

Maisons-Alfort, le 13 mai 2005

AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
relatif à la demande d'autorisation permanente
d'un additif de la catégorie des enzymes à base de 3-phytase (EC 3.1.3.8)
pour les poulets, les dindons et les porcs à l'engraissement,
les poules pondeuses, les truies et les porcelets.**

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

Par courrier reçu le 18 janvier 2005, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 12 janvier 2005 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes, d'une demande d'avis sur le dossier relatif à la demande d'autorisation permanente d'un additif de la catégorie des enzymes à base de 3-phytase (EC 3.1.3.8) pour les poulets, les dindons et les porcs à l'engraissement, les poules pondeuses, les truies et les porcelets.

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 87/153/CEE modifiée.

Section I : Contexte du dossier

L'additif, objet de la demande, est une préparation enzymatique à base de 3-phytase (monophosphoestérase) (EC 3.1.3.8) issue d'une souche d'*Hansenula polymorpha* modifiée génétiquement (DSM 15087). Il existe sous les formes granulée encapsulée (CT) et liquide (L). L'activité minimale garantie est de 2500 U¹/g pour la forme CT et de 5000 U/g pour la forme L.

Le pétitionnaire demande une autorisation permanente pour les poulets, les dindons et les porcs à l'engraissement à la dose de 250 à 1000 U/kg d'aliment complet, les poules pondeuses à la dose de 250 à 1000 U/kg d'aliment complet, et pour les truies et les porcelets à la dose de 500 à 1000 U/kg d'aliment complet. Cet additif est recommandé pour les aliments composés contenant des matières premières riches en phosphore phytique telles que le maïs, le soja, le blé, l'orge et le seigle afin d'augmenter la digestibilité du phosphore phytique par les animaux monogastriques.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale », réuni le 14 avril 2005, l'Afssa rend l'avis suivant :

Section II : Identité, caractéristiques et conditions d'emploi de l'additif – Méthodes de contrôle

L'additif est globalement bien défini mais des données manquent sur la pureté, la variabilité de la teneur en phytase des lots d'additif, l'homogénéité de l'additif dans les aliments de fabrication industrielle et les spécifications concernant les teneurs en phytase lors de la mise sur le marché.

¹ 1 Unité de phytase correspond à la quantité d'enzyme nécessaire pour activer la libération par le phytate de 1 µmole de phosphate inorganique par minute à pH 5,5 et à 37 °C.

Section III : Etudes concernant l'efficacité et la tolérance de l'additif*Chez les porcins,*

Les essais chez les truies (3 essais), les porcelets (4 essais) et les porcs à l'engraissement (4 essais) ont été réalisés dans l'Union européenne.

Dans tous les essais, il y a augmentation de la digestibilité du phosphore avec l'ajout d'additif et cette augmentation est significative dans tous les essais sauf un. Par ailleurs, cette augmentation est peu importante avec des doses élevées. Les données brutes sont fournies.

Des essais de tolérance ont été conduits chez le porcelet, le porc et la truie à 10 fois la dose d'additif recommandée. Aucun effet néfaste n'a été observé.

La durée des essais de tolérance chez la truie a été de 19 et 30 jours au lieu de 3 mois, durée minimale demandée pour des animaux adultes.

Dans les différents essais, la définition de l'unité d'activité phytasique des différents lots d'additif n'est pas uniforme et diffère de la définition internationale.

Chez les volailles,

Les essais chez le poulet à l'engraissement (5 essais), la dinde (4 essais) et la poule pondeuse (4 essais) ont été réalisés dans l'Union européenne.

Un effet positif et significatif de l'additif sur les performances de croissance et sur les mesures de minéralisation osseuse des poulets à l'engraissement et des dindons est établi. La rétention apparente de phosphore est améliorée significativement chez les poulets à l'engraissement, chez les dindes et chez les poules pondeuses dès l'ajout de 250 U/kg d'aliment et jusqu'à 1000 U/kg d'aliment. Les doses recommandées par le pétitionnaire sont donc validées. Les performances de ponte sont restaurées chez les poules ayant souffert d'une diminution de l'apport en phosphore dans l'alimentation.

Des essais de tolérance ont été conduits chez le poulet à l'engraissement, la dinde et la poule pondeuse à 10 fois la dose d'additif recommandée. Aucun effet néfaste n'a été observé.

Section IV : Etudes sur les animaux de laboratoire concernant la sécurité d'emploi de l'additif

Les différentes études toxicologiques ont été menées conformément aux Bonnes Pratiques de Laboratoire.

Le test de mutagénicité *in vitro* (test d'Ames) n'a pas révélé d'effet mutagène de l'additif. Le test d'aberrations chromosomiques sur des lymphocytes humains en culture n'a pas mis en évidence d'effet clastogène.

Les essais de toxicité orale de 2 semaines et de 13 semaines chez le rat n'ont pas révélé de signes de toxicité et ont permis de fixer la dose sans effet à 109512 U d'additif par kg de poids corporel et par jour.

Les tests d'irritations cutanée et oculaire chez le lapin ont été négatifs. Les études de toxicité aiguë par inhalation chez le rat n'ont entraîné aucune mortalité et aucune toxicité. La CL50 est donc supérieure à 58,7 U de phytase par litre d'air. Par sécurité, le pétitionnaire mentionnera les phrases de risque R42 (peut provoquer des réactions d'hypersensibilité par inhalation), S22 pour la forme CT (ne pas inhaler les poussières) et S23 pour la forme L (ne pas inhaler les aérosols) sur l'étiquetage de l'additif.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments considère donc que les éléments scientifiques fournis par le dossier de demande d'autorisation permanente d'un additif de la catégorie des enzymes à base de 3-phytase (EC 3.1.3.8) pour les poulets, les dindons et les porcs à l'engraissement, les poules pondeuses, les truies et les porcelets sont insuffisants pour pouvoir statuer sur l'identité de l'additif et sa tolérance par les truies et appellent les remarques suivantes :

Section II : Identité, caractéristiques et conditions d'emploi de l'additif – Méthodes de contrôle

Concernant la pureté de l'additif,

- Les résultats d'analyse des éléments toxiques sur trois lots de substance active avant formulation sont fournis et respectent les spécifications. Cependant, des résultats d'analyse concernant des lots d'additifs (produits finis) doivent être rapportés,
- Les spécifications pour le mercure et le cadmium doivent être indiquées,
- En raison de l'incorporation de kaolin (env. 10%) dans la préparation de l'additif, il convient de prévoir une spécification pour les dioxines, ainsi que des contrôles analytiques,
- La variabilité entre différents lots d'additif doit être étudiée.

Concernant la variabilité de l'activité enzymatique,

L'échelle de variabilité de l'activité enzymatique 3-phytasique (activité cible +/- tolérance) en fonction des lots d'additifs avant la mise sur le marché doit être indiquée. Au vu des résultats des études de stabilité, un surdosage de l'activité phytasique de l'ordre de 20% lors de la fabrication pourrait être envisagé afin de garantir un niveau d'activité correspondant à la teneur minimale garantie à la fin des périodes maximales de stockage recommandées.

Concernant la définition de l'activité enzymatique,

Tous les lots d'additif doivent être définis par une seule et même unité d'activité enzymatique qui est internationalement reconnue : 1U de phytase correspond à la quantité d'enzyme nécessaire pour libérer 1 μ mole de phosphate inorganique par minute à partir d'une solution de phytate de sodium à 5,1 nmol/l, à pH 5,5 et à 37 °C.

Concernant l'homogénéité de l'additif dans les aliments,

Si l'étude de la stabilité dans des fabrications pilotes est extrapolable aux fabrications industrielles, l'étude de l'homogénéité doit être réalisée avec des fabrications industrielles en se conformant aux modes d'incorporation préconisés.

Le risque de « démélange » de l'additif sous forme CT après incorporation dans un aliment sous forme farine doit être mesuré.

Section III : Etudes concernant la tolérance de l'additif chez la truie,

Les essais de tolérance menés chez le porcelet, le porc et la truie à 10 fois la dose d'additif recommandée n'ont montré aucun effet néfaste mais la durée des essais de tolérance chez la truie (19 et 30 jours) est trop courte. Les essais doivent être conduits au minimum pendant 3 mois chez un porc adulte.

Martin HIRSCH