

Maisons-Alfort, le 11 juin 2003

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur la demande d'autorisation d'un additif de la catégorie des microorganismes composé de *Lactobacillus acidophilus* DSM 13241 destiné aux chiens

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

Par courrier reçu le 20 janvier 2003, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 17 janvier 2003 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes d'une demande d'avis sur la demande d'autorisation d'un additif de la catégorie des microorganismes composé de *Lactobacillus acidophilus* DSM 13241 destiné aux chiens.

Ce dossier entre dans le cadre de la directive 70/524/CEE modifiée et doit être établi selon les lignes directrices fixées par la directive 87/153/CEE modifiée.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale », réuni le 15 avril 2003, l'Afssa rend l'avis suivant.

Considérations relatives au résumé des données du dossier (Section I)

L'additif est une poudre d'aspect crémeux composé de 1×10^{11} ufc par gramme de *Lactobacillus acidophilus* DSM 13241 isolé à partir du tube digestif humain, de faibles quantités de cryoprotecteurs et d'un support de glucose anhydre. Il est destiné aux chiens de tous âges et aux reproducteurs.

Les doses minimale et maximale d'additif conseillées par le pétitionnaire sont respectivement de 6×10^9 et 2×10^{10} ufc par kilogramme d'aliment.

Selon le pétitionnaire, l'additif aurait pour effet de favoriser par une meilleure santé, une longévité optimale des chiens et ceci grâce à l'amélioration de l'équilibre microbien dans l'intestin, permettant d'obtenir une bonne qualité de fèces et à la réduction du risque de maladie infectieuse.

Considérations relatives à l'identité, aux caractéristiques, aux conditions d'emploi de l'additif et aux méthodes de contrôle (Section II)

L'additif est bien défini au plan de ses caractéristiques physiques et chimiques. Cependant, la stabilité de l'additif dans l'aliment n'a été prouvée que pour un taux d'humidité de 2 %, difficilement réalisable dans la pratique. Par ailleurs, les résultats attestant de l'absence d'impuretés font défaut.

Considérations relatives aux études concernant l'efficacité de l'additif (Section III)

L'effet revendiqué pour l'additif est un effet global favorable sur la santé des chiens apprécié par l'amélioration de l'équilibre microbien intestinal et une meilleure qualité des selles, témoins d'une meilleure hygiène digestive. Une meilleure défense de l'organisme vis-à-vis des maladies infectieuses, en relation avec l'amélioration du statut immunitaire, est également avancée.

Des revendications telles que « meilleure santé » ou « amélioration du statut immunitaire » relèvent du domaine du médicament vétérinaire¹. Ces revendications ainsi que celle de la

¹ Directive 81/851/CEE - Tout produit « présenté comme possédant des propriétés curatives ou préventives, ou administré en vue de restaurer, corriger ou modifier les fonctions organiques » est un médicament.

« longévité optimale des chiens », n'entrent pas actuellement dans celui de l'additif tel que défini dans la directive 70/524/CE modifiée (96/51/CE)².

Dans l'état actuel de la réglementation, seuls les essais relatifs à l'activité probiotique de la souche microbienne et son impact sur l'équilibre microbien intestinal des animaux peuvent être pris en compte dans le cadre d'une demande d'autorisation de commercialisation d'un additif.

Pour pouvoir revendiquer l'activité probiotique d'une souche microbienne, il convient de s'assurer de la survie de la souche dans le tractus digestif et pour cela de vérifier qu'elle est résistante à l'acidité de l'estomac ainsi qu'à l'action détergente du suc biliaire. La famille des canidés se caractérise par un pH stomacal pouvant descendre temporairement très bas (< 1,5) et un temps de rétention dans cet organe assez long (le temps de vidange 50 % varie de 2 à 5 h et le temps de vidange total de 6 à 10 h).

Les résultats de deux essais *in vitro* ont montré que la survie de la souche de *Lactobacillus acidophilus* DSM 13241 dans les conditions digestives acides de l'estomac des canidés s'est avérée assez aléatoire. Toutefois, le nombre de germes survivant à ces conditions drastiques est compatible avec une multiplication dans les territoires digestifs postérieurs, si la charge initiale est suffisante. L'absence des données brutes et des études statistiques ne permet cependant pas de valider de façon formelle ces résultats.

Un seul essai a été conduit sur chiens selon les recommandations pour l'évaluation de l'efficacité des micro-organismes sur chiens, chats et chevaux approuvées par le Comité permanent de l'alimentation animale (26-27 octobre 2000). Quinze chiens adultes (9 mâles et 6 femelles) âgés de 5 à 10 ans, appartenant majoritairement à la race Labrador (11 sur 15) ont été soumis à un essai de 4 semaines au cours duquel ils ont reçu un aliment sec additionné de 1×10^{10} ufc de *Lactobacillus acidophilus* DSM 13241 par kilogramme d'aliment. Cette période d'essai était précédée d'une période pré-expérimentale de 2 semaines et suivie d'une période post-expérimentale également de 2 semaines, périodes au cours desquelles un aliment de base non additionné de l'additif a été mis à disposition.

Pour le pétitionnaire, l'essai a permis de mettre en évidence, d'une part un effet positif sur la bonne santé digestive des chiens au travers d'une amélioration de la qualité des fèces et d'un meilleur équilibre de la flore fécale, d'autre part un effet positif sur les défenses immunitaires au travers d'une élévation du nombre de monocytes et du taux des IgG sériques.

Cependant, le protocole comporte un certain nombre d'imperfections (durée trop brève, absence de répétitions, population de chiens non représentative). Par ailleurs, les données expérimentales brutes et les éléments du calcul statistique sont absents. Il n'est donc pas possible de valider les résultats obtenus relatifs à l'impact de l'additif sur la qualité des selles et sur la flore intestinale.

Considérations relatives aux études concernant la sécurité d'emploi de l'additif (Section IV)

Etudes sur les espèces cibles

Un essai de tolérance a été réalisé sur 14 chiens avec 70 fois la dose maximale recommandée pendant 4 semaines, la période de supplémentation étant précédée d'une période sans additif de 2 semaines et suivie d'une période sans additif de 3 semaines. Aucun effet néfaste sur la santé des chiens n'a été observé. Malgré la durée limitée de la supplémentation, la dose

² Les additifs sont définis comme des substances ou des préparations qui sont utilisées dans l'alimentation animale afin :

- d'influencer favorablement les caractéristiques des matières premières pour aliments des animaux ou des aliments composés pour animaux ou des produits animaux ou
- de satisfaire des besoins nutritionnels des animaux ou d'améliorer la production animale notamment en influençant la flore gastro-intestinale ou la digestibilité des aliments pour animaux ou
- d'apporter dans l'alimentation des éléments favorables pour atteindre des objectifs nutritionnels particuliers, ou pour répondre aux besoins nutritionnels spécifiques momentanés des animaux ou
- de prévenir ou de réduire les nuisances provoquées par les déjections animales ou d'améliorer l'environnement des animaux.

élevée utilisée et le fait que *Lactobacillus acidophilus* soit un germe classé GRAS (generally recognized as safe) par la Food and Drug Administration permettent de considérer l'additif comme sûr pour le chien.

Etudes microbiologiques

Lactobacillus acidophilus est un germe classé GRAS (generally recognized as safe) par la FDA et l'AAFCO (Association of American Feed Control Officials) pour utilisation en tant que microorganisme ajouté aux aliments. La souche DSM 13241 est génétiquement stable, sans plasmides et inhibe *in vitro* l'adhérence par des germes pathogènes comme *E. coli* et les clostridies.

La souche de *Lactobacillus acidophilus* DSM 13241 est résistante aux aminosides, avec des concentrations minimum inhibitrices élevées, ainsi qu'au triméthoprime et à la ciprofloxacine. L'étude de la résistance au linezolid n'a pas été réalisée.

Etude du métabolisme et des résidus

Les études relatives au métabolisme et aux résidus sont sans objet s'agissant d'un micro-organisme.

Etudes sur les animaux de laboratoire

Aucune étude de génotoxicité et de toxicité orale n'est présentée. Cependant, dans la mesure où *Lactobacillus acidophilus* est un germe classé GRAS, il est possible de considérer qu'il a fait la démonstration de son absence de toxicité.

Evaluation de la sécurité pour le consommateur humain

L'évaluation de la sécurité pour le consommateur humain n'est pas nécessaire, ni l'additif, ni l'animal cible n'étant consommés par l'homme.

Evaluation de la sécurité pour le manipulateur

L'additif se présente sous la forme d'une poudre. Deux tiers des particules ont une taille inférieure à 200 µm et 12 % sont inférieures à 10 µm et peuvent pénétrer dans l'appareil respiratoire.

L'additif est mis en suspension dans une matrice d'huile et de graisse lorsqu'il est mélangé à l'aliment pour chiens, ce qui réduit le risque pour l'homme. Cependant, il convient de recommander au manipulateur, dans le cadre de la fabrication des aliments, le port d'un masque.

Impact environnemental

Lactobacillus acidophilus est une bactérie d'origine naturelle présente dans le tube digestif de l'Homme. Les lactobacilles sont des germes présents naturellement dans le milieu extérieur. Les conditions d'emploi de l'additif ne sont pas de nature à modifier significativement l'abondance du micro-organisme dans l'environnement. Aucune étude spécifique d'impact environnemental n'est donc requise.

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

- Les éléments scientifiques fournis dans le dossier de demande d'autorisation d'un additif de la catégorie des microorganismes composé de *Lactobacillus acidophilus* DSM 13241 destiné aux chiens sont incomplets,
- Les revendications telles que « meilleure santé », « longévité optimale des chiens » et « réduction du risque de maladie infectieuse » ne sont pas recevables dans le cadre actuel d'une demande d'autorisation d'un additif,

- Dans l'hypothèse où l'activité probiotique de la souche microbienne et son impact sur l'équilibre microbien intestinal des animaux seraient mis en avant dans le cadre d'une demande d'autorisation de commercialisation en tant qu'additif, les points suivants nécessiteraient d'être complétés :

Section II : Identité, caractéristiques, conditions d'emploi de l'additif et méthodes de contrôle de l'additif

- Fournir les certificats attestant de l'absence d'impuretés dans l'additif,
- Refaire une étude de stabilité dans les conditions standards de fabrication et de stockage des aliments secs.

Section III : Etudes concernant l'efficacité de l'additif

- Mettre en place un protocole avec plusieurs répétitions et sur des durées plus longues,
- Diversifier les formats d'animaux dans les essais d'efficacité étant donné que l'ajout d'additif pourra concerner toute la population canine (poids variant de 2 à 90 kg) et que la sensibilité digestive des carnivores dépend pour partie du format de la race,
- Fournir l'ensemble des données brutes et des calculs statistiques afférents.

Section IV : Etudes concernant la sécurité d'emploi de l'additif

Etudes microbiologiques

- Réaliser des analyses complémentaires visant à rechercher le support génétique des résistances observées,
- Réaliser une étude de la résistance de la souche au linezolid.

Martin HIRSCH