

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 29 avril 2022

AVIS **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire** **de l'alimentation, de l'environnement et du travail**

relatif à une demande de modification de la partie B de l'annexe du Règlement (UE) 2020/354 de la Commission du 4 mars 2020 établissant une liste de destinations des aliments pour animaux visant à modifier l'objectif nutritionnel particulier « réduction du risque de fièvre vitulaire et d'hypocalcémie subclinique » et abrogeant la directive 2008/38/CE

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 10 septembre 2021 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) d'une demande de modification de la partie B de l'annexe du règlement (UE) 2020/354 de la Commission du 4 mars 2020 établissant une liste de destinations des aliments pour animaux visant à modifier l'objectif nutritionnel particulier « réduction du risque de fièvre vitulaire et d'hypocalcémie subclinique » et abrogeant la directive 2008/38/CE.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Le règlement (CE) n° 767/2009¹ du Parlement européen et du Conseil du 13 juillet 2009² concernant la mise sur le marché et l'utilisation des aliments pour animaux prévoit, dans son chapitre 3, la mise sur le marché de types spécifiques d'aliments pour animaux, dont les aliments visant un objectif nutritionnel particulier (ONP). Un ONP est défini à l'article 3 comme « *un objectif qui consiste à satisfaire les besoins nutritionnels spécifiques d'animaux dont le processus d'assimilation, le processus d'absorption ou le métabolisme est ou risque d'être perturbé temporairement ou de manière irréversible et qui, de ce fait, peuvent tirer des bénéfices de l'ingestion d'aliments pour animaux appropriés à leur état* ». Cet article 3 définit un « *aliment pour animaux visant des objectifs nutritionnels particuliers* » comme « *un aliment pour animaux capable de répondre à un objectif nutritionnel particulier du fait de sa composition*

¹ <http://data.europa.eu/eli/req/2009/767/oj>

² Modifié en dernier lieu par le règlement n° 2018/1903 de la Commission du 5 décembre 2018

particulière ou de son procédé de fabrication particulier, qui le distingue clairement des aliments pour animaux ordinaires. ».

Le chapitre 3 énonce à l'article 9 que « les aliments pour animaux visant des objectifs nutritionnels particuliers ne peuvent être commercialisés en tant que tels que si leur destination est incluse sur la liste établie conformément à l'article 10 et s'ils répondent aux caractéristiques nutritionnelles essentielles correspondant à l'objectif nutritionnel particulier qui figure sur cette liste ». L'article 10, point 1, du même règlement, prévoit que « la Commission peut mettre à jour la liste des destinations énoncées dans la directive 2008/38/CE en ajoutant ou en supprimant des destinations ou en ajoutant, supprimant ou modifiant les conditions associées à une destination donnée ». Ces modifications peuvent être demandées par des pétitionnaires. L'article 10, point 2, indique que « pour être recevable, la demande doit comporter un dossier démontrant que la composition spécifique de l'aliment pour animaux répond à l'objectif nutritionnel particulier auquel il est destiné et qu'il n'a pas d'effets négatifs sur la santé animale, la santé humaine, l'environnement ou le bien-être des animaux ».

Le règlement (UE) 2020/354³ de la Commission du 4 mars 2020 établissant une liste des destinations des aliments pour animaux visant des objectifs nutritionnels particuliers (ONP) et abrogeant la directive 2008/38/CE présente, dans sa partie B, une liste positive des destinations des aliments pour animaux visant des objectifs nutritionnels particuliers. Cette liste inclut la destination précise, à savoir l'objectif nutritionnel particulier, les caractéristiques nutritionnelles essentielles, les déclarations d'étiquetage et, le cas échéant, les indications particulières d'étiquetage.

Le dossier du pétitionnaire sur lequel porte cet avis, vise à modifier l'ONP « Réduction du risque de fièvre vitulaire et d'hypocalcémie subclinique ». Cet objectif nutritionnel particulier est déjà autorisé à l'heure actuelle dans le règlement (UE) 2020/354.

Le pétitionnaire propose l'addition de menthol à raison de 0,5 à 1,2 g/j, afin de réduire le risque de fièvre vitulaire et d'hypocalcémie subclinique chez la vache laitière.

Tableau 1 : Proposition d'addition formulée par le pétitionnaire

| | Objectif nutritionnel particulier | Caractéristiques nutritionnelles essentielles | Espèce ou catégorie d'animaux | Déclarations d'étiquetage | Durée d'utilisation recommandée | Autres dispositions associées |
|-------------------|---|---|-------------------------------|---------------------------|--|--|
| Addition proposée | Réduction du risque de fièvre vitulaire et d'hypocalcémie subclinique | Menthol : 0,5-1,2 g/j | Vache laitière | Menthol | De 3 semaines avant vêlage jusqu'à 3 semaines après vêlage | 1. L'application sous forme de bolus est permise 2. Assurer un apport suffisant en calcium via la ration journalière 3. Indiquer sur l'étiquetage : "il est recommandé de demander l'avis d'un nutritionniste avant l'utilisation et avant de prolonger l'utilisation" |

Conformément aux dispositions du règlement (CE) n°767/2009, la saisine ne porte pas sur une évaluation des caractéristiques nutritionnelles optimales pour répondre à l'objectif nutritionnel particulier, mais sur une appréciation des éléments fournis par le pétitionnaire.

L'avis de l'Anses est donc exclusivement demandé sur l'adéquation des preuves fournies par le pétitionnaire pour démontrer d'une part l'efficacité des caractéristiques nutritionnelles proposées au

³ <http://data.europa.eu/eli/reg/2020/354/oj>

regard de l'objectif nutritionnel particulier recherché et, d'autre part, l'absence d'effets négatifs sur la santé animale, la santé humaine, l'environnement ou le bien-être des animaux.

Selon les termes de la saisine « *Plus précisément, au cas d'espèce, l'avis de l'Anses est demandé sur les questions suivantes :*

1) *Le régime suivant, prévu pour les vaches laitières :*

Menthol : 0,5 g à 1,2 g/jour

Permet-il de réduire le risque de fièvre vitulaire et d'hypocalcémie subclinique ?

2) *La durée d'utilisation recommandée est-elle pertinente et adaptée à l'objectif nutritionnel particulier visé ?*

3) *Les autres dispositions prévues, relatives aux mentions d'étiquetage et au mode d'emploi, sont-elles pertinentes et adaptées à l'objectif nutritionnel particulier visé ?*

4) *La composition de l'aliment et les modalités d'emploi proposées sont-elles susceptibles d'avoir un effet négatif sur la santé animale, la santé humaine, l'environnement ou le bien-être des animaux ?*

Dans le cas où l'Anses considérerait que les caractéristiques nutritionnelles sont pertinentes, mais que leur définition gagnerait à être précisée pour garantir l'efficacité de l'aliment pour répondre à ces objectifs, il lui est demandé de proposer si possible un complément de définition.

Par ailleurs, l'Anses pourra, si elle l'estime nécessaire, émettre toute recommandation qu'elle juge souhaitable sur les caractéristiques des aliments pour animaux destinées à répondre à cet objectif nutritionnel. »

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>

L'expertise collective a été réalisée par le comité d'experts spécialisé (CES) « Alimentation animale (ALAN) » sur la base d'un rapport initial rédigé par deux rapporteurs et présenté lors de la réunion du CES ALAN du 18 janvier 2022. Le document « analyse et conclusions du CES » a été discuté et validé lors de la réunion du 15 mars 2022. L'expertise s'est basée sur le dossier et la bibliographie fournis par le pétitionnaire ainsi que des articles supplémentaires fournis par les rapporteurs.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES ALAN

3.1. Contexte scientifique de l'objet de l'ONP

3.1.1. Description physiologique et physiopathologique de la fièvre vitulaire et de l'hypocalcémie subclinique

Différents degrés d'hypocalcémie sont décrits chez les vaches laitières. La forme clinique, appelée fièvre vitulaire, hypocalcémie vitulaire ou fièvre de lait, affecte environ 5 % des vaches laitières, principalement les plus fortes productrices et, parmi elles, surtout les multipares à partir du troisième vêlage. Les animaux récidivent souvent lors des vêlages suivants. Elle est exceptionnelle chez les

vaches allaitantes. Elle est associée à une calcémie faible, en général inférieure à 1,4 mmole/L = 56 mg/L (au lieu de 2,1 à 2,5 mmole/L normalement). Elle se manifeste dans les 48 heures qui suivent le vêlage et débute par une incoordination motrice et des tremblements musculaires, puis un décubitus latéral. En l'absence de traitement à ce stade, les vaches entrent dans un état de coma et peuvent mourir.

La forme subclinique atteint environ 50 % des vaches (Goff, 2014) et est caractérisée seulement par une calcémie anormalement basse (inférieure à 2,0 à 2,2 mmole/L selon les auteurs) dans les 48 h après le vêlage. Elle est un facteur de risque de baisse de production, déplacements de caillette et troubles infectieux dont des métrites (Rodriguez *et al.*, 2017).

Dans les deux cas, l'incapacité de la vache à maintenir une concentration normale de calcium sérique est due à un délai entre l'augmentation de l'export calcique pour la sécrétion laitière⁴ et la mise en place d'une réponse homéostatique efficace, basée sur une augmentation de l'absorption digestive et surtout la mobilisation de calcium osseux. Cette réponse homéostatique est variable entre individus, plus faible chez les vaches âgées, et peut être perturbée par plusieurs facteurs ayant trait à l'alimentation minérale avant vêlage :

- excès de calcium, qui peut multiplier par trois, voire plus, l'incidence de la fièvre vitulaire (Lean *et al.*, 2006) en mettant au repos les mécanismes d'homéostasie. À un moindre degré, l'excès de phosphore peut aussi être préjudiciable ;
- déficit de magnésium, pouvant lui-même être conditionné par un excès de potassium ;
- bilan alimentaire cations – anions (BACA = (Na + K) – (Cl + S) exprimé en mEq/kg de matière sèche de ration) élevé, entraînant une alcalose métabolique préjudiciable à la mobilisation du calcium osseux ;
- carence en vitamine D, dont la forme active est le 1,25 (OH)₂ D₃ (ou calcitriol).

3.1.2. Réduction du risque d'hypocalcémie

➤ L'apport en minéraux dans la ration avant vêlage

Des antagonistes de l'absorption du calcium peuvent être utilisés pour réduire le risque d'hypocalcémie. Ils limitent la disponibilité du calcium. L'aluminosilicate de sodium (zéolite) fait partie de cette famille. Cette modalité de réduction du risque est prise en compte dans le règlement (UE) 2020/354 établissant une liste des destinations des aliments pour animaux visant des objectifs nutritionnels particuliers.

Le magnésium est un ion directement lié aux hormones régulatrices de la calcémie et à leurs récepteurs (Goff 2008). Une magnésémie inférieure à 15 mg/L est un facteur prédisposant à l'hypocalcémie (Goff, 2008). La méta-analyse de Lean *et al.* (2006) a montré qu'augmenter le taux d'incorporation de magnésium dans la ration de 0,3 % à 0,4 % permettait de réduire de 62 % le risque de fièvre vitulaire. En cohérence avec ce constat, Goff (2014) propose une teneur en magnésium d'au moins 0,35 à 0,40 % de matière sèche (MS) avant vêlage.

La recommandation d'apport de phosphore avant vêlage est d'environ 25 g/j (INRA 2018), sans pour autant dépasser 80 g/j (Goff, 2008) car cela peut affecter négativement la production rénale de 1,25 (OH)₂ D₃ et donc augmenter l'incidence de la fièvre vitulaire (Eisenberg *et al.*, 2019 ; Venjakob *et al.*, 2017).

Les ions sodium, potassium, chlore et soufre sont à prendre en compte pour obtenir une ration avec un BACA conduisant à une acidose métabolique. Les recommandations concernant le BACA de la ration

⁴ Les vaches laitières ont besoin d'environ 20 g de calcium absorbable par jour à la fin de la période de tarissement (INRA, 2018). Après vêlage, l'apport recommandé atteint 40 à 70 g par jour en fonction de la production laitière. Cependant, les mécanismes permettant de réduire l'excrétion urinaire de calcium, d'augmenter l'absorption du calcium dans l'intestin et de réguler positivement la libération de calcium par le tissu osseux prennent environ 48 heures, ce qui peut entraîner une hypocalcémie au cours de cette période (Martin-Tereso *et al.*, 2014).

varient selon les auteurs. Ainsi, selon Moore *et al.* (2000), une ration à -150 mEq/kg de MS, trois semaines avant le vêlage, assure la prévention d'un nombre important de cas d'hypocalcémie. D'après Horst *et al.* (1997), pour obtenir un effet préventif optimal, il est nécessaire d'obtenir un BACA d'environ -100 mEq/kg de MS. L'utilisation de rations anioniques (c'est-à-dire à BACA négatif) permet de diviser l'incidence des fièvres vitulaires par 3 à 5 (Thilsing-Hansen *et al.*, 2002). De nombreuses études ont montré que l'ajout d'anions dans le régime avant vêlage pour réduire le BACA améliorerait le statut en calcium et donc empêchait la fièvre vitulaire (Ender *et al.* 1971 ; Block, 1984 ; Oetzel *et al.*, 1988 ; Gaynor *et al.*, 1989) et plusieurs méta-analyses consacrées à ce sujet ont conduit à la même conclusion quant à l'efficacité d'un BACA négatif (Charbonneau *et al.*, 2006 ; Lean *et al.*, 2006 ; Lean *et al.*, 2019 ; Santos *et al.*, 2019). Ainsi, Santos *et al.*, 2019 concluaient que les vaches multipares devraient recevoir une ration à BACA négatif, mais qu'elles n'ont probablement pas besoin d'une ration à BACA inférieure à -150 mEq/kg de MS. En situation de terrain, les teneurs en Na, K, Cl et S de la ration sont souvent inconnues, ce qui ne permet pas une connaissance précise du BACA de la ration. Le niveau d'acidose métabolique est alors apprécié par la mesure du pH urinaire. Cette modalité de réduction du risque est prise en compte dans le règlement (UE) 2020/354, avec, un BACA compris entre 0 et 100 mEq/kg de MS, donc positif.

➤ L'apport de vitamine D3

Il est possible d'apporter de la vitamine D3 sous forme injectable entre 2 et 8 jours avant la date du vêlage, ou d'apporter du 1,25 (OH)₂ D3 par voie orale. Cette dernière modalité de réduction du risque est prise en compte dans le règlement (UE) 2020/354 via l'apport de farine de *Solanum glaucophyllum*.

➤ L'apport de calcium après vêlage

Le risque d'hypocalcémie peut être réduit par apport *per os* de calcium au moment ou peu après le vêlage, sous forme de propionate ou chlorure de calcium (Thilsing-Hansen *et al.*, 2002). Cependant, sous forme concentrée, ce dernier peut provoquer une irritation de la muqueuse du tractus digestif. Cet apport permet de réduire de 50 % à 60 % le risque de fièvre vitulaire (Thilsing-Hansen *et al.*, 2002). Cette modalité de réduction du risque est prise en compte dans le règlement (UE) 2020/354.

En résumé, des rations à faible BACA et l'apport de vitamine D3 ou ses formes hydroxylées avant vêlage, et l'apport de calcium *per os* juste après vêlage sont les méthodes les plus utilisées pour réduire le risque d'hypocalcémie. L'efficacité de ces différents moyens varie selon la littérature.

3.1.3 Absorption de calcium au niveau de l'intestin et du rumen

L'absorption du calcium par le tissu intestinal se fait principalement par des canaux de la famille des TRP (*Transient Receptor Potential*), en particulier TRPV⁵ et TRPV6, qui peuvent être stimulés par la vitamine 1,25(OH)₂D3 (den Dekker *et al.*, 2003; van Goor *et al.*, 2017). Il a été démontré que le rumen est également capable d'absorber des quantités importantes de calcium (Schröder *et al.*, 1997 ; Wilkens et Muscher-Banse, 2020). Mais le mécanisme apparaît différent puisqu'il ne semble pas impliquer la vitamine D3 et la stimulation de TRPV5 ou de TRPV6 (Schröder *et al.*, 2001 ; Wilkens *et al.*, 2009). D'autres représentants de la famille des canaux TRP peuvent aussi conduire des cations comme le calcium (Gees *et al.*, 2010). Des études récentes ont montré que certains canaux TRP, comme les TRPV3, sont présents dans le rumen (Liebe *et al.*, 2020 ; Rosendahl *et al.*, 2016). Ces canaux peuvent être activés par divers composés lipidiques bioactifs issus de végétaux. Concernant le menthol, un effet agoniste sur les TRPA1, TRPV3 et TRPM8 a été démontré (Bautista *et al.*, 2007 ; Macpherson *et al.*, 2006 ; Vogt-Eisele *et al.*, 2009). D'une part, l'ajout de menthol sur une lignée cellulaire embryonnaire de rein (HEK-293) surexprimant le TRPV3 bovin conduit à une augmentation de la conductivité pour le sodium, l'ammonium et le calcium (Schrapers *et al.*, 2018). D'autre part, il a été démontré que le rumen

⁵ *Transient Receptor Potential Vanilloid*

de vache exprime l'ARNm et la protéine de ce canal (Liebe *et al.*, 2020; Rosendahl *et al.*, 2016). De plus, une absorption accrue de calcium après l'ajout de menthol a été démontrée dans des expériences *ex vivo* sur le rumen de moutons (Geiger *et al.*, 2021, Rosendahl *et al.*, 2016). Il a également été démontré qu'une alimentation enrichie en menthol augmente les niveaux de calcium dans le sang chez les vaches en milieu de lactation et en fin de lactation et une tendance similaire a été observée chez les moutons en croissance (Braun *et al.*, 2019; Patra *et al.*, 2019b).

3.2. Analyse des publications du dossier

3.2.1. Présentation du dossier

Le dossier fourni par le pétitionnaire comprend :

- le courrier de demande de modification (objet de la saisine)
- un document technique de 44 pages avec certaines parties confidentielles, qui précise :
 - ✓ l'amendement proposé pour l'utilisation du menthol (0,5 à 1,2 g/jour à partir de 3 semaines avant la date présumée de vêlage jusqu'à 3 semaines après vêlage) pour la réduction de la fièvre vitulaire chez la vache laitière avec une application possible sous forme d'un bolus. L'utilisation du menthol nécessite un apport suffisant en calcium via la ration et l'avis d'un nutritionniste avant toute utilisation ;
 - ✓ les objectifs de la demande avec un rappel de la définition, la fréquence et les conséquences de la fièvre vitulaire ou l'hypocalcémie péripartum chez la vache laitière. Sont aussi présentés des éléments de contexte pour prévenir l'apparition de cette fièvre vitulaire avec l'apport oral de calcium et son absorption et les mécanismes moléculaires associés (canaux/récepteurs TRPV sensibles au calcium) à la fois au niveau intestinal et au niveau gastrique ;
 - ✓ des données de sécurité pour les espèces cibles, le consommateur, l'éleveur qui va préparer l'aliment et l'environnement.
- 54 documents joints au dossier dont 29 articles publiés, une étude non publiée de Ott *et al.* associée à un fichier Excel®, quatre documents en allemand dont une description du produit PerformaNat™ (2019), 12 avis scientifiques de l'EFSA⁶, quatre rapports conjoints FAO/WHO⁷, un rapport du laboratoire de référence de l'Union européenne pour les additifs alimentaires (EURL-FA), un document du *National Cancer Institute* et un rapport issu du *National Research Council*.

3.2.2. Identification des publications d'intérêt au regard de l'ONP

Parmi les 30 publications scientifiques jointes au dossier :

- Quatorze articles sont relatifs au contexte de l'hypocalcémie et/ou à la fièvre vitulaire chez la vache laitière ou le ruminant mais ne mentionnent pas d'effet du menthol (Erb et Grohn, 1988 ; Goff *et al.*, 2008 ; Goff et Horst, 1993 ; Horst *et al.*, 2005 ; Houe *et al.*, 2001 ; Martinez *et al.*, 2018 ; Oetzel, 1988 ; Pehrson *et al.*, 1998 ; Reinhardt *et al.*, 2011 ; Rodriguez *et al.*, 2017 ; Sabor *et al.*, 2017 ; Schroder *et al.*, 2001 ; Venjakob *et al.*, 2017 ; Venjakob *et al.*, 2018) ;
- Une étude de Ott *et al.* non publiée, portant sur l'effet du menthol sur la fièvre vitulaire et/ou l'hypocalcémie subclinique chez la vache laitière ;
- Une étude de Braun *et al.*, 2019 portant sur l'effet du menthol sur la calcémie chez la vache laitière en dehors du cadre de l'hypocalcémie subclinique ou clinique ;

⁶ European food safety authority

⁷ Food and Agriculture Organization/World Health Organization

- Une étude portant sur l'effet du menthol sur la calcémie chez le mouton en croissance (Patra *et al.*, 2019). L'expérience *in vivo* a testé chez le mouton Suffolk l'effet d'huiles essentielles contenant 90 % de menthol, sur trois lots impliquant chacun cinq femelles et trois mâles (lot 1 : régime témoin (sans huiles essentielles) ; lot 2 : régime avec une faible dose d'huiles essentielles (80 mg/jour) ; lot 3 : régime avec une forte dose d'huiles essentielles (160 mg/jour). L'expérience menée pendant 28 jours montre une tendance à l'augmentation du calcium plasmatique mais la différence n'était pas significative. Cette étude ne porte ni sur l'espèce ni sur la période visée par l'ONP ;
- Treize articles sur l'absorption du calcium, sa régulation et son mécanisme d'action au niveau du tractus gastrointestinal (rumen/intestin) (Baustita *et al.*, 2007 ; Dekker *et al.*, 2003 ; Gees *et al.*, 2010 ; Geiger *et al.*, 2021 ; Liebe *et al.*, 2020 ; Rosendahl *et al.*, 2016 ; Schrapers *et al.*, 2018 ; Schroder *et al.*, 1997 ; Vangoor *et al.*, 2017 ; Vogt *et al.*, 2007 ; Wilkens *et al.*, 2009 ; Wilkens *et al.*, 2020, Macpherson *et al.*, 2006). Ces articles montrent que la plupart des récepteurs/canaux TRP responsables de l'entrée de calcium dans le cytosol de la cellule sont présents dans l'épithélium ruminal bovin. De plus des expériences *in vitro* et *ex vivo* montrent qu'au moins un de ces récepteurs, le TRPV3, peut être activé par le menthol et par conséquent permettre une entrée de calcium dans la cellule. Cependant, ces données restent à démontrer *in vivo* et il reste à déterminer quelle est l'incidence sur la concentration plasmatique de calcium.

3.2.3. Analyse de chaque publication retenue pour juger de la pertinence de l'ONP

Parmi les travaux fournis par le pétitionnaire, seules deux études réalisées *in vivo* sont en lien avec l'ONP et ont été retenues pour l'expertise du dossier (Ott *et al.*, étude non publiée ; Braun *et al.*, 2019). Ainsi, l'étude de Ott *et al.* a été réalisée sur 96 vaches multipares (n=43 Brown Swiss et n=53 Holstein Friesian) divisées en deux lots (un lot témoin, et un lot supplémenté avec 2 g/jour/vache de BTX1601 qui est un prémélange contenant moitié de menthol et moitié de propylène glycol). La supplémentation a été effectuée à partir de 8 jours avant la date présumée de vêlage et jusqu'à 80 jours post-partum. L'ajout du BTX1601 augmente la concentration de calcium ionisé jusqu'à 4 semaines après vêlage chez les vaches Holstein alors qu'aucun effet n'est observé chez les vaches Brown Swiss. Dans cette étude, chez les vaches témoin, 17,6 % des vaches Brown Swiss et 28 % des vaches Holstein Friesian ont développé une hypocalcémie subclinique alors que dans le groupe menthol seulement 8 % des vaches Brown Swiss et 22,2% des vaches Holstein Friesian étaient affectées. Concernant la fièvre vitulaire clinique, elle était observée seulement chez les vaches Holstein Friesian et seulement chez 8 % des témoins et 5,6 % des vaches supplémentées en BTX1601. Cependant aucune analyse statistique n'est présentée sur l'incidence des hypocalcémies cliniques et subcliniques. L'analyse statistique faite par les experts du CES montre l'absence d'effet significatif. En outre, l'augmentation de la calcémie n'était pas significative à J1 après vêlage, période de survenue de la majorité des hypocalcémies.

La deuxième étude (Braun *et al.*, 2019) a été réalisée sur un total de 72 animaux (20 génisses et 52 multipares) en milieu de lactation alimentés avec un régime témoin (n=36) ou supplémenté (n=36). Les animaux du groupe supplémenté ont reçu une dose quotidienne correspondant à 1,2 g d'huiles essentielles contenant plus de 80 % de menthol, (additif alimentaire à base de menthol, BTX12 ; PerformaNat GmbH, Berlin, Germany, patent US 9693971). La durée de l'apport était de 20 jours. La supplémentation en huiles essentielles à base de menthol a augmenté la production de lait et de protéines et matières grasses du lait ainsi que l'efficacité alimentaire alors qu'elle a diminué les niveaux d'urée dans le plasma et le lait. De plus, elle a augmenté les teneurs en calcium plasmatique. Les teneurs sanguines en bêtahydroxybutyrate étaient significativement plus faibles dans le groupe supplémenté mais les vaches témoin n'étaient pas en cétose. Cette étude, réalisée sur des vaches en milieu de lactation, ne permettait pas d'étudier un effet sur l'hypocalcémie, qui n'est classiquement constatée qu'en tout début de lactation. D'autre part, l'augmentation de calcémie, quoique significative statistiquement, était faible (passage de 2,46 à 2,56 mmole/L) si comparée à la baisse de calcémie (de l'ordre de 1 mmole/L) observée lors de fièvre vitulaire. Enfin, le menthol ne représentait pas la totalité

des huiles essentielles distribuées (de l'eugénol et de l'anéthol étaient aussi présents même si en plus petites quantités). Par conséquent, les effets ne peuvent donc pas lui être attribués avec certitude.

Une synthèse des résultats de ces deux études est présentée dans le Tableau 2 ci-dessous :

Tableau 2 : Synthèse des données présentées dans les deux publications retenues

| Article | Type d'étude : in vivo / ex vivo / in vitro | Race et Nombre d'animaux | Forme d'apport et concentration de menthol dans la ration | Période et durée de l'apport | Calcémie ou plasma Ca ²⁺ (mmole/L) | Hypocalcémie | Autres effets du menthol |
|--------------------------------|---|--|---|---|---|--|--|
| Ott <i>et al.</i> , non publié | <i>In vivo</i> | 96 vaches multipares en lactation (n=43 Brown Swiss et n=53 Holstein Freisian) <u>début lactation</u> | BTX1601 (premix : 50% menthol 50% propylène glycol) 1g/jour/vache | 8 j avant vêlage et jusque 80 j post-partum | Effet significatif chez Holstein Friesian mais pas Brown Swiss de 3 jours à 4 semaines après vêlage (control : 1,194 vs BTX1601 : 1,218) | <u>Subclinique</u> : Holstein : témoin : 28% (n=7), BTX1601 : 22% (n=4) Brown Swiss : témoin : 17,6% (n=3), BTX1601 : 6,3% (n=1) => aucun test statistique <u>Clinique</u> : seulement chez Holstein Friesian témoin : 8% (n=2) BTX1601 : 5,6% (n=1) => aucun test statistique | Effet positif sur production laitière chez deux races |
| Braun <i>et al.</i> 2019 | <i>In vivo</i> | 72 animaux (20 génisses et 52 multipares) en <u>milieu de lactation</u> alimentés avec un régime témoin (n=36) ou supplémenté (n=36) | BTX12; PerformaNat GmbH, Berlin, Germany, patent US 9693971 : menthol (> 80 %) + eugénol et anéthol 1,2 g/jour/vache | 20 jours d'apport + 40 jours sans apport | Au bout de 20 j : control : 2,53 vs BTX12 : 2,56 | Pas déterminé | Diminution urée plasmatique, Betahydroxybutyrate, augmentation production laitière |

3.3. Réponses aux questions

3.3.1. Le régime suivant, prévu pour les vaches laitières : 0,5 g à 1,2 g/jour permet-il de réduire le risque de fièvre vitulaire et d'hypocalcémie subclinique ?

Le dossier ne permet pas de conclure qu'un apport continu de 0,5 g à 1,2 g de menthol /jour permet de réduire le risque de fièvre vitulaire et d'hypocalcémie subclinique pour les raisons suivantes :

- L'étude non publiée de Ott *et al.* a analysé un produit à base de menthol et de propylène glycol sur les hypocalcémies. Cependant aucune analyse statistique sur la fréquence des hypocalcémies cliniques ou subcliniques n'a été effectuée par les auteurs. Une seule dose (1 g/j) a été utilisée et la calcémie n'est pas modifiée à J1;
- l'apport du menthol n'est jamais testé seul : le menthol est associé au propylène glycol, (Ott *et al.*, étude non publiée) ou à d'autres composés comme l'eugénol et l'anéthol (Braun *et al.*, 2019) ;

Il faut par ailleurs noter qu'aucun des documents fournis par le pétitionnaire et aucune des références récentes issues de la recherche bibliographique ne mentionne la valeur de BACA des rations, dont le rôle sur les fièvres vitulaires est largement déterminant.

3.3.2. La durée d'utilisation recommandée est-elle pertinente et adaptée à l'objectif nutritionnel particulier visé ?

Il est difficile de répondre à cette question car aucun effet sur les fièvres vitulaires et hypocalcémies subcliniques n'a été statistiquement démontré (cf. réponse 1). En effet une seule étude a observé une variation, non statistiquement testée par le pétitionnaire, de pourcentage de fièvre vitulaire et d'hypocalcémie subclinique en faveur d'un régime supplémenté avec un additif à base de menthol. La durée d'utilisation proposée par le pétitionnaire ne fait l'objet d'aucune démonstration, avec un seul essai portant sur l'hypocalcémie, et d'aucune argumentation. La durée de trois semaines après vêlage ne peut donc être validée, dans la mesure où fièvre vitulaire et hypocalcémie subclinique se rencontrent dans les tous premiers jours après vêlage.

3.3.3. Les autres dispositions prévues, relatives aux mentions d'étiquetage et au mode d'emploi, sont-elles pertinentes et adaptées à l'objectif nutritionnel particulier visé ?

Comme indiqué dans le document du pétitionnaire, la déclaration d'étiquetage obligatoire de cette demande est : « menthol (2b02015) ». Il propose d'ajouter sur l'étiquetage : « *Il est recommandé l'avis d'un expert en nutrition avant toute utilisation ou prolongation d'utilisation* », ce qui est une recommandation habituelle pour les ONP, et serait donc pertinent si la demande du pétitionnaire était validée, ce qui paraît prématuré en l'état actuel du dossier. En outre, le pétitionnaire indique que l'avis d'un expert doit être demandé avant une extension de la période d'utilisation : aucune précision et aucune donnée ne sont fournies quant à l'intérêt et les modalités d'une telle extension.

Concernant la disposition « il est possible d'utiliser une forme bolus » : aucune donnée n'est fournie sur ce mode de distribution. Quant à la mention « Assurer un apport journalier adéquat en calcium via la ration », cette disposition est très vague : s'agit-il d'une couverture stricte des besoins ? d'un avertissement par rapport à des quantités trop élevées ? trop basses ? avant vêlage ? après vêlage ? quelles sont les données en appui de cette recommandation ?

Il est également spécifié dans le dossier technique (pages 12 et 13) que la chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse, avec verrouillage des temps de rétention (GC-MS-RTL) ne convient que pour la détermination du menthol dans l'additif alimentaire et dans les pré-

mélanges d'arômes alimentaires. Selon le laboratoire de référence de l'Union européenne pour les additifs alimentaires, la méthode n'est pas capable de discriminer entre le L-menthol et le D-menthol.

3.3.4. La composition de l'aliment et les modalités d'emploi proposées sont-elles susceptibles d'avoir un effet négatif sur la santé animale, l'environnement ou le bien-être des animaux ?

Parmi les stratégies classiques de réduction de risque de fièvre vitulaire, une diminution de la quantité de calcium absorbé avant vêlage est souvent proposée. Cette réduction passe soit par une réduction des apports (voir le contexte), soit par la distribution de zéolite prévue dans le règlement (UE) 2020/354, et qui diminue l'efficacité de l'absorption du calcium. Dans cette mesure, si le menthol augmente l'efficacité de l'absorption du calcium, il représenterait, lorsque distribué avant vêlage, un facteur d'augmentation du risque. Ce point n'est pas évoqué dans le dossier, et devrait être précisé en lien avec la notion d'« apport journalier adéquat » (voir partie 3.3.3.).

Comme indiqué dans le document fourni par le pétitionnaire, selon l'EFSA (EFSA FEEDAP Panel 2016), la quantité de menthol pouvant être ingérée sans risque pour une vache laitière de 650 kg est de 2 437 mg/jour. Ainsi, les propositions du pétitionnaires (0,5 à 1,2 g/jour de menthol restent cohérentes par rapport aux recommandations de l'EFSA. D'autre part, le menthol est autorisé comme additif alimentaire pour toutes les espèces animales.

Outre les éléments relatifs à l'évaluation de l'EFSA, le dossier du pétitionnaire indique que la teneur maximale recommandée en substance active est de 25 mg/kg dans une ration journalière à 12 % d'humidité. Le règlement (UE) 2018/245 qui autorise cet additif, n'indique pas cette valeur dans la colonne « teneur maximale », mais la présente comme une simple recommandation, assortie d'obligation d'étiquetage si cette teneur est dépassée.

La supplémentation en continu dans l'aliment s'accompagne de plusieurs effets autres qu'une augmentation de la concentration plasmatique de calcium : augmentation de la production laitière et modifications des teneurs sanguines en urée et bêtahydroxybutyrate (Ott *et al.*, étude non publiée), diminution du pH salivaire et modification de la quantité de salive chez la vache Holstein (Ricci *et al.*, 2021, bibliographie non fournie par le pétitionnaire) comme cela a déjà été montré chez l'humain (Haahr *et al.*, 2004, bibliographie non fournie), et augmentation de la durée d'ingestion chez les vaches laitières (Castillo-Lopez *et al.* 2021, bibliographie non fournie). D'autre part, une étude menée par Aperce *et al.* (2016) a montré qu'une supplémentation alimentaire en continu en menthol (0,3% de la matière sèche du régime) pendant 30 jours chez des taurillons augmentait la prévalence dans les fèces des bactéries *E. coli* résistantes à la tétracycline. Ainsi, les résultats de cette étude suggèrent que le menthol distribué en continu pourrait avoir un impact sur la résistance anti-microbienne au niveau des bactéries intestinales.

3.3.5. Autres remarques / compléments du CES ALAN

Sur le plan réglementaire, il existe, dans le registre des additifs pour aliments pour animaux, plusieurs entrées pour le menthol : 4 additifs dans la catégorie /groupe fonctionnel 2b (agents de saveur) et un additif en 4b (autres additifs zootechniques), dans lesquels le menthol est associé à d'autres composés, et autorisés respectivement chez les porcelets sevrés et les volailles à l'engraissement ou les poulettes. Le dossier fait référence à un des additifs du groupe 2b (2b02015 Menthol / CAS 89-78-1 / Flavis n° 02.015), autorisé en 2018, mais l'application proposée dans le cadre de l'ONP ne rentre pas dans le cadre des agents de saveur. Le cadre réglementaire de l'utilisation de menthol, additif sensoriel, pour un objectif de réduction de risque de maladie dans un ONP, mériterait donc d'être approfondi.

3.4. Conclusions du CES

Le CES ALAN considère que les données fournies par le pétitionnaire sont insuffisantes pour créer une nouvelle caractéristique nutritionnelle essentielle pour la réduction du risque d'hypocalcémie clinique (fièvre vitulaire) ou subclinique basée sur l'utilisation de menthol. Ces données concernent principalement le mode d'action, et l'efficacité n'est étayée que par une seule étude, d'intérêt limité en l'absence d'analyse statistique.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du CES « Alimentation animale ».

Dr Roger Genet

MOTS-CLÉS

Objectif nutritionnel particulier, fièvre vitulaire, vache laitière, menthol, alimentation animale.
Particular nutritional purpose, milk fever, dairy cow, menthol, animal feedingstuffs.

BIBLIOGRAPHIE (AUTRE QUE CELLE FOURNIE PAR LE PETITIONNAIRE)

Aperce CC, Amachawadi R, Van Bibber-Krueger CL, Nagaraja TG, Scott HM, Vinasco-Torre J, Drouillard JS. Effects of Continuous Supplementation in Feedlot Cattle Diets on the Fecal Prevalence of Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli*. *PLoS One*. 2016 Dec 28;11(12):e0168983. doi: 10.1371/journal.pone.0168983. eCollection 2016.

Castillo-Lopez E, Rivera-Chacon R, Ricci S, Petri RM, Reisinger N, Zebeli Q. Short-term screening of multiple phytogetic compounds for their potential to modulate chewing behavior, ruminal fermentation profile, and pH in cattle fed grain-rich diets. *J Dairy Sci*. 2021 Apr;104(4):4271-4289. doi: 10.3168/jds.2020-19521. Epub 2021 Feb 19.

Haahr AM, Bardow A, Thomsen CE, Siri B Jensen, Nauntofte B, Bakke M, Adler-Nissen J, Bredie WLP. Release of peppermint flavour compounds from chewing gum: effect of oral functions. *Physiol Behav*. 2004 Sep 15;82(2-3):531-40. doi: 10.1016/j.physbeh.2004.04.061.

Ricci S, Rivera-Chacon R, Petri RM, Sener-Aydemir A, Sharma S, Reisinger N, Zebeli Q, Castillo-Lopez E. Supplementation With Phytogetic Compounds Modulates Salivation and Salivary Physico-Chemical Composition in Cattle Fed a High-Concentrate Diet. *Front Physiol*. 2021 Jun 3;12:645529. doi: 10.3389/fphys.2021.645529. eCollection 2021.

CITATION SUGGÉRÉE

Anses (2022). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à une demande de modification de la partie B de l'annexe du Règlement (UE) 2020/354 de la Commission du 4 mars 2020 établissant une liste de destinations des aliments pour animaux visant à modifier l'objectif nutritionnel particulier « réduction du risque de fièvre vitulaire et d'hypocalcémie subclinique » et abrogeant la directive 2008/38/CE. (saisine 2021-SA-0175). Maisons-Alfort : Anses, 12 p.