

Maisons-Alfort, le 30 janvier 2004

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur l'homologation d'un agent microbiologique d'ensilage à base de *Lactobacillus buchneri*

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

Par courrier reçu le 30 juillet 2003, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 28 juillet 2003, par la Direction générale de l'alimentation, d'une demande d'avis sur l'homologation d'un agent microbiologique d'ensilage à base de *Lactobacillus buchneri*.

L'agent microbiologique d'ensilage se présente sous forme micro-granulée et contient au moins 2×10^8 ufc de *Lactobacillus buchneri* ATCC 202118 par gramme sur un support de carbonate de calcium. La dose recommandée par le pétitionnaire est de 500 grammes de produit sec par tonne brute de fourrage vert. Il est préconisé pour améliorer la stabilité des ensilages de fourrages, riches en sucres, moyennement difficiles à ensiler et/ou dont la teneur en matière sèche est supérieure à 30 % (maïs plante entière, maïs grain humide, céréales immatures, graminées et légumineuses fourragères préfanées), dans les conditions aérobies prévalant après ouverture du silo.

Se référant aux lignes directrices définies pour la constitution des dossiers de demande d'homologation des agents d'ensilage¹ et après consultation du Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale », réuni le 15 janvier 2004, l'Afssa rend l'avis suivant.

Considérations relatives à l'identité, aux caractéristiques et aux conditions d'emploi de l'agent d'ensilage

La teneur en *Lactobacillus buchneri* de l'agent d'ensilage est rapportée. L'excipient se compose de carbonate de calcium, dont la fiche technique est présentée.

Les spécifications concernant les teneurs en impuretés microbiologiques, en éléments toxiques et en aflatoxine B1 du produit commercial sont présentées. L'absence de *Listeria monocytogenes* dans 25 grammes est vérifiée sur deux lots mais ne figure pas dans les spécifications.

Le procédé de fabrication de l'agent d'ensilage est rapporté. Les résultats d'analyses de 3 lots après fabrication montrent que le surdosage doit être augmenté pour tenir compte des pertes de viabilité lors du stockage.

L'absence de production de bactériocine de la souche a été vérifiée et sa résistance à 49 antibactériens testée avec la méthode des disques et non avec une méthode de dilution recommandée par le Comité scientifique de la nutrition animale² (SCAN) car plus sensible. Les résultats montrent une résistance à certaines substances. Cependant, en l'absence des concentrations minimales inhibitrices, obtenues par une méthode de dilution, pour les 11 substances figurant dans l'avis du SCAN, ainsi que pour la vancomycine et le linezolid, la sécurité de la souche vis-à-vis de la présence éventuelle de gènes de résistance aptes à disséminer ne peut être appréciée.

Les méthodes de contrôle utilisées sont référencées ou décrites.

¹ Guide pour la constitution des dossiers de demande d'homologation des agents d'ensilage – Cerfa N° 50849#01

² Opinion of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the criteria for assessing the safety of micro-organisms resistant to antibiotics of human clinical and veterinary importance – 03/07/2001, révisé le 24/01/2003.

Considérations relatives à la stabilité de l'agent d'ensilage

Des études de stabilité réalisées à des températures de l'ordre de 20 °C montrent une perte de viabilité inférieure ou égale à 50 % après un an de stockage.

Un rapport d'analyse de laboratoire après un an de stockage fait défaut.

Considérations relatives à l'efficacité de l'agent d'ensilage

Le dossier présente deux essais d'efficacité réalisés en France sur des ensilages de maïs plante entière et deux essais réalisés aux Etats-Unis sur des ensilages d'herbe entre 1999 et 2002.

Les deux premiers essais comparent des ensilages de maïs traité par l'agent d'ensilage à raison de $4,4 \times 10^4$ ufc et $5,2 \times 10^5$ ufc de *L. buchneri* par gramme de maïs vert à des témoins négatifs. Les caractéristiques fermentaires mesurées montrent une bonne conservation de l'ensilage dans les deux cas (traité et témoin). L'ajout de l'agent d'ensilage permet de réduire très fortement la présence de levures et de moisissures entre la récolte et le désilage, de réduire l'élévation de la température en périphérie du front d'attaque de l'ensilage et d'améliorer sa stabilité aérobie.

Les deux autres essais comparent la stabilité aérobie en boîte des ensilages de ray-grass anglais préfané traité par l'agent d'ensilage à des témoins négatifs et positifs (traités avec de l'acide propionique). Plusieurs insuffisances sont relevées : absence de vérification de l'identité de la souche et de son dosage dans l'ensilage, absence d'information sur les évolutions fermentaires de l'ensilage en conditions maîtrisées et en silo, présentation succincte des résultats. Ces essais ne permettent pas de juger de l'efficacité de l'agent d'ensilage sur les ensilages d'herbe.

Les lignes directrices actuelles prévoient que lorsque la revendication porte sur une seule catégorie de fourrage, l'étude doit être effectuée sur trois fourrages correspondant à cette catégorie et que lorsque la revendication porte sur plusieurs catégories de fourrages, un seul essai par type de fourrage peut être admis dans le cas où trois fourrages différents au moins sont utilisés.

Considérations relatives à la sécurité d'emploi de l'agent d'ensilage

Lactobacillus buchneri est un micro-organisme ubiquitaire, naturellement présent dans les ensilages et le tube digestif de l'Homme, et inscrit sur la liste des micro-organismes « Generally recognised as safe » (GRAS). Sa présence dans l'agent d'ensilage ne présente pas de risque particulier ni pour les animaux consommateurs d'ensilage qui serait traité avec le produit ni pour les consommateurs de produits issus de ces animaux.

La fiche de sécurité fournie par le pétitionnaire ne révèle aucun risque avéré. Cependant, les précautions habituelles relatives au port de gants, de lunettes de protection et de masque doivent être mentionnées sur l'étiquette.

Considérations relatives à l'étiquetage de l'agent d'ensilage

L'étiquetage est conforme aux dispositions en vigueur.

La température maximale de conservation de l'agent d'ensilage revendiquée (20 °C) doit être mentionnée sur l'étiquette.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments considère que les éléments scientifiques fournis dans le dossier de demande d'homologation d'un agent microbiologique d'ensilage à base de *Lactobacillus buchneri* :

- démontrent l'efficacité du produit sur l'amélioration de la stabilité aérobie des ensilages de maïs plante entière dans deux essais ;
- démontrent sa sécurité pour les animaux et les consommateurs ;
- sont insuffisants pour permettre de juger de l'efficacité du produit sur l'amélioration de la stabilité aérobie des ensilages de maïs grain humide, de céréales immatures, de graminées et de légumineuses fourragères préfanées.

Le dossier doit être complété par les éléments suivants :

Chapitre I et II :

- Ajouter aux spécifications l'absence de *Listeria monocytogenes* dans 25 g ;
- Prévoir un surdosage en *Lactobacillus buchneri* lors de la fabrication de façon à respecter le titre minimal revendiqué à la date limite d'utilisation, compte tenu des pertes de viabilité prévisibles lors du stockage ;
- Fournir le rapport d'analyse de laboratoire après un an de stockage ;
- Etudier les concentrations minimales inhibitrices par une méthode de dilution pour les 11 substances antibiotiques citées dans l'avis du SCAN ainsi que pour la vancomycine et le linezolid.

Chapitre III :

- L'efficacité de l'agent d'ensilage doit être démontrée pour les ensilages de maïs grain humide, de céréales immatures, de graminées et de légumineuses fourragères préfanées pour prétendre à des revendications sur l'ensemble de ces ensilages. A défaut, il sera nécessaire de fournir un troisième essai d'efficacité pour valider la revendication sur l'ensilage de maïs seul.

Chapitre V :

- Préciser sur l'étiquette une valeur maximale de température de stockage (20 °C).

Martin HIRSCH