

Maisons-Alfort, le 21 juin 2004

## AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments  
sur les réponses aux questions posées par la France sur le dossier de demande  
d'autorisation d'un nouvel additif de la catégorie des agents liants composé  
d'*Eubacterium sp.* destiné aux porcelets, aux porcs et aux poulets à  
l'engraissement**

Par courrier reçu le 26 janvier 2004, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 23 janvier 2004 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes d'une demande d'avis sur les réponses aux questions posées par la France sur le dossier de demande d'autorisation d'un nouvel additif de la catégorie des agents liants composé d'*Eubacterium sp.* destiné aux porcelets, aux porcs et aux poulets à l'engraissement.

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 du Conseil du 16 février 1987 modifiée.

L'additif se présente sous la forme d'une poudre et contient au moins  $1 \times 10^{10}$  ufc, par gramme, d'*Eubacterium sp.* DSM 11 798 (isolées initialement à partir de contenu ruminal de bovins). Les doses recommandées chez les porcelets, les porcs et les poulets à l'engraissement correspondent à des teneurs en micro-organismes comprises entre  $1,7 \times 10^8$  et  $2,2 \times 10^9$  ufc/kg d'aliment complet.

Selon le pétitionnaire, cet additif est destiné à détoxifier les aliments contaminés par des mycotoxines de la famille des trichothécènes produites par certains *Fusarium*, ceci au sein même du tractus digestif des porcelets, porcs et poulets. Il s'agit d'un micro-organisme qui agit par la réduction enzymatique du groupement époxyde en position 12, 13 commun à tous les trichothécènes.

Il est rappelé que l'Afssa, dans son avis du 27 février 2003, considérait que le positionnement de l'additif devait être revu, celui-ci ne correspondant pas à un agent liant. Par ailleurs, elle estimait que l'efficacité de l'additif n'était pas démontrée (analyses statistiques absentes ou non adaptées, absence de lot témoin recevant un aliment non contaminé) et qu'en l'absence de dose efficace démontrée, il ne pouvait être conclu sur la tolérance de l'additif chez les espèces cibles.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale », réuni le 10 mars, le 11 mai et le 8 juin 2004, l'Afssa rend l'avis suivant.

Le pétitionnaire estime que l'additif n'appartient pas à la catégorie des agents liants mais qu'il s'agit d'un micro-organisme. Pour tenir compte de ce nouveau positionnement, le dossier initial ainsi que les réponses transmises ont été réévalués au regard des lignes directrices adéquates<sup>1</sup>, principalement en ce qui concerne l'identité et la sécurité de l'additif.

<sup>1</sup> Guidelines for the assessment of additives in feedingstuffs – Part II : Enzymes and micro-organisms. SCAN, octobre 2001

**Considérations relatives à l'identité de l'additif***Concernant la souche bactérienne,*

La souche bactérienne utilisée dans l'additif (DSM 11 798) appartient au genre *Eubacterium* mais son espèce n'est pas déterminée.

Isolée initialement à partir de rumen de bovins, elle n'a subi aucune modification génétique et ne possède pas d'ADN plasmidique. Sa stabilité génétique a par ailleurs été démontrée dans plusieurs lots de fermentation.

Elle présente une résistance aux polymyxines et à la kanamycine. Aussi, l'absence de résistance à la néomycine doit-elle être confirmée. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour l'érythromycine, le linézolide et la triméthoprime ne sont pas fournies.

*Concernant l'additif,*

Des résultats de dénombrement réalisés sur plusieurs lots d'additif montrent un sur-dosage important en micro-organismes ainsi qu'une variation inter-lot très élevée (de  $2,4 \times 10^{10}$  à  $8,6 \times 10^{10}$  ufc/g d'additif).

La spécificité de la méthode de dénombrement en milieu gélosé décrite dans le dossier nécessite par ailleurs d'être précisée.

Les contaminations bactériennes, fongiques, ainsi que la présence de métaux lourds et de mycotoxines ont été vérifiées et satisfont aux spécifications. Les incompatibilités de l'additif vis-à-vis des polyéthers ionophores et des antibiotiques médicamenteux ne sont toutefois pas renseignées.

La stabilité de l'additif ainsi que sa stabilité pendant la fabrication et le stockage des prémélanges, ou des aliments non granulés, sont satisfaisantes. Toutefois, l'étude de stabilité de l'additif à la granulation a été réalisée pour des températures de granulation trop faibles (maximum 60 °C).

**Considérations relatives à l'efficacité de l'additif**

Les essais présentés comparent les performances de croissance et l'efficacité alimentaire de lots témoins d'animaux recevant un aliment contaminé par le déoxynivalénol (DON) à différentes concentrations à celles de lots expérimentaux d'animaux nourris avec le même aliment auquel a été ajouté l'additif à différentes doses (de  $1,7 \times 10^8$  à  $2,5 \times 10^{10}$  ufc/kg d'aliment complet chez les porcins et de  $5 \times 10^8$  à  $2,5 \times 10^{10}$  ufc/kg d'aliment complet chez les poulets).

En l'absence, dans tous les essais présentés, d'un lot « Témoin négatif » (aliment non contaminé et non supplémenté, aliment 1) en parallèle d'un lot « Témoin positif » (aliment non contaminé et supplémenté, aliment 2), il ne peut être conclu que l'amélioration de croissance observée avec l'aliment contaminé supplémenté (aliment 3) par rapport à l'aliment contaminé non supplémenté (aliment 4), est due à une réduction de la toxicité du DON ou/et à un rôle probiotique intrinsèque d'*Eubacterium sp.* (indépendamment de toute contamination).

Si la réalisation d'un tel essai avec les 4 régimes cités ci-dessus<sup>2</sup> démontrait l'effet de détoxification du produit vis-à-vis du DON, une méta-analyse des essais déjà réalisés sera nécessaire pour définir les doses efficaces, indépendamment de la grande disparité entre les essais.

<sup>2</sup> S. Dänicke, H. Valenta, S. Döll, M. Ganter, G. Flachowsky, 2004. On the effectiveness of a detoxifying agent in preventing fusario-toxicosis in fattening pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 114:141-157

**Considérations relatives à la sécurité de l'additif***Etudes de tolérance sur les espèces cibles,*

Pour répondre aux lignes directrices relatives aux micro-organismes, les essais de tolérance doivent être réalisés en comparant des lots d'animaux recevant un aliment sain supplémenté avec 10 fois la dose maximale d'additif préconisée à des lots d'animaux témoins recevant le même aliment non supplémenté.

*Etudes sur la flore intestinale,*

Pour les trois espèces ou catégories d'animaux, aucune différence n'a été observée sur les teneurs en lactobacilles, entérocoques, coliformes, staphylocoques et clostridies de l'iléon et du cæcum après 20 ou 121 jours d'administration de la dose maximale recommandée d'additif.

*Etude sur la sécurité de la souche bactérienne,*

En l'absence des données complémentaires concernant l'antibiorésistance de l'additif vis-à-vis de certaines molécules, les risques de transfert de résistance aux antibiotiques ne peuvent être appréciés.

**L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments** estime que les éléments scientifiques fournis dans le dossier de demande d'autorisation du nouvel additif de la catégorie des micro-organismes à base d'*Eubacterium sp.* pour les porcelets, porcs et poulets à l'engraissement sont insuffisants et devront être complétés par les points suivants :

## Section II :

- Indiquer le titre maximal de l'additif et réduire la fourchette entre le titre minimal et maximal ;
- Préciser la masse d'additif à ajouter aux aliments ;
- Refaire une étude de stabilité à la granulation dans des conditions de fabrication industrielle (température élevée) ;
- Préciser la spécificité de la méthode de dénombrement ;
- Préciser les incompatibilités de l'additif avec les polyéthers ionophores et les antibiotiques médicamenteux ;
- Confirmer l'absence de résistance de la souche à la néomycine ;
- Fournir les concentrations minimales inhibitrices pour l'érythromycine, le linézolide et la triméthoprimine ;

## Section III :

- Réaliser des essais d'efficacité incluant également des lots d'animaux témoins recevant des aliments sains (non artificiellement contaminé en DON), non supplémentés et supplémentés ;

## Section IV :

- Mener des essais de tolérance comparant des lots d'animaux recevant un aliment sain supplémenté avec 10 fois la dose maximale d'additif préconisée à des lots d'animaux témoins recevant le même aliment non supplémenté.

Martin HIRSCH