

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 14 juin 2022

NOTE
d'appui scientifique et technique
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
relative à l'apport journalier acceptable en pipérine

L'Anses a été saisie le 22 avril 2021 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) pour la réalisation d'un appui scientifique et technique (AST) sur l'apport journalier acceptable en pipérine.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA DEMANDE

Les teneurs élevées en pipérine des compléments alimentaires font régulièrement l'objet de notifications auprès du système d'alertes européen relatifs aux aliments (RASFF¹). Ces notifications, basées sur des évaluations de risque nationales conduisent à des mesures de gestion divergentes par les autorités compétentes des États membres et par les opérateurs. Les lots concernés font l'objet de retraits du marché dans certains États membres (Allemagne par exemple) mais pas dans d'autres (France par exemple) selon qu'il existe ou non une limite maximale de teneur en pipérine, fixée au niveau national. En effet, actuellement, l'annexe III² du règlement 1925/2006 concernant l'adjonction de vitamines, de minéraux et de certaines substances aux denrées alimentaires ne comporte pas de mentions concernant la pipérine. À ce jour, en France, aucune recommandation n'est formulée par la DGCCRF concernant l'apport maximal en pipérine par les compléments alimentaires. C'est dans ce contexte que la DGCCRF sollicite l'Anses pour un AST relatif à l'apport journalier acceptable en pipérine.

¹ *Rapid Alert System for Food and Feed*

² L'annexe III du règlement 1925/2008 donne la liste des substances dont l'utilisation dans les aliments fait l'objet d'une interdiction (partie A), de restrictions (partie B) ou soumises à un contrôle communautaire (partie C).

2. ORGANISATION DES TRAVAUX

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'Anses a confié l'expertise à un rapporteur du CES « Valeurs sanitaires de référence » (CES VSR). Ses travaux ont été présentés au CES VSR tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques le 27 janvier 2022.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

Les travaux menés dans le cadre de cet AST ont consisté en l'examen des propositions de définition d'une dose journalière tolérable (DJT) en pipérine qui se basent notamment sur les différentes valeurs toxicologiques de référence (VTR) ou doses critiques utilisées dans les évaluations de risque menées par les autorités sanitaires européennes ou de plusieurs États membres. Une description de ces valeurs a été réalisée suivie d'une analyse critique.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS

3.1. Synthèse des VTR et doses critiques existantes

Plusieurs organismes ont élaboré des VTR ou retenu des doses critiques pour la pipérine : le Jecfa (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) en 2005, l'Efsa (*European Food Safety Agency*) en 2008, 2011, 2015 et 2016, le Comité scientifique norvégien pour la sécurité alimentaire (VKM) en 2016, le DTU (Université technique du Danemark) en 2019 et le BfR (Institut fédéral allemand d'évaluation des risques) en 2021 (Tableau 1).

Tableau 1 : Synthèse des VTR et doses critiques existantes pour la pipérine

Organismes (année)	Effet critique Étude clé	Point de départ (POD)	Facteurs d'incertitude	Valeur
Jecfa (2005 et 2006)	Absence d'effet Bhat et Chrandrasekhara (1986) : étude de 56 jours chez des rats Wistar	NOEL = 20 mg/kg pc/j		Pas de calcul de VTR mais réalisation d'une EQRS selon l'approche MOE avec fixation d'une MOS ref (non indiquée dans le rapport)
Efsa (2008 et 2011)	Rejet étude de Bhat et Chrandrasekhara (1986) à cause d'insuffisances relevées dans l'étude (absence d'histopathologie, durée de l'étude) → Demande de nouvelles données → TTC classe III → 90 µg/kg pc/j		/	/
Efsa (2015 et 2016)	↑ taux de cholestérol chez rats ♂ (pas d'effet chez ♀)	LOAEL = 15 mg/kg pc/j NOAEL = 5 mg/kg pc/j		Pas de calcul de VTR mais réalisation d'une EQRS selon l'approche MOE avec fixation d'une MOS ref (non indiquée dans le document)
VKM (2016)	Étude industrielle de 90 jours chez des rats Sprague-Dawley exposés par l'alimentation (OCDE 408) (non publiée, reprise dans Bastaki <i>et al.</i> , 2018)			Pas de calcul de VTR mais réalisation d'une EQRS selon l'approche MOE avec fixation d'une MOS ref = 100 = UFA (10) x UFH (10)
DTU (2019)				Pas de calcul de VTR mais réalisation d'une EQRS selon l'approche MOE avec fixation d'une MOS ref = 200 = UFA (10) x UFH (10) x UFs (2)
BfR (2021)			300 UFA = 10 UFH = 10 UFL = 3	HBGV = 2,3 mg/j (en considérant 70 kg) soit 0,033 mg/kg pc/j
	Perturbation de la spermatogénèse (et effets connexes sur testicules, épидидymes et organes reproducteurs mâles) Quatre études de toxicité sur la reproduction chez des rats mâles Wistar ou Sprague-Dawley exposés par gavage (Chen <i>et al.</i> 2018; Malini, Manimaran, <i>et al.</i> 1999; Malini, Arunakaran, <i>et al.</i> 1999; D'Cruz et Mathur 2005; D'Cruz <i>et al.</i> 2008; Chinta et Periyasamy 2016; Chinta, Coumar et Periyasamy 2017)	LOAEL = 10 mg/kg pc/j		

NO(A)EL : *No Observed (Adverse) Effect Level* (dose sans effet (nocif) observé) ; LOAEL : *Lowest adverse observed effect level* (plus faible dose sans effet nocif observé) ; DJA : Dose Journalière Admissible ; HBGV : *Human Biological Guidance Value* ; UFA : facteur d'incertitude inter-espèces ; UFH : facteur d'incertitude interindividuelle ; UFL : facteur d'incertitude lié à l'utilisation d'une LOAEL ou d'une BMD ; UFs : facteur d'incertitude lié à la transposition subchronique à chronique ; EQRS : évaluation quantitative de risque sanitaire ; MOE : *margin of exposure* (marge d'exposition) ; MOS ref : *reference margin of safety* (marge de sécurité de référence) ; TTC : *Threshold of Toxicological Concern* (seuil de préoccupation toxicologique).

3.1.1. Jecfa (2005, 2006)

En 2005 et 2006, le Jecfa a évalué les risques liés à la pipérine selon une approche par marge d'exposition (MOE) (Jecfa 2005, 2006). Cette approche consiste à comparer le résultat du rapport entre le POD et l'exposition à une marge de sécurité de référence correspondant au produit des facteurs d'incertitude. Le POD a été déterminé sur la base d'une étude de 56 jours réalisée sur des rats Wistar (Bhat et Chandrasekhara 1986). Des groupes de rats mâles (n = 6/groupe) ont ingéré des aliments contenant soit du poivre noir (2000 ppm), de l'oléorésine (110, 220 ou 440 ppm)³ ou de la pipérine isolée (100 ppm)⁴. Un groupe témoin a reçu une alimentation habituelle. En termes de résultats, qu'elle ait été consommée sous forme de pipérine seule, d'oléorésine ou de poivre noir, la pipérine n'a induit aucun effet indésirable sur la prise alimentaire, le poids des organes (foie, reins, rate, tissus adipeux), les paramètres hématologiques (hémoglobine, globules rouges et blancs, lymphocytes, neutrophiles) ou les paramètres biochimiques (protéines totales, rapport albumine/globuline, glucose, cholestérol, aspartate aminotransférase, alanine aminotransférase et phosphatase alcaline) aux doses testées. Ainsi, sur la base de la publication de Bhat et Chandrasekhara (1986), le Jecfa a établi une NOEL de pipérine à 20 mg/kg pc/j.

3.1.2. Efsa (2008, 2011, 2015 et 2016)

En 2008 puis en 2011, l'Efsa a examiné l'évaluation réalisée par le Jecfa et s'est déclarée en désaccord principalement du fait de la qualité insuffisante des études disponibles pour retenir une NOAEL (Efsa 2008, 2011). L'Efsa considère l'étude de Bhat et Chandrasekhara (1986) non pertinente dans la mesure où la dose maximale testée n'a pas permis d'identifier d'effet toxique. La NOEL établie n'a donc pas de signification toxicologique. De plus, les essais n'ont porté que sur des rats mâles et un grand nombre d'organes ainsi que plusieurs paramètres biologiques n'ont pas été examinés. Enfin, aucun examen histopathologique n'a été réalisé pour identifier d'éventuelles altérations du tissu des organes.

À la suite de ces avis, une étude de 90 jours (OCDE 408)⁵ sur des rats a été soumise à l'Efsa pour examen en 2015 (Efsa 2015, 2016). Cette étude industrielle, non publiée à l'époque, a été publiée en 2018 (Bastaki *et al.* 2018). Quatre groupes de rats Sprague-Dawley adultes (n = 10/sexe/groupe) ont été exposés, par l'alimentation, à des doses moyennes journalières en pipérine de 0 (véhicule), 5, 15 ou 50 mg/kg pc/j. Au cours de cette étude, il n'y a pas eu de mortalité attribuable à l'administration de pipérine. Une réduction significative du gain de poids chez les mâles (20 %) et de la consommation alimentaire chez les mâles (5 %) et chez les femelles (12 %) a été observée à la dose de 50 mg/kg pc/j. En fin d'expérimentation, aucun effet sur le poids corporel des rats mâles et femelles n'a été identifié par rapport au groupe

³ En prenant comme hypothèse que la pipérine représente environ 45 % de l'oléorésine, la teneur équivalente en pipérine dans l'alimentation correspond à environ 50, 100 ou 200 ppm, soit une dose de pipérine de 5, 10 ou 20 mg/kg pc/j.

⁴ Le niveau de 100 ppm de pipérine dans l'alimentation a été calculé pour fournir un apport quotidien moyen d'environ 10 mg/kg pc/j.

⁵ Essai n° 408 : Toxicité orale à doses répétées – rongeurs : 90 jours. La détermination d'une toxicité subchronique orale est basée sur l'administration orale quotidienne (par gavage ou par la nourriture ou la boisson) de la substance étudiée pendant 90 jours. Les résultats de l'étude incluent des mesures du poids corporel, de la consommation de nourriture et d'eau, des observations cliniques et ophtalmologiques, des analyses hématologiques, biochimiques et urinaires, ainsi qu'une autopsie générale avec examen et pesée des organes et des examens histopathologiques.

témoin. Cet effet transitoire a été attribué par les auteurs au fait que cette teneur élevée en pipérine peut avoir altéré le goût des aliments.

De même, les examens cliniques et ophtalmologiques, ainsi que les examens des organes et des tissus, n'ont pas révélé d'effets attribuables à l'ingestion de pipérine. Certaines modifications statistiquement significatives des paramètres d'hématologie, de coagulation et de chimie clinique n'étaient pas dose-dépendantes ou étaient de faible ampleur et dans la fourchette des valeurs historiques. Par ailleurs, aucune modification du poids absolu et relatif des organes n'a été identifiée, à l'exception d'une réduction du poids relatif de l'épididyme (rapporté au poids du cerveau) à 5 et 50 mg/kg pc/j chez les mâles. Ce changement mineur et non dose-dépendant n'est pas considéré comme pertinent sur le plan toxicologique. En revanche, une augmentation statistiquement significative et dose-dépendante de la cholestérolémie à 30 % et 55 % a été constatée chez les rats mâles ayant reçu 15 et 50 mg de pipérine/kg pc/j. Cet effet n'a toutefois pas été observé chez les femelles. La nature du cholestérol à l'origine de l'augmentation des concentrations circulantes de cholestérol total (HDL ou LDL) n'est cependant pas précisée. Cela pourrait faire l'objet d'investigations complémentaires.

Sur la base de l'augmentation dose-dépendante du taux de cholestérol observée chez les rats mâles aux doses de 15 et 50 mg de pipérine/kg pc/j, l'Efsa conclut que la NOAEL est de 5 mg/kg pc/j.

3.1.3.VKM (2016)

En 2016, le VKM a réalisé une évaluation des risques liés à la pipérine selon une approche par MOE. Afin d'identifier le POD, le VKM a repris les conclusions de l'Efsa et a utilisé une NOAEL de 5 mg/kg pc/j. Pour réaliser son évaluation de risques sanitaires, le VKM a fixé une marge de référence de 100 prenant en compte la variabilité inter-espèce (10) et intra-espèce (10) (VKM 2016).

3.1.4.DTU (2019)

En 2019, le DTU a réalisé une évaluation des risques liés à la pipérine en tant que substance considérée isolément (CAS N° 94-62-2) et sans prendre en compte l'éventuelle exposition à d'autres sources (Beltoft 2019).

Afin d'identifier le POD, le DTU s'est fondé sur les rapports de l'évaluation des risques du Jecfa concernant la pipérine utilisée comme arôme (Jecfa 2006) et celui du Comité scientifique norvégien pour la sécurité alimentaire (VKM) concernant la pipérine en tant que complément alimentaire (VKM 2016). Le DTU partage la conclusion de l'Efsa de ne pas retenir l'étude clé choisie par le Jecfa en 2006 (Bhat et Chandrasekhara 1986) et retient l'étude clé choisie par l'Efsa. Ainsi, à partir de l'étude de 90 jours réalisée chez le rat conformément à la ligne directrice de l'OCDE 408 et sur la base d'une augmentation statistiquement significative et dose-dépendante de la cholestérolémie observée chez les rats mâles, le DTU a retenu une NOAEL de 5 mg/kg pc/j.

Pour réaliser son évaluation de risques sanitaires, le DTU a suivi une approche par MOE et a fixé une marge de référence de 200 prenant en compte la variabilité inter-espèce (10) et intra-espèce (10) et un facteur de 2 pour extrapoler les résultats obtenus dans une étude subchronique à un contexte d'exposition potentiellement chronique.

3.1.5. BfR (2021)

Le BfR a réalisé une revue qui se concentre précisément sur l'évaluation des effets critiques possibles sur la santé de l'utilisation de la pipérine isolée comme ingrédient unique dans les compléments alimentaires (Ziegenhagen *et al.* 2021).

D'après le BfR, les études animales avec des doses journalières de pipérine administrées par gavage fournissent des indications sur une perturbation de la spermatogenèse, sur des effets embryotoxiques et sur la reproduction, alors qu'aucune des évaluations (notamment celle réalisée par l'Efsa en 2015) ne mentionne ces effets toxicologiques sur la reproduction.

Ainsi, après une revue concise des effets potentiels de la pipérine dont la génotoxicité, les toxicités aiguë, subaiguë et subchronique (dont l'étude de Bhat et Chandrasekhara (1986) et l'étude de 90 jours chez le rats), le BfR a évalué l'ensemble des études expérimentales relatives à la toxicité pour la reproduction aussi bien chez les mâles que chez les femelles :

- Effets toxicologiques sur la reproduction chez les mâles

D'après le BfR, les résultats des quatre études visant à investiguer les effets toxicologiques sur la reproduction chez des rats mâles (ayant donné lieu à huit publications) convergent, avec néanmoins quelques différences observées entre les rats mâles jeunes adultes et juvéniles (Malini, Arunakaran, *et al.* 1999; Malini, Manimaran, *et al.* 1999; D'Cruz et Mathur 2005; Chinta et Periyasamy 2016; Chinta, Coumar et Periyasamy 2017; D'Cruz *et al.* 2008; Chen *et al.* 2018; Chen, Ge et Lian 2018) (Tableau 2).

De façon concordante, chez les jeunes rats mâles adultes, des effets toxicologiques sur la reproduction, notamment une perturbation de la spermatogenèse (et des effets connexes sur les testicules, les épидидymes et les organes reproducteurs mâles) ont été observés à la dose de 10 mg/kg pc/j. Des effets moins prononcés ont été observés à la dose inférieure de 5 mg/kg pc/j. Dans l'une de ces études, les effets indésirables sur la reproduction observés chez les mâles à 10 mg/kg pc/j étaient réversibles après l'arrêt de la pipérine pendant plusieurs semaines (Chinta, Coumar et Periyasamy 2017).

Tableau 2 : Synthèse des études recensées par le BfR mettant en évidence des effets de la pipérine sur la reproduction mâle

Références	Espèces	Exposition	Résultats	Remarques
Malini, Manimaran, et al. (1999)	Rats Wistar albinos mâles adultes (âgés 3-4 mois) (n = 10/groupe)	0, 5 et 10 mg/kg pc/j de pipérine en suspension dans une solution saline à 0,9 % administré par un cathéter gastrique 30 jours	<p><u>5 mg/kg pc/j</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Histopathologie : dégénérescence partielle des types de cellules germinales - ↑ hormone lutéinisante (LH) sérique - ↓ poids absolu épидидyme (queue) et canaux déférents <p>Mêmes effets qu'à 10 mg/kg pc/j mais non significatifs (concentration de spermatozoïdes, poids relatif des testicules, poids absolu des vésicules séminales et de la prostate ventrale, hormone folliculostimulante (FSH) sérique et testostérone intra-testiculaire)</p> <p><u>10 mg/kg pc/j</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - ↓ concentrations de spermatozoïdes dans l'épididyme (tête, queue) - Histopathologie : dommages sévères aux tubules séminifères, ↓ diamètre tubes séminifères et du noyau des cellules de Leydig, desquamation des spermatocytes et spermatides - ↑ FSH et LH sériques et testostérone intra-testiculaire - ↓ poids relatif des testicules et poids absolu de l'épididyme (queue), des canaux déférents, des vésicules séminales et de la prostate ventrale 	<p><u>Forces</u> :</p> <p>Taille des groupes</p> <p><u>Limites</u> :</p> <p>Peu d'effets statistiquement significatifs à 5 mg/kg pc/j Étude sur seulement 30 jours</p> <p><u>Mécanismes proposés par les auteurs</u> :</p> <p>Dommages des cellules testiculaires par la pipérine</p> <ul style="list-style-type: none"> - ↓ du rétrocontrôle négatif de l'inhibine → taux élevés de FSH - ↓ de la production intratesticulaire de testostérone - Le maintien de la testostérone circulante peut être dû à une réduction de la conversion de la testostérone en ses métabolites puisque la pipérine est un puissant inhibiteur du CYP450
Malini, Arunakaran, et al. (1999)			<p><u>5 et 10 mg/kg pc/j</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - ↑ cholestérol total et estérifié testiculaire - ↓ phospholipides (totaux et fractions), cholestérol libre - ↓ significative des activités enzymatiques dans les testicules (NAD+ malate déshydrogénase, NAD+ enzyme malique) <p><u>10 mg/kg pc/j</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - ↓ lipides totaux dans testicules ; modifications de la composition des lipides testiculaires - ↓ des activités enzymatiques dans les testicules (NAD+ malate déshydrogénase et NADP+ isocitrate déshydrogénase) 	<p><u>Forces</u> :</p> <p>Taille des groupes</p> <p><u>Limites</u> :</p> <p>Peu d'effets statistiquement significatifs à 5 mg/kg pc/j Étude sur seulement 30 jours</p> <p><u>Mécanismes proposés par les auteurs</u> :</p> <p>Le cholestérol est le précurseur des enzymes stéroïdiennes sexuelles. L'accumulation de cholestérol peut suggérer une altération de la production d'androgènes. La LH capte le cholestérol des HDL et favorise son estérification. L'augmentation du cholestérol estérifié peut être corrélée à l'augmentation des taux de LH.</p>

<p>D'Cruz et Mathur (2005)</p>	<p>Rats Wistar mâles adultes (âgés 90 jours) (n = 4/groupe)</p>	<p>0, 1, 10 et 100 mg/kg pc/j de pipérine dissoute dans un véhicule (10 % de DMSO dans éthanol et huile d'arachide dans un rapport de 1:1) par micropipettes 30 jours</p>	<p><u>1 mg/kg pc/j</u> Pas d'effet pertinent sur les paramètres du sperme, le poids des testicules et des organes sexuels accessoires ni sur les activités enzymatiques</p> <p><u>10 et 100 mg/kg pc/j</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - ↓ poids absolu des épидидymes (tête, corps et queue) - ↓ nombre et motilité des spermatozoïdes au niveau des épидидymes (queue) - ↓ niveaux d'acide sialique dans la queue des épидидymes, ↓ activité enzymes antioxydantes dans les testicules et les épидидyme (corps et queue) (SOD, catalase, GSH peroxydase, GSH réductases) - ↑ significative de la génération de peroxyde d'hydrogène dans les épидидymes (corps et queue) <p><u>100 mg/kg pc/j</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - ↓ viabilité des spermatozoïdes - ↓ niveaux d'acide sialique et ↓ activité des enzymes antioxydantes dans les épидидymes (tête, corps, queue) 	<p><u>Limites :</u> Étude sur seulement 30 j Petit nombre de rats par groupe Effets observés à 10 mg/kg pc/j sur le compte spermatique épидидymaire, poids des testicules et épидидymes étaient beaucoup moins marqués que dans l'étude de Malini <i>et al.</i></p> <p><u>Mécanismes proposés par les auteurs :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - L'acide sialique est sécrété par les cellules de l'épithélium épидидymaire. Niveaux réduits = fonctions sécrétoires altérées de l'épидидyme. - L'acide sialique est connu pour faciliter le mouvement des spermatozoïdes et aider à l'acquisition de la motilité et de la viabilité. Niveaux réduits = fonctions spermatiques altérées. - L'acide sialique a été signalé comme un puissant piègeur de peroxyde d'hydrogène. - La réduction des niveaux de catalase, de glutathion peroxydase et d'acide sialique peut être la cause d'une augmentation des niveaux de peroxyde d'hydrogène dans l'épидидyme et d'une formation excessive de ROS.
<p>D'Cruz et al. (2008)</p>			<p><u>1 mg/kg pc/j</u> Pas d'effet pertinent sur poids des testicules et organes sexuels accessoires ou activités enzymatiques.</p> <p><u>10 et 100 mg/kg pc/j</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - ↓ poids absolu des testicules - ↓ niveaux d'acide sialique et des activités de SOD, catalase, GSH peroxydase, GSH réductase - ↑ génération de peroxyde d'hydrogène dans les testicules - Expression de Fas et caspase-3 dans les cellules germinales pérیتubulaires <p><u>100 mg/kg pc/j</u> ↓ poids absolu des vésicules séminales et de la prostate ventrale</p>	<p><u>Limites :</u> Absence de quantification de l'expression de caspase-3 et de Fas dans les coupes testiculaires après traitement à la pipérine. (↑ dose-dépendante uniquement visuelle)</p> <p><u>Mécanismes proposés par les auteurs :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Des niveaux réduits d'acide sialique pourraient avoir un impact sur les processus de spermatogénèse. - Réduction de la capacité antioxydante du testicule et induction de ROS → induction de la voie apoptotique Fas/caspase-3 dans les cellules germinales testiculaires.
<p>Chinta et Periyasamy (2016); Chinta,</p>	<p>Rats mâles Wistar adultes (âgés 90j) (n = 12 /groupe)</p>	<p>0, 10 mg/ kg pc/j de pipérine en suspension dans 0,5% de</p>	<p><u>10 mg/kg pc/j tous les jours</u> Effets à la fin de la période d'administration de la pipérine</p>	<p><u>Forces :</u> Taille des groupes</p>

<p>Coumar et Periyasamy (2017)</p>		<p>carboxyméthyl cellulose par gavage 60 jours suivis d'une période de récupération de 60 jours ; 3 types d'exposition : tous les jours, 4 ou 7 jours</p>	<ul style="list-style-type: none"> - ↓ significative du nombre de spermatozoïdes épидидymaires, motilité et viabilité des spermatozoïdes - ↓ significative du poids de des épидидymes, des vésicules séminales, des testicules et de la prostate - Histopathologie : spermatozoïdes desquamés ; changements histopathologiques dans l'épididyme (épithélium cylindrique, cils, muscle lisse + tubules séminifères montrant une couche musculaire épaisse et des spermatozoïdes dans la lumière) - ↓ significative du taux de testostérone intra-testiculaire et ↑ cholestérol intra-testiculaire - ↑ significative du taux sérique de FSH, LH, SHBG - ↓ significative taux d'acide sialique dans l'épididyme et taux de fructose dans vésicule séminale - ↓ significative activité des enzymes antioxydantes (SOD, catalase) dans les testicules et les épидидymes - ↑ significative de la peroxydation lipidique dans les testicules et les épидидymes - ↓ significative de l'activité des enzymes impliquées dans la synthèse de la testostérone dans les cellules de Leydig - ↓ significative du poids absolu du foie (36 %) <p>Après une période de récupération de 60 jours : les effets indésirables observés sur les organes reproducteurs sont réversibles ; ↓ non significative du poids absolu du foie (29 %)</p> <p><u>10 mg/kg pc/j tous les 4 jours</u> Effets à la fin de la période d'administration de la pipérine</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mêmes effets indésirables observés qu'avec l'administration quotidienne mais atténués et dans certains cas encore statistiquement significatifs (↓ motilité et viabilité des spermatozoïdes, ↓ niveaux d'acide sialique dans les épидидymes et fructose dans la vésicule 	<p>Tous les paramètres rétablis après la période de récupération</p> <p><u>Limites :</u> Aucun commentaire sur la diminution du poids du foie. Les résultats biochimiques et tissulaires sont contradictoires avec certaines observations histologiques. Des incohérences ont été constatées dans les indices ou coefficients calculés à partir du poids des testicules et du poids corporel.</p> <p><u>Mécanismes proposés par les auteurs :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Dommages subis par les cellules testiculaires → diminution du rétrocontrôle négatif par l'inhibine - Interaction avec le site actif de SHBG. - Réduction des défenses antioxydantes et formation excessive de ROS.
---	--	---	---	--

			<p>séminale, ↓ activité des enzymes antioxydantes dans les épидидymes)</p> <ul style="list-style-type: none"> - ↓ significative du poids absolu du foie (35 %) <p>Après une période de récupération de 60 jours : les effets indésirables sur les organes reproducteurs sont réversibles ; le poids absolu du foie est toujours réduit.</p> <p><u>10 mg/kg pc/j tous les 7 jours</u> Effets à la fin de la période d'administration de la pipérine</p> <ul style="list-style-type: none"> - Légère ↓ nombre de spermatozoïdes et de la testostérone testiculaire (non significative) - ↓ significative poids absolu du foie (39 %) <p>Après une période de récupération de 60 jours : pas d'effet</p>	
Chen et al. (2018)	<p>Rats mâles Sprague-Dawley juvéniles (âgés 35 jours) (n = 6/groupe)</p> <p>+ étude <i>in vitro</i></p>	<p>0, 5, 10 mg/kg pc/j de pipérine en suspension dans une solution saline administrée par gavage 30 jours</p>	<p>Pas d'effet sur le poids des testicules et niveaux de LH sériques</p> <p><u>5 et 10 mg/kg pc/j</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - ↑ dose-dépendante testostérone sérique - ↑ taille des cellules de Leydig et légère ↑ nombre de cellules de Leydig (similaire à 5 et 10 mg/kg pc/j) - ↓ FSH sérique (taux similaire à 5 et 10 mg/kg pc/j) - Observation morphologique montrant une réduction du nombre de spermatozoïdes dans les épидидymes <p><u>10 mg/kg pc/j</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Observation morphologique montrant peu de spermatocytes dans les tubules séminifères <p><u>Étude <i>in vitro</i></u></p> <ul style="list-style-type: none"> - La pipérine n'affecte pas l'activité des enzymes de métabolisation des androgènes. 	<p>Forces : Etude réalisée sur des rats juvéniles</p> <p>Limites : Les effets de la pipérine sur le développement des cellules de Leydig de rats pendant la puberté sont différents de ceux observés sur les testicules de rats adultes, qui avaient des niveaux de testostérone intratesticulaire inférieurs et des niveaux plus élevés de LH et de FSH.</p> <p>Selon les auteurs, ↓ nombre de spermatozoïdes dans les épидидymes à 5 et 10 mg/kg pc/j et dans les testicules à 10 mg/kg pc/j (présence de photos de coupes histologiques, mais absence de données chiffrées)</p> <p>Mécanismes proposés par les auteurs : La pipérine favoriserait le développement des cellules de Leydig à l'origine de la synthèse de testostérone. La pipérine bloquerait le processus de spermatogénèse par une baisse de FSH sérique.</p>
Bastaki et al. (2018)	<p>Rats Sprague-Dawley (mâles et femelles) (âgés 48–57 j)</p>	<p>0, 5, 15 et 50 mg/kg pc/j de pipérine par l'alimentation 90 jours</p>	<p><u>5, 10 et 50 mg/kg pc/j*</u></p> <p>↓ significative poids relatif (par rapport au cerveau) des épидидymes (respectivement 23, 27 et 21 % par rapport au témoin) sans modification histologique</p>	

* seuls les effets sur la reproduction sont rapportés ici.

- Effets toxicologiques sur la reproduction chez les femelles et embryotoxicité

Selon le moment de l'administration de la pipérine, avant ou pendant la gestation, différents effets embryotoxiques ou toxicologiques sur la reproduction ont été observés chez les femelles. Les études ont mis en évidence une réduction des taux d'accouplement et d'implantation, un allongement de la gestation ainsi qu'une augmentation du taux de mortalité fœtale. Ces études permettent d'identifier une LOAEL de 10 mg/kg pc/j au regard des effets indésirables sur la reproduction maternelle et chez l'embryon (Chandhoke, Gupta et Dhar 1978; Piyachaturawat, Glinsukon et Peugvicha 1982; Piyachaturawa et Pholpramool 1997; Daware, Mujumdar et Ghaskadbi 2000). Il s'agit de la plus faible dose journalière étudiée dans ces études.

Sur la base de sa revue de la littérature, le BfR a retenu les effets sur la reproduction observés chez les mâles comme effet critique, les considérant potentiellement préoccupants et toxicologiquement pertinents. De façon concordante, chez les jeunes rats mâles adultes, une perturbation de la spermatogenèse (et des effets connexes sur les testicules, les épидидymes et les organes reproducteurs mâles) a été observée avec une dose de 10 mg/kg pc/j. Ainsi, en utilisant comme POD la dose de 10 mg de pipérine/kg pc/j, un facteur d'incertitude global de 300 a été appliqué pour tenir compte de la variabilité inter-espèce (10 par défaut) et intra-espèce (10 par défaut) et pour l'extrapolation de cette LOAEL à une NOAEL (3) aboutissant à une HBGV (*Health-based guidance value*)⁶ de 0,033 mg/kg pc/j.

Sur la base d'un poids corporel supposé de 70 kg, cette approche conduirait à une valeur maximale guide de 2,3 mg/j de pipérine lorsqu'elle est utilisée sous forme isolée et par administration en bolus, comme cela est le cas lors de la prise d'un complément alimentaire.

3.2. Analyse critique des VTR et doses critiques existantes et choix

Une analyse critique des VTR et doses critiques les plus récentes a été réalisée, à savoir celles proposées par le DTU en 2019 (Beltoft 2019) et le BfR en 2021 (Ziegenhagen *et al.* 2021). Les choix réalisés lors de la construction de ces valeurs ont été analysés au regard de la méthode de construction suivie par l'Anses (2017). Sont pris en compte lors de l'analyse les critères suivants :

- la transparence et l'argumentation de la méthode d'élaboration de la VTR ;
- l'année d'élaboration ;
- les choix réalisés pour élaborer la VTR :
 - o le choix de l'effet critique et d'une(des) étude(s) de bonne qualité scientifique permettant généralement d'établir une relation dose-réponse, appelée étude clé ou étude pivot ;
 - o le choix du POD chez l'Homme ou l'animal à partir de cette(ces) étude(s) clé(s) et ses éventuels ajustements dans le cas d'un POD obtenu chez l'animal ;
 - o le choix des facteurs d'incertitude.

⁶ HBGV correspond à une valeur indicative pour la santé telle que la dose journalière tolérable ou la dose journalière admissible (DJT ou DJA)

- **Choix de l'effet critique, de(s) étude(s) clé(s) et du point de départ (POD)**

En 2019, le DTU, comme l'Efsa et le VKM, a retenu comme POD une NOAEL de 5 mg/kg pc/j issue d'une étude industrielle de 90 jours chez le rat mettant en évidence une augmentation du cholestérol. Ce choix n'a pas été repris par le BfR (2021) qui a retenu une LOAEL de 10 mg/kg pc/j issue de quatre études chez les rongeurs mettant en évidence des effets sur la reproduction mâle.

Le DTU a retenu comme étude clé une étude de toxicité orale à doses répétées sur 90 jours chez les rongeurs (OCDE 408). Ce type d'étude est couramment rencontrée dans les évaluations de la sécurité des ingrédients alimentaires, des médicaments ou d'autres substances chimiques. Elle est notamment requise dans le cadre de l'évaluation des nouveaux aliments (règlement (UE) n°2015/2283), des additifs alimentaires (règlement (CE) n° 1333/2008), des produits phytopharmaceutiques (règlement (UE) n° 283/2013), des aliments génétiquement modifiés (règlement (UE) n° 503/2013), des biocides (règlement (UE) n° 528/2012, avec des exceptions). L'espèce animale privilégiée pour l'étude de toxicité de 90 jours est le rat (Vrolijk *et al.* 2020). L'étude de toxicité sur 90 jours est toujours considérée comme essentielle dans différents domaines réglementaires. Aucune autre étude susceptible de se substituer à l'utilisation de l'étude de toxicité orale sur 90 jours n'a été validée ou acceptée par le NTP (*National Toxicology Program*) (Hartung 2018). Dans ce contexte, le choix d'une étude de toxicité orale à doses répétées sur 90 jours chez le rat comme étude pivot pour définir un effet critique apparaît pertinent (cf. §3.1.2). Cette étude a mis en évidence une augmentation statistiquement significative et dose-dépendante du taux de cholestérol chez les mâles exposés à 15 et 50 mg/kg pc/j, avec environ + 30 % et + 55 %, respectivement mais aucun effet sur le cholestérol n'a été observé chez les femelles. Cet effet a été considéré pertinent par l'Efsa (2015), puis repris par le VKM (2016) et le DTU (2019) et a permis d'identifier une NOAEL de 5 mg/kg pc/j comme POD. À noter que l'Efsa n'a pas étudié les effets sur la reproduction dans ces différentes évaluations.

Contrairement à l'évaluation réalisée par l'Efsa (2015), Bastaki *et al.* (2018), dont le travail a été financé par l'*International Organization of the Flavor Industry*, n'ont attribué aucune pertinence toxicologique aux augmentations observées des concentrations de cholestérol plasmatique décrites ci-dessus. Selon eux, les concentrations de cholestérol plasmatique se situaient dans l'intervalle des valeurs de la base de données historiques pour les animaux mâles, ces augmentations n'étaient pas retrouvées chez les femelles et ces effets sur la cholestérolémie n'étaient pas corroborés par d'autres études (Bastaki *et al.* 2018). Dans ce contexte, ils ont considéré que la NOAEL issue de l'étude de 90 jours était de 50 mg/kg pc/j.

Les arguments présentés par Bastaki *et al.* (2018) sont discutables. Les valeurs de cholestérol plasmatique présentées comme données historiques du laboratoire présentent une moyenne de 81 mg/dL avec un intervalle allant de 47 mg/dL à 137 mg/dL, soit une variation de - 42 % à + 69 % d'écart à la moyenne. L'étendue de cet intervalle entraîne un doute sur la qualité des données historiques. D'après Piyachaturawat, Glinsukon et Peugvicha (1982), l'absence d'effet utérotope, antioestrogénique et antiprogestatif suggère que l'effet de la pipérine sur la fertilité n'est pas associé à une interférence hormonale. Ceci est compatible avec la normalité du taux de cholestérol chez les femelles, le cholestérol étant le précurseur des hormones stéroïdiennes sexuelles. Par ailleurs, les études de Malini, Arunakaran, *et al.* (1999) et Chinta, Coumar et Periyasamy (2017) montrent une diminution des concentrations de cholestérol et de testostérone intratesticulaires. De plus, Malini, Arunakaran, *et al.* (1999) ont mené une étude plus complète des effets de la pipérine sur la composition lipidique et l'activité de

certaines enzymes du métabolisme lipidique testiculaire. Les auteurs ont mis en évidence une diminution du contenu lipidique testiculaire total, notamment des différentes fractions phospholipidiques, et du cholestérol libre. Une augmentation significative du cholestérol total et du cholestérol estérifié testiculaires a également été observée.

La nature du cholestérol augmenté (HDL ou LDL), non recherchée dans l'étude, devrait faire l'objet d'investigations complémentaires. L'absence de données sur la nature du cholestérol augmenté limite l'utilisation de ce paramètre comme effet critique.

Enfin, dans l'étude de 90 jours, la pipérine a été administrée par l'alimentation. Or, la pipérine peut modifier la palatabilité des aliments, modifier le comportement alimentaire des animaux et ainsi induire une réduction de la prise alimentaire. Les auteurs indiquent néanmoins qu'une étude exploratoire de toxicologie et de palatabilité a été réalisée sur 14 jours pour choisir les doses à tester sur 90 jours.

Le BfR a considéré que, pris dans leur ensemble, les résultats agrégés des quatre études de toxicité pour la reproduction chez les mâles vont tous dans le même sens en termes de perturbation de la spermatogenèse et qu'ils sont corroborés par des résultats obtenus à différents niveaux (histopathologie, paramètres spermatiques, changements hormonaux et changements au niveau des activités enzymatiques ainsi que dans le poids absolu des organes). En intégrant l'ensemble des résultats de ces études de toxicité pour la reproduction chez les mâles, une LOAEL de 10 mg/kg pc/j a été utilisée comme POD. Pourtant, le BfR a souligné que ces études présentent certaines limites :

- l'analyse statistique a été réalisée uniquement sur le poids des organes exprimé en valeur absolue (absence de données sur le poids relatif dans la plupart des cas). Or, le poids absolu des organes n'est jamais un critère optimal pour évaluer les changements de poids des organes en présence de différences de poids corporel entre les groupes. Chez les rats (et même d'autres espèces), le poids absolu de nombreux organes est affecté par la croissance au cours de la vie normale au cours de laquelle les études de toxicité sont menées et de nombreuses études montrent des différences importantes dans les poids absolus de nombre d'organes, par exemple, le foie (Bailey, Zidell et Perry 2004) ;
- les groupes d'animaux sont de petite taille dans certaines études ;
- les résultats histologiques sont cités mais ne sont pas présentés ;
- des incohérences dans les paramètres testiculaires (indice et coefficient testiculaires, indice gonadosomatique) sont présentes dans une des quatre études précitées.

À noter que dans l'étude de 90 jours, une réduction statistiquement significative du poids des épидидymes rapporté au poids du cerveau a été observée à 5 et 50 mg/kg pc/j et du poids absolu à 50 mg/kg pc/j. Néanmoins, Bastaki *et al.* (2018) et l'Efsa n'ont attribué qu'une pertinence toxicologique limitée à ces résultats en raison de la faible réduction, de l'absence de relation dose-effet et de l'absence de modifications histopathologiques probantes. Il faut néanmoins souligner que l'étude de toxicité de 90 jours ne comportait pas d'examen spécifiques de paramètres spermatiques ou des concentrations plasmatiques de LH et de FSH, ces types d'investigations n'étant pas requis de façon systématique dans ces études.

Par ailleurs, une différence importante existe entre les quatre études menées chez l'animal citées précédemment et l'étude de toxicité sur 90 jours utilisée par l'Efsa. Celle-ci tient au fait que dans l'étude de toxicité sur 90 jours, la pipérine a été administrée par l'alimentation,

impliquant des prises multiples de petites quantités réparties tout au long de la journée. En revanche, dans les quatre études de toxicité pour la reproduction chez les mâles, l'administration de pipérine a été faite par gavage, ce qui traduit une administration en bolus pouvant entraîner des concentrations sanguines et/ou tissulaires plus élevées ou une biodisponibilité accrue qui correspond davantage à une exposition induite par la consommation de compléments alimentaires. Le mode d'administration de la pipérine en bolus dans les quatre études citées diffère également : dissoute dans du sérum physiologique (Malini, Manimaran, *et al.* 1999; Malini, Arunakaran, *et al.* 1999), dissoute dans 10 % DMSO dans l'éthanol et huile d'arachide (ratio 1 :1) (D'Cruz et Mathur 2005; D'Cruz *et al.* 2008) ou avec de la carboxyméthylcellulose (Chinta et Periyasamy 2016; Chinta, Coumar et Periyasamy 2017), ce qui pourrait affecter sa biodisponibilité et ses éventuels effets toxiques. À noter que la pipérine n'est pas soluble dans l'eau ($\log Kow = 3,5$) et doit donc être dissoute dans des solvants (DMSO, éthanol, etc.), en particulier à fortes doses, pour être administrée par gavage.

Comme précisé auparavant, dans l'étude de Chinta, Coumar et Periyasamy (2017), les effets indésirables observés sur la reproduction chez les mâles avec des doses quotidiennes répétées de pipérine (bolus) de 10 mg/kg pc étaient réversibles après l'arrêt de la pipérine pendant plusieurs semaines. Néanmoins, la persistance de cette réversibilité avec des administrations de pipérine supérieures à 60 jours et l'extrapolation des résultats à l'Homme ne sont pas connues. Ainsi, les effets observés sur la reproduction paternelle doivent être considérés comme toxicologiquement pertinents et potentiellement préoccupants.

Le mécanisme d'action présumé de la pipérine sur la spermatogenèse et sur les effets qui en découlent au niveau des organes reproducteurs mâles reste indéterminé. Chez les jeunes rats mâles adultes, les dommages causés par le stress oxydant induit par la pipérine sur les cellules testiculaires (cellules de Leydig et de Sertoli) pourraient, selon certains auteurs, être à l'origine d'une diminution de la synthèse de testostérone et d'inhibine impliquées dans le rétrocontrôle négatif sur la synthèse de gonadotrophines (FSH, LH). L'hypothèse d'un stress oxydant induit par la génération accrue d'espèces réactives de l'oxygène et l'épuisement des enzymes antioxydantes (catalase, superoxyde dismutase, glutathion peroxydase et glutathion réductase) dans l'épididyme et le testicule, ainsi que l'activation de l'apoptose dans les cellules germinales testiculaires a été émise comme pouvant contribuer aux effets observés. D'autres hypothèses ont également été discutées (inhibition des CYP450 ou d'autres enzymes impliquées dans la synthèse et la métabolisation des hormones stéroïdes testiculaires, interaction de la pipérine avec le site actif de la protéine SHBG⁷).

Enfin, chez l'Homme, la plupart des études avec des administrations répétées de pipérine incluent également une prise concomitante d'autres substances, afin d'augmenter la biodisponibilité ou l'efficacité de ces dernières. Peu d'études avec des administrations répétées de pipérine et sans administration concomitante d'autres substances ont été réalisées. Aucune des études humaines identifiées n'incluait d'investigations concernant de potentiels effets toxiques de la pipérine sur la reproduction masculine et féminine.

Néanmoins, dans une étude épidémiologique (Piontek *et al.* 2017), une association inverse statistiquement significative a été observée entre les concentrations plasmatiques de

⁷ Sex hormone-binding globulin (globuline liant les hormones sexuelles)

testostérone et celles de pipérine chez des hommes d'âge moyen en bonne santé. Cependant, dans la mesure où une association statistique n'implique pas de causalité, les résultats observés dans cette étude ne permettent donc pas de conclure quant aux effets reprotoxiques masculins.

Concernant le choix du POD de 10 mg/kg pc/j par le BfR, la justification de ce choix serait nécessaire. En effet, des POD plus faibles ont été identifiés (Tableau 2) :

- une LOAEL de 5 mg/kg pc/j issue de l'étude de Chen *et al.* (2018) ;
- une NOAEL de 1 mg/kg pc/j issue des études de D'Cruz (D'Cruz et Mathur 2005; D'Cruz *et al.* 2008). À noter que cette étude a été réalisée sur de faibles effectifs (n = 4/groupe), laissant douter du choix de cette NOAEL comme POD.

Dans ce contexte, le choix de retenir comme effet critique la perturbation de la spermatogenèse après agrégation des résultats de quatre études de toxicité pour la reproduction chez les mâles, peut être considéré comme suffisamment consolidé. Plusieurs hypothèses ont été émises concernant le mode d'action présumé de la pipérine (administrée en bolus) sur la spermatogenèse. Néanmoins, le choix de POD avec une LOAEL à 10 mg/kg pc/j ne semble pas suffisamment argumenté en raison d'effets moindres sur la spermatogénèse mais statistiquement significatifs à 5 mg/kg pc/j. Ces résultats peuvent être considérés comme point d'attention qu'il serait opportun d'investiguer expérimentalement, avec notamment une comparaison des effets toxiques potentiels pour la reproduction (mâles et femelles) de la pipérine, prise isolément, à ceux de la pipérine consommée à dose équivalente dans le poivre.

- **Ajustements allométriques et facteurs d'incertitude**

Les différents organismes recommandent l'application de plusieurs facteurs d'incertitude :

- Facteur d'incertitude inter-espèce (UF_A)

Le DTU et le BfR ont appliqué un UF_A de 10 par défaut. Cet UF_A combine un facteur de 4 pour les différences toxicocinétiques et un facteur de 2,5 pour les différences toxicodynamiques. La composante toxicocinétique peut être réduite à 1 lorsqu'un ajustement allométrique est réalisé. Cependant, ni le DTU, ni le BfR n'ont réalisé d'ajustement allométrique permettant de transformer le POD chez l'animal en POD équivalent chez l'Homme comme le préconise l'Anses (Anses 2017).

- Facteur d'incertitude intra-espèce (UF_H)

Un UF_H de 10 par défaut a été appliqué. Il intègre différents facteurs biologiques tels que le polymorphisme génétique affectant par exemple la toxicocinétique/métabolisme, l'âge, le sexe... Il est reconnu que pour protéger la personne la plus sensible exposée à une substance, il faudrait un facteur d'évaluation par défaut très élevé et on suppose généralement qu'un facteur d'évaluation par défaut de 10 est suffisant pour protéger la plus grande partie de la population, y compris les enfants et les personnes âgées, par exemple.

- Facteur d'incertitude lié à une transposition subchronique à chronique (UF_S)

Le DTU a appliqué un UF_S de 2 permettant de tenir compte des différences entre la durée de l'exposition expérimentale (ici étude subchronique de 90 jours) et la durée d'application de la VTR (ici chronique) contrairement au BfR malgré le fait que les études clés retenues étaient

réalisées sur une durée de 30 à 60 jours. Dans ce cas, l'Anses (2017) recommande l'utilisation d'un UF_L de 3 tandis que l'Efsa (2012) et l'Echa (2012) recommandent un UF_L de 2, en précisant que cela tient compte de l'étendue des investigations habituellement réalisées dans les études de 90 jours.

- Facteur d'incertitude lié à l'usage du POD (UF_L)

Le DTU se fondant sur une NOAEL, un UF_L de 1 a été appliqué conformément à la méthode de l'Anses (2017).

Le BfR a appliqué un facteur d'incertitude de 3 pour tenir compte de l'extrapolation d'une LOAEL à une NOAEL conformément à la méthode de l'Anses (2017).

3.3. Conclusion

Après analyse des VTR et doses critiques disponibles pour la pipérine issues des évaluations de risque menées par les autorités sanitaires de deux États membres, le DTU et le BfR, le choix de retenir comme effet critique les effets sur la cholestérolémie ne semble pas pertinent. Le POD de 5 mg/kg pc/j proposé par le DTU n'est donc pas retenu. En revanche, les effets sur la reproduction chez les mâles semblent pertinents mais devraient être approfondis avec une analyse détaillée de la littérature scientifique. Les choix de l'étude clé et du POD de 10 mg/kg pc/j ne sont pas suffisamment consolidés pour retenir la VTR de 0,033 mg/de kg pc/j proposée par Ziegenhagen *et al.* (2021). Ainsi, le CES VSR recommande donc de construire une nouvelle VTR chronique par voie orale après réalisation d'une synthèse des effets toxiques de la pipérine.

Dr Roger Genet

MOTS-CLÉS

Pipérine, compléments alimentaires, dose journalière tolérable, valeur toxicologique de référence

Piperine, dietary supplements, tolerable daily intake, toxicological reference value

BIBLIOGRAPHIE

- Anses. 2017. *Valeurs toxicologiques de référence. Guide d'élaboration de l'Anses*. Anses (Maisons-Alfort).
- Bailey, S. A., R. H. Zidell et R. W. Perry. 2004. "Relationships Between Organ Weight and Body/Brain Weight in the Rat: What Is the Best Analytical Endpoint?" *Toxicologic Pathology* 32 (4): 448-466. <https://doi.org/10.1080/01926230490465874>.
- Bastaki, M., M. Aubanel, M. Bauter, T. Cachet, J. Demyttenaere, M. M. Diop, C. L. Harman, S. M. Hayashi, G. Krammer, X. Li, C. Llewellyn, O. Mendes, K. J. Renskers, J. Schnabel, B. P. C. Smith et S. V. Taylor. 2018. "Absence of adverse effects following administration of piperine in the diet of Sprague-Dawley rats for 90 days." *Food and Chemical Toxicology* 120: 213-221. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.06.055>.
- Beltoft, V.M. 2019. *Risikovurdering af piperin, 5 mg, i kosttilskud*.
- Bhat, B. G. et N. Chandrasekhara. 1986. "Lack of adverse influence of black pepper, its oleoresin and piperine in the weanling rat." *Journal of Food Safety* 7 (4): 215-223. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.1986.tb00543.x>.
- Chandhoke, N., S. Gupta et S. Dhar. 1978. "Interceptive activity of various species of Piper, their natural amides and semi-synthetic analogs." *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 40 (4): 113-116.
- Chen, X., F. Ge et Q. Lian. 2018. "Piperine promotes pubertal leydig cell development but inhibits spermatogenesis in rats." *Andrology* 6 (60).
- Chen, X., F. Ge, J. Liu, S. Bao, Y. Chen, D. Li, Y. Li, T. Huang, X. Chen, Q. Zhu, Q. Lian et R. S. Ge. 2018. "Diverged effects of piperine on testicular development: Stimulating leydig cell development but inhibiting spermatogenesis in rats." *Frontiers in Pharmacology* 9 (MAR). <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00244>.
- Chinta, G., M. S. Coumar et L. Periyasamy. 2017. "Reversible testicular toxicity of piperine on male albino rats." *Pharmacognosy Magazine* 13 (51): S525-S532. https://doi.org/10.4103/pm.pm_405_16.
- Chinta, G. et L. Periyasamy. 2016. "Reversible Anti-Spermatogenic Effect of Piperine on Epididymis and Seminal Vesicles of Albino Rats." *Drug Research* 66 (8): 420-426. <https://doi.org/10.1055/s-0042-108186>.
- D'Cruz, S. C. et P. P. Mathur. 2005. "Effect of piperine on the epididymis of adult male rats." *Asian Journal of Andrology* 7 (4): 363-368. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2005.00059.x>.
- D'Cruz, S. C., S. Vaithinathan, B. Saradha et P. P. Mathur. 2008. "Piperine activates testicular apoptosis in adult rats." *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 22 (6): 382-388. <https://doi.org/10.1002/jbt.20251>.
- Daware, M. B., A. M. Mujumdar et S. Ghaskadbi. 2000. "Reproductive toxicity of piperine in Swiss albino mice." *Planta Medica* 66 (3): 231-236. <https://doi.org/10.1055/s-2000-8560>.
- Echa. 2012. *Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapter R.8: Characterisation of dose [concentration]-response for human health Reference*.

- Efsa. 2008. "Flavouring Group Evaluation 86, (FGE.86) - Consideration of aliphatic and aromatic amines and amides evaluated by JECFA (65th meeting) - Scientific Opinion of the Panel on Food Additives - Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food." *EFSA Journal* 6 (11). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.745>.
- Efsa. 2011. "Scientific Opinion on Flavouring Group Evaluation 86, Revision 1 (FGE.86Rev1): Consideration of aliphatic and aromatic amines and amides evaluated by JECFA (65th meeting)." *EFSA Journal* 9 (4). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.1926>.
- Efsa. 2012. "Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data." *EFSA Journal* 10 (3). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2579>.
- Efsa. 2015. "Scientific Opinion on Flavouring Group Evaluation 86, Revision 2 (FGE.86Rev2): Consideration of aliphatic and arylalkyl amines and amides evaluated by JECFA (65th meeting)." *EFSA Journal* 13 (1). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.3998>.
- Efsa. 2016. "Safety and efficacy of pyridine and pyrrole derivatives belonging to chemical group 28 when used as flavourings for all animal species." *EFSA Journal* 14 (2). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4390>.
- Hartung, T. 2018. "Rebooting the generally recognized as safe (GRAS) approach for food additive safety in the US." *Altex* 35 (1): 3-25. <https://doi.org/10.14573/altex.1712181>.
- Jecfa. 2005. *Evaluation of certain food additives : sixty-fifth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. World Health Organization (Geneva).
- Jecfa. 2006. *Safety evaluation of certain food additives and contaminants / prepared by the sixty-fifth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)*. World Health Organization (Geneva).
- Malini, T., J. Arunakaran, M. M. Aruldas et P. Govindarajulu. 1999. "Effects of piperine on the lipid composition and enzymes of the pyruvate-malate cycle in the testis of the rat in vivo." *Biochemistry and Molecular Biology International* 47 (3): 537-545. <https://doi.org/10.1080/15216549900201573>.
- Malini, T., R. R. Manimaran, J. Arunakaran, M. M. Aruldas et P. Govindarajulu. 1999. "Effects of piperine on testis of albino rats." *Journal of Ethnopharmacology* 64 (3): 219-225. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00128-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00128-7).
- Piontek, U., H. Wallaschofski, G. Kastenmüller, K. Suhre, H. Völzke, K. Trinh Do, A. Artati, M. Nauck, J. Adamski, N. Friedrich et M. Pietzner. 2017. "Sex-specific metabolic profiles of androgens and its main binding protein SHBG in a middle aged population without diabetes." *Scientific Reports* 7 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02367-y>.
- Piyachaturawa, P. et C. Pholpramool. 1997. "Enhancement of fertilization by piperine in hamsters." *Cell Biology International* 21 (7): 405-409. <https://doi.org/10.1006/cbir.1997.0167>.
- Piyachaturawat, P., T. Glinsukon et P. Peugvicha. 1982. "Postcoital antifertility effect of piperine." *Contraception* 26 (6): 625-633. [https://doi.org/10.1016/0010-7824\(82\)90137-8](https://doi.org/10.1016/0010-7824(82)90137-8).
- VKM. 2016. *Risk assessment of "other substances"- Piperine. Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids, Materials in Contact with Food and Cosmetics of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety*. (Oslo, Norway).
- Vrolijk, M., H. Deluyker, A. Bast et A. de Boer. 2020. "Analysis and reflection on the role of the 90-day oral toxicity study in European chemical risk assessment." *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 117. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2020.104786>.
- Ziegenhagen, R., K. Heimberg, A. Lampen et K. I. Hirsch-Ernst. 2021. "Safety aspects of the use of isolated piperine ingested as a bolus." *Foods* 10 (9). <https://doi.org/10.3390/foods10092121>.

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2022). Note d'AST relative à l'apport journalier acceptable en pipérine. (2021-AST-0076). Maisons-Alfort : Anses, 19 p.