Aspects réglementaires et toxicologiques liés à la consommation humaine d'insectes ou de protéines d'insectes en Europe.

Pr D. Parent-Massin
Membre correspondant Académie d'Agriculture de France
Université de Bretagne Occidentale
C Kersalé, Etudiante M2 ARTOX,
Université de Bretagne Occidentale

AGRO
ALIMENTAIRE

Année Universitaire 2013-2014

UNIVERSITE DE BRETAGNE OCCIDENTALE

U.F.R. Sciences et Techniques

MASTER « Sciences, Technologies, Santé »

Mention « Biologie et Santé »

Année M1

RAPPORT DE STAGE

KERSALÉ Chloé

LA REGLEMENTATION DES INSECTES DANS L'ALIMENTATION HUMAINE

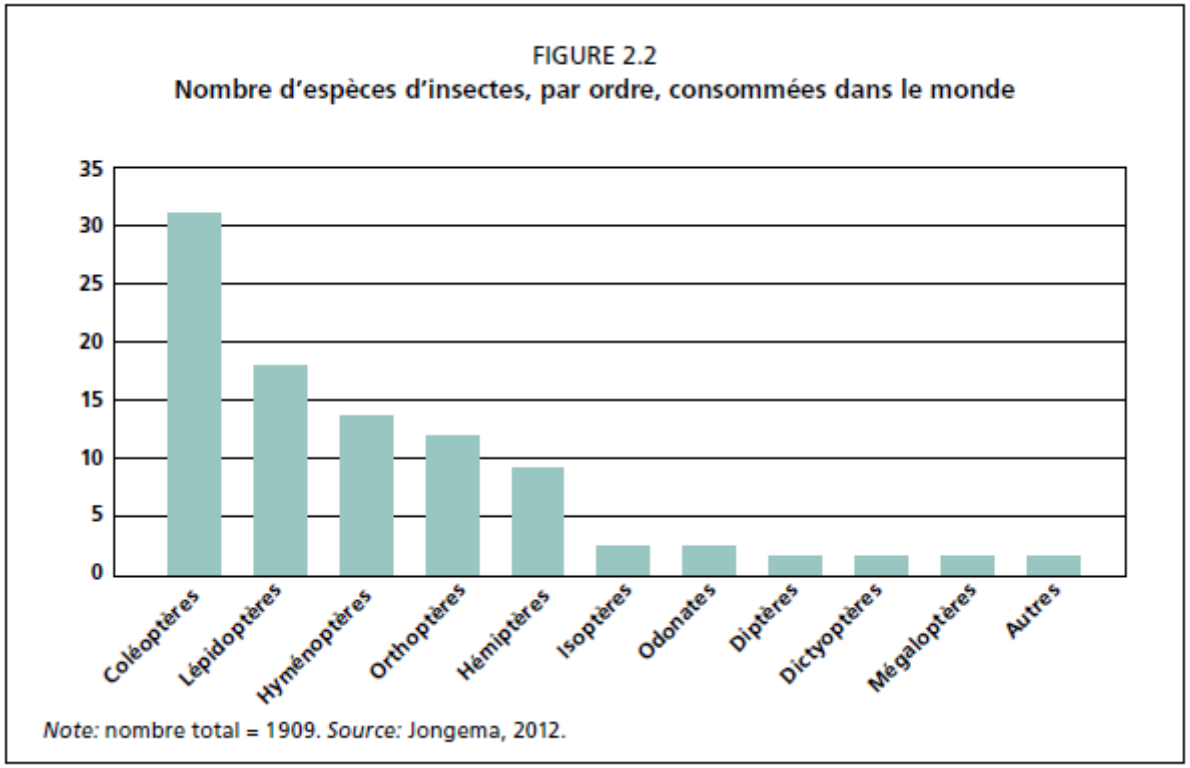
Laboratoire d'Accueil : Laboratoire d'évaluation du risque chimique pour le consommateur (LERCCO)

Maître de Stage : Dominique Parent-Massin

L'Université est une chance

Etat de l'art

- >1 900 espèces d'insectes comestibles
- Principalement consommés dans les pays tropicaux
- Consommés œuf, larve, chrysalide, stade adulte.



Dangers potentiels

liés à la consommation d'insectes

- Microbiologiques
- Toxicologiques
- Nutritionnels

Le risque est la probabilité d'être exposé à un danger

Dangers toxicologiques

- Toxines produites par les insectes
- Résidus de Pesticides
- Mycotoxines
- Métaux lourds
- Allergènes

Toxines naturelles

Deux catégories d'insectes (Belluco et al, 2013)

- Insectes phanerotoxiques :
  - Organe dédié à la synthèse de substances toxiques (Abeilles et fourmis)
  - Substances inactivées dans le tube digestif
  - Dangers potentiels de piqûre dans la bouche et l'œsophage

- Insectes cryptotoxiques :
  - Synthèse de substance toxiques
  - Accumulation dans des organes spécifiques
  - Ou diffusion dans tout le corps
  - Potentiellement plus dangereux en consommation humaine

«Tenebrio molitor larvae» Rum, Tirol, Austria.
«Tenebrio molitor MHNT» D. Descouen Travail personnel.

Toxines produites par les insectes

- Elément de leur mécanisme de défense
- Des substances chimiques répulsives ou toxiques,
- van der Spiegel *et al.*, 2013 :
  - acides carboniques,
  - alcools,
  - aldéhydes,
  - alcaloïdes,
  - cétones,
  - esters,
  - lactones,
  - phénol,
  - hydrocarbures stéroïdes

Toxines produites par les insectes

«Tenebrio molitor larvae»
Rum, Tirol, Austria.
«Tenebrio molitor MHNT»
D. Descouen Travail personnel.

- Ver de farine (*Tenebrio molitor*) :
  - Quinones qui seraient toxiques,
  - Cancérigènes et mutagènes,
  - Seuls les coléoptères,
  - Non les larves, consommées (NVWA, 2012).

Toxines produites par les insectes

Scarabées (Belluco et al, 2013)

- Métabolites des stéroïdes (testostérone)
- Consommation fréquente :
  - Retard de croissance
  - Hypofertilité
  - Masculinisation
  - Œdème
  - Hépatite
  - Cancer du foie

Toxines produites par les insectes

Punaise puante *Encosternum* (= *Natalicola*) *delegorguei* (Scholtz, 1984)

- Zimbabwe et en Afrique du Sud
- Fluide caustique
- Douleurs sévères aux yeux et même une cécité.

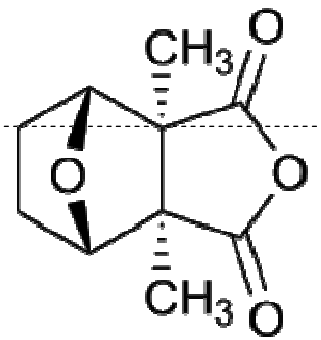
Pour cette raison, les insectes sont consommés après qu'ils aient été débarrassés de ce liquide par pression sur leur thorax et immersion dans de l'eau tiède.

Toxines produites par les insectes

Zygaena : Papillon vivement coloré (Zagrobelny *et al.*, 2009)

- Carnia, nord-est de l'Italie,
- Enfants, jabot sucré,
- Glucosides cyanogèniques, qui libèrent du cyanure d'hydrogène lors de leur dégradation.
- Très petites quantités de substances toxiques,
- Grandes quantités de divers sucres.

Toxines produites par les insectes



Lytta vescicatoria , Cantharide officinale

- Cantharidine
- Ovaires, œufs
- Irritation de la vessie et de l'urethre
- Léthale si circulation sanguine
- Propriétés aphrodisiaques :
  - *Le marquis de Sade fut embastillé pour empoisonnement pour avoir offert des bonbons à la cantharide à quatre femmes lors d'une soirée*
  - *Le président Félix Faure, décédé à l'Élysée en « bonne compagnie » en aurait été consommateur (ce qui expliquerait son décès).*

70 DICTIONNAIRE DE MÉDECINE PRATIQUE

deux formules de préparations cantharidiennes. Nous les empruntons au docteur Langlebert :

1° Eau de menthe	60	grammes.
Sirop simple	30	—
Teinture de vanille	4	—
Teinture de cantharides	4 à 20	gouttes.

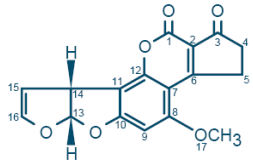
A prendre par cuillerée à dessert, chaque cuillerée à une heure ou une demi-heure d'intervalle.

2° Eau de menthe	60	grammes.
Teinture de cannelle	4	—
Sirop simple	30	—
Teinture de noix vomique } — de cantharides }	4 à 10	gouttes.

A prendre comme la précédente.

L'action irritante et locale des cantharides sur la muqueuse urinaire ne permet pas de l'employer d'une manière suivie. Elle peut conduire au *priapisme* et au *satyriasis*.

Mycotoxines



Aflatoxines (Mpuchane *et al.*, 1996):

- Mycotoxine cancérigéne, génotoxique
- Jusqu'à 50 µg AFB1/kg d'insecte
- Larves de chenille mopane (*Imbrasia belina),*
- Douze lieux différents,
- Vendues sur les marchés de Gaborone (capitale du Botswana)
- Snack ou condiment.
- Séchées au soleil
- *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium* et *Phycomycetes*

Figure 4.1. Growth of *Aspergillus flavus* (yellow-green fungus) from two of five surface sterilized peanuts placed on a nutrient culture medium. Photograph courtesy of R. J. Cole, USDA, ARS, National Peanut Research Laboratory, Dawson, Georgia.

Métaux lourds (Plomb, Cadmium)

Rhynchophocus phoenicis et l'*Anapleptes trifaciata*

- Deux espèces comestibles de Coléoptères,
- 0,03 mg Pb /kg insectes et 0,06 mg Pb /kg insectes Pb (Banjo *et al.*, 2010).

Larves de *Rhynchophorus phoenis* crues,

- récoltées au Nigéria
- 2,1 mg de Pb/kg insectes (Ekpo, 2010).

Métaux lourds (Plomb, Cadmium)

Vers à soie au stade de pupe (*Antheraea perni*)

- Chine
- 1,13 mg Pb /kg d'insectes (Zhou *et al.*, 2006)

Larves de vers de farine (*Tenebrio molitor)*

- Cadmium et de plomb
- Nourries à base de matières organiques du sol dans lesquelles ces métaux étaient présents (Vijver *et al.*, 2003).

Métaux lourds (Plomb)

Plomb (Villalobos *et al.*, 2009) :

- Forte prévalence d'empoissonnement au Plomb
- Seaside en Californie parmi les migrants de la région d'Oaxaca au Mexique.

- Chapulines (criquet grillé)
- 3 à 2300 mg de Pb/kg de produit.
- Plomb provenait non pas des insectes en eux-mêmes,
- l'assaisonnement avec des épices écrasés dans un pot en argile vitré (Chirmolera).

Pesticides

Retrouvés sur des insectes récoltés dans la nature, après traitement par des pesticides.

Pesticide	Famille	Quantité présente dans des locustes (en µg/kg d'insecte)	DJA en µg /kg p.c. /j
Hexachlorure de benzène (BHC)	Organochloré	3,00	Retiré
Lindane		2,20	JMPR (2002) : 5
Aldrine		6,20	JMPR (1977) : 0,1 (convertit en DJTP)
Sumithion	Organophosphoré	740,00	JMPR (2007) : 6 EFSA (2006) :5
Malathion		49,20	JMPR (1997) : 300 EFSA (2006) : 30

Figure 5 : Dose de pesticide présent dans des locustes récoltés au Koweït associés à leur DJA (en µg /kg p.c. /j), d'après Saeed *et al.*, 1993.

Allergies

Insectes comestibles
Réactions croisées
(Leung *et al.*, 1996 ; Jongema, 2012)

Sérum de patients allergiques aux crevettes a réagit avec des extraits de

- *Mecopoda elongata* (criquet consommé en Thaïlande, Malaisie),
- *Periplaneta american* (cafard en Chine et au Japon),
- *Drosophila melanogaster* (mouche des fruits au Mexique).

Allergies

Insectes comestibles

Réactions croisées

Verhoeckx et al, 2014,

- Fractions protéiques caractérisées de vers farine
- Testées réactivité croisée
- Serum patients allergiques mites et/ou crustacés
- Immunoblot : positif
- Test activation basophiles : positif
- Tropomyosine et arginine kinase

Allergies

Allergie propre à un insecte

- Deux chocs anaphyllactiques (Okezie et al, 2010)
  - Même patient
  - Chenille mopane
  - Pas de tests

- Choc anaphyllactique (Kung et al, 2011)
  - Adolescent
  - Chenille mopane
  - Prick test et western blot positifs

Réglementation

Règlement Novel Food CE N° 258/97 concernant
les nouveaux produits alimentaires et
nouveaux ingrédients alimentaires

- Basé sur les critères de **consommation significative** dans un Etat Membre avant **15 mai 1997**
- **Autorisation** communautaire est nécessaire
- Précédée d'une évaluation du risque pour le consommateur
- Sujet reste assez délicat incertitude juridique sur la question des **insectes entiers**

Réglementation Novel Food

Catégories	Intitulé de la catégorie
C	Les aliments et ingrédients alimentaires présentant une structure moléculaire primaire nouvelle ou délibérément modifiée.
D	Les aliments et ingrédients alimentaires composés de micro-organismes, de champignons ou d'algues ou isolés à partir de ceux-ci.
E	Les aliments et ingrédients alimentaires composés de végétaux ou isolés à partir de ceux-ci et **les ingrédients alimentaires isolés à partir d'animaux**, à l'exception des aliments et des ingrédients alimentaires obtenus par des pratiques de multiplication ou de reproduction traditionnelles et dont les antécédents sont sûrs en ce qui concerne l'utilisation en tant que denrées alimentaires.
F	Les aliments et ingrédients alimentaires auxquels a été appliqué un procédé de production qui n'est pas couramment utilisé, lorsque ce procédé entraîne dans la composition ou dans la structure des aliments ou des ingrédients alimentaires des modifications significatives de leur valeur nutritive, de leur métabolisme ou de leur teneur en substances indésirables.

Figure2 : Catégories des nouveaux aliments ou ingrédients alimentaires nouveaux soumis au règlement (CE) 258/97.

Nouveau Règlement Novel Food

En cours de discussion

Amendement Article 11
(Novembre 2014)

- *Faciliter la mise sur le marché d'aliments traditionnels en provenance de pays tiers,*
- *dont les **insectes**,*
- *lorsque l'innocuité de l'utilisation passée en tant que denrée alimentaire dans un pays tiers a été démontrée.*
- *Sont concernes*
  - *les aliments qui sont consommes dans au moins un pays tiers*
  - *depuis au moins 25 ans,*
  - *dans le cadre du régime alimentaire habituel*
  - *d'un nombre significatif des habitants du pays,*

Aspect réglementaire

Tout professionnel souhaitant mettre sur le marché des insectes à des fins alimentaires doit déposer un dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché d'un nouvel aliment.

- **En cas de commercialisation sans autorisation, l'application de l'article L.218-5-4 du Code de la consommation issu de la nouvelle loi « consommation » peut être mis en oeuvre**.
- « Art. L. 218-5-4. - S'il est établi qu'un produit a été mis sur le marché sans avoir été l'objet de l'autorisation, de l'enregistrement ou de la déclaration exigé par la réglementation applicable à ce produit, le préfet ou, à Paris, le préfet de police peut ordonner la suspension de sa mise sur le marché et son retrait jusqu'à la mise en conformité avec la réglementation en vigueur ».

Etudes toxicologiques requises
Problèmes méthodologiques

Etudes	Protéines	Insectes
Génotoxicité		
Ames	Faux +	Entier ? Cru ? Cuit ? Lyophilisé ? Fraction ?
Micronoyau in vitro/in vivo	OK	Entier ? Cru ? Cuit ? Lyophilisé ? Fraction ?
Toxicité Subchronique (90 jours, rat)	Déséquilibre nutritionnel (Enzymes ou Pt d'intérêt OGM)	Entier ? Cru ? Cuit ? Lyophilisé ? Fraction ?
Allergie	Enzymes ou Pt d'intérêt OGM	Entier ? Lyophilisé ? Fraction ?

Molécule chimique

- Toxicocinétique
- 90 jours
- Génotoxicité
- Chronique/cancéro
- Etude de reproduction / développement embryonnaire

⇓

Dose Sans Effet (NOAEL)

⇓

- NOAEL/100 = DJA

DJA > EXPOSITION

Insectes

- O Toxicocinétique
- 28/90 jours
- Effets toxiques, forte dose ? Dose Sans Effet ? (NOAEL)

⇓

DJA ?

⇓

Innocuité ?

Effet cancérigène ?

Safety evaluation of protein
of silkworm (*Antheraea pernyi*) pupae
Zhou and Han, 2006

Génotoxicité :

- Ames : négatif
- Micronoyaux *in vivo* (souris) : négatif
- Anomalies sperme de souris : négatif

Toxicité aigüe : MTD : 15 g/kg pc, souris

Toxicité subaigüe : 30 jours

- Rats, males et femelles, 5 anx/groupe
- 0; 300, ;750, 1500 mg/kg pc/j
- Paramètres hématologiques, cliniques, urinaires,
- Consommation alimentaire, poids, histopathologie
- Aucun effet toxique observé

Biomonitoring of the genotoxic potentials
of two edible insects species in vitro
Türkez et al, 2010

Saga ephippigera ephippigera et *Callimenus dilatatus*

Extrait acqueux (après deshydratation ?)

Génotoxicité :

Lymphocytes humains
Test aberration chromosomique in vitro : négatif
Micronoyaux in vitro: négatif

Evaluation of Genotoxicity and 28-day Oral Dose Toxicity on Freeze-dried Powder of *Tenebrio molitor* Larvae (Yellow Mealworm).

Han et al, 2014

Poudre de *Tenebrio molitor* lyophilisé

Génotoxicité :

- Ames in vitro : négatif
- Test aberration chromosomique in vitro : négatif
- Micronoyaux in vivo (souris) : négatif

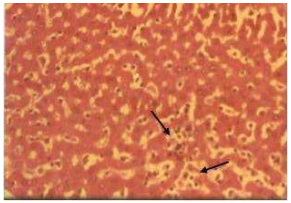
Toxicité subaigüe : 28 jours

- Rats, males et femelles, 5 anx/group
- 0, 300, 1000 and 3000 mg/kg pc/jour
- Gavage, poudre diluée eau stérile
- Paramètres hématologiques, cliniques, urinaires,
- Consommation alimentaire, poids, histopathologie
- Aucun effet toxique observé

Weight Changes and Organ Pathology in Rats Given Edible Larvae of *Cirina Forda* (Westwood), Akinnawo et al, *2005,*

Extrait de larves crues ou cuites

9 combinaisons
Témoin acqueux,
3 doses 1750, 2250 et 3700 mg/kg pc/j
Extrait de larves crues ou cuites
14 jours, rats



Extraits de larves crues : effets toxiques sur le foie, les reins, les poumons

Extraits de larves cuites : effets toxiques sur les poumons uniquement

Réglementation Novel Food

Les frondeurs

Dans l'Union européenne 3 pays frondeurs :

- Belgique
- Pays Bas
- Grande Bretagne

Février 2014 : Liste positive des insectes autorisés à la consommation humaine (Lettre circulaire de l'AFSCA) en Belgique

Octobre 2014 : Rapports

Belgique : sécurité alimentaire des insectes destinés à la consommation humaine

Pays Bas : Evaluation du risque 3 insectes

Belgique
Février 2014

Insectes	Nom scientifique
Grillon domestique	*Acheta domesticus*
Criquet migrateur africain	*Locusta migratoria migratorioides*
Ver de farine géant	*Zophobas atratus morio*
Ver de farine	*Tenebrio molitor*
Ver buffalo	*Alphitobius diaperinus*
Chenille de la fausse teigne	*Galleria mellonella*
Criquet pèlerin d'Amérique	*Schistocerca americana gregaria*
Grillon à ailes courtes	*Gryllodes sigillatus*
Chenille de la petite fausse teigne	*Achroia grisella*
Chenille de Bombyx	*Bombyx mori*

Figure 9 : Liste des espèces d'insectes autorisés à la mise sur le marché en Belgique, d'après AFSCA, 2014.

Belgique
Octobre 2014

Milieux nutritifs utilisés pour les élevages

Potentiellement à l'origine des contaminations chimiques et microbiologiques des insectes comestibles

Suffisamment contrôlés

sur le plan microbiologique (p.ex. levures, moisissures),

sur le plan chimique (p.ex. résidus de pesticides, contaminants environnementaux, etc.).

Sont déconseillés le bois traité, le fumier, les déchets ou restes de cuisine comme aliments d'élevage et l'utilisation de fongicides et antibiotiques

Pays Bas
2014

Evaluation du Risque :

Ver de farine, petit ver de farine, criquet migrateur
Risques chimiques, microbiologiques et parasitologiques

Conclusions :
Tous les insectes doivent subir un traitement à la chaleur avant lyophilisation

Contrôles très sérieux tant au niveau contamination chimiques que microbiologiques

Risques allergiques

Autres Etats Membres de l'UE

Mandat à l'EFSA pour donner un avis sur les risques

microbiologiques,

chimiques

environnementaux

liés à la production et la consommation d'insectes comme aliments pour humains et animaux (réf. M-2014-0150).

EFSA WORKING GROUP

Working Group on Safety risks
arising from the production and consumption
of insects as food and feed
EFSA-Q-2014-00578

- 12 experts + 9 "hearing experts "
- Birgit Noerrung (chair) microbiologiste
- 1ère réunion : novembre 2014
- Soumission du projet d'opinion au S C : Juin 2015.
- Adoption de l'opinion : Septembre 2015.
- Publication avis : Automne 2015

CONCLUSION

Le naturel n'est pas sain systématiquement

Poisons les plus puissants sont d'origine naturelle

Evaluation des risques toxicologiques est essentielle pour assurer la sécurité du consommateur

PGM : a-t-on démontré un risque ?

Merci de votre attention