



Maisons-Alfort, le 11 juillet 2008

AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
relatif à l'évaluation du rapport d'évaluation initial établi par les autorités
irlandaises concernant la mise sur le marché d'un nouvel ingrédient, une huile
enrichie en acide linoléique conjugué (CLA) dans le cadre du règlement
258/97/CE**

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 11 juin 2008 d'une demande d'évaluation du rapport d'évaluation initial établi par les autorités irlandaises concernant la mise sur le marché d'un nouvel ingrédient, une huile enrichie en acide linoléique conjugué (CLA) dans le cadre du règlement 258/97/CE.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Nutrition humaine » réuni le 3 juillet 2008, l'Afssa rend l'avis suivant :

Le rapport d'évaluation initial du nouvel ingrédient (NI) a été rédigé par la Food Safety Authority of Ireland (FSAI).

Le NI est fabriqué à partir de l'huile de graines de carthame (*Carthamus tinctorius*), qui, après transformation industrielle, permet d'obtenir une huile enrichie en acide linoléique conjugué (CLA). Le NI est composé pour 78 % d'isomères de CLA totaux et pour 74 % du mélange équimolaire des isomères 9c,11t et 10t,12c. Le mélange d'isomères contenu dans le NI a un historique de consommation en Europe exclusivement sous forme de compléments alimentaires. Le pétitionnaire souhaite utiliser le NI dans des boissons (jus, boissons lactées), des produits céréaliers et des compléments alimentaires. Il propose une utilisation à la dose de 1,5 g de CLA par portion et envisage une consommation journalière totale de 3 g de CLA apportés par le NI, soit 2 portions d'aliments enrichis.

Concernant les spécifications du NI

Le NI est composé en majorité ($\geq 74\%$) d'un mélange 50:50 des isomères 9c,11t et 10t,12c. Les autres acides gras *trans* (C16 à C22, non conjugués) représentent moins de 2 % du NI. Selon la FSAI, les teneurs de contaminants, analysés par un laboratoire indépendant, sont inférieures aux limites réglementaires.

Concernant l'effet du procédé de fabrication appliqué au NI

Le pétitionnaire décrit le procédé de fabrication du NI qui consiste en une série de réactions enzymatiques dont une hydrolyse, une isomérisation et une estérification. Un système de contrôle HACCP a été mis en place et des tests sont réalisés à chaque étape de la production du NI.

Concernant l'utilisation antérieure de l'organisme utilisé comme source du NI

Le carthame (*Carthamus tinctorius*) est une plante bien caractérisée dont l'utilisation en alimentation est ancienne et répandue. Seule l'huile issue des graines est utilisée en Europe pour la cuisson, l'assaisonnement et la coloration des plats.

Concernant la consommation et le niveau d'utilisation prévus du NI

Les CLA sont des isomères de l'acide linoléique, présents à des taux très faibles dans l'alimentation (principalement dans la viande et le lait) et dont 90 % correspondent à l'isomère 9c,11t. D'après une évaluation de l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (Aesa, 2004), les apports de CLA totaux issus de l'alimentation sont en moyenne de 0,3 g/jour en Europe.

Le pétitionnaire envisage une utilisation du NI à la dose de 1,5 g de CLA par portion avec un objectif de consommation de 3 g de CLA par jour. Il indique que les aliments enrichis avec le NI sont destinés spécifiquement aux adultes en surpoids, dans le cadre d'un programme de contrôle du poids.

La FSAI remarque que les apports de CLA issus du NI sont inférieurs aux apports rapportés en Espagne par les suivis post-commercialisation de produits contenant des CLA, pouvant atteindre 6 g de CLA par jour.

Le pétitionnaire identifie toutefois des populations à risque, notamment en lien avec des pathologies cardiovasculaires, des situations d'insulino-résistance ou lors d'une période de lactation. Il a donc été convenu avec la FSAI que l'étiquetage des produits contenant le NI indique que les femmes enceintes ou allaitantes et les enfants de moins de 5 ans ne doivent pas consommer le produit.

Concernant les informations fournies par une exposition humaine antérieure au NI ou à sa source

Le carthame a un historique de consommation répandu dans le monde, et notamment en Europe sous forme d'huile.

Les consommations de CLA d'origine alimentaire ont été estimées en Europe à 0,3 g/j par l'Aesa en 2004, ce qui est proche de résultats obtenus en Allemagne et en Finlande.

La FSAI remarque que les CLA naturellement présents dans l'alimentation sont majoritairement représentés par l'isomère 9c,11t, tandis que les CLA du NI sont un mélange équimolaire des isomères 9c,11t et 10t,12c.

L'Afssa indique qu'en France, les apports moyens de CLA d'origine alimentaires ont été estimés en 2005 à 0,2 g/j chez l'homme et 0,17 g/j chez la femme.

Concernant les informations d'ordre nutritionnel sur le NI

Le NI est composé à 100 % de lipides, dont 7 % d'acides gras saturés, 12 % d'acides gras monoinsaturés et 80 % d'acides gras polyinsaturés. Le pétitionnaire prévoit que l'utilisation du NI se substitue partiellement aux lipides de l'alimentation, et représenterait en moyenne un apport quotidien de 5 g de lipides.

Concernant les informations d'ordre microbiologique sur le NI

De nature exclusivement lipidique (< 0,1% d'eau), le NI n'est pas sujet au développement microbien, ce qui est confirmé par les résultats d'analyses transmis par le pétitionnaire.

La description du NI et de sa source, le procédé de fabrication, les informations nutritionnelles et microbiologiques rapportées par la FSAI n'appellent pas de remarque de l'Afssa.

Concernant les informations d'ordre toxicologique sur le NI

La FSAI adhère à l'argumentaire du pétitionnaire qui considère que les modèles animaux, et en particulier les rongeurs, ne sont pas pertinents pour évaluer les risques toxicologiques liés à la consommation de lipides, en raison de différences métaboliques. La lipogénèse est en effet essentiellement hépatique chez l'homme, tandis que 2 voies de stockage des lipides existent chez le rongeur. La FSAI accepte donc que seules les études cliniques soient prises en compte dans l'évaluation toxicologique du NI, mais présente néanmoins dans son rapport d'évaluation initial les résultats d'études sur modèle animal.

Selon la FSAI, les paramètres d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion du NI sont proches de ceux d'autres acides gras. L'absorption intestinale du NI est suivie d'une distribution dans les lipides plasmatiques, le lait et le tissu adipeux, où les CLA sont métabolisés par oxydation et désaturation.

Les résultats concernant la toxicité sur modèle animal, fournis par le pétitionnaire, sont peu nombreux. La dose létale 50 (DL₅₀) du NI a été estimée chez le rat à 3 g/kg de poids corporel (pc).

Dans une étude réalisée pendant 13 semaines chez le rat nourri avec un mélange de CLA analogue au NI, la « no observed adverse effect level » (NOAEL) a été fixée à 2433 mg/kg pc/j chez le mâle et 2728 mg/kg pc/j chez la femelle.

Le pétitionnaire rapporte par ailleurs des modifications du métabolisme lipidique, une toxicité hépatique et une modification des acides gras du foie observées chez la souris. Il considère cependant que cette espèce ne représente pas un bon modèle d'étude du métabolisme lipidique. Aucune mutagénicité n'est rapportée avec le NI.

Aucun effet toxique de type carcinogène n'a été observé dans le cadre d'une étude de 18 mois chez le rat dont le régime était supplémenté avec 1 % de CLA (42 % 9c,11t et 44 % 10t,12c).

L'absence d'effet sur la reproduction et la descendance a été montrée chez le rat et le porc à des doses comprises entre 0,25 % et 2 % de CLA dans le régime.

La FSAI note que les CLA peuvent modifier le métabolisme lipidique avec des conséquences sur la composition corporelle et d'éventuels effets antiathérogènes, anticancéreux et immunomodulateurs. Elle regrette l'absence d'étude de toxicité chronique de qualité chez l'animal mais accepte les arguments du pétitionnaire qui s'appuie sur l'absence d'étude de ce type pour la plupart des nouveaux aliments mis sur le marché en Europe, notamment les huiles, et sur la supériorité des études cliniques humaines pour établir l'absence de toxicité.

La FSAI considère que le risque allergique est faible, compte-tenu de l'absence de protéine allergisante dans la plante d'origine et des résultats d'essais cliniques conduits avec le NI.

Enfin, la FSAI analyse les essais cliniques réalisés avec des mélanges d'isomères 50:50 comparables à ceux présents dans le NI.

La FSAI relève qu'aucun effet toxique et aucune modification des paramètres liés au métabolisme glucido-lipidique n'est observé pour des doses allant jusqu'à 6 g par jour de CLA, sur le court terme comme sur le long terme (2 ans).

Dans une étude réalisée par le pétitionnaire, en cours de publication, les résultats suggèrent que la consommation de CLA entraîne une augmentation de l'excrétion urinaire des isoprostanes, reflétant une augmentation de leur libération plutôt qu'une augmentation de leur production. La FSAI considère toutefois que les isoprostanes ne constituent pas un marqueur pertinent du stress oxydant.

La FSAI juge les effets sur l'immunité et les fonctions vasculaires, la coagulation et les fonctions plaquettaires non significatifs. Les effets des CLA sur la redistribution de la masse maigre et de la masse grasse sont considérés comme neutres ou éventuellement en faveur de la masse maigre.

Les effets des CLA chez la femme allaitante étant contradictoires, la FSAI recommande que l'étiquetage des produits contenant le NI permette d'éviter la consommation du NI par les femmes enceintes ou allaitantes et par les enfants de moins de cinq ans. Au terme de son évaluation, la FSAI est favorable à l'utilisation du NI, sous réserve que l'étiquetage respecte les mentions évoquées ci-dessus.

L'évaluation des données toxicologiques sur le NI figurant dans le rapport d'évaluation initial appelle les commentaires suivants de l'Afssa :

Concernant les études prises en compte dans cette analyse, la littérature montre que la souris est plus sensible que le rat à la composition en lipides des régimes (Schemmel et al, 1970 ; Collins et al, 2004). Or chez la souris, l'administration de régimes supplémentés à 1 % de CLA entraîne une disparition totale de la masse adipeuse associée à une hypertrophie et une stéatose hépatiques. Cet effet existe également chez le rat, mais de manière moins marquée, avec des modifications du métabolisme lipidique (Azain et al, 2000 ; Poulos et al, 2001).

L'Afssa estime que l'évaluation toxicologique du NI ne peut occulter les effets observés chez la souris, modèle plus sensible au régime que le rat, dont les études sont utilisées par le pétitionnaire pour étayer son argumentaire.

Par ailleurs, les résultats des études cliniques mettant en évidence des effets délétères ou bénéfiques des CLA sur divers paramètres sont contradictoires et controversés.

Il n'existe pas de consensus concernant l'effet des CLA sur la sensibilité à l'insuline. Les études montrent en effet soit une diminution (Thrush et al, 2007 ; Risérus et al, 2004), soit une absence d'effet (Larsenet al, 2006 ; Syvertsen et al, 2007), soit une augmentation (Eyjolfson, 2004 ; Lambert, 2007).

Concernant l'effet des CLA sur le métabolisme des lipides et des lipoprotéines, des études montrent l'absence d'effet des CLA sur le bilan lipidique (Smedman et Vessby, 2001 ; Benito et al, 2001 ; Desroches et al, 2005 ; Nauman et al, 2006), tandis que d'autres concluent à une légère

amélioration, traduite par une augmentation de la concentration de HDL cholestérol pouvant conduire à une diminution du rapport LDL/HDL (Moloney et al, 2004) ou par une diminution de la concentration de cholestérol total ou LDL (Lambert et al, 2007). Une diminution de la concentration de HDL cholestérol a également été observée dans l'étude de Lambert et al (2007). Bien que l'on dispose de peu d'informations à ce sujet, il semblerait que les isomères 9c,11t et 10t,12c aient des effets opposés sur le bilan lipidique, entraînant respectivement une diminution et une augmentation du rapport LDL/HDL (Tricon et al, 2004).

Les CLA induisent un stress oxydant *in vitro* par un mécanisme dépendant au moins partiellement de PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor) (Stachowska et al, 2008), observation confirmée par plusieurs études cliniques. Dans l'étude de Riserus et al (2002) réalisée contre placebo, une augmentation d'un facteur 6 de l'excrétion urinaire du 8-iso-PGF 2α (isoprostanes), considéré comme un marqueur de l'oxydation *in vivo*, a été observée, parallèlement à une augmentation d'un facteur 2 de l'inflammation, évaluée par la mesure du taux de C-Reactive Protein. L'isomère t10,c12 a été identifié comme étant à l'origine de cet effet pro-oxydant.

Dans une seconde étude, cet effet a été associé à une détérioration de la fonction endothéliale (Taylor et al, 2006).

Concernant les effets sur le poids, les résultats sont controversés et l'éventuelle perte de poids reste négligeable (Terpstra, 2004 ; Quignard-Boulangé et al, 2007). Seule l'étude de Gaullier et al (2004 ; 2005) montre une perte de 5 % de la masse grasse au bout d'un an de consommation, sans évolution 2 ans plus tard. De plus, l'intérêt des CLA dans la prévention du rebond d'obésité après perte de poids n'a pas été démontré (Larsen et al, 2006).

Enfin, l'analyse toxicologique du NI se limite aux études réalisées avec le mélange 50:50 des deux isomères de CLA et ne considère pas les études menées sur les isomères seuls soit 9c,11t, soit 10t,12c. Or, dans son rapport sur les acides gras *trans* (Afssa, 2005), l'Afssa estimait que : « les travaux montrant l'innocuité de mélanges équipondéraux de 18 :2 9c,11t et 18 :2 10t, 12c ne peuvent oblitérer les résultats obtenus sur le 18 :2 10t,12c. L'argument selon lequel il existerait un masquage des effets de l'un des produits par les effets de l'autre paraît difficilement recevable. »

Ainsi, compte tenu des risques potentiels liés à l'utilisation du mélange de CLA contenu dans le NI et compte-tenu du manque de données cohérentes sur l'intérêt du NI, l'Afssa estime que l'avis favorable de la FSAI à l'utilisation du NI dans l'alimentation courante ne peut être suivi dans l'état actuel des connaissances.

La Directrice Générale

Pascale BRIAND

Mots clés

Novel food, huile, carthame, évaluation secondaire, isomère, acide linoléique

Références bibliographiques

AESA (2004) Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the presence of trans fatty acids in foods and the effect on human health of the consumption of trans fatty acids (Request N° EFSA-Q-2003-022), adopted on 8 July 2004. The EFSA Journal 81, 1-49.

Afssa (2005) Risques et bénéfices pour la santé des acides gras trans apportés par l'alimentation.

Azain MJ, Hausman DB, Sisk MB, Flatt WP, Jewell DE (2000) Dietary conjugated linoleic acid reduces rat adipose tissue cell size rather than cell number. J Nutr, 130, 1548-1554.

Benito P, Nelson GJ, Kelley DS, Bartolini G, Schmidt PC, Simon V (2001) The effect of conjugated linoleic acid on plasma lipoproteins and tissue fatty acid composition in humans. Lipids, 36, 229-236.

- Collins S, Martin TL, Surwit RS, Robidoux J (2004) Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics. *Physiology & Behavior*, 81, 243-248.
- Desroches S, Chouinard PY, Galibois I, Corneau L, Delisle J, Lamarche B, Couture P, Bergeron N (2005) Lack of effect of dietary conjugated linoleic acids naturally incorporated into butter on the lipid profile and body composition of overweight and obese men. *Am J Clin Nutr*, 82, 309-319.
- Diaz ML, Watkins BA, Li Y, Anderson RA, Campbell WW (2008) Chromium picolinate and conjugated linoleic acid do not synergistically influence diet- and exercise-induced changes in body composition and health indexes in overweight women. *J Nutr Biochem*, 19, 61-68.
- Eyjolfson V, Spriet LL, Dyck DJ (2004) Conjugated linoleic acid improves insulin sensitivity in young, sedentary humans. *Med Sci Sports Exerc*, 36, 814-820.
- Gaullier JM, Halse J, Høye K, Kristiansen K, Fagertun H, Vik H, Gudmundsen O (2004) Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y reduces body fat mass in healthy overweight humans. *Am J Clin Nutr*, 79, 1118-1125.
- Gaullier JM, Halse J, Høye K, Kristiansen K, Fagertun H, Vik H, Gudmundsen O (2005) Supplementation with conjugated linoleic acid for 24 months is well tolerated by and reduces body fat mass in healthy, overweight humans. *J Nutr*, 135, 778-784.
- Kelly GS (2006) Conjugated linoleic acid: a review. *Altern Med Rev*, 6, 367-382.
- Lambert EV, Goedecke JH, Bluett K, Heggie K, Claassen A, Rae DE, West S, Dugas J, Dugas L, Meltzeri S, Charlton K, Mohede I (2007) Conjugated linoleic acid versus high-oleic acid sunflower oil: effects on energy metabolism, glucose tolerance, blood lipids, appetite and body composition in regularly exercising individuals. *Br J Nutr*, 97, 1001-1011.
- Larsen TM, Toubro S, Gudmundsen O, Astrup A (2006) Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y does not prevent weight or body fat regain. *Am J Clin Nutr*, 83, 606-612.
- Moloney F, Yeow TP, Mullen A, Nolan JJ, Roche HM (2004) Conjugated linoleic acid supplementation, insulin sensitivity, and lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*, 80, 887-895.
- Naumann E, Carpentier YA, Saebo A, Lassel TS, Chardigny JM, Sébédio JL, Mensink RP, FunCLA Study Group (2006) Cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) do not affect the plasma lipoprotein profile in moderately overweight subjects with LDL phenotype B. *Atherosclerosis*, 188, 167-174.
- Poulos SP, Sisk M, Hausman DB, Azain MJ, Hausman GJ (2001) Pre- and postnatal dietary conjugated linoleic acid alters adipose development, body weight gain and body composition in Sprague-Dawley rats. *J Nutr* 131, 2722-2731.
- Quignard-Boulangé A, Clouet P, Schmitt B (2007) Effects of dietary conjugated linoleic acids in the control of adiposity and obesity-related disorders. *Eur J Lipid Sci Technol*, 109, 935-945.
- Risérus U, Berglund L, Vessby B (2001) Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: a randomised controlled trial. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 25, 1129-1135
- Risérus U, Basu S, Jovinge S, Fredrikson GN, Arnlov J, Vessby B (2002) Supplementation with conjugated linoleic acid causes isomer-dependent oxidative stress and elevated C-reactive protein: A potential link to fatty acid-induced insulin resistance. *Circulation*, 106, 1925-1929.
- Risérus U, Vessby B, Arnlov J, Basu S (2004) Effects of cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid supplementation on insulin sensitivity, lipid peroxidation, and proinflammatory markers in obese men. *Am J Clin Nutr*, 80, 279-283.
- Risérus U, Vessby B, Arner P, Zethelius B (2004b) Supplementation with trans10cis12- conjugated linoleic acid induces hyperproinsulinaemia in obese men: close association with impaired insulin sensitivity. *Diabetologia*, 47, 1016-1019.
- Schemmel R, Mickelsen O, Gill JL (1970) Dietary obesity in rats: body weight and body fat accretion in seven strains of rats. *J Nutr*, 100, 1041-1048.
- Smedman A, Vessby B (2001) Conjugated linoleic acid supplementation in humans metabolic effects. *Lipids*, 36, 773-781.
- Syvrtsen C, Halse J, Høivik HO, Gaullier JM, Nurminiemi M, Kristiansen K, Einerhand A, O'Shea M, Gudmundsen O (2007) The effect of 6 months supplementation with conjugated linoleic acid on insulin resistance in overweight and obese. *Int J Obes*, 31, 1148-1154.
- Taylor JS, Williams SR, Rhys R, James P, Frenneaux MP (2006) Conjugated linoleic acid impairs endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 26, 307-312.
- Terpstra AH (2004) Effect of conjugated linoleic acid on body composition and plasma lipids in humans: an overview of the literature. *Am J Clin Nutr*, 79, 352-361.
- Thrush AB, Chabowski A, Heigenhauser GJ, McBride BW, Or-Rashid M, Dyck DJ (2007) Conjugated linoleic acid increases skeletal muscle ceramide content and decreases insulin sensitivity in overweight, non-diabetic humans. *Appl Physiol Nutr Metab*, 32, 372-382.

Tricon S, Burdge GC, Kew S, Banerjee T, Russell JJ, Jones EL, Grimble RF, Williams CM, Yaqoob P, Calder PC (2004) Opposing effects of cis-9,trans-11 and trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. *Am J Clin Nutr*, 80, 614-620.

Turpeinen AM, Ylönen N, von Willebrand E, Basu S, Aro A (2008) Immunological and metabolic effects of cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid in subjects with birch pollen allergy. *Br J Nutr*, 100, 112-119.

Wahle KW, Heys SD, Rotondo D (2004) Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Prog Lipid Res*, 43, 553-587.