit d'abord répondre aux critères de pureté définis dans la monographie de la Pharmacopée européenne (Ph. Eur. 5.0). Mais la production par fermentation peut engendrer d'autres contaminants non repris dans la Pharmacopée européenne: à savoir des contaminants microbiens ou issus de la souche microbienne utilisée et du milieu de production.

Pour s'assurer que le tryptophane obtenu par voie fermentative en demande d'autorisation de mise sur le marché réponde aux exigences de la guidance de l'EFSA (2011) relative aux risques engendrés par l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés (OGM) pour la production de produits destinés à l'alimentation (catégorie 1), il faut disposer des informations suivantes:

- concernant l'organisme receveur: nom scientifique, taxonomie, marqueurs phénotypiques et génotypiques ;
- concernant l'origine des séquences introduites: ADN de l'organisme donneur, ADN synthétique, acides nucléiques extraits d'échantillons environnementaux ;
- concernant la modification génétique: caractéristiques du vecteur, type de modification ;
- concernant l'organisme modifié: caractéristiques génétiques ou phénotypiques qui peuvent ou non s'exprimer, structure et quantité de vecteur et /ou du donneur d'acides nucléiques restant dans l'OGM, description des techniques d'identification et de détection de l'OGM ;
- concernant le procédé de production du tryptophane: description précise ;
- concernant le procédé de préparation du produit: démonstration de l'absence de l'OGM, information sur la présence possible d'ADN recombinant ;
- informations sur les résidus antibiotiques.

Quand le tryptophane est obtenu par voie fermentative à partir d'organismes non génétiquement modifiés, il faut:

- s'assurer que le microorganisme est GRAS (*Generally Recognized As Safe*), non pathogène ;
- concernant le procédé de production du tryptophane: description précise ;
- informations sur les milieux de culture spécifiques.

Mots clés et MeSH *descriptor terms*²

Mesh terms*	Keywords	Sleutelwoorden	Mots clés	Schlüsselwörter
"Food supplement"	Food supplement	Voedingssupplement	Complément alimentaire	Nahrungsergänzungsmittel
"Food safety"	Food safety	Voedselveiligheid	Innocuité alimentaire	Lebensmittelsicherheit
"Nutritional requirements"	Nutritional requirements	Voedingsbehoeften	Besoins nutritionnels	Ernährungsanforderungen
"Nutrition policy"	Nutrition policy	Voedingsbeleid	Politique nutritionnelle	Ernährungspolitik
"Legislation, Food"	Legislation, Food	Wetgeving, voedsel	Législation, nutrition	Gesetzgebung
"L-tryptophane"	L-tryptophane	L-tryptofaan	L-tryptophane	L-Tryptophan
"Fermentation"	Fermentation	Fermentatie	Fermentation	Fermentation

MeSH (*Medical Subject Headings*) is the NLM (*National Library of Medicine*) controlled vocabulary thesaurus used for indexing articles for PubMed <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>.

² Le Conseil tient à préciser que les termes MeSH et mots-clés sont utilisés à des fins de référencement et de définition aisés du scope de l'avis. Pour de plus amples informations, voir le chapitre « méthodologie ».

III METHODOLOGIE

Après analyse de la demande, le Collège et le président du domaine NASSA ont identifié les expertises nécessaires. Sur cette base, un groupe de travail a été constitué, au sein duquel des expertises reprises dans le tableau du point VI étaient représentées. Les experts de ce groupe ont rempli une déclaration générale et *ad hoc* d'intérêts et la Commission de Déontologie a évalué le risque potentiel de conflits d'intérêts.

L'avis est basé sur une revue de la littérature scientifique pertinente, publiée dans des rapports d'organisations internationales (AFSSA, 2009 ; COT, 2004 ; EFSA, 2013 & 2014) compétentes en la matière (*peer-reviewed*), ainsi que sur l'opinion des experts.

Après approbation de l'avis par le groupe permanent en charge du domaine NASSA, le Collège a validé l'avis en dernier ressort.

IV ELABORATION ET ARGUMENTATION

Liste des abréviations utilisées

CSS	Conseil Supérieur de la Santé
EBT	1,1' – ethylidenebis (tryptophane)
GRAS	<i>Generally Recognized As Safe</i> ,
NAD+	nicotinamide adénine dinucléotide
NADP+	nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NASSA	Nutrition, Alimentation et Santé y compris Sécurité Alimentaire
OGM	organismes génétiquement modifiés

Afin de s'assurer de l'innocuité des préparations à base de tryptophane produit par fermentation, la présence de différents contaminants doit être recherchée.

Le tryptophane doit d'abord répondre aux critères de pureté définis dans la monographie de la Pharmacopée européenne (Ph.Eur.5.0) notamment en s'assurant que la limite en contaminant tel que l'EBT (1,1' – ethylidenebis (tryptophane) de 10 ppm est respectée ainsi que d'autres dérivés.

Mais la production par fermentation peut engendrer d'autres contaminants non repris dans la Pharmacopée européenne: à savoir des contaminants microbiens ou issus de la souche microbienne utilisée et du milieu de production. Le demandeur devra donc transmettre les informations nécessaires permettant de s'assurer de l'absence ou de l'innocuité de ces contaminants.

Etant donné que la souche bactérienne productrice sera généralement une souche modifiée, il faudra s'assurer que le produit appartient bien, selon la guidance de l'EFSA (2011) relative aux risques engendrés par l'utilisation d'OGM pour la production de produits destinés à l'alimentation, à la catégorie 1. Cette catégorie concerne les composés chimiquement purs et leurs mélanges exempts d'OGM et de gènes étrangers introduits.

Pour s'assurer que le tryptophane en demande d'autorisation de mise sur le marché réponde à ses exigences, il faut disposer des informations suivantes:

- concernant l'organisme receveur: nom scientifique, taxonomie, marqueurs phénotypiques et génotypiques ;
- concernant l'origine des séquences introduites: ADN de l'organisme donneur, ADN synthétique, acides nucléiques extraits d'échantillons environnementaux ;
- concernant la modification génétique: caractéristiques du vecteur, type de modification ;
- concernant l'organisme modifié: caractéristiques génétiques ou phénotypiques qui peuvent ou non s'exprimer, structure et quantité de vecteur et/ou du donneur d'acides nucléiques restant dans l'OGM, description des techniques d'identification et de détection de l'OGM ;
- concernant le procédé de production du tryptophane: description précise ;
- concernant le procédé de préparation du produit: démonstration de l'absence de l'OGM, information sur la présence possible d'ADN recombinant ;
- informations sur les résidus antibiotiques.

Quand le tryptophane est obtenu par voie fermentative à partir d'organismes non génétiquement modifiés, il faut:

- s'assurer que le microorganisme est GRAS (*Generally Recognized As Safe*), non pathogène ;
- concernant le procédé de production du tryptophane: description précise ;
- informations sur les milieux de culture spécifiques.

V REFERENCES

AFSSA – Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. AVIS de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'emploi de tryptophane à hauteur de 1000 mg dans les compléments alimentaires. Afssa-Saisine n°2009-SA-0057.

COT - Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. COT statement on tryptophan and the eosinophilia-myalgia syndrome. COT Statement 2004/01 June 2004.

EFSA - European Food Safety Authority. Panel on Genetically Modified Organisms (GMO); Scientific Opinion on Guidance on the risk assessment of genetically modified microorganisms and their products intended for food and feed use. EFSA Journal 2011;9(6):2193-247.

EFSA - European Food Safety Authority. FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed), 2013. Scientific opinion on the safety and efficacy of L-tryptophan produced by *Escherichia coli* (FERM BP-11200) for all animal species based on a dossier submitted by Ajinomoto Eurolysine SAS. EFSA Journal 2013;11(10):3368-88.

EFSA - European Food Safety Authority. FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed), 2014. Scientific Opinion on the safety and efficacy of L-tryptophan technically pure produced by fermentation with *Escherichia coli* for all animal species, based on a dossier submitted by HELM AG on behalf of Global Bio-Chem Technology. EFSA Journal 2014;12(5):3673-4.

VI COMPOSITION DU GROUPE DE TRAVAIL

La composition du Bureau et du Collège ainsi que la liste des experts nommés par arrêté royal se trouvent sur le site Internet du CSS (page: [composition et fonctionnement](#)).

Tous les experts ont participé *à titre personnel* au groupe de travail. Leurs déclarations générales d'intérêts ainsi que celles des membres du Bureau et du Collège sont consultables sur le site Internet du CSS (page: [conflits d'intérêts](#)).

Le groupe de travail permanent en charge du domaine NASSA a approuvé l'avis. Le groupe de travail permanent a été présidé par **Guy DE BACKER** et le secrétariat scientifique a été assuré par **Anouck WITTERS**.

ANDJELKOVIC Mirjana	résidus chimiques et contaminants	ISP
DE BACKER Guy	médecine préventive, santé publique, épidémiologie	UGent
DELZENNE Nathalie	nutrition, toxicologie	UCL
DESTAIN Jacqueline	microbiologie industrielle, technologie	ULg- Gembloux Agro-Bio-Tech
GOYENS Philippe	pediatrie, métabolisme	ULB
HUYGHEBAERT André	chimie, technologie des denrées alimentaires	UGent
KOLANOWSKI Jaroslaw	physiologie et physiopathologie de l'alimentation ; physiopathologie de l'obésité, du syndrome métabolique et du diabète de type 2	UCL
MAGHUIN-ROGISTER Guy	analyse des denrées alimentaires	ULg
MELIN Pierrette	microbiologie médical	ULg
NIEWOLD Theo	alimentation et santé	KUL
PENNINCKX Michel	endocrinologie, toxicologie, biotechnologie	ULB
VAN LOCO Joris	chimie, contaminants	ISP

Les administrations et/ou les Cabinets ministériels suivants ont été entendus:

DE PAUW Katrien	compléments alimentaires	SPF SPSCAE, DG 4
-----------------	--------------------------	------------------

VII ERRATA

Version adaptée de septembre 2016: ont été apportées, par rapport à la version précédente de ce document, les précisions/corrections mineures suivantes:

Page	Version originale	Version adaptée
3 et 7	/	Ajout: « - informations sur les résidus antibiotiques. Quand le tryptophane est obtenu par voie fermentative ... les milieux de culture spécifiques ».
4	L'avis est basé sur une revue de la littérature scientifique pertinente, publiée dans des rapports d'organisations internationales compétentes en la matière (<i>peer-reviewed</i>), ainsi que sur l'opinion des experts sur les dossiers transmis par les firmes. /	L'avis est basé sur une revue de la littérature scientifique pertinente, publiée dans des rapports d'organisations internationales (AFSSA, 2009 ; COT, 2004 ; EFSA, 2013 & 2014) compétentes en la matière (<i>peer-reviewed</i>), ainsi que sur l'opinion des experts. Ajout: “ GRAS <i>Generally Recognized As Safe</i> ”

Au sujet du Conseil Supérieur de la Santé (CSS)

Le Conseil Supérieur de la Santé est un organe d'avis fédéral dont le secrétariat est assuré par le Service Fédéral Santé publique, Sécurité de la Chaîne alimentaire et Environnement. Il a été fondé en 1849 et rend des avis scientifiques relatifs à la santé publique aux ministres de la Santé publique et de l'Environnement, à leurs administrations et à quelques agences. Ces avis sont émis sur demande ou d'initiative. Le CSS s'efforce d'indiquer aux décideurs politiques la voie à suivre en matière de santé publique sur base des connaissances scientifiques les plus récentes.

Outre son secrétariat interne composé d'environ 25 collaborateurs, le Conseil fait appel à un large réseau de plus de 500 experts (professeurs d'université, collaborateurs d'institutions scientifiques, acteurs de terrain, etc.), parmi lesquels 300 sont nommés par arrêté royal au titre d'expert du Conseil. Les experts se réunissent au sein de groupes de travail pluridisciplinaires afin d'élaborer les avis.

En tant qu'organe officiel, le Conseil Supérieur de la Santé estime fondamental de garantir la neutralité et l'impartialité des avis scientifiques qu'il délivre. A cette fin, il s'est doté d'une structure, de règles et de procédures permettant de répondre efficacement à ces besoins et ce, à chaque étape du cheminement des avis. Les étapes clé dans cette matière sont l'analyse préalable de la demande, la désignation des experts au sein des groupes de travail, l'application d'un système de gestion des conflits d'intérêts potentiels (reposant sur des déclarations d'intérêt, un examen des conflits possibles, et une Commission de Déontologie) et la validation finale des avis par le Collège (organe décisionnel du CSS, constitué de 40 membres issus du pool des experts nommés). Cet ensemble cohérent doit permettre la délivrance d'avis basés sur l'expertise scientifique la plus pointue disponible et ce, dans la plus grande impartialité possible.

Après validation par le Collège, les avis sont transmis au requérant et au ministre de la Santé publique et sont rendus publics sur le site internet (www.css-hgr.be). Un certain nombre d'entre eux sont en outre communiqués à la presse et aux groupes cibles concernés (professionnels du secteur des soins de santé, universités, monde politique, associations de consommateurs, etc.).

Si vous souhaitez rester informé des activités et publications du CSS, vous pouvez envoyer un mail à l'adresse suivante: info.hgr-css@health.belgium.be.