

Maisons-Alfort, le 2 décembre 2002

AVIS

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des risques liés à l'utilisation des sels de cobalt dans les aliments pour animaux et les médicaments vétérinaires

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 17 juin 2002 pour évaluer les risques pour le consommateur, pour les animaux et pour le manipulateur de sels de cobalt utilisés en alimentation animale et dans les médicaments vétérinaires.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale » réuni le 19 novembre 2002, du Comité d'experts spécialisé "Résidus et contaminants chimiques et physiques", réuni le 27 novembre 2002 et de l'Agence nationale du médicament vétérinaire, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments émet l'avis suivant.

SOURCES DE COBALT

Le cobalt représente environ 0,001 % de la croûte terrestre et est largement distribué dans l'environnement. Il peut former des composés di- et trivalents mais le cobalt "biologique" est généralement sous forme divalente en raison de l'instabilité des formes trivalentes. Les principales sources anthropogéniques de cobalt sont la combustion d'hydrocarbures fossiles et de boues de station d'épuration, les fertilisants phosphatés et les industries utilisatrices de cobalt. Le cobalt relargué dans l'atmosphère se dépose sur le sol et dans les eaux. Dans les sols, il est généralement adsorbé sur les particules et peu mobile. Dans l'eau, il se retrouve dans les sédiments ou adsorbé sur les particules solides en suspension dans la colonne d'eau.

Les aliments contiennent naturellement du cobalt. Selon Biego *et al* (1998)¹, l'apport alimentaire de cobalt est assuré par les produits laitiers (32 %), les poissons et les crustacés (20 %), les huiles, sucres et condiments (16 %) et les produits végétaux (9 %). Ces auteurs ont estimé la consommation de cobalt par voie alimentaire à 29 µg/pers/j pour un adulte. Une étude type "panier de la ménagère" réalisée au Royaume-Uni en 1994 a estimé que la consommation journalière de cobalt *via* l'alimentation était de l'ordre de 12 µg/pers/j pour un adulte. Enfin, au Pays-Bas, cette consommation a été estimée à 20 µg/pers/j pour un adulte.

Les concentrations dans l'eau sont variables selon les régions. Il n'existe pas de réglementation concernant les teneurs en cobalt dans les eaux de consommation. En 1991 le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) a estimé, à partir d'échantillons d'eau non contaminée, que la concentration en cobalt était de l'ordre de 1 à 10 µg/L. Aux

¹ Biego G.H., Joyeux M., Hartemann P., and Debry G. Daily intake of essential minerals and metallic micropollutants from foods in France. *Sci. Total. Environ.* 217: 27-36, 1998.

Etats-Unis, les concentrations en cobalt mesurées dans l'eau de boisson sont généralement inférieures à 1-2 µg/L (ATSDR, 2001²).

ROLE DU COBALT CHEZ L'HOMME ET L'ANIMAL

La seule fonction biologique connue du cobalt est d'être le constituant central du noyau de cobalamine, principe actif de la cyanocobalamine ou vitamine B₁₂. Un atome de cobalt relié à 4 atomes d'azote constitue le centre de ce noyau tétrapyrrolique. Ses autres fonctions restent imprécises.

Les fonctions essentielles de la vitamine B₁₂ sont bien connues. Chez l'homme, la déficience en cobalt paraît exceptionnelle.

Chez les animaux, les conséquences d'une carence en vitamine B₁₂ sont graves et ses principales manifestations sont des troubles hématologiques (dont l'anémie), neurologiques, cutanéomuqueux et hépatiques (dégénérescence du foie chez l'agneau). Une subcarence se répercute sur le métabolisme de l'acide propionique et des lipides et se traduit rapidement chez les animaux par une perte d'appétit, une forte baisse de production, un amaigrissement. La vitamine B₁₂ est exclusivement fournie par les aliments d'origine animale, les végétaux n'en contenant pas. Cela explique l'intérêt d'un apport complémentaire pour certaines espèces animales ne consommant que des aliments d'origine végétale.

La vitamine B₁₂ peut être ajoutée aux aliments des animaux. Cependant, les besoins ne sont pas très bien connus et la synthèse par les microorganismes du tube digestif à partir du cobalt joue un rôle dans l'ajustement des apports.

Chez les animaux monogastriques (porcs, volailles), cette synthèse ne peut se faire que dans le gros intestin. Cependant, elle est peu efficace et l'absorption de la vitamine ainsi fabriquée reste problématique. Il est donc préférable de fournir directement la vitamine B₁₂ par l'aliment ou de procéder par injections périodiques (ce qui ne relève plus de la nutrition mais du médicament).

En revanche, dans le cas des ruminants, la synthèse par les bactéries du rumen est très efficace et suffit à couvrir les besoins des animaux, à la condition que le régime soit bien pourvu en cobalt. Cette synthèse endogène en fonction des besoins est préférable à un apport ponctuel d'un supplément de vitamine B₁₂ qui risque d'être dégradé avant son absorption intestinale.

LE COBALT ADMINISTRE DANS L'ALIMENTATION ANIMALE

Les besoins des animaux en cobalt sont de l'ordre de 100 à 200 µg/kg de matière sèche consommée et ne sont pas toujours couverts par les fourrages et céréales. Il est donc recommandé d'ajouter de faibles doses de cobalt par l'intermédiaire de l'aliment minéral complémentaire, de préférence sous une forme soluble dans le rumen, c'est-à-dire de sulfate, de chlorure ou d'acétate. Le carbonate est moins biodisponible. Une autre méthode

² Toxicological profile for cobalt. September 2001. US Dept. of health and Human services. Public health services. Agency for toxic substances and disease registry (ATSDR).

consiste à introduire dans le rumen un "bolus" à base d'oxyde de cobalt (mêlé avec du sulfate de fer) que la faible acidité ruminale permet de solubiliser progressivement. Cette méthode est moins sûre que l'apport alimentaire mais est utile en élevage extensif au pâturage.

Six sels de cobalt sont autorisés³ comme additifs alimentaires pour les animaux à raison de 10 mg/kg d'aliment complet. Cette limite maximale tolérée depuis des décennies représente 50 à 100 fois l'apport conseillé. A l'occasion d'une demande de révision des limites maximales pour les oligo-éléments faite par la Suède en 1997, l'Afssa a proposé en 2000 une limite de 2 mg/kg d'aliment complet. Il convient de noter que l'apport couramment assuré ne dépasse pas en général 0,2 mg de cobalt ajouté par kg d'aliment complet.

LE COBALT ADMINISTRE EN MEDECINE VETERINAIRE

En médecine vétérinaire, le cobalt et ses sels sont utilisés dans la prévention et le traitement des carences en cobalt chez toutes les espèces animales. Les sels de cobalt sont inscrits à l'Annexe II du règlement (CE) N° 2377/90⁴. En raison de la faible toxicité du cobalt, il a été considéré qu'il n'était pas nécessaire d'établir des Limites Maximales de Résidus (LMR).

Le cobalt est présent dans 18 médicaments vétérinaires en France sous forme de chlorure, de gluconate et de sulfate de cobalt (14 médicaments contiennent de la vitamine B₁₂).

Répartition des médicaments selon la forme pharmaceutique et le sel utilisé

Sel de Cobalt	Forme pharmaceutique			
	Solution injectable	Poudre orale	Solution orale	
Gluconate	6	2	0	8
Chlorure	2	1	0	3
Sulfate	0	0	7	7
Total	8	3	7	18

Les posologies varient en fonction des sels et des voies d'administration et se situent entre 5 µg et 1500 µg/kg p.c./jour pendant 1 à 8 jours.

L'utilisation depuis de nombreuses années de ces médicaments dans les conditions de l'Autorisation de Mise sur le Marché n'a pas posé de problèmes particuliers de pharmacovigilance.

³ Directive 70/524/CEE du Conseil du 23 novembre 1970 concernant les additifs dans l'alimentation des animaux (additifs autorisés : acétate, carbonate basique, chlorure, sulfate hepta et monohydraté et nitrate de cobalt).

⁴ Règlement (CE) n° 2377/90 du Conseil du 26 juin 1990, établissant une procédure communautaire pour la fixation des niveaux maximaux de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale. JOCE n° L224 du 18.08.1990, p. 1.

ABSORPTION ET DISTRIBUTION DU COBALT INGERE

Chez l'homme, l'absorption gastro-intestinale du cobalt varie considérablement et serait dépendante des concentrations en fer. Le cobalt se retrouve dans la plupart des tissus dont les reins, la thyroïde et les poumons chez les travailleurs exposés par inhalation. Il n'apparaît pas s'accumuler avec l'âge. Chez l'homme, il est éliminé par voie fécale et urinaire, selon la voie d'exposition, la dose et le type de cobalt, et l'état nutritionnel.

Chez l'animal, l'absorption est dépendante de la dose et de l'état nutritionnel de l'animal. Chez toutes les espèces, y compris les volailles, le cobalt est distribué dans l'ensemble des tissus mais principalement dans le foie et les reins. Chez le mouton non supplémenté en cobalt, on observe des concentrations de 150 à 340 µg/kg dans le foie et d'environ 250 µg/kg dans les reins. Des concentrations du même ordre de grandeur sont rapportées chez les bovins (et chez l'homme).

Le cobalt alimentaire qui n'a pas été incorporé dans la molécule de vitamine B₁₂ est très faiblement absorbé par l'intestin des ruminants et est excrété par les fèces. Il ne contribue pratiquement pas à enrichir en cobalt les tissus de l'animal. La concentration en cobalt rapportée dans le lait des vaches est de l'ordre de 0,4 à 1,1 µg/L.

TOXICITE DU COBALT

Le cobalt est considéré comme sensibilisant par inhalation ou par voie cutanée. Le chlorure et le sulfate de cobalt sont cancérigènes par inhalation, nocifs, sensibilisants et dangereux pour l'environnement. Dans le cadre de la protection des travailleurs, la Commission européenne a classé en 1998 le chlorure et le sulfate de cobalt en catégorie 2 (substance devant être assimilée à des substances cancérigènes pour l'homme). Ce classement est fondé sur des études de cancérogenèse réalisées par le National Toxicological Programm (NTP)⁵ aux Etats-Unis par exposition par inhalation de rat et souris. En 1999, le CIRC a classé dans le groupe 2B⁶ le cobalt et ses composés sur la base d'études chez le rat par injections intramusculaire et intrathoracique de cobalt métallique sous forme de poudre induisant des fibrosarcomes au point d'injection.

Il existe cependant peu de données relatives à la toxicité du cobalt par voie orale. La plupart des données épidémiologiques ou expérimentales recueillies ont été obtenues par exposition par inhalation.

Toxicité aiguë

Chez l'animal de laboratoire, le cobalt et ses dérivés ne présentent pas de toxicité aiguë par voie orale (LOAEL⁷ rapportée par voie orale en aigu : entre 90 et 320 mg/kg p.c./j). Chez l'homme, l'effet le plus connu est celui des gros buveurs de bière atteints de cardiomyopathie létale pour une consommation de 8-30 pintes par jour correspondant à

⁵ Toxicology and carcinogenesis studies of cobalt sulphate heptahydrate in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies). US Dept. of health and Human services, NIH Publication n° 98-3961.

⁶ Groupe 2B : l'agent (le mélange) est peut-être cancérigène pour l'Homme. Les circonstances d'exposition donnent lieu à des expositions qui sont peut-être cancérigènes pour l'Homme.

⁷ LOAEL : Lowest Observed Adverse Effect Level (dose la plus faible induisant un effet néfaste).

0,04-0,14 mg de cobalt/kg p.c./j (dans les années 1960, des sels de cobalt étaient ajoutés à la bière pour améliorer la qualité du panache moussant des bières pression).

Génotoxicité et cancérogénicité

En se fondant sur les données bibliographiques disponibles, la plupart des tests de mutagénicité *in vitro* sur bactéries sont négatifs. Quelques résultats positifs sont rapportés dans des études de recherche de dommages à l'ADN sur cellules de mammifères. Le rapport du NTP (1998) conclut à un faible pouvoir mutagène du cobalt et de ses sels ; l'observation de cet effet nécessite des doses très élevées pendant de longues périodes d'exposition.

Des rats et des souris exposés par inhalation à du sulfate de cobalt heptahydraté pendant 2 ans, 6 h/j, 5j/sem, ont développé des tumeurs du poumon et du nez à la dose la plus faible de 1 mg/m³.

Des études en milieu professionnel chez des travailleurs exposés au cobalt métal ont montré une augmentation de la mortalité par cancer du poumon. Une autre étude en milieu professionnel rapporte une telle augmentation mais la différence n'était pas statistiquement significative (ATSDR, 2001).

Toxicité subchronique et chronique

L'évaluation de la toxicité chronique du cobalt ou de ses sels par voie orale n'a fait l'objet d'aucune étude animale ou humaine.

A la suite d'une exposition subchronique (supérieure à 8 mois) des buveurs de bière, des cardiomyopathies et des effets systémiques sur d'autres organes ont été observés à la dose de 0,04 mg/kg p.c./j sans que l'on puisse déterminer si ces effets étaient dus au cobalt ou à l'alcool ou à l'exposition combinée des deux. Chez le rat, l'administration d'alcool n'induit pas de myocardite alors qu'administré avec du cobalt, on observe une myocytolyse (FSA, 2002⁸). Dans une étude réalisée chez le cobaye qui recevait 20 mg/kg/j de cobalt dans l'alimentation supplémentée en alcool ou non, ces animaux développaient une cardiomyopathie, semblable à celle observée chez l'homme, en présence ou non d'alcool.

Dans une autre étude, six hommes volontaires ont été exposés pendant 22 jours à 120 ou 150 mg/j de chlorure de cobalt, soit 1 mg de cobalt/kg p.c./j. Les 6 patients ont développé une polycythémie avec augmentation de 16 à 20 % du nombre d'érythrocytes, réversible en 9 à 15 jours après l'arrêt du traitement (ATSDR, 2001).

VALEUR TOXICOLOGIQUE DE REFERENCE

A partir de la LOAEL de 1 mg/kg p.c./j (effet critique observé chez l'homme : polycythémie réversible), l'ATSDR a déterminé un "minimal risk level" (MRL⁹) de 10 µg/kg p.c./j de cobalt, soit pour un adulte de 60 kg : 600 µg/pers/j. Ce "minimal risk level" (MRL) prend en compte un facteur de sécurité de 100.

⁸ Review of cobalt. Report on vitamins and minerals. UK-Food Standard Agency. EVM/00/07. August 2002.

⁹ Cette valeur "MRL : Minimal Risk Level" ne doit pas être confondue avec la LMR qui est la Limite Maximale de Résidus.

EXPOSITION DU CONSOMMATEUR

Dans une étude type "panier de la ménagère", Biego *et al* (1998) ont estimé l'apport alimentaire en cobalt pour un adulte à 29 µg/pers/j, l'apport moyen du à la viande, volaille et œufs représentant 2 µg/pers/j. Cet apport tient compte de l'apport en viande d'animaux qui seraient supplémentés en cobalt au travers de leur alimentation.

La valeur de l'apport global de cobalt de 29 µg/pers/j par voie alimentaire est très éloignée du niveau minimal de risque établi par l'ATSDR de 600 µg/j.

Toute répercussion néfaste pour le consommateur de l'ingestion de viande d'animaux supplémentés en cobalt peut donc être formellement exclue. Un faible supplément alimentaire de cobalt (de 3 à 50 mg/j pour une vache) n'augmente pas sensiblement la teneur en cobalt de la viande et du lait (concentration rapportée dans le lait : 0,4 à 1,1 µg/L).

Cas du médicament vétérinaire

Si l'on considère que la dose maximale administrée à l'animal par le médicament vétérinaire de 1500 µg/kg p.c./j pendant 5 jours, que 7 % se retrouvent répartis de façon uniforme dans les tissus, la concentration dans la viande serait de 525 µg de cobalt par kg de viande. En se fondant sur les rations alimentaires utilisées par le Comité du Codex Alimentarius et par l'Union européenne pour fixer les limites maximales de résidus (LMR) de médicaments vétérinaires dans les aliments, une consommation journalière¹⁰ de 500 g de viande aboutirait à une quantité de cobalt ingérée de 262,5 µg/pers/j pour un homme de 60 kg.

Il convient de souligner que ce calcul maximaliste reste théorique dans la mesure où l'administration de cobalt par le médicament vétérinaire est limitée dans le temps, sur un nombre réduit d'animaux et que les animaux ne sont qu'exceptionnellement abattus dans les 5 jours qui suivent le traitement. Cette valeur de 262,5 µg/pers/j, même en y ajoutant l'apport global de cobalt par l'alimentation de 29 µg/pers/j, reste très inférieure au "minimal risk level" de 600 µg/pers/j établi par l'ATSDR.

CONCLUSIONS

Rôle du cobalt et son utilisation chez l'animal de rente

Considérant que le cobalt est le constituant central du noyau de cobalamine, principe actif de la cyanocobalamine ou vitamine B₁₂ ;

Considérant que la vitamine B₁₂ est exclusivement fournie par les aliments d'origine animale, les végétaux n'en contenant pas ; que, chez les animaux, les carences en vitamine B₁₂ entraînent des troubles hématologiques, neurologiques, cutanéomuqueux et hépatiques avec pour conséquences une perte d'appétit, une forte baisse de production et un amaigrissement ;

Considérant que chez les ruminants, la vitamine B₁₂ administrée *per os* est peu efficace dans la mesure où elle est rapidement dégradée dans le rumen ; mais qu'en revanche les

¹⁰ Selon les données de consommation INCA 1999, la consommation de viande des plus forts consommateurs adultes (95^{ème} percentile) est de 140 g/j.

microorganismes du rumen synthétisent la vitamine B₁₂ à partir du cobalt apporté par le régime alimentaire des animaux ;

Considérant que six sels de cobalt sont autorisés comme additifs alimentaires pour les animaux d'élevage afin d'assurer leurs besoins nutritionnels en complément des teneurs variables et parfois faibles des ingrédients alimentaires et qu'une limite maximale de 10 mg de cobalt par kilogramme d'aliment complet (par rapport à la matière sèche) est fixée ;

Considérant que le cobalt et ses sels sont utilisés en médecine vétérinaire dans la prévention et le traitement des carences en cobalt chez toutes les espèces animales ; qu'en raison de la faible toxicité du cobalt, il a été considéré qu'il n'était pas nécessaire d'établir des Limites Maximales de Résidus (LMR) et que les sels de cobalt sont inscrits à l'Annexe II du règlement (CE) N° 2377/90 ;

Considérant que l'utilisation, depuis de nombreuses années, de médicaments vétérinaires à base de sels de cobalt dans les conditions de l'Autorisation de Mise sur le Marché n'a pas posé de problèmes particuliers de pharmacovigilance ;

Absorption et élimination du cobalt

Considérant que le cobalt alimentaire qui n'a pas été incorporé dans la molécule de vitamine B₁₂ est très faiblement absorbé par l'intestin des ruminants et est excrété par les fèces et que, d'après les données disponibles, plus de 90 % de la dose administrée serait éliminé par voie fécale dans les 5 jours ;

Considérant que, chez l'homme, l'absorption gastro-intestinale du cobalt varie considérablement et serait dépendante des concentrations en fer, que le cobalt se retrouve dans la plupart des tissus dont les reins, la thyroïde et les poumons chez les travailleurs exposés par inhalation, qu'il n'apparaît pas s'accumuler avec l'âge et qu'il est éliminé par voie fécale et urinaire, selon la voie d'exposition, la dose et le type de cobalt, et l'état nutritionnel de la personne ;

Toxicité du cobalt et de ses sels

Considérant que, chez l'homme, le chlorure et le sulfate de cobalt **par inhalation** sont considérés comme cancérogènes (catégorie 2 : substance devant être assimilée à des substances cancérogènes pour l'homme) par la Commission européenne, nocifs et sensibilisants, ce classement reposant sur des études d'exposition par voie respiratoire ;

Considérant que la toxicité aiguë et le pouvoir génotoxique du cobalt et de ses sels sont faibles ; que l'évaluation de la toxicité chronique par voie orale n'a pas fait l'objet d'étude animale ou humaine et qu'une étude de toxicité subchronique chez l'homme a mis en évidence une polycythémie réversible après administration à 6 volontaires pendant 22 jours de 1 mg/kg p.c./j de chlorure de cobalt ;

Considérant qu'à partir de la LOAEL (dose la plus faible induisant un effet néfaste) de 1 mg/kg p.c./j (effet critique observé chez l'homme : polycythémie réversible), le "minimal risk level" (MRL), établi par l'ATSDR de 10 µg/kg p.c./j de cobalt, soit pour un adulte de 60 kg : 600 µg/pers/j peut être retenu comme valeur toxicologique de référence pour le cobalt ;

Exposition du consommateur au cobalt par voie alimentaire

Considérant que l'ensemble des apports en cobalt *via* l'alimentation (apport estimé par l'étude type "panier de la ménagère" incluant l'apport par les additifs alimentaires en alimentation animale, et l'apport médicamenteux) ne conduit pas à un dépassement pour le consommateur de la valeur toxicologique de référence garantissant l'absence d'effet néfaste pour l'homme par voie orale ;

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que :

- toute répercussion néfaste pour le consommateur de l'ingestion de viande ou de lait d'animaux supplémentés en cobalt, quel que soit le sel utilisé dans le respect des conditions d'emploi de ces substances, peut donc être formellement exclue ;
- l'administration de sels de cobalt aux animaux dans leur alimentation ne présente pas de risques pour ces animaux.

Par ailleurs, compte tenu des très faibles doses utilisées en alimentation animale sous forme de sels de cobalt déjà incorporés dans l'aliment minéral fabriqué par l'industrie de l'alimentation animale et des formes pharmaceutiques utilisées en traitement de courte durée à de faibles concentrations, le risque d'exposition par inhalation pour l'éleveur et le vétérinaire, utilisateurs de ces produits, peut être considéré comme extrêmement faible.

Martin HIRSCH