

ELEMENTS DE REFLEXION PROPOSES EN VUE DE LA REVISION DES LIGNES DIRECTRICES POUR L'EVALUATION DES ADDITIFS DESTINES A L'ALIMENTATION ANIMALE

EFFICACITE DES ADDITIFS CHEZ LES ANIMAUX D'ELEVAGE, DE COMPAGNIE ET DE LOISIRS

6 janvier 2005

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

Le présent document est destiné à apporter des éléments de réflexion à l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA) dont la consultation par la Commission Européenne est prévue pour établir des lignes directrices spécifiques pour l'autorisation des additifs destinés à l'alimentation des animaux (Règlement CE 1831/2003, article 7, point 5). Il concerne l'évaluation de l'efficacité des additifs chez les animaux d'élevage, de compagnie et de loisirs et se fonde sur l'expertise du Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale » de l'Afssa à travers l'évaluation des dossiers industriels.

Selon l'article 5 du règlement CE 1831/2003, l'autorisation d'un additif pour l'alimentation animale n'est accordée que si le demandeur démontre de manière adéquate et suffisante que l'additif concerné a au moins une des caractéristiques visées au paragraphe 3 du même article, relatif aux exigences positives.

Le présent document propose des améliorations et des précisions pour guider l'évaluation de 4 des 5 catégories définies à l'article 6 du règlement :

- additifs sensoriels ;
- additifs nutritionnels ;
- additifs zotechniques ;
- coccidiostatiques et histomonostatiques.

Les additifs technologiques n'ont pas fait l'objet d'observations particulière.

1 OBJECTIFS

1. Définir les critères d'expérimentation pertinents pour valider les allégations relatives aux quatre catégories d'additifs retenues.
2. Etablir un cadre méthodologique pour la conduite des essais.

2 TEXTES DE REFERENCES

1. Règlement (CE) N°1831/2003 du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2003 relatif aux additifs destinés à l'alimentation animale.
2. Directive 2001/79/CE du 17 septembre 2001 fixant les lignes directrices pour l'évaluation des additifs en alimentation animale
3. Guidelines for the assessment of additives in feedingstuffs. Part II. Enzymes and microorganisms (SCAN)

3 ADDITIFS ZOOTECHNIQUES, SENSORIELS ET NUTRITIONNELS

3.1 Principes généraux

Selon l'article 7, point 5 du règlement, les lignes directrices peuvent être spécifiques à chaque catégorie d'additif. Dans tous les cas, les protocoles expérimentaux présentés doivent permettre d'apporter une démonstration adéquate de l'efficacité de l'additif, par un choix de critères et de types d'étude pertinents compte tenu des espèces et productions animales cibles. Cette démonstration doit être suffisante, c'est-à-dire respecter les exigences de l'interprétation statistique et reposer sur un nombre d'essais suffisants. Afin de préciser le niveau de démonstration attendu, ils nous apparaît que ces protocoles devraient répondre aux principes généraux suivants :

- Ils sont mis en œuvre dans des pays de l'Union européenne (au minimum deux pays différents, dont au moins un grand pays producteur) dans des conditions représentatives de la situation d'élevage la plus courante, ou dans des pays tiers si les conditions d'élevage y sont équivalentes. Les études sont réalisées sur les espèces cibles et les catégories d'animaux auxquelles l'additif est destiné ;

- Au moins trois études démontrant l'efficacité de l'additif sont nécessaires. Lorsqu'il n'est pas possible de disposer de trois essais significatifs et quand le nombre d'essais disponibles est supérieur à 3, il est recommandé de faire une méta-analyse sur la totalité des essais. Dans le cas d'une fourchette de doses recommandées, trois essais significatifs doivent être présentés pour la dose minimale. La dose maximale doit être justifiée par le pétitionnaire. Pour les extensions d'autorisation à des espèces mineures dont la démonstration de l'efficacité a été faite chez l'espèce majeure correspondante (si elle existe), un seul test d'efficacité peut être considéré comme suffisant. Pour les espèces mineures qui ne peuvent être associées à des espèces majeures, au moins trois essais démontrant l'efficacité des additifs devront être effectués ;

- Les protocoles expérimentaux doivent être en adéquation avec les objectifs à atteindre et permettre une interprétation sur le plan statistique. Une attention particulière est apportée aux techniques de mise en lot, à la distribution normale des résidus d'analyse, au nombre de répétitions, à la présence de lot(s) témoin(s), et à la prise en compte des risques de 1^{ère} et 2^{ème} espèce. Ils doivent être suffisamment sensibles pour la mise en évidence de l'efficacité de l'additif (risque α de 1^{ère} espèce, $P < 0.05$ dans le cas général et $P < 0.10$ chez les ruminants et les chevaux) et de puissance statistique suffisante afin de s'assurer que le dispositif expérimental est en adéquation avec l'objectif de travail. Le risque β de 2^{ème} espèce doit être inférieur ou égal à 20 % dans le cas général et de 25 % dans le cas des expérimentations avec ruminants ou chevaux, d'où une puissance $(1 - \beta)$ supérieure ou égale à 80 % (75 % dans le cas de ruminants et les chevaux).

- Les durées des expérimentations ont été définies dans les "Guidelines for the assessment of additives in feedingstuffs. Part II. Enzymes and microorganisms", SCAN oct 2001. Aux catégories d'animaux d'élevage citées dans ces lignes directrices, il convient de rajouter les brebis laitières (au moins deux mois de durée pour les tests d'efficacité) et les chèvres laitières (au moins 3 mois de durée pour les tests d'efficacité).

3.2 Exigences relatives à l'efficacité

3.2.1 Additifs zootechniques

L'article 6, point 1, du règlement définit les additifs zootechniques comme les additifs utilisés pour influencer favorablement les performances des animaux en bonne santé ou l'environnement. Au sein de cette catégorie, les additifs sont répartis dans un ou plusieurs groupes fonctionnels mentionnés à l'annexe I du règlement selon leur(s) fonction(s) principale(s). Le point 4 de l'annexe I énumère les 4 groupes fonctionnels appartenant à la catégorie des « additifs zootechniques » :

1. Améliorateurs de digestibilité : substances qui, utilisées dans l'alimentation animale, renforcent la digestibilité du régime alimentaire, par leur action sur certaines matières premières pour aliments des animaux ;

2. Stabilisateurs de la flore intestinale micro-organismes ou autres substances chimiquement définies qui utilisés dans l'alimentation animale ont un effet bénéfique sur la flore intestinale¹ ;
3. Substances qui ont un effet positif sur l'environnement² ;
4. Autres additifs zootechniques.

Cette quatrième catégorie ouvre la voie à l'identification de groupes fonctionnels supplémentaires, comme l'autorise l'article 6, point 3 du règlement. Il est proposé de définir quatre groupes fonctionnels supplémentaires :

1. Substances qui ont un effet positif sur la production ou le rendement des animaux³ ;
2. Améliorateurs de l'état sanitaire de l'élevage ;
3. Agents de prévention de toxicité ;
4. Substances qui ont un effet positif sur l'une des composantes du bien-être des animaux⁴.

Pour chaque groupe fonctionnel, un ensemble de critères d'efficacité a été défini (tableau 1). Pour les groupes "Améliorateurs de digestibilité", "Stabilisateur de la flore gastro-intestinale", "Améliorateurs de l'état sanitaire de l'élevage" et "Agents de prévention de toxicité", au moins un essai significatif portant sur les performances des animaux (production ou rendement) est demandé. Les deux autres essais significatifs peuvent porter sur les modes d'action plus spécifiques des additifs (groupe fonctionnel). Les méthodes mises en œuvre doivent être reconnues et validées.

3.2.2 Additifs sensoriels

Selon l'article 6, point 1, b) cette catégorie regroupe toutes les substances qui ajoutées à l'alimentation animale, améliorent ou modifient les propriétés organoleptiques des aliments pour animaux ou les caractéristiques visuelles des denrées alimentaires issues d'animaux.

Elle comprend deux groupes fonctionnels définis selon l'annexe I, point 2 du règlement par les allégations suivantes :

- Colorants : ce groupe comprend trois types de substances : celles qui ajoutent ou redonnent de la couleur à des aliments pour animaux, celles qui, utilisées dans l'alimentation animale, ajoutent de la couleur à des denrées alimentaires d'origine animale (lait, œuf..) ou celles qui ont un effet positif sur la couleur des poissons ou oiseaux d'ornement ;
- Substances aromatiques : substances qui, ajoutées à un aliment pour animaux, en modulent l'odeur et la palatabilité.

Il est proposé des critères de démonstration de l'efficacité de ces additifs ainsi que le nombre et les conditions de réalisation des essais présentés dans le tableau 2.

3.2.3 Additifs nutritionnels

La définition de cette catégorie n'est pas indiquée dans l'article 6 du règlement. Elle correspond aux additifs qui répondent aux besoins nutritionnels des animaux (article 5, point 3, d). Elle comprend quatre groupes fonctionnels énumérés à l'annexe I, point 3, à savoir les vitamines, provitamines et substances à effet analogue chimiquement bien définies, les composés d'oligo-éléments, les acides aminés, leurs sels et produits

¹ A noter que le règlement cite les termes de « flore gastro-intestinale » dans son article 5, point 3, f. Il serait plus judicieux d'utiliser les termes d'écosystème microbien digestif. Le point 2 pourrait être rédigé ainsi : « 2. Modulateurs de l'écosystème microbien digestif : micro-organismes ou autres substances chimiquement définies qui, utilisés dans l'alimentation animale, ont un effet bénéfique sur cet écosystème et/ou les performances zootechniques de l'animal

² Ceci peut recouvrir deux notions : l'environnement de l'animal (ce qui est plutôt en rapport avec son bien-être) ou le fait que l'additif a un effet positif sur les conséquences environnementales de la production animale (article 5, point 3, e) du règlement).

³ Effet cité dans l'article 5, point 3, f) du règlement.

⁴ Effet cité dans l'article 5, point 3, f) du règlement.

analogues et l'urée et ses dérivés. Il est proposé pour cette catégorie d'additifs, les critères d'efficacité indiqués dans le tableau 3.

4 ADDITIFS COCCIDIOSTATIQUES ET HISTOMONOSTATIQUES

4.1. Additifs coccidiostatiques

Les lignes directrices définies dans la directive 2001/79 sont satisfaisantes pour l'évaluation des additifs coccidiostatiques. Toutefois, les précisions suivantes peuvent être apportées.

- Les espèces de coccidies contrôlées doivent être précisées, alors que les stades du cycle de développement concernés et les mécanismes d'action peuvent être précisés s'ils sont connus, sans que des études sur ce point soient indispensables.

- Les études en batteries et en parquets avec infection expérimentale contrôlée sont indispensables pour la démonstration de l'efficacité. Dans ces essais, des mesures des paramètres sanitaires doivent être effectuées au moment de la période symptomatique critique du cycle du développement parasitaire (*Ainsi les observations lésionnelles doivent être faites 5 à 8 jours après l'infection expérimentale (en fonction des espèces de coccidies étudiées) sur des effectifs suffisants pour permettre d'effectuer des comparaisons pertinentes entre les lots expérimentaux. Des mesures de poids et d'indice de consommation doivent également être effectuées pendant cette période symptomatique.*)

- L'excrétion d'oocystes devrait être un critère secondaire et être pris en considération uniquement pour renforcer les éléments plus pertinents en faveur de l'efficacité, à savoir la morbidité, la mortalité (valable uniquement avec certaines espèces) et la notation des lésions du tube digestif. En effet, ce critère est dépendant des espèces de coccidies, et lors d'essais avec plusieurs espèces, l'impact de l'additif pouvant être différent sur les espèces de coccidies, le nombre d'oocystes excrétés n'est pas pertinent pour juger de l'efficacité. *Exemple : E. acervulina a un fort potentiel de multiplication, mais elle est moyennement pathogène. E. necatrix a un très faible potentiel de multiplication, mais elle est très pathogène. Si l'inoculum contient ces deux espèces, et que l'additif est efficace sur E. acervulina mais pas sur E. necatrix, il sera observé une forte réduction de l'excrétion d'oocystes (ceux d'E. acervulina) mais les symptômes et lésions engendrés par E. necatrix seront identiques à ceux observés chez les témoins infectés non supplémentés. La réduction de l'excrétion d'oocystes ne montre pas, dans ce cas, l'efficacité vis-à-vis d'E. necatrix alors qu'elle semble révéler une efficacité globale sur les coccidies inoculées.*

- Les essais en conditions du terrain complètent les essais en batteries et en parquets, mais ils n'apportent pas de démonstration de l'efficacité de l'additif (*En absence d'infection expérimentale dans les conditions du terrain, il est impossible de conclure qu'il y aurait eu une coccidiose (clinique ou subclinique) sans l'additif, même si la présence de coccidies a été démontrée dans le ou les bâtiments suivis. En effet, même si des espèces très pathogènes de coccidies sont présentes dans un bâtiment, elles peuvent n'avoir aucun effet sur les oiseaux, sachant que la quantité d'oocystes peut être insuffisante pour engendrer des troubles et que les conditions environnementales ou le statut sanitaire des oiseaux peuvent réduire l'impact des coccidies présentes.*)

- Les essais en batteries et en parquets effectués avec des mélanges de plusieurs espèces de coccidies peuvent être controversés. Il est conseillé d'effectuer des essais, en batterie tout au moins, avec des infections monospécifiques, afin de démontrer l'efficacité de l'additif vis-à-vis de chacune des espèces de coccidies visées par la demande d'autorisation. En effet, lors d'efficacité partielle⁵ sur les performances des oiseaux, il sera difficile de différencier les espèces contrôlées par l'additif de celles qui ne le sont pas.

⁵ L'efficacité est partielle quand les performances du lot suivi sont significativement différentes de celles des lots témoin non infecté et témoin infecté. Le produit permet de limiter les effets néfastes du développement coccidien, mais pas de les faire disparaître. Dans ce cas et si plusieurs espèces de coccidies ont servi à l'infection expérimentale, le produit est susceptible d'être totalement efficace sur une ou plusieurs espèces et peu ou pas du tout sur l'autre ou les autres. Il peut aussi être moyennement efficace vis à vis de toutes les espèces.

- Un test d'efficacité, quel que soit l'âge des animaux, devrait durer le temps d'un cycle de développement des coccidies, dans une étude avec infection expérimentale contrôlée où l'inoculum est suffisant pour engendrer une coccidiose clinique dans le lot témoin infecté recevant un aliment blanc (*sachant que les symptômes apparaissent dans la seconde moitié du cycle de développement parasitaire, et se terminent à peu près lors du pic d'excrétion des oocystes par les animaux infectés – variable en fonction des espèces de coccidies, mais autour de ce pic. L'additif coccidiostatique ayant pour vocation de réduire le développement des coccidies et d'empêcher une coccidiose (donc de maintenir des performances zootechniques optimales au regard des coccidies), son éventuel effet sur la croissance compensatrice des oiseaux qui auraient exprimé des symptômes de coccidiose malgré son emploi n'a pas à être pris en compte dans l'efficacité. Une durée plus longue d'essai est donc superflue et risque de pointer sur des éléments qui ne sont pas liés avec l'effet revendiqué. Si le produit est capable de contrôler une coccidiose, les conséquences sur les performances postérieures d'animaux reproducteurs ou producteurs d'œufs doivent être nulles. S'il n'est pas efficace pour contrôler la coccidiose, est-il nécessaire d'évaluer les conséquences sur des animaux en production, étant donné que l'effet revendiqué n'est pas démontré en phase critique d'infection. Pour des essais en conditions du terrain, dans lesquels l'infection coccidienne n'est pas contrôlée, la durée de l'étude doit correspondre à la durée d'élevage concernant le type de production. Toutefois, les conditions de réalisation de tels essais ne permettent pas de démontrer l'efficacité de l'additif*). Cependant, sur des poulettes futures pondeuses ou futures reproductrices, des études plus longues concernant l'innocuité (notamment l'impact sur la fertilité et l'éclosabilité) des additifs doivent être demandées, sur la durée d'élevage des oiseaux.

4.2 Additifs histomonostatiques

Il est important de conserver la revendication histomonostatique, du fait de l'importance de l'histomonose sur le terrain. Toutefois, les critères d'évaluation d'efficacité décrits dans la directive 2001/79/CE s'appliquent aux additifs coccidiostatiques et ne sont pas adaptés aux additifs histomonostatiques sur certains points.

Histomonas ne produit pas d'oocystes dans le milieu extérieur, et les lésions caecales et / ou hépatiques ont un aspect variable qui ne semble pas lié à l'intensité de l'affection. Le pouvoir prophylactique d'un additif pourrait donc se mesurer, dans un modèle d'infection contrôlée (par voie cloacale, par voie orale avec des *Heterakis* hébergeant *Histomonas*, ou par une autre technique documentée) en suivant les critères de morbidité, mortalité et présence/absence de lésions. *Sur le terrain, des cas d'histomonose ont été rapportés avec uniquement des lésions caecales* : les lésions hépatiques ne devraient donc pas être prises en compte pour quantifier l'efficacité d'un additif histomonostatique. Les paramètres zootechniques à prendre en compte (indice de consommation, gain de poids...) sont identiques à ceux décrits pour les additifs coccidiostatiques.

Des études *in vitro* de l'efficacité peuvent être présentées dans les dossiers, car il existe des modèles d'entretien d'*Histomonas* en culture. Elles peuvent apporter des éléments sur le pouvoir histomonocide ou histomonostatique de molécules, et les doses efficaces *in vitro*, mais elles ne peuvent se substituer aux études en batteries, parquets et conditions du terrain exigées.

5. RECOMMANDATION

Une veille scientifique et technologique en vue de l'obtention d'informations objectives sur les additifs et leurs effets sur les animaux mériterait d'être développée.

Tableau 1 – Exigences relatives à la démonstration de l'efficacité des additifs zootechniques

Allégations possibles	Performances de production	Amélioration de la digestibilité des constituants visés par l'additif (Règlement 1831/2003)	Modulateur de la flore (Règlement 1831/2003)	Etat sanitaire de l'élevage	Agents de prévention de toxicité	Impact favorable pour l'environnement (Règlement 1831/2003)	Qualité des produits	Une des composantes du bien-être
<p>Critères d'efficacité</p> <p>- gain moyen quotidien, - indice de consommation, - poids vif - production (œufs, lait,...)</p> <p>Trois essais démontrant l'efficacité sur au moins l'un des paramètres sont requis</p>		<p><u>Critères liés aux performances zootechniques :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - gain moyen quotidien, - indice de consommation, - poids vif - production (œufs, lait,...) 				<ul style="list-style-type: none"> - notation des litières, - ammoniacque, - méthane, - rejets - état sanitaire collectif (cf. Etat sanitaire de l'élevage), - odeurs 	<p>toute modification qualitative en relation avec la qualité nutritionnelle, technologique, organoleptique ou hygiénique des produits (cf. LD Enzymes et Microorganismes du SCAN – 2001).</p>	<p>Critères se rapportant à la composante du bien être étudiée.</p>
		<p><u>Critères liés à l'allégation spécifique</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - coefficient d'utilisation digestive, - énergie métabolisable / énergie digestible, - critères spécifiques à la revendication (solidité du squelette, % de minéralisation osseuse,...). 	<p><u>Critères liés à l'allégation spécifique</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - inhibition des flores entéropathogènes, - score fécal, notation des fèces, - nombre de jours de diarrhées, - état sanitaire (cf. Etat sanitaire de l'élevage). 	<p><u>Critères liés à l'allégation spécifique</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - mortalité, - morbidité globale, - nombre de jours de traitement - nombre de jours de maladie - renforcement de l'état immunitaire général (IgG, IgA) + test de réponse vaccinale + morbidité et mortalité. 	<p><u>Critères liés à l'allégation spécifique</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - critère spécifique à adapter en fonction du type d'agent et de la fonction revendiquée (ex. élimination ou réduction de l'agent toxique <i>in vivo</i>), - indicateurs indirects : appétit,... 			

Tableau 2 – Exigences relatives à la démonstration de l'efficacité des additifs sensoriels

Allégations possibles	Colorants			Substances aromatiques ¹
	Coloration des aliments pour animaux	Couleur des produits animaux	Couleur des poissons et oiseaux d'ornements	Modulation de la palatabilité
Critères d'efficacité	- Lab ²	- Couleur des produits (œufs, chair de salmonidae et de volailles...)	- Lab	- vitesse de consommation, - niveau d'ingéré
Nombre et type d'étude à mettre en œuvre	1 essai dose-réponse			3 essais dont un effet dose-réponse et un essai en conditions du terrain

¹ ce groupe fonctionnel sera traité par le groupe de travail « évaluation des nouveaux produits et substances en alimentation animale »

². Lab : Luminance, indice de rouge et de jaune

Tableau 3 – Exigences relatives à la démonstration de l'efficacité des additifs nutritionnels

	Vitamines, provitamines et substances à effet analogue chimiquement bien définies	Composés d'oligo-éléments	Acides aminés, leurs sels et produits analogues	Urée et ses dérivés
Allégations possibles	- satisfaire les besoins nutritionnels des animaux			
Critères d'efficacité	- mortalité, morbidité - maintien des performances (par rapport à un régime adéquat sur le plan nutritionnel)			
Nombre et type d'étude à mettre en œuvre	3 essais en conditions du terrain			