

Maisons-Alfort, le 25 avril 2003

## AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments  
sur la demande d'autorisation d'un additif de la catégorie des vitamines,  
pro-vitamines, substances à effet analogue chimiquement bien définies  
à base de 25-hydroxycholécalférol destiné aux poulets de chair,  
aux dindons et aux poules pondeuses**

Par courrier reçu le 30 septembre 2002, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 27 septembre 2003 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes d'une demande d'avis sur la demande d'autorisation d'un additif de la catégorie des vitamines, pro-vitamines, substances à effet analogue chimiquement bien définies à base de 25-hydroxycholécalférol destiné aux poulets de chair, aux dindons et aux poules pondeuses.

Ce dossier entre dans le cadre de la directive 70/524/CEE modifiée et doit être établi selon les lignes directrices fixées par la directive 2001/79/CE modifiée.

Après consultation des Comités d'experts spécialisés « Nutrition humaine » et « Alimentation animale », réunis respectivement les 17 décembre 2002 et 18 mars 2003, l'Afssa rend l'avis suivant.

### **Considérations relatives au résumé des données du dossier (Section I)**

L'additif est une préparation contenant 1,25 % de 25-hydroxycholécalférol (25-OH-D<sub>3</sub>), sur support d'huile de coton, avec un émulsifiant (acide gras), un anti-mottant (silice colloïdale) et deux antioxydants (BHT et acide citrique).

Les doses recommandées par le pétitionnaire sont pour le poulet de chair, la poule pondeuse, le dindon, de respectivement 40 à 70 µg, 40 à 75 µg et 45 à 100 µg de substance active par kilogramme d'aliment.

Le 25-hydroxycholécalférol est le métabolite de réserve de la vitamine D<sub>3</sub>. Il a une activité biologique plus élevée que la vitamine D<sub>3</sub> (1,5 à 6 fois supérieure à poids égal, selon les tests utilisés, *in vitro*, *in vivo* ou cliniques). Par conséquent, l'équivalence retenue par le pétitionnaire de 1 microgramme de 25-OH-D<sub>3</sub> correspondant à 40 Unités Internationales, identique à celle qui est fixée pour les vitamines D<sub>2</sub> et D<sub>3</sub>, est inexacte<sup>1</sup>. L'utilisation de cette équivalence tout au long du dossier n'est pas recevable et seule une expression en microgrammes est acceptable pour la 25-OH-D<sub>3</sub>.

### **Considérations relatives à l'identité, aux caractéristiques, aux conditions d'emploi de l'additif et aux méthodes de contrôle (Section II)**

Un certain nombre d'insuffisances ont été relevées concernant notamment les caractéristiques, les méthodes de contrôle et la stabilité de l'additif et de la substance active. Elles sont reprises en conclusion de cet avis.

<sup>1</sup> Bieri JG et Mc Kenna MC. Expressing dietary values for fat-soluble vitamins : changes in concepts and terminology. Am J Clin Nutr 1981 ; 34 :289-295

**Considérations relatives aux études concernant l'efficacité de l'additif (Section III)**

L'efficacité de l'additif a été évaluée à partir d'études réalisées sur les poulets de chair, les dindons et les poules pondeuses avec des aliments type maïs-soja, classiques en aviculture, avec des apports satisfaisants en calcium et phosphore. L'effet de l'additif sur les performances de croissance des animaux (poids vifs à environ 3 ou 6 semaines), l'indice de consommation et la mortalité a été étudié.

L'ensemble des essais permet de conclure à une efficacité du 25-OH-D<sub>3</sub> au moins aussi élevée que celle de la vitamine D<sub>3</sub> utilisée comme témoin. Cependant, aucune justification des doses préconisées par le pétitionnaire, qui sont très supérieures aux doses de vitamine D<sub>3</sub> actuellement recommandées pour ces animaux, n'est apportée. Des courbes dose-réponse, basées sur les essais présentés et/ou des études publiées seraient nécessaires pour justifier de ces doses.

**Considérations relatives aux études concernant la sécurité d'emploi de l'additif (Section IV)****Considérations relatives aux études sur les espèces cibles**

Chez le poulet,

L'innocuité du 25-OH-D<sub>3</sub> pour le poulet de chair n'a pas été démontrée. Une tendance à un accroissement de la mortalité (en comparaison avec des doses équivalentes de vitamine D<sub>3</sub>) pour des niveaux d'apport inférieurs à 2 fois la dose maximale recommandée est apparue dans les études présentées, mais l'absence d'analyse statistique de la relation dose - mortalité intra ou inter-essais ne permet pas de conclure définitivement.

Une seule étude a été réalisée avec une gamme de doses intermédiaires comprises entre la dose maximale recommandée et 10 fois cette dose. Elle n'a pas comporté d'examen propre à préciser à partir de quelle teneur des lésions rénales devenaient observables. En outre, l'effet de l'interaction entre la teneur en calcium de l'aliment et la dose de 25-OH-D<sub>3</sub> sur la santé des animaux, en particulier sur le risque de calcification rénale, aurait dû être étudié.

Chez le dindon,

L'innocuité du 25-OH-D<sub>3</sub> pour le dindon a été démontrée avec une marge de sécurité de 10 par rapport à la dose maximale recommandée.

Chez la poule pondeuse,

L'innocuité du 25-OH-D<sub>3</sub> a été démontrée pour la poule pondeuse d'œufs de consommation avec une marge de sécurité de 10. En revanche, aucune donnée n'a été fournie concernant l'innocuité pour la fonction reproductrice des poules pondeuses, l'éclosivité des œufs et la santé de la descendance.

**Considérations relatives aux études microbiologiques**

Dans les conditions habituelles d'utilisation, la vitamine D<sub>3</sub> et ses métabolites n'ont pas d'activité antimicrobienne.

**Considérations relatives à l'étude du métabolisme et des résidus**

Le 25-OH-D<sub>3</sub> est un métabolite de la vitamine D<sub>3</sub>, résultat de l'hydroxylation de cette vitamine en position 25. L'activité biologique de la vitamine D et du 25-OH-D<sub>3</sub> dépend d'une deuxième hydroxylation rénale qui transforme le 25-OH-D<sub>3</sub> en 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>.

L'analyse des tissus consommables de volailles recevant des quantités équivalentes d'additif (doses recommandées par le pétitionnaire) ou de vitamine D<sub>3</sub>, montre des concentrations en 25-OH-D<sub>3</sub> comparables en ce qui concerne les œufs et le muscle de dindon. Elles sont 1,5 à 2 fois supérieures dans le groupe recevant l'additif pour le foie de dindon (0,6 vs. 0,3 µg/100 g) et

la peau et graisse de dindon (0,8 vs. 0,6 µg/100 g), mais ces denrées animales sont peu consommées par l'homme. En revanche, les concentrations de 25-OH-D<sub>3</sub> sont 3 fois supérieures dans le groupe nourri avec l'additif pour des denrées animales souvent consommées, blanc de poulet (0,39 vs. 0,14 µg/100 g), cuisse de poulet (0,64 vs. 0,21 µg/100g), peau et graisse de poulet (1,2 vs. 0,4 µg/100 g).

En tant que métabolite de la vitamine D<sub>3</sub>, le 25-OH-D<sub>3</sub> ne présente pas d'activité et de toxicité spécifiques autres que celles connues pour la vitamine D<sub>3</sub>.

#### ***Considérations relatives aux études sur les animaux de laboratoire***

Le 25-hydroxycholecalciférol est non mutagène, non tératogène, et ne présente pas d'effet néfaste sur la reproduction et le développement du Rat et du Lapin.

#### ***Considérations relatives à l'évaluation de la sécurité pour le consommateur humain***

Aux doses proposées, la supplémentation en additif des aliments pour poules pondeuses et dindons n'entraîne pas d'élévation notable des concentrations en 25-OH-D<sub>3</sub> des tissus consommables de ces animaux en comparaison aux effets d'une supplémentation avec de la vitamine D<sub>3</sub>. Cette supplémentation de l'alimentation du dindon et de la poule pondeuse, aux doses recommandées par le pétitionnaire, n'entraînerait donc pas un risque d'exposition supérieur à celui de la vitamine D<sub>3</sub> pour le consommateur de la viande et des oeufs des volailles ayant reçu l'additif.

En revanche, la supplémentation en additif des aliments pour poulets de chair multiplie par 3 la concentration en 25-OH-D<sub>3</sub> des tissus consommables par rapport à la supplémentation avec une dose équivalente de vitamine D<sub>3</sub>.

Les doses limites de sécurité chez l'Homme n'ont été définies que pour les vitamines D<sub>2</sub> et D<sub>3</sub> et ne peuvent donc s'appliquer au 25-OH-D<sub>3</sub>, dont l'activité biologique est plus élevée. Dans l'hypothèse la plus défavorable où la 25-OH-D<sub>3</sub> serait 6 fois plus active que la vitamine D<sub>3</sub> à poids égal, la consommation quotidienne de foie, de muscle, et de l'ensemble graisse/peau/rein de poulets nourris avec l'additif selon les quantités indiquées dans la directive 2001/79/CE (qui représentent un scénario du pire cas) correspondrait à un apport équivalent de vitamine D<sub>3</sub> représentant 92 % de la valeur limite de sécurité (25 microgrammes par jour) proposée en France pour cette vitamine.

La supplémentation de l'alimentation du poulet de chair avec l'additif à base de 25-OH-D<sub>3</sub>, aux doses recommandées par le pétitionnaire, pourrait entraîner un accroissement significatif de l'exposition de type vitaminique D<sub>3</sub> pour le consommateur qu'il conviendrait en outre d'envisager au regard de l'apport simultané de vitamine D<sub>3</sub> par les autres aliments usuels ou enrichis, voire par la synthèse endogène lors d'exposition au soleil. Dans l'hypothèse où la réévaluation des doses préconisées (cf. paragraphe relatif à l'efficacité) conduirait à une diminution significative de ces doses, l'exposition correspondante du consommateur pourrait être ramenée à des valeurs du même ordre de grandeur que celles rencontrées lors de supplémentation des aliments pour poulets avec de la vitamine D<sub>3</sub>.

#### ***Considérations relatives à l'évaluation de la sécurité pour le manipulateur***

Le 25-OH-D<sub>3</sub> ne présente pas de problèmes de toxicité spécifique autres que ceux qui sont connus pour la vitamine D<sub>3</sub>. Le port d'équipement et de protection appropriés limite l'exposition des manipulateurs à l'additif et à sa substance active lors de la fabrication des prémélanges et des aliments supplémentés.

#### ***Considérations relatives à l'impact environnemental***

Cet additif est le métabolite intermédiaire et de réserve de la vitamine D<sub>3</sub>. Le pétitionnaire ne présente pas d'informations sur l'élimination de la vitamine D<sub>3</sub> et de ses métabolites dans les *excreta*, ni sur ses teneurs naturelles et son devenir dans l'environnement.

Il est cependant possible d'estimer, à partir du modèle de Spaepen et *al.* (1997) et en supposant une supplémentation sur tout le cycle de production des oiseaux à la dose de 100 µg/kg d'aliment et une élimination totale (100 %) de la quantité ingérée, que les concentrations de 25-OH-D<sub>3</sub> dans le lisier seraient d'environ 80 µg/kg. Cette concentration étant au-dessous du seuil de 100 µg/kg fixé par la directive 2001/79/CE, la substance est peu susceptible d'avoir un impact significatif sur l'environnement.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments considère que :

- les éléments scientifiques fournis dans le dossier de demande d'autorisation d'un additif de la catégorie des vitamines, pro-vitamines, substances à effet analogue chimiquement bien définies à base de 25-hydroxycholecalciférol destiné aux poulets de chair, aux dindons et aux poules pondeuses ne répondent pas aux conditions de l'article 3A de la directive 70/524/CEE modifiée et notamment aux lignes directrices ;
- l'équivalence d'activité avec la vitamine D<sub>3</sub> ne peut être acceptée ;
- les points suivants doivent être complétés :

*Section II : Identité, caractéristiques, conditions d'emploi de l'additif et méthodes de contrôle de l'additif*

Concernant la substance active,

- Indiquer le pays où la substance est fabriquée (s'il s'agit d'un Etat membre de l'Union européenne, l'utilisation d'une souche microbienne modifiée génétiquement doit être déclarée à l'autorité administrative).

Concernant l'additif,

- Fournir le processus de fabrication,
- Indiquer des limites supérieure et inférieure concernant la concentration de l'additif en 25-OH-D<sub>3</sub>,
- Etudier la stabilité dans les prémélanges pour poulets, poules et dindons contenant du chlorure de choline et des éléments minéraux,
- Fournir les résultats de l'analyse granulométrique et des tests de poussière,
- Fournir des fiches techniques ou des résultats analytiques, dont il est fait mention dans le dossier, montrant l'absence de mycotoxines dans l'huile de coton et de dioxines dans la silice colloïdale,
- Présenter des données interprétables concernant l'homogénéité et la stabilité de la substance active dans les aliments,
- Utiliser une méthode de dosage de la substance active validée.

*Section III : Etudes concernant l'efficacité de l'additif*

- Réaliser des courbes dose-réponse sur la base des essais présentés et/ou d'études publiées pour justifier les doses recommandées.

*Section IV : Etudes concernant la sécurité d'emploi de l'additif*

*Etudes sur les espèces cibles*

Pour le poulet,

- Présenter une relation dose-réponse entre la dose maximale recommandée et dix fois cette dose afin de déterminer le pourcentage de mortalité et les lésions rénales des animaux.

Pour la poule pondeuse,

- Présenter des études concernant la fertilité, l'éclosivité et d'éventuels effets sur la descendance de ces animaux.

Martin HIRSCH