

Maisons-Alfort, le 21 mars 2001

LE DIRECTEUR GENERAL

AVIS
de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments
sur la possibilité de production de toxines par
***Bacillus cereus* ATCC 14893/CIP 5832, destiné à l'alimentation animale**
en tant qu'additif

Saisine n° 2000-SA-0193

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a été saisie le 20 novembre 2000 d'une demande d'avis sur la production de toxines par *Bacillus cereus* ATCC 14893/CIP 5832, destiné à l'alimentation animale en tant qu'additif.

Après consultation du Comité d'Experts Spécialisé Alimentation Animale, réuni le 20 mars 2001, l'Afssa rend l'avis suivant.

Considérant que *Bacillus cereus* ATCC 14893/CIP 5832 est autorisé dans le cadre de la directive du Conseil 70/524/CEE modifiée du 23 novembre 1970 dans la catégorie des micro-organismes ;

Considérations générales relatives à l'espèce *Bacillus cereus*

Les toxi-infections alimentaires chez l'homme

Considérant que certaines souches de *Bacillus cereus* ont été reconnues comme responsables de toxi-infections alimentaires de type diarrhéique (le plus fréquent en Europe) ou de type émétique et que ces deux types de toxi-infections alimentaires ont provoqué des décès ;

Considérant qu'en France, entre 1993 et 1997, *Bacillus cereus* a été reconnu responsable d'environ 1 % des toxi-infections alimentaires d'origine connue et que son incidence est plus élevée dans d'autres pays (entre 10 et 47 % en Scandinavie et au Canada, 27 % aux Pays-Bas en 1991) ;

Considérant que les toxi-infections alimentaires de type diarrhéique sont provoquées par les spores de *Bacillus cereus*, qui ingérées avec des aliments, germent et se multiplient dans l'intestin, sécrétant des entérotoxines *in situ* entraînant, quelques heures après l'ingestion d'un aliment contaminé, des symptômes de type diarrhée profuse, crampes abdominales qui durent jusqu'à 12 heures ;

Considérant que les toxi-infections alimentaires de type émétique sont liées à la toxine émétique (appelée céréulide) produite dans l'aliment et se traduisent par de violents vomissements et des symptômes plus sévères que les toxi-infections alimentaires de type diarrhéique ;

Les toxines

Considérant que les toxines de *Bacillus cereus* sont des protéines de poids moléculaire élevé, fragiles (thermolabiles, dénaturées par des pH bas) et dont l'action se traduit par une altération de la membrane des cellules épithéliales ;

Considérant que cinq entérotoxines (ou toxines diarrhéiques) sont décrites actuellement et que le rôle de deux d'entre-elles (entérotoxine T et entérotoxine FM) n'est pas démontré dans la survenue des toxi-infections alimentaires ;

Considérant que pour les trois autres entérotoxines (hémolysine BL, entérotoxine non-hémolytique, entérotoxine K), leur rôle dans la survenue des toxi-infections alimentaires est reconnu, l'entérotoxine K étant impliquée dans trois décès ;

Considérant que la céréulide (ou toxine émétique) est un peptide cyclique, de faible poids moléculaire, résistant à la chaleur, aux protéases et aux pH bas et élevés ; qu'elle provoque des altérations des membranes cellulaires, mais également des vomissements dus à la stimulation du nerf vague ;

Considérations relatives à la toxinogénèse de *Bacillus cereus* CIP 5832

In vitro

Considérant que la toxinogénèse *in vitro* est révélée dans certaines conditions optimales : aérobiose, température de croissance de 32°C, milieux de culture et pendant la phase exponentielle de croissance ;

Considérant qu'il existe deux types de méthodes immunologiques et des tests de cyto-toxicité pour déceler les toxines et des méthodes de réaction en chaîne de la polymérase pour détecter les gènes codant les toxines ;

Considérant que les méthodes ont permis de mettre en évidence, d'une part l'existence des trois sous-unités protéiques de l'hémolysine BL et de l'entérotoxine non-hémolytique NHe et la production des toxines correspondantes, d'autre part l'absence du gène codant pour l'entérotoxine K et l'absence de production de la toxine émétique (test de cytotoxicité avec les cellules Hep2) ;

In vivo

Considérant que la recherche de la présence d'une des trois protéines de l'hémolysine BL avec l'une des deux méthodes immunologiques, chez des animaux dont l'alimentation est complétée par l'additif, s'est révélée négative chez les bovins (à partir de prélèvements dans le rumen et le rectum), chez les porcs (à partir de prélèvements dans l'estomac, l'intestin grêle, le gros intestin, le rectum) et chez les poulets (à partir de prélèvements dans le gésier, l'intestin grêle, les cæca, le cloaque) ;

Considérant qu'aucune étude comparative n'a été effectuée avec une souche entéropathogène ;

Considérant que la présence de l'entérotoxine non hémolytique n'a pas été recherchée ;

Considérations relatives à l'avis du Comité scientifique de la nutrition animale (SCAN) sur la sécurité d'utilisation de *Bacillus cereus* en alimentation animale

Considérant que dans son avis du 17 février 2000, le Comité scientifique de la nutrition animale (SCAN) indique qu'une majorité de souches du groupe taxonomique *Bacillus cereus* est susceptible de produire des toxines néfastes pour la santé de l'homme ;

Considérant que le Comité scientifique de la nutrition animale recommande que pour toute future application impliquant l'emploi d'organismes vivants dans les aliments pour animaux, l'utilisation de souches du groupe taxonomique *Bacillus cereus* soit fortement déconseillée ;

Considérant que le Comité scientifique de la nutrition animale préconise que les souches de *Bacillus* utilisées en tant qu'additif en alimentation animale présentent *in vitro* des résultats négatifs avec des méthodes immunologiques, à la réaction en chaîne de la polymérase pour les gènes codant les entérotoxines hémolytique et non-hémolytique et avec le test de cytotoxicité avec les deux lignées de cellules ; considérant que *Bacillus cereus* CIP 5832 ne remplit pas ces conditions ;

Considérant que le Comité scientifique de la nutrition animale indique que bien que les connaissances sur la production de toxines parmi les souches de *Bacillus* soient incomplètes, il

est recommandé que toute autorisation d'utilisation soit sujette à des révisions périodiques et qu'à la lumière de nouvelles informations, des tests additionnels soient demandés ;

L'agence française de sécurité sanitaire des aliments considère que l'utilisation en alimentation animale de la souche *Bacillus cereus* CIP 5832 ne présente pas toutes les garanties de sécurité pour le consommateur humain.

Martin HIRSCH