



AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
DES ALIMENTS

Maisons-Alfort, le 9 novembre 2007

## AVIS

### de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une autorisation d'essai terrain d'un produit à base de nicarbazine chez le poulet

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

#### Rappel de la saisine :

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 3 septembre 2007 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes, d'une demande d'avis relatif à une autorisation d'essai terrain d'un produit à base de nicarbazine chez le poulet.

#### Contexte :

La nicarbazine est une molécule coccidiostatique autorisée comme additif pour l'alimentation des poulets de chair, uniquement en association avec le narasin, une autre molécule coccidiostatique.

Dans son avis du 27 janvier 2002 relatif à une autorisation d'emploi d'un coccidiostatique à base de nicarbazine chez le poulet de chair, l'Afssa concluait sur le manque de données toxicologiques et d'efficacité du produit.

Le pétitionnaire demande une autorisation d'essai terrain d'un produit à base de nicarbazine seule, chez le poulet.

Le taux d'incorporation du produit dans l'aliment est tel que la concentration en nicarbazine de l'aliment est au maximum de 125 mg de nicarbazine par kilogramme d'aliment.

Un nouveau dossier toxicologique est fourni.

#### Méthode d'expertise

Le dossier est expertisé en conformité avec le règlement (CE) n°1831/2003 relatif aux additifs destinés à l'alimentation animale et en conformité avec les lignes directrices définies par le SCAN.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale », réuni le 23 octobre 2007, 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 masses molaires du DNC et du HDP sont respectivement de 302 et 124 g mole<sup>-1</sup>. Les solubilités dans l'eau du DNC et du HDP sont respectivement de 0,02 et plus de 10 000 mg l<sup>-1</sup>, indiquant que la liposolubilité du DNC est très supérieure à celle du HDP.

#### **Concernant la qualité du produit**

Le complément au dossier qualité fourni en 2002 à l'Afssa indique que les teneurs en métaux lourds et en dioxines du produit, objet de la demande, sont respectivement comprises entre 5 et 10 mg/kg et 0,12 et 0,28 ng/kg de matière grasse. Les bulletins d'analyse sont fournis.

27-31, avenue  
du Général Leclerc  
94701

Maisons-Alfort cedex  
Tel 01 49 77 13 50  
Fax 01 49 77 26 13  
www.afssa.fr

REPUBLIQUE  
FRANÇAISE

**Concernant l'évaluation du risque pour l'espèce cible**

La marge de sécurité pour les poulets de chair, en se basant sur le gain de poids, est d'environ 1,5 fois la dose maximale indiquée de 125 mg/kg d'aliment.

Chez le poulet, le DNC est rapidement absorbé par voie orale, en partie métabolisé dans le foie puis éliminé dans les excréta. 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 urines sous forme parentale. Aucun métabolite urinaire ne représente plus de 10 % d'une dose orale.

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.

**Concernant l'évaluation du risque pour le consommateur****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 de 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 p.c/jour. Ces doses ont été fixées à partir d'une étude préliminaire qui a montré que les doses de 200 et 400 mg/kg p.c/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 p.c/jour, mais aucun effet sur le développement foetal n'a été attribué au traitement. Cet essai complémentaire permet de conclure à l'absence de tératogenèse de la nicarbazine.

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

Le JECFA a établi en 1998 une Dose Journalière Admissible (DJA) de 400 µg/kg p.c/j sur la base d'une DSENO de 200 mg/kg p.c/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 p.c/j de en se fondant sur la DSENO issue de l'essai de tératogenèse chez le Lapin (60 mg/kg p.c/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.

Le pétitionnaire présente une étude de cinétique de déplétion des résidus de nicarbazine dans le muscle, le foie, le rein et la graisse et la peau de poulets de chair après administration du produit dans l'aliment à la dose de 125 mg/kg d'aliment pendant 28 jours consécutifs par voie orale. Dans cette étude, 6 lots de 6 poulets de chair (3 mâles et 3 femelles) d'un jour sont abattus à 1, 5, 7, 9, 11 et 14 jours après la dernière administration. La méthode de routine pour la détection des résidus de DNC (résidu marqueur) dans les denrées (LC/MSMS) est validée en termes de spécificité, de sélectivité, de linéarité, d'exactitude, de fidélité et de limites de détection et de quantification. Cependant, il manque l'étude de la stabilité du DNC à -20°C dans les différentes matrices.

Cinq jours après la dernière administration du produit, le foie contient encore des résidus de nicarbazine en concentration supérieure à la LMR de 200 µg/kg. Par contre, tous les tissus de tous les animaux de l'étude présentent une teneur en résidus inférieure à cette LMR, 7 jours après la dernière administration.

Le pétitionnaire se base sur une LMR estimée à 750 µg/kg et conclut à un temps d'attente de 4 jours, ce qui n'est pas acceptable. Le protocole d'essai évoque cependant un temps d'attente de 7 jours.

#### **Concernant le protocole d'essai et le nombre d'animaux inclus dans l'essai**

Le pétitionnaire propose de comparer deux lots de poulets de chair dans deux bâtiments identiques. La description des essais et en particulier des programmes alimentaires n'est pas précise ; la durée de distribution des divers anticoccidiens et de celle de la période de retrait mériterait d'être développée.

Le pétitionnaire précise que le produit à base de nicarbazine sera distribué de 0 à 28 jours pour un abattage à 35 jours, ce qui est compatible avec le délai d'attente de 7 jours mentionné précédemment et calculé sur la base de la LMR de 200 µg/kg défini par le JECFA.

Cependant, on constate que les éléments descriptifs de l'essai ne sont pas conformes aux lignes directrices définies par le SCAN.

#### **Concernant l'évaluation du risque pour l'environnement**

La phase I de l'évaluation du risque du produit pour l'environnement a permis d'établir que les CPE (Concentrations Prévues dans l'Environnement) du DNC et du HDP dans le sol et les eaux de surface excèdent 100 µg/kg et 0,1 µg/l respectivement. Une phase IIA est donc requise.

Des CSEP (Concentrations Sans Effet Prévu) sont déterminées :

- dans le milieu terrestre au travers d'essais ou de données bibliographiques : toxicité pour les lombrics, toxicité pour les végétaux terrestres et effets sur les microorganismes du sol (effets sur la fixation de l'azote),
- dans le milieu aquatique au travers d'essais, de données bibliographiques ou de modélisation : toxicité pour *Daphnia magna*, pour deux espèces de poissons (truite arc-en-ciel et crapet arlequin), pour deux espèces d'algues (*Chlorella pyrenoidosa*, *Poecelia reticulata*) et pour les organismes sédimentaires.

Par ailleurs, la bioaccumulation du DNC est étudiée, du lombric vers l'oiseau d'une part, du poisson vers l'oiseau, d'autre part.

En utilisant un facteur d'extrapolation de 100 pour la dérivation des CSEP et en utilisant les CSEP fournies par les essais, la modélisation ou la bibliographie la plus récente, tous les rapports CPE/CSEP sont inférieurs à 1.

Bien que certaines données ne soient pas issues d'essais réalisés selon les « Bonnes Pratiques de Laboratoires » et que certaines données soient parfois contradictoires entre elles, il est possible de conclure, dans le cadre de cet essai, que le produit à base de nicarbazine ne

présente pas de risque pour l'environnement terrestre et aquatique dans le cadre de l'essai terrain demandé et qui ne concerne qu'un nombre limité d'animaux.

**Conclusions et recommandations :**

Considérant l'évaluation du risque pour le poulet de chair,  
Considérant l'évaluation du risque pour le consommateur sous la réserve absolue qu'un temps d'attente de 7 jours soit respecté,  
Considérant l'évaluation du risque pour l'environnement terrestre et aquatique,  
l'Afssa émet un avis favorable à la demande d'autorisation d'essai terrain d'un produit à base de nicarbazine chez le poulet de chair.

**Mots clés :** anticoccidien, poulet, nicarbazine, alimentation animale, autorisation d'essai

**La Directrice générale**

**Pascale BRIAND**