



Le Directeur général

Maisons-Alfort, le 19 octobre 2016

AVIS

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

Relatif à une demande de modification des annexes de la directive n°2008/38/CE pour l'objectif nutritionnel particulier «Réduction du risque de cétose » chez les ruminants laitiers

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 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 rendus publics.

L'Anses a été saisie le 20 Mai 2016 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) pour la réalisation d'une expertise scientifique relative à une demande de modification des annexes de la directive n°2008/38/CE pour l'objectif nutritionnel particulier «Réduction du risque de cétose » chez les ruminants laitiers.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Le règlement (CE) n° 767/2009 du Parlement européen et du Conseil du 13 juillet 2009¹ 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. Ce chapitre 3 énonce à l'article 9 que « *les aliments pour animaux visant des objectifs nutritionnels*

¹ Modifié en dernier lieu par le règlement (UE) n° 939/2010 de la Commission du 20 octobre 2010 et rectifié au JOUE L 192 du 22.07.2011, page 71.

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* ».

La directive 2008/38/CE de la Commission du 5 mars 2008 établissant une liste des destinations des aliments pour animaux visant des objectifs nutritionnels particuliers (ONP) a été prise en application de la directive 93/74/CEE qui prévoit l'établissement d'une liste positive des destinations des aliments pour animaux visant des objectifs nutritionnels particuliers. Cette liste doit mentionner 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.

Ce dossier vise à modifier les caractéristiques nutritionnelles et les conditions d'étiquetage et d'emploi associées à l'ONP «Réduction du risque de cétose chez les ruminants laitiers». Cet objectif nutritionnel particulier est déjà autorisé à la directive 2008/38/CE.

La présentation de ce dossier fait suite à l'engagement pris par l'AFCA-CIAL (association des fabricants de compléments pour l'alimentation animale) de proposer des caractéristiques nutritionnelles plus précises et davantage contrôlables, conformément à la volonté de la Commission européenne et des Etats - Membres d'améliorer les garanties associées aux aliments diététiques.

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 demandeur.

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

Plus précisément, au cas d'espèce, l'avis de l'Anses est demandé uniquement sur les questions suivantes :

1) Un aliment comportant une des trois caractéristiques nutritionnelles suivantes :

a. Un apport minimal en Propane 1,2-diol : de 100 g/jour pour les vaches laitières ou 15 g/jour pour les chèvres et les brebis laitières,

b. Un apport minimal en propionate (sels de sodium ou calcium) : de 50 g/jour pour les vaches laitières et de 8 g/jour pour les chèvres ou brebis laitières,

c. Un apport minimal conjoint en Propane 1,2-diol et propionate (sodium ou calcium) : de 80 g/jour pour les vaches laitières et 12 g/jour pour les chèvres ou brebis laitières,

permet-il de réduire le risque de cétose chez les ruminants laitiers ?

2) Les recommandations de durée d'utilisation de l'aliment diététique répondant à l'objectif nutritionnel particulier proposées par les professionnels pour chacune des espèces de ruminants laitiers sont-elles adaptées pour atteindre cet objectif ?

Dans le cas où l'Anses considérerait qu'un critère est pertinent pour répondre à l'objectif nutritionnel particulier, mais que le dossier ne démontre pas de manière adéquate que la valeur proposée permet de garantir l'efficacité de l'aliment pour répondre à cet objectif, il est demandé à l'Anses de proposer si possible une valeur alternative.

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 particulier. Ces recommandations devront cependant figurer dans l'avis de manière clairement séparée des réponses apportées aux questions de la saisine.

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 rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisés «Alimentation animale» (CES ALAN) le 20 septembre 2016. Elle s'est appuyée sur le rapport commun de deux rapporteurs, rapport réalisé sur la base des documents fournis dans le dossier du pétitionnaire. L'analyse et les conclusions du CES ont été validées à l'unanimité.

3. ANALYSES ET CONCLUSIONS DU CES ALAN

3.1. Analyse de la demande

La caractéristique nutritionnelle essentielle dans la rédaction actuelle de l'annexe de la directive 2008/38 concernant la « réduction du risque de cétose » pour les vaches laitières et les brebis est : « Ingrédients fournissant des sources d'énergie glycogéniques ».

Les déclarations d'étiquetage dans la rédaction actuelle sont vagues, ne mentionnant pas l'obligation de préciser les quantités de :

- Ingrédients fournissant des sources d'énergie glycogénique.
- Propane-1,2-diol (si ajouté en tant que glucoformateur)
- Glycérol (si ajouté en tant que glucoformateur)

La durée recommandée d'utilisation dans la rédaction actuelle est de :

- Trois à six semaines après le vêlage dans le cas des aliments pour vaches laitières ;
- Les six dernières semaines avant et les trois premières semaines après l'agnelage dans le cas des aliments pour brebis.

Le pétitionnaire propose de :

- Modifier les espèces ou catégories d'animaux par « ruminants laitiers » ;
- Remplacer les caractéristiques nutritionnelles essentielles par :
 - Apport minimal en Propane 1,2-diol : 100 g/jour pour les vaches laitières ou 15 g/jour pour les chèvres ou brebis laitières ;
 - ou Apport minimal en Propionates (sel de sodium ou calcium) : 50 g/jour pour les vaches laitières ou 8 g/jour pour les chèvres ou brebis laitières ; ou apport minimal conjoint en Propane 1,2-diol et Propionates (de sodium ou calcium) 80 g/jour pour les vaches laitières ou 12 g/jour pour les chèvres ou brebis laitières.
- Modifier la durée recommandée :
 - entre trois semaines avant et six semaines après vêlage pour les vaches laitières ;
 - entre six semaines avant et trois semaines après la mise-bas pour les brebis et chèvres laitières.
- Modifier les déclarations d'étiquetage :
 - Propane 1,2-diol (si ajouté en tant que glucoformateur) : nom et teneur ;
 - Propionates (de sodium ou de calcium) : nom et teneur.

Les modifications demandées sont donc importantes, excluant les brebis autres que laitières, incluant les chèvres laitières, excluant la notion de « sources glyco-géniques » et le glycérol, proposant des doses minimales, modifiant la durée d'utilisation et imposant de préciser les quantités de composés ajoutés suivant la catégorie d'animaux considérée.

Le dossier technique fourni par le pétitionnaire est constitué d'un argumentaire de 10 pages organisé en trois parties. La première vise à justifier l'objectif nutritionnel particulier. Cette partie cite une vingtaine de références, la plupart issues de congrès ou de revues de formation continue vétérinaire, non fournies. Elle présente les conséquences zootechniques de la cétose, sa prévalence et sa physiopathologie et quelques conseils de prévention au niveau de la conduite alimentaire. Le paragraphe sur la physiopathologie est illustré par 2 schémas très peu commentés. Cette partie est presque uniquement basée sur des données relatives aux vaches laitières (2 références sur la chèvre laitière et rien sur la brebis laitière). Elle n'apporte pas d'éléments utiles pour la réponse aux questions de la saisine.

La deuxième partie porte sur les caractéristiques nutritionnelles d'un aliment permettant la réduction du risque de cétose. Elle se subdivise en un argumentaire relatif au propane-1,2-diol plus couramment appelé monopropylène-glycol ou propylène-glycol (16 références, majoritairement issues de la littérature scientifique) et un argumentaire relatif aux propionates (3 références dont une seule issue de la littérature scientifique). Seul le modèle vache laitière est cité.

La troisième partie comprend des données sur la sécurité du propylène-glycol, une répétition non argumentée des propositions de durée d'utilisation et de déclaration d'étiquetage, et quelques considérations sur les obligations des vendeurs d'aliments diététiques.

3.2. Rappel sur la cétose

La cétose est une maladie métabolique qui apparaît chez les femelles de ruminants lors de bilan énergétique négatif lié à des besoins importants et prioritaires de production laitière ou de gestation, non couverts par la ration ingérée. Chez les vaches laitières, elle survient principalement en début de lactation (2 à 7 semaines postpartum, McArt *et al.*, 2013), alors que chez les brebis, elle survient surtout en fin de gestation, portant alors le nom de « toxémie de gestation ». Les chèvres laitières peuvent manifester une cétose en fin de gestation ou en début de lactation.

En fin de gestation et début de lactation, les besoins du fœtus puis ceux liés à la production laitière sont prioritaires sur ceux de la mère, en particulier pour le glucose. Il en résulte une insuffisance de disponibilité de glucose pour les tissus maternels, qui ne se traduit pas forcément par une hypoglycémie, mais qui entraîne une mobilisation des acides gras du tissu adipeux, passant dans le sang sous forme d'acides gras non estérifiés (AGNE). En début de lactation, cette lipomobilisation est accrue à cause d'une capacité d'ingestion réduite (Roche *et al.*, 2012), et une part importante de ces acides gras est prélevée par le foie. Les deux voies physiologiques de leur métabolisme hépatique, l'oxydation complète ou la ré-estérification suivie d'exportation sanguine dans des lipoprotéines sont saturées lorsque le prélèvement hépatique d'AGNE est important. Il y a alors d'une part formation de composés intermédiaires de la dégradation, les corps cétoniques (acéto-acétate, β -hydroxybutyrate (BHB) et acétone) qui diffusent dans l'organisme par voie sanguine et d'autre part accumulation hépatique de triglycérides (stéatose).

La cétose se caractérise aussi par une élévation des teneurs en corps cétoniques dans le lait et les urines.

On définit classiquement deux niveaux de cétose de début de lactation : la cétose clinique se manifeste par des symptômes à dominante nerveuse. La cétose subclinique, asymptomatique, se caractérise par une teneur sanguine en BHB qui dépasse des seuils de 1200 μ M (McArt *et al.*, 2012) ou 1400 μ M (Duffield *et al.*, 2009). A cette teneur élevée en BHB, marqueur de la cétose sensu-stricto, est en général associée une hausse des teneurs en AGNE circulants, marqueurs de l'amaigrissement, et parfois une hypoglycémie. Cette cétose subclinique est un facteur de risque de troubles zootechniques (baisse de production, modification de composition du lait, retard de reprise d'activité ovarienne) et cliniques (déplacement de caillette, métrite (Duffield *et al.*, 2009) ou troubles infectieux liés à une baisse des défenses immunitaires....).

Par ailleurs, un état d'engraissement important (risque accru avec une note d'état corporel supérieure à 3,25 sur une échelle de 0 à 5, 0 étant très maigre et 5 très gras) étant à l'origine d'une diminution d'appétit chez les ruminants, les animaux gras présentent un risque de cétose plus important que les animaux en état corporel normal. Les autres grands facteurs de risque sont une prolificité élevée chez les petits ruminants, et une production laitière importante chez les vaches (Garro *et al.*, 2013) et chèvres laitières. La parité (les animaux de rang de lactation 2 ou 3 ont plus de risque de développer une cétose, Suthar *et al.*, 2013) et la race (Holstein plus sensible) sont aussi susceptibles d'influencer l'apparition de cétose. L'alimentation des vaches laitières en prepartum peut aussi influencer le risque d'apparition de cétose. Le déficit glucosé étant un point clé de la physiopathologie de la cétose, de nombreuses stratégies de prévention ou traitements sont basées sur l'apport de précurseurs de la néoglucogenèse hépatique (injections intraveineuses de glucose ou de dextrose, apports per os de propionate de sodium ou monopropylène glycol, Bareille *et al.*, 1995).

3.3. Réponses aux questions

1) Un aliment comportant une des trois caractéristiques nutritionnelles suivantes :

a. *Un apport minimal en Propane 1,2-diol : de 100 g/jour pour les vaches laitières ou 15 g/jour pour les chèvres et les brebis laitières,*

b. *Un apport minimal en Propionates (sels de sodium ou calcium) : de 50 g/jour pour les vaches laitières et de 8 g/jour pour les chèvres ou brebis laitières,*

c. *Un apport minimal conjoint en Propane 1,2-diol et Propionates (sodium ou calcium) : de 80 g/jour pour les vaches laitières et 12 g/jour pour les chèvres ou brebis laitières,*

permet-il de réduire le risque de cétose chez les ruminants laitiers ?

- *Apport minimal en Propane 1,2-diol de 100 g/jour pour les vaches laitières ou 15 g/jour pour les chèvres et les brebis laitières*

Le propane 1,2-diol, plus couramment appelé propylène-glycol, est une matière première inscrite au catalogue européen des matières premières (règlement UE 68/2013) dans la catégorie « divers » sous le numéro 13.11.1. Il s'agit d'un liquide de densité 1,04. Ce composé est partiellement transformé en propionates par le microbiote ruminal. Le propionate et le propylène-glycol absorbés sont tous deux des précurseurs de la néoglucogenèse hépatique, d'où leur intérêt lors de cétose.

L'argumentation du pétitionnaire concernant le propylène-glycol présente en une page quelques essais, avec différents modes d'action, effets thérapeutiques et effets sur des marqueurs biochimiques, sans pratiquement aucune donnée sur les doses nécessaires. Ce dossier cite 15 références bibliographiques et le pétitionnaire n'utilise que 3 références pour avancer des doses utilisées chez la vache laitière. Un certain nombre d'entre elles ne contribuent pas directement à la réponse à la question :

- Foster, 1988, ouvrage introuvable ;

- MacArt *et al.*, 2011 et MacArt *et al.*, 2012, références relatives au traitement de vaches en cétose subclinique (détection par analyse sanguine) : si ces références ne peuvent être utilisées pour valider des doses efficaces de propylène-glycol en réduction du risque de cétose, elles démontrent cependant l'efficacité du propylène-glycol en traitement curatif à raison de 300 ml/j ;

- Kristensen *et al.*, 2007, référence qui porte uniquement sur le métabolisme ruminal et hépatique du propylène - glycol, mais pas sur les modalités d'utilisation ;

- Chung *et al.*, 2009, référence qui porte uniquement sur des effets métaboliques de court terme avec une distribution de courte durée, sur des vaches en deuxième moitié de lactation, donc très loin de la période de risque de cétose ;

Les références citées dans le dossier et faisant état de doses utilisées sur des vaches en peripartum sont :

- Studer *et al.*, 1993 distribuant 1L de propylène-glycol par jour au cours des 10 jours précédant le vêlage, et constatant une diminution significative de la teneur plasmatique en AGNE prepartum et postpartum, ainsi qu'une diminution de teneur en BHB plasmatique

prepartum, mais pas postpartum. La production laitière des vaches était de 33 kg/j. La teneur sanguine moyenne des témoins était dans des limites physiologiques pour BHB et proche des seuils de positivité de détection de cétose pour les AGNE, et ramenées à des valeurs physiologiques par le propylène-glycol. Dans la partie discussion, cet article indique que l'effet antilipolytique du propylène-glycol augmente de façon linéaire entre 117 et 1000 ml/j, en s'appuyant sur trois références :

- Une thèse de l'université du Wisconsin de 1975, introuvable ;
- Un article (Ruegsegger *et al.*, 1986) montrant que l'apport de 125 ml de propylène glycol ne modifie pas les teneurs circulantes en AGNE et BHB, mais les vaches témoins avaient des teneurs sanguines en ces métabolites très inférieures aux seuils de caractérisation de cétose subclinique ;
- Un article (Sauer *et al.*, 1973) relatant une expérimentation, sur vaches en début de lactation (sur les 8 premières semaines), basée sur des doses exprimées en % de l'aliment concentré, distribué à raison de 1 kg pour 4 kg de lait à des vaches produisant environ 20 kg de lait par jour. L'incorporation de propylène-glycol à raison de 3% des concentrés représenterait donc un apport d'environ 150 ml de propylène-glycol par jour, et entraînerait une diminution significative des teneurs plasmatiques en AGNE et BHB de la 4ème à la 7ème semaine postpartum, les animaux témoins ayant une concentration moyenne en BHB sanguin de 4,5 mg/100 ml soit environ 460 μ M.

- Bauchart *et al.*, 1998 qui s'appuie sur l'expérience de Studer *et al.*, 1993 et reprend les références citées par ces derniers auteurs ;

- Ghilardi, 1998 qui, sur la base d'une référence de 1986, introuvable, propose une dose de 200 ml de propylène-glycol en prévention de la cétose, alors que le dossier du pétitionnaire attribue à cet auteur une proposition de 100 g/j ;

- Hippen 1998, citant un certain nombre de références, mais ne rapportant les doses utilisées que pour quelques-unes, avec des valeurs allant de 500 à 1000 g/j ;

- Grummer *et al.*, 1994 comparant à un témoin des doses de 300, 600 ou 900 g/j, sur des génisses subissant une restriction alimentaire contrôlée de 50% et constatant une diminution significative des AGNE et du BHB circulants, avec des effets peu différents entre la dose la plus faible et la dose la plus élevée ;

- Chagas *et al.*, 2007, montrant qu'un apport de 250 ml de propylène-glycol par jour pendant les 16 premières semaines de lactation à des vaches ayant vêlé en état corporel non optimal (note d'état moyenne 2,8) diminue la teneur plasmatique en AGNE mais pas celle de BHB, ces dernières étant normales en moyenne (500 μ mol/L). Notons que ces auteurs n'ont pas distribué de propylène-glycol aux vaches ayant vêlé en état corporel plutôt gras (en moyenne 3,4), alors qu'il s'agit d'un facteur de risque connu de cétose, l'ensemble des vaches laitières était au pâturage ;

- Nielsen *et al.*, 2004 rapportant des essais utilisant de 210 à 919 g de propylène-glycol par jour, la dose de 210 g ayant été utilisée sur des vaches ayant vêlé depuis plus de deux mois, donc hors période de risque de cétose. Une référence citée dans cette revue (Formigoni *et al.*, 1996) rapporte une diminution significative des AGNE plasmatiques sans modification du BHB avec une dose de 300 ml par jour pendant les 10 jours précédant le vêlage et 3, 6, 9 et 12 jours après vêlage ;

- Butler *et al.*, 2006, démontrant une diminution significative quoique de faible amplitude (moins de 20%) des teneurs plasmatiques en AGNE et BHB sur des vaches produisant 44 kg de lait par jour et recevant 500 ml de propylène-glycol par jour de 10 jours avant vêlage à 25 jours après vêlage, les valeurs moyennes étant proches des limites physiologiques pour les témoins (de l'ordre de 13 mg/dL soit 1300 µM).

- Miyoshi *et al.*, 2001, démontrant une diminution de teneur sanguine en AGNE, sans détermination des concentrations du BHB sanguin, lors d'apport de 500 ml de propylène-glycol par jour de 7 à 42 jours après vêlage.

Au bilan, et en ce qui concerne les vaches laitières, la dose proposée de 100 g/j n'est pas étayée par les références citées, la dose efficace la plus faible (150 g/j) résultant de l'étude de Sauer *et al.* (1973) cité par Studer *et al.* (1998) ayant été validée sur des vaches produisant 20 kg de lait en début de lactation, donc dans des conditions très éloignées des niveaux de production actuellement enregistrés en élevage bovin laitier. La dose la plus faible pouvant être validée sur la base du dossier du pétitionnaire est 250 ml/j (Chagas *et al.*, 2007).

Cependant, le dossier du pétitionnaire ne mentionne pas de façon exhaustive toutes les études publiées sur le sujet. Une étude de Pickett *et al.*, (2003), rapporte l'effet de 500 ml/j de propylène-glycol distribué durant les 3 premiers jours après vêlage par drenchage à des vaches laitières (produisant 36 kg de lait/j). Le propylène-glycol a diminué significativement sur les 21 premiers jours de lactation les concentrations plasmatiques d'AGNE, sans effet sur le BHB sanguin (valeurs moyennes du lot témoin 10 mg/dL soit 100 µM). Hoedemaker *et al.* (2004) ont distribué en prepartum (300 ml sur 12 j) et 12 j en postpartum (100 ml de propylène-glycol) à des vaches laitières produisant environ 35 kg de lait par jour. Le propylène-glycol a diminué les concentrations de BHB sanguin une semaine en prepartum et jusqu'à 7 semaines en postpartum. Le traitement a abaissé uniquement les teneurs plasmatiques des AGNE une semaine en prepartum par rapport au lot témoin.

Moallem *et al.* (2007) ont distribué en peripartum et durant 3 semaines en postpartum 500g/j de propylène-glycol. Le niveau de production des animaux était de l'ordre de 42 kg de lait/j. Les concentrations plasmatiques d'AGNE et de BHB (4,5 mg/dL soit 460 µM) n'ont pas été modifiées par le propylène-glycol. Une autre étude réalisée par Chagas *et al.* (2008) rapporte qu'une distribution de 250 ml/j de propylène-glycol du vêlage jusqu'à 150 j de lactation diminue la concentration plasmatique des AGNE par rapport au témoin, les animaux des 2 lots avaient un accès au pâturage limité, la concentration du BHB sanguin n'a pas été mesurée.

Une étude de Chung *et al.*, (2009) a été consacrée à l'effet d'apports de 162,5 g de propylène-glycol par jour au cours des 21 premiers jours de lactation, sans observer de changement des concentrations circulantes d'AGNE mais en notant une diminution non significative de BHB (-36%), et une tendance vers une diminution de l'incidence de cétose subclinique (P=0,07). Les vaches témoins présentaient des teneurs circulantes élevées en AGNE et BHB. La même année Liu *et al.*, (2009) utilisaient des doses de 150 à 450 ml de propylène-glycol et observaient des effets linéaires significatifs sur les AGNE et le BHB, mais si faibles (-2% pour la dose de 150 ml) que l'impact biologique est très incertain. Lomander *et al.* (2012) ont testé l'effet de 300 g de propylène-glycol en fermes commerciales sur un grand nombre de vaches laitières (693) durant les 3 premières semaines de lactation. Aucune différence au niveau des concentrations plasmatiques d'AGNE et de BHB n'a été

observée entre les témoins et les animaux recevant le propylène-glycol, bien que les teneurs moyennes en BHB aient été caractéristiques d'une cétose subclinique (1200 µM).

D'autre part, des articles de formation continue non cités dans le dossier du pétitionnaire mentionnent l'usage du propylène-glycol : Bareille *et al.*, 1995, proposent à titre curatif un apport de monopropylène-glycol de 250 g 2 fois par jour durant 4 jours, l'effet thérapeutique étant plus rapide à la dose de 500 g vs 250 g. Cet auteur conseille de ne pas dépasser la dose de 800 g par jour, car des troubles nerveux apparaissent alors. En préventif, il conseille la distribution de 150 à 200 g/j de monopropylène glycol chez des vaches ayant déjà fait des cétozes cliniques, dès la fin de la gestation. Aubadie-Ladrix (2011), rapporte les doses de 250 à 500 g/j de monopropylène glycol durant 4 jours à titre curatif. A titre préventif, l'auteur rapporte la dose de 1 litre en une fois soit 8 jours ante-partum, soit le jour du vêlage.

En ce qui concerne les chèvres et brebis laitières, aucune référence n'est fournie par le pétitionnaire, et la littérature scientifique est pratiquement muette sur les doses de précurseurs de la néoglucogenèse utilisables en réduction de risque de la toxémie de gestation ou de la cétose. En conséquence, l'usage de propylène-glycol dans ces espèces est le résultat d'une extrapolation des connaissances obtenues chez la vache laitière, extrapolation basée sur la similitude des mécanismes physiopathologiques de la cétose de la vache laitière et de la toxémie de gestation ou de la cétose des petits ruminants. Une validation expérimentale de cette extrapolation des effets de précurseurs de la néoglucogenèse de la vache à la brebis est disponible : Cal Pereyra *et al.* (2015) ont montré qu'un apport de 100 ml d'un mélange à 22% de propylène-glycol et 78% d'un autre précurseur de la néoglucogenèse, le glycérol, permettait de restaurer la glycémie et d'abaisser la teneur circulante en BHB sur des brebis en fin de gestation ayant subi une restriction alimentaire. A la connaissance du CES, la seule étude réalisée chez la brebis laitière a analysé l'effet d'un apport de 160 g/j ou 80 g/j de propylène-glycol 30 j en prepartum et 30 j en postpartum (Chiofalo *et al.*, 2005). Seule la dose de 160g/j de propylène-glycol a diminué la concentration des AGNE plasmatiques en prepartum et aucun effet n'a été observé ni sur la concentration des AGNE en postpartum, ni sur les concentrations de BHB sanguin en pre ou postpartum. Par contre, les 2 doses ont augmenté la glycémie en postpartum.

Dans le cadre d'une extrapolation de dose des vaches aux petits ruminants, le calcul devrait être basé sur le poids métabolique, soit une dose environ 5 fois plus faible pour des petits ruminants que pour des vaches ($70^{0,75} / 650^{0,75}$).

En conclusion, concernant le propylène-glycol pour des vaches laitières, la dose de 100 g/jour n'est étayée ni par le dossier, ni par les données de la littérature non mentionnées dans le dossier. Les essais montrant des effets positifs sur les marqueurs de cétose ont été réalisés avec au moins 250 g de propylène-glycol par jour. L'extrapolation de cette dose aux petits ruminants conduirait à une recommandation d'apport minimal de 50 g/j. Néanmoins, cette valeur est discutable puisqu'au vu de l'essai de Chiofalo *et al.*, (2005), une dose similaire (60 g/j) n'a eu aucun effet sur les indicateurs de cétose (AGNE et BHB sanguins) chez la brebis laitière, et a uniquement élevé la glycémie en postpartum.

- Apport minimal en Propionates (sels de sodium ou calcium) de 50 g/jour pour les vaches laitières et de 8 g/jour pour les chèvres ou brebis laitières

L'acide propionique et les propionates de sodium et de calcium ne sont pas inscrits au catalogue européen des matières premières (UE 68/2013), mais sont des additifs (respectivement E280, E281 et E282) du groupe des conservateurs, autorisés dans toutes les espèces animales sans limite de dose. Le propionate est un acide gras volatil formé dans le rumen lors de la fermentation des glucides de la ration, en particulier de l'amidon. Il est physiologiquement le précurseur dominant de la néoglucogénèse hépatique chez les ruminants en conditions normales d'alimentation

Le dossier du pétitionnaire ne fournit que trois références à l'appui de l'utilisation de propionate pour la réduction du risque de cétose :

- Gröhn, 1985 démontrant que l'apport de propionate par voie veineuse augmente la glycémie chez des vaches céto-siques ou non céto-siques ;
- Bareille *et al.*, 1995 ne mentionnant l'utilisation du propionate qu'en adjuvant de traitement curatif de la cétose de la vache (250 à 500 g par jour). Les sources bibliographiques relatives à cette affirmation ne sont pas citées ;
- Aubadie-Ladrix, 2011 mentionnant le propionate pour la prévention de la cétose, sans préciser de dose, et mentionnant le propionate en traitement curatif de la cétose avec une dose de 250 à 500 g par jour. Les sources bibliographiques relatives à ces affirmations ne sont pas citées.

En dehors du dossier du pétitionnaire, quelques références scientifiques sont disponibles :

- McNamara *et al.*, 2005 montrant l'effet anti-lipolytique de 125 g de propionate de calcium par jour de 21 jours avant vêlage à 35 jours après. Par contre, les teneurs sanguines en AGNE n'étaient pas significativement modifiées, mais l'analyse statistique en mesures répétées couvrait la période 21 jours avant à 84 jours après vêlage, ce qui peut avoir masqué des effets dans l'immédiat postpartum, les concentrations en AGNE étant divisées par plus de 2 en première semaine de lactation.
- Mandebvu *et al.*, 2003, montrant une diminution des corps cétoniques urinaires et une tendance ($P = 0,07$) vers une diminution des AGNE plasmatiques postpartum lors de distribution, au cours des 6 semaines entourant le vêlage, de 110 g d'un mélange contenant 99,8% de propionate de calcium ainsi que des traces de cuivre et zinc.
- Goff *et al.*, 1996, utilisant du propionate de calcium en deux apports de 171 g le jour du vêlage, dans un objectif de réduction du risque de fièvre de lait, et constatant une diminution significative des AGNE plasmatiques 24 heures après vêlage, ce qui vient à l'appui d'un effet antilipolytique du propionate de calcium ;
- Liu *et al.*, 2010, utilisant 100 à 300 g de propionate de calcium par jour au cours des deux mois suivant le vêlage, et montrant des effets significatifs quoique de très faible amplitude sur les AGNE et BHB circulants.

Ces données obtenues sur vaches laitières ne permettent pas de valider la proposition du pétitionnaire, qui est de 50 g de propionate de calcium ou de sodium par jour, la dose la plus faible validée par la littérature (Mandebvu *et al.*, 2003) étant de 110 g/j pour des vaches laitières, extrapolable à 22 g par jour pour des petits ruminants. Il est encore à noter qu'à la

connaissance du CES, aucune étude n'a testé l'effet des sels de propionate chez les petits ruminants, rendant difficile l'extrapolation.

- Apport minimal conjoint en Propane 1,2-diol et Propionates (sodium ou calcium) de 80 g/jour pour les vaches laitières et 12 g/jour pour les chèvres ou brebis laitières

Le propylène-glycol est partiellement transformé en propionate dans le rumen, puis partiellement absorbé tel quel. Cette fraction absorbée est transformée en glucose dans le foie via l'oxalo-acétate, qui est aussi un intermédiaire de la néoglucogenèse à partir du propionate. On peut donc considérer que les voies métaboliques d'utilisation de ces deux substances sont très proches, et donc que des combinaisons sont envisageables.

Cependant, la combinaison proposée par le pétitionnaire représente des doses insuffisantes au regard des données de la littérature, comme pour le propylène-glycol seul ou les propionates seuls, et n'a pas de sens si les proportions des deux produits ne sont pas connues. Ainsi par exemple, pris à la lettre, un « apport conjoint de 80 g de propylène-glycol + propionates », tel que proposé par le pétitionnaire, pourrait être constitué d'un apport de 79 g de propylène-glycol + 1g de propionate, donc négligeable pour le propionate et encore en dessous des 100 g de propylène-glycol seul proposés par le pétitionnaire et jugés insuffisants dans cet avis.

En se basant sur les doses minimales proposées pour le propylène-glycol et les propionates, il est possible de proposer des combinaisons telles que (propionate + 0,44 x propylène²) soit au moins de 110 g/j pour les vaches laitières et 22 g/j pour les brebis et chèvres.

2) Les recommandations de durée d'utilisation de l'aliment diététique répondant à l'objectif nutritionnel particulier proposées par les professionnels pour chacune des espèces de ruminants laitiers sont-elles adaptées pour atteindre cet objectif ?

Le dossier du pétitionnaire ne contient aucune donnée justifiant les recommandations de durée d'utilisation de l'aliment diététique qu'il propose, à savoir entre trois semaines avant et six semaines après vêlage pour les vaches laitières, et entre six semaines avant et trois semaines après la mise-bas pour les brebis et chèvres laitières.

Dans le cas des vaches laitières, la cétose survient au cours des 3 à 7 premières semaines de lactation, mais on sait que le bilan énergétique des animaux peut déjà être négatif dans les toutes dernières semaines de gestation. La période proposée par le pétitionnaire correspond donc bien à la période de risque d'apparition de la cétose.

Dans le cas des brebis et chèvres laitières, la cétose survient surtout au cours des 6 dernières semaines de gestation sous forme de toxémie de gestation, et plus rarement en début de lactation ; la période proposée par le pétitionnaire couvre correctement cette période de risque.

² 0,44 = recommandation de 110g de propionate/recommandation de 250g de propylène-glycol

3.4. Autres recommandations

Concernant la toxémie de gestation des brebis :

Les modifications proposées par le pétitionnaire limitent les catégories d'animaux aux ruminants laitiers, alors que la version actuelle concerne les vaches laitières et les brebis. Ce changement exclut donc les brebis non laitières, élevées pour la production d'agneaux qu'elles allaitent. Ces brebis allaitantes sont tout aussi sensibles à la toxémie de gestation que les brebis laitières, voire plus car leur prolificité est souvent supérieure (Bareille *et al.*, 1995). Le CES propose donc de remplacer « Ruminants laitiers » par « Vaches laitières, chèvres et brebis » dans la colonne « Espèce ou catégories d'animaux ».

Concernant l'usage des propionates de calcium et sodium sur des animaux en fin de gestation :

Chez les femelles de ruminants à la mise bas, l'hypocalcémie clinique ou subclinique est relativement fréquente. Parmi les déséquilibres alimentaires qui favorisent l'apparition de ces hypocalcémies figurent les excès de calcium et sodium avant vêlage. L'utilisation de propionates de calcium et sodium en fin de gestation doit donc être raisonnée en fonction du risque d'hypocalcémie. Ainsi par exemple, pour des vaches laitières, un apport de 100 g de propionate de calcium représente un apport de 20 g de calcium, soit 1/3 des apports recommandés. Un apport de 100 g de propionate de sodium représente un apport d'environ 24 g de sodium, supérieur aux apports recommandés pour des vaches en fin de gestation, et fait augmenter le bilan alimentaire cations-anions (BACA) de 75 meq/kg de MS, ce qui accroît le risque d'hypocalcémie. Le CES propose de faire figurer dans les « autres indications » la mention « lors d'apport de calcium ou sodium sous forme de propionate en fin de gestation, une évaluation de l'équilibre minéral en lien avec le risque d'hypocalcémie après mise-bas est nécessaire ».

Concernant la sécurité d'utilisation du propylène-glycol :

Le dossier du pétitionnaire présente, dans un paragraphe relatif à la sécurité, des risques d'effets négatifs pour des doses allant de 250 g à 3 kg/j, sans citer les références bibliographiques et sans conclure. D'autre part, le dossier contient une référence (Bareille, 1995) recommandant de ne pas dépasser la dose de 800 g/j. Bien que rapportant des cas sporadiques de signes d'intoxication (dépression, ataxie, salivation, hyperventilation) avec des apports quotidiens inférieurs à 500 g, Nielsen *et al.* (2004) indiquent que la dose toxique de propylène glycol chez les bovins est de 2,6 g/kg de poids vif, soit 1,5 kg pour une vache de 600 kg. Enfin, les auteurs cités plus haut dans cet avis et ayant testé des doses de 900 ou 1000 g/j de propylène-glycol (Studer *et al.*, 1993, Grummer *et al.*, 1994) n'ont pas rapporté d'effet négatif. On peut donc conclure à la sécurité du propylène-glycol jusqu'à des apports de 500 g/j pour des vaches laitières, donc 2 fois supérieurs à la dose préconisée dans le présent rapport. D'autre part, le propylène-glycol est rapidement métabolisé par les animaux et/ou dégradé par les micro-organismes et n'a donc pas d'effets négatifs sur l'environnement (West *et al.*, 2014).

3.5. Conclusion du CES ALAN

En conclusion, les caractéristiques nutritionnelles proposées par le pétitionnaire sont valides concernant les produits proposés, mais les doses proposées par le pétitionnaire ne sont validées ni par le dossier, ni par d'autres éléments de la littérature scientifique. Le CES propose des doses minimales de 250 g/jour de propane 1,2-diol (ou propylène-glycol) ou 110 g de propionate de sodium ou calcium, ou des combinaisons pour les vaches laitières³ ; et des doses de 50 g de propane 1,2-diol, ou 20 g de propionate, ou toute combinaison des deux⁴ pour les petits ruminants. Les durées d'utilisation recommandées sont acceptables car elles couvrent les périodes de risque. Au-delà des questions posées par la saisine, le CES propose une extension des espèces ou catégories concernées permettant d'inclure les ovins autres que laitiers, et propose une « autre indication » lors d'utilisation de propionate en fin de gestation, relatif au risque d'hypocalcémie.

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 et recommandations du CES ALAN.

Dr Roger Genet

5. MOTS-CLES

Directive 2008/38/CE, aliment pour animaux à objectif nutritionnel particulier, cétose, vaches laitières, brebis, chèvres, propane 1,2-diol, propionates.

6. KEYWORDS

Commission directive 2008/38/CE, animal feed, particular nutritional purpose, ketosis, fresh cows, sheep, goat, propane 1,2-diol, propionates.

³ la combinaison de propylène-glycol et propionates pour vaches laitières doit être telle que propionates + 0,44 x propylène > 110 g/j

⁴ la combinaison de propylène-glycol et propionates pour chèvres et brebis doit être telle que propionates + 0,44 x propylène > 22 g/j

7. BIBLIOGRAPHIE

- Aubadie-Ladrix M. 2011. La cétose de la vache laitière. Bulletin des GTV - N° 59, Avril 2011, p79-88
- Bareille S., Bareille N. 1995. La cétose des ruminants. Le Point vétérinaire, Numéro spécial "Maladies métaboliques des ruminants", 27 : 47-58
- Bauchart D., Durand D., Gruffat D., Chilliard Y. 1998. Mechanism of liver steatosis in early lactation cows: effects of hepatoprotector agents. Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers - ISSN : 0885-7687
- Butler S.T., Pelton S.H, Butler W.R. 2006. Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered Propylene Glycol. J. Dairy Sci. 89:2938–2951
- Cal-Pereyra L, González-Montaña JR, Benech A, Acosta-Dibarrat J, Martín JM, Perini S, Abreu MC, Da Silva S, Rodríguez P. 2015. Evaluation of three therapeutic alternatives for the early treatment of ovine pregnancy toxæmia. Irish Vet. J. 68:25-31.
- Chagas L.M., Gore P.J.S., Meier S., Macdonald K.A., Verkerk G.A. 2007. Effect of monopropylene glycol on luteinizing hormone, metabolites, and postpartum anovulatory intervals in primiparous dairy cows. J. Dairy Sci. 90:1168-1175.
- Chagas L.M., Gore P.J.S., Graham G., Macdonald K. A., Blache D. 2008. Effect of Restricted Feeding and Monopropylene Glycol Postpartum on Metabolic Hormones and Postpartum Anestrus in Grazing Dairy Heifers. J. Dairy Sci. 91:1822–1833
- Chung YH, Girard ID, Varga GA. 2009. Effects of feeding dry propylene glycol to early postpartum Holstein dairy cows on production and blood parameters. Animal 3:1368-1377.
- Chiofalo V., Todarob M., Liotta L., Margiottac S., Manzoc T., Letob G.. 2005. Effect of propylene glycol on pre- and postpartum performance by dairy ewes. Small Ruminant Research. 58 :10-114.
- Duffield T.F., Lissemore K.D., McBride B.W., Leslie K.E. 2009. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. J. Dairy Sci. 92, 2, 571–580
- Formigoni A, Cornil MC, Prandi A, Mordenti A, Rossi A, Portetelle D, Renaville R. 1996. Effect of propylene glycol supplementation around parturition on milk yield, reproduction performance and some hormonal and metabolic characteristics in dairy cows. J. Dairy Res. 63:11-24.
- Foster L.A. 1988. Clinical ketosis; Metabolic diseases of ruminant livestock 0749-0720/88, 253-267
- Garro CJ, Mian L, Cobos Roldán M. 2013. Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. J Anim Physiol Anim Nutr. 98(5):838-44. doi:10.1111/jpn.12141.
- Ghilardi F. 1998. Les adjuvants hépato-protecteurs en élevage bovin, thèse vétérinaire ; 98 - TOU 3 - 4011

Gröhn Y. 1985. Propionate loading test for liver function in spontaneously ketotic dairy cows. *Res Vet Sci.* Jul;39(1):24-8.

Grummer R.R., Winkler J.C., Bertics S.J., Studer V.A. 1994. Effect of propylene glycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of prepartum holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 77: 3618-3623

Hoedemaker M., Prange D., Zerbe H., Frank J., Daxenberger A., Meyer H.H.D. 2004. Peripartal Propylene Glycol Supplementation and Metabolism, Animal Health, Fertility, and Production in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 87:2136-2145

Hippen A.R, DeFrain J.M, Linke P.L. 2008. Glycerol and Other Energy Sources for Metabolism and Production of Transition Dairy Cows. *Florida Ruminant Nutrition Symposium.*

Kristensen N.B., Raun B.M.L. 2007. Ruminal and intermediary metabolism of propylene glycol in lactating holstein cows. *J. Dairy Sci.* 90:4707-4717.

Liu Q, Wang C, Yang WZ, Zhang WW, Yang XM, He DC, Dong KH, Huang YX. 2009. Effects of feeding propylene glycol on dry matter intake, lactation performance, energy balance and blood metabolites in early lactation dairy cows. *Animal* 3:14270-1427.

Liu Q, Wang1C, Yang WZ, Guo G, Yang XM, He DC, Dong KH, Huang YX. 2010. Effects of calcium propionate supplementation on lactation performance, energy balance and blood metabolites in early lactation dairy cows. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 94:605-614.

Lomander H, Frössling J, Ingvarsten KL, Gustafsson H, Svensson C. 2012. Supplemental feeding with glycerol or propylene glycol of dairy cows in early lactation-effects on metabolic status, body condition, and milk yield. *J Dairy Sci.* 95:2397-408.

Mandebvu P, Ballard CS, Sniffen CJ, Tsang DS, Valdez F, Miyoshi S, Schlatter L. 2003. Effect of feeding an energy supplement prepartum and postpartum on milk yield and composition, and incidence of ketosis in dairy cows. *Anim. Feed Sci. technol.* 105:81-93.

McArt J.A.A., Nydam D.V., Ospina P.A., Oetzel G.R. 2011. A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *J. Dairy Sci.* 94: 6011-6020

McArt J.A.A, Nydam D.V., Oetzel G.R. 2012. A field trial on the effect of propylene glycol on displaced abomasum, removal from herd, and reproduction in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *J.Dairy Sci.* 95:2505-2512

McNamara JP, Valdez F. 2005. Adipose tissue metabolism and production responses to calcium propionate and chromium propionate. *J. Dairy Science,* 88:2498–2507.

Miyoshi S., Pate J.L., Palmquist D.L. 2001. Effects of propylene glycol drenching on energy balance, plasma glucose, plasma insulin, ovarian function and conception in dairy cows. *Animal Reproduction Science.* 68 :29-43

Moallem U, Katz M, Arieli A, Lehrer H. 2007. Effects of peripartum propylene glycol or fats differing in fatty acid profiles on feed intake, production, and plasma metabolites in dairy cows. *J Dairy Sci.* 90:3846-56.

Nielsen NI and Ingvarsten KL. 2004. Propylene glycol for dairy cows A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Anim Feed Sci Technol.* 115:191-213.

Pickett MM, Piepenbrink MS, Overton TR. 2003. Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition, and production of dairy cows during the periparturient period. *J Dairy Sci.* 86:2113-21.

Roche J.J., Bell A.W., Overton T.R., Loores J.J. 2012. Nutritional management of the transition cow in the 21st century – a paradigm shift in thinking. In : *Proceedings of the 5th Australian Dairy Science Symposium 2012, Melbourne, Australia, 13-15 november 2012, 365-392.*

Rueggsegger CJ, Schultz LH. 1986. Use of a combination of propylene glycol and niacin for subclinical ketosis. *J. Dairy Sci.* 69:1411-1415.

Sauer FD, Erfle JD, Fischer LJ. 1973. Propylene glycol and glycerol as a feed additive for lactating dairy cows: an evaluation of blood metabolite parameters. *Can. J. Anim. Sci.* 53:265-271.

Studer V.A, Grummer R.R, Bertics S.J. 1993. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 2931-2939.

Suthar V.S., Canelas-Raposo J., Deniz A., Heuwieser W. 2013. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96, 5, 2925-2938.

West R, Banton M, Hu J, Klapacz J. 2014. The distribution, fate, and effects of propylene glycol substances in the environment. *Rev Environ Contam Toxicol.* 232:107-138