



Maisons-Alfort, le 9 novembre 2007

**Appui scientifique et technique
de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
relative à la présence de nicarbazine dans les produits d'origine animale**

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Rappel de la saisine :

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 10 mai 2007 par la Direction générale de l'alimentation (DGAI), d'une demande d'appui scientifique et technique relatif à la présence de nicarbazine dans les produits d'origine animale et à l'utilisation d'additifs coccidiostatiques en alimentation animale.

Contexte

La directive 96/23/CE du Conseil du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits, définit les modalités des plans de contrôle pour les Etats membres.

L'annexe II de cette directive impose les groupes de résidus ou substances à détecter par type d'animaux ou de produits d'origine animale dont les anticoccidiens dans les volailles et dans les œufs.

La nicarbazine, molécule coccidiostatique autorisée comme additif pour l'alimentation des poulets de chair, uniquement en association avec le narasin, une autre molécule coccidiostatique, a été détectée et quantifiée dans des œufs et des foies de volailles issus des plans de contrôles organisés par la DGAI, mais pour laquelle à ce jour :

- il n'existe pas de limite maximale de résidus,
- la dose journalière admissible n'est pas définie,
- les données toxicologiques sont partielles.

L'Afssa et l'EFSA avaient rendu respectivement le 27 novembre 2002 et le 3 décembre 2003, des avis défavorables sur des dossiers de demande d'autorisation d'un produit à base de nicarbazine : ils concluaient sur un manque de données relatives à la partie toxicologique du dossier (génotoxicité sur mammifères, métabolisme et cinétique).

Par ailleurs, dans le cadre du nouveau règlement (CE) n°1831/2003 du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2003 relatif aux additifs destinés à l'alimentation animale, les anticoccidiens doivent être tous réévalués sur la base du dossier industriel afin de disposer de LMR (limite maximale de résidus) pour les produits. Enfin, dans le cadre d'une demande d'autorisation d'un essai terrain avec un produit à base de nicarbazine, des données toxicologiques complémentaires ont été fournies à la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes qui a transmis ces informations à l'Afssa.

Méthode d'expertise

Le dossier est expertisé au regard de l'actualisation de la bibliographie, des informations disponibles sur le plan international et des nouvelles données fournies sur la toxicologie de la nicarbazine, afin d'apporter des éléments d'éclairage sur la toxicité et la pharmacocinétique des résidus de nicarbazine retrouvés dans des analyses d'œufs et de foies de volailles issus des plans de contrôles et sur leurs impacts pour la santé humaine.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale », réuni les 18 septembre et 23 octobre 2007 et expertise du dossier par les laboratoires d'études et de recherches avicoles, porcines et piscicoles (LERAPP) et sur les médicaments vétérinaires et les désinfectants (LERMVD), l'Afssa émet l'avis suivant :

Argumentaire

La nicarbazine est un complexe équimoléculaire de 4,4'-dinitrocarbanilide (DNC) et de 2-hydroxy-4,6-diméthylpyrimidine (HDP) obtenu par synthèse chimique. Les solubilités dans l'eau du DNC et du HDP sont respectivement de 0,02 et plus de 10 000 mg l⁻¹, indiquant que la liposolubilité du DNC est très supérieure à celle du HDP.

Etudes sur volailles

La marge de sécurité chez les poulets de chair, en se basant sur le gain de poids, est d'environ 1,5 fois la dose maximale recommandée de 125 mg/kg d'aliment. Par ailleurs, la nicarbazine, même à faible dose, a un impact négatif précoce et marqué sur les performances de ponte de la poule, surtout sur l'éclosabilité des œufs ; en cas de contamination croisée, il existe donc un risque pour les poules reproductrices.

Chez le poulet, le DNC est rapidement absorbé par voie orale, en partie métabolisé dans le foie puis éliminé dans les fèces. Ses principaux métabolites sont identifiés, même si certaines incertitudes demeurent sur les voies métaboliques, en particulier sur l'origine du DNC inchangé dans les excréta.

Chez le poulet, le HDP est rapidement et quasi-totalement absorbé par voie orale, faiblement métabolisé puis éliminé dans les fèces sous forme parentale. Aucun métabolite urinaire ne représente plus de 10 % de la radioactivité totale.

Le tissu cible est le foie et les résidus tissulaires majeurs sont le HDP et le DNC sous formes parentales. Le DNC est le résidu marqueur du fait de sa concentration plus élevée et de sa rémanence plus longue.

Etudes sur animaux de laboratoire

Génotoxicité

Trois essais de génotoxicité acceptables sont fournis : un essai de mutation génique en système procaryote (test d'Ames), un essai de mutation génique en système eucaryote (Test de lymphomes d souris) et un essai d'altération primaire de l'ADN en système eucaryote (UDS chez le Rat). Seul l'essai de mutation génique en système procaryote montre un faible effet mutagène de la nicarbazine avec la souche TA98, cette souche étant connue pour être sensible aux amines aromatiques. Les deux autres essais en systèmes eucaryotes indiquent l'absence de génotoxicité de la nicarbazine. Ces essais complémentaires permettent de conclure à l'absence de génotoxicité de la nicarbazine chez les Mammifères.

Cancérogenèse

La nicarbazine et ses métabolites donnent des résultats négatifs dans une série appropriée d'essais de génotoxicité. En outre, l'étude de toxicité chronique chez le Rat indique l'absence d'augmentation significative de tumeurs dans les lots traités par la nicarbazine par rapport au lot témoin négatif. Il est donc possible de conclure à l'absence de cancérogenèse de la nicarbazine.

Tératogenèse

Une étude de tératogenèse de la nicarbazine chez le lapin a été fournie. Quatre lots de 24 lapines ont été traitées par gavage, du jour 6 à 28 de la gestation, avec de la nicarbazine aux doses de 0, 30, 60 et 120 mg/kg/jour. Ces doses ont été fixées à partir d'une étude préliminaire qui a montré que les doses de 200 et 400 mg/kg/jour provoquaient chez la lapine gestante des effets toxiques. Des effets macroscopiques sur le foie de 2 lapines ont été observés à 120 mg/kg/jour, mais aucun effet sur le développement fœtal n'a été attribué au traitement. Cet essai complémentaire permet de conclure à l'absence de tératogenèse de la nicarbazine.

Evaluation de l'innocuité pour le consommateur humain

La nicarbazine et ses métabolites ne sont ni génotoxiques, ni cancérogènes, ni tératogènes.

L'Afssa estime que la dose sans effet nocif observé (DSENO ou NOEL) peut être fixée à 60 mg/kg/jour, compte tenu des effets hépatiques observés sur les lapines en gestation à la dose de 120 mg/kg/jour.

Le JECFA a établi en 1998 une Dose Journalière Admissible (DJA) de 400 µg/kg/j sur la base d'une DSENO de 200 mg/kg/jour, avec un facteur de sécurité de 500, compte tenu du caractère parcellaire des données toxicologiques disponibles à l'époque pour cette substance.

Même si certaines des études toxicologiques complémentaires fournies sont anciennes et insuffisantes par rapport aux critères actuels, il est possible de proposer en première approche une DJA de 120 µg/kg/j en se fondant sur la DSENO issue de l'essai de tératogenèse chez le Lapin (60 mg/kg/j) et en utilisant un facteur de sécurité de 500.

Dans cette hypothèse, la LMR (Limite Maximale de Résidus) proposée par le JECFA en 1998 (200 µg/kg) paraît acceptable puisque la quantité de nicarbazine ingérée quotidiennement par un homme de 60 kg consommant 500 g de viande de volaille par jour représenterait moins de 2 % de la DJA proposée.

Les calculs d'exposition des consommateurs aux résidus se basent sur des hypothèses maximalistes sur le 95^{ème} percentile de consommation d'abats et œufs de volailles issus de l'enquête INCA 1999¹.

En considérant les concentrations maximales déterminées par les plans de contrôle dans le foie et les œufs, respectivement 2024 et 138 µg/kg, la quantité de nicarbazine ingérée quotidiennement par un homme de 60 kg consommant 21,4 g d'abats de volaille et 57,1 g d'œufs issus des volailles les plus « contaminées » est respectivement de 43,3 et 7,9 µg par jour, soit des doses de 0,72 et 0,13 µg/kg/j de nicarbazine, ce qui est bien inférieur à la DJA de 120 µg/kg/j.

Ces calculs ne prennent pas en compte la présence de résidus de nicarbazine dans le muscle, le rein, la graisse et la peau, en l'absence de données d'analyse.

Cependant, en prenant comme hypothèse que les concentrations dans le muscle, le rein, la graisse et la peau sont toutes à la LMR de 200 µg/kg, la quantité totale ingérée de nicarbazine pour un homme de 60 kg consommant 112 g de volaille est de 22,4 µg/j soit une dose de 0,37 µg/kg/j.

La quantité maximale de nicarbazine ingérée par un consommateur serait donc de 1,22 µg/kg/j, dose bien inférieure à la DJA de 120 µg/kg/j.

Analyse de la contamination

Les poules pondeuses ne constituent pas une espèce cible pour la nicarbazine étant donné que la molécule n'est autorisée que sur les poulets de chair. Dans le cas de résidus dans les œufs, il peut donc s'agir d'un problème de contamination croisée par un autre aliment.

Conclusions et recommandations

Considérant les concentrations maximales déterminées par les plans de contrôle de la DGAI dans le foie et les œufs de volailles, respectivement 2024 et 138 µg/kg,

Considérant comme hypothèse que les concentrations dans les autres denrées alimentaires issues des volailles (muscle, rein, graisse et peau) sont toutes à la LMR proposée par le JECFA en 1998 (200 µg/kg),

Considérant la DJA de 120 µg/kg/j établie à partir des nouvelles études fournies, plus particulièrement de celle de tératogénicité chez le Lapin ;

Les résidus de nicarbazine trouvés dans les foies et les œufs de volailles lors des plans de contrôles organisés par la DGAI ne présentent pas de risque pour le consommateur humain.

Cependant, l'Afssa porte l'attention sur le fait de limiter au maximum les niveaux de résidus de molécules retrouvés sur des espèces non cibles (notion de limite de référence ou limite d'action) et de prévenir les problèmes de contaminations croisées.

Mots clés : nicarbazine, anticoccidien, volaille, alimentation animale

¹ Source : Enquête INCA 1999

Principales références bibliographiques :

Cannavan, Q., Ball, G. and Kennedy, D.G. (2000). Nicarbazine contamination in feeds as a cause of residues in eggs. *Food Addit. Contam.* 17, 829-836.

Chapman, H.D. 1994. A review of the Biological Activity of the Anticoccidial Drug Nicarbazine and its application for the control of coccidiosis in Poultry. *Poultry Science Res.* 5, 231-234.

Evaluation of Certain Veterinary Drug Residues in Food.

Fiftieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, p 66- 72. WHO Technical Report Series, 888, 1999.

Hughes, B.L., Jones, J.E., Toler, J.E., Solis, J., and Castaldo, D.J. 1991. Effects of exposing broiler breeders to nicarbazine contaminated feed. *Poultry Sci.* 70, 476- 482.

Hurley, J.C. and Johnston, J.J. (2002). Poly(methyl methacrylate)synthetic grit formulations sustain the delivery of nicarbazine, a contraceptive agent, in pest waterfowl. *J. Control Release*, 85, 135-143.

Johnston J.J. et.al. (2002). Quantification of plasma and egg 4,4'-dinitrocarbanalide (DNC) residues for the efficient development of a nicarbazine based contraceptive for pest waterfowl. *Pest Manag. Sci.* 58, 197-202.

Jones, J.E., Solis, J., Hughes, B.L., Castaldo, D.J., and Toler, J.E. 1990. Reproduction responses of broiler breeders to anticoccidial agents. *Poultry Sci.* 69, 27-36.

Jones, J.E., Solis, J., Hughes, B.L., Castaldo, D.J., and Toler, J.E. 1990. Production and egg-quality responses of White Leghorn layers to anticoccidial agents. *Poultry Sci.* 69, 378-387.

McEvoy, J.D., Smyth, W.G. and Kennedy, D.G. (2003). Contamination of animal feedingstuff with nicarbazine: investigations in a feed mill. *Food Addit. Contam.* 20, 136-40.

Mortier, L., Huet, A.C., Daeseleire, E., Huyghebaert, G., Fodey, T., Elliott, C., Delehaut, P., and Van Peteghem, C., (2005). Deposition and depletion of five anticoccidials in eggs. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 7142-7149.

O'Keeffe, M., Cappuro, E., Danaher M., Campbell K., Elliott C.T. (2007) Investigation of the causes for the occurrence of residues of the anticoccidial feed additive nicarbazine in commercial poultry. *Food additives and contaminants*, 24, 923-934.

Oishi, Y and Oda, T (1989). Residues and Disappearance of Nicarbazine in Eggs when It is Fed in a Minute Dosage to Egg Laying Hens. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Journal of Food Hygienics)*. Vol.30 No.6, 542-547.

Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on the request from the Commission on the efficacy and safety of the coccidiostat Koffogran (Question No. EFSA-Q-2003-041). *The EFSA Journal* (2003) 16, 1-40.

Stahl, R.S., VerCauteren, K.C., Kohler, D., and Johnston, J.J. (2003). 4,4'- Dinitrocarbanalide (DNC) concentrations in egg shells as a predictor of nicarbazine consumption and DNC dose in goose eggs. *Pest Manag. Sci.*, 59, 1052-1056.

Yoder, CA, Miller, CA and Bynum, KS (2005). Comparison of nicarbazine absorption in chickens, mallards, and Canada geese. *Poult. Sci.* 84, 1491-1494.

La Directrice générale de l'Agence française
de sécurité sanitaire des aliments

Pascale BRIAND