

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

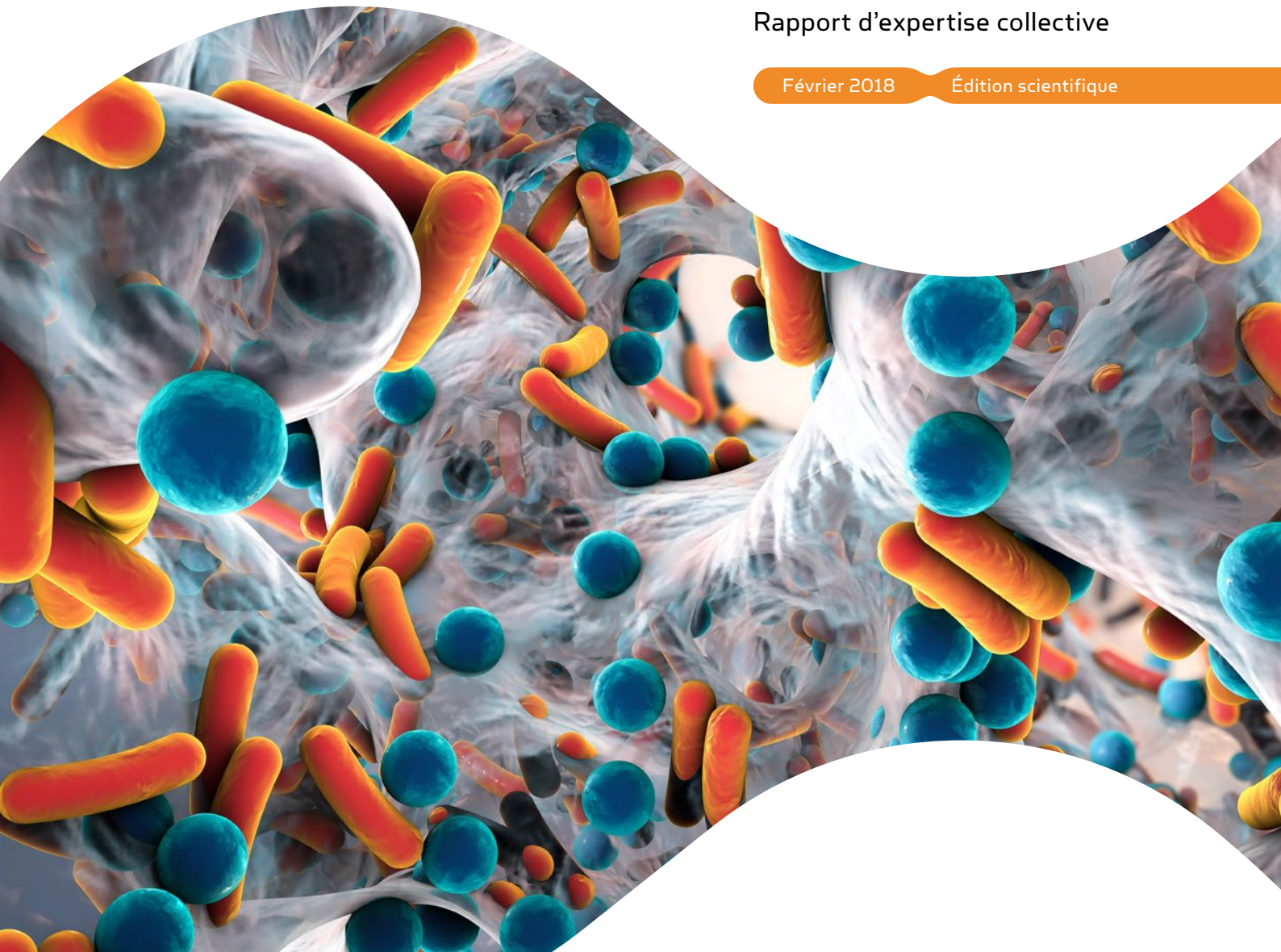
État des lieux des alternatives aux antibiotiques en vue de diminuer leur usage en élevage

Élaboration d'une méthode d'évaluation des publications scientifiques et résultats

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

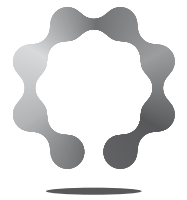
Février 2018

Édition scientifique



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

État des lieux des alternatives aux antibiotiques en vue de diminuer leur usage en élevage

Élaboration d'une méthode
d'évaluation des publications
scientifiques et résultats

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Février 2018

Édition scientifique

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 16 février 2018

AVIS
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relatif à l'état des lieux des alternatives aux antibiotiques
en vue de diminuer leur usage en élevage
Elaboration d'une méthode d'évaluation
des publications scientifiques et résultats.

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 22 mai 2013 par la DGAL et dans le cadre du Plan Ecoantibio 1 et de sa mesure 19, pour la réalisation de l'expertise suivante : état des lieux des alternatives aux antibiotiques en vue de diminuer leur usage en élevage.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Le Plan « Ecoantibio 1 », publié en 2012 avec un plan d'action sur 5 ans, prévoyait dans l'Axe 2 : « Développer les alternatives permettant d'éviter les recours aux antibiotiques » et sa mesure n°19, l'évaluation du bénéfice de traitements alternatifs permettant de limiter le recours aux antibiotiques. C'est dans ce cadre que l'Anses a été saisie.

L'objectif de réduction de l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire ne peut être atteint que si des méthodes alternatives au recours aux antibiotiques sont développées dans les différentes situations sanitaires rencontrées sur le terrain. A ce titre, la mesure 19 était complémentaire des mesures 14 et 15 du Plan, prévoyant respectivement de développer les outils en faveur de la prophylaxie sanitaire et des mesures zootechniques et de promouvoir la recherche dans le domaine de l'immunité et de l'utilisation de vaccins ou d'auto-vaccins. C'est dans ce contexte que les « alternatives » (au sens produits et substances) doivent être envisagées et analysées.

En 2014, l'Anses a publié un rapport, suite à une autosaisine sur l'antibiorésistance et l'évaluation des pratiques à risque en matière d'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire.

L'expertise collective avait alors posé la question de l'existence d'alternatives aux antibiotiques, mais n'était pas entrée dans le détail des produits concernés.

En outre, l'Anses a rendu en 2013 un avis relatif à l'utilisation de l'oxyde de zinc dans l'alimentation des porcelets au sevrage pour diminuer le recours aux antibiotiques (2012-SA-0067). Il s'agissait de la première évaluation d'alternative au sens de la mesure 19, dans laquelle un dernier chapitre avait été consacré aux « alternatives » indiquant, à partir des publications récentes, les familles de produits sur lesquelles portaient alors les recherches. A la suite de ce premier Avis, la DGAL a précisé sa demande concernant les autres alternatives à évaluer, qui constitue la présente saisine.

Cette demande porte sur :

- La réalisation d'un état des lieux des produits et substances actuellement utilisés comme alternatives aux antibiotiques en vue de diminuer leur usage, en précisant l'espèce de destination et la maladie concernée, sur la base du chapitre 5 du rapport 2012-SA-0067.
- L'évaluation de l'efficacité et l'innocuité de façon globale, des substances n'ayant pas fait l'objet d'évaluation réglementaire, pour l'Homme (consommateur et manipulateur), l'animal et l'environnement, après un examen de la bibliographie existante.

Il convient de noter que la notion d'alternatives aux antibiotiques a elle-même évolué au cours des réflexions, notamment dans le cadre du plan Ecoantibio¹, passant d'une définition assez restrictive (alternative utilisée « à la place » des antibiotiques) à une conception beaucoup plus large (contribue à diminuer le recours aux antibiotiques), comme l'explique le point 3.1. C'est aussi dans ce cadre plus large qu'a pris place le plan Ecoantibio 2¹ (et notamment son Axe 1) publié le 19 avril 2017 par le ministère de l'Agriculture.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences des comités d'experts spécialisés (CES) « Alimentation animale » et « Santé et bien-être des animaux », le CES « Alimentation animale » étant pilote de cette saisine.

L'Anses a confié l'expertise au groupe de travail « Alternatives aux antibiotiques ». Les travaux ont été présentés aux CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques entre le 9 juillet 2013 et le 19 septembre 2017. Ils ont été adoptés par le CES « Alimentation animale » réuni le 21 novembre 2017.

L'existence concomitante d'un groupe de travail européen, conjoint à l'Efsa² et l'EMA³, dont le mandat était de donner un avis scientifique sur : « *measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the EU, and the resulting impacts on food safety* », a conduit l'Anses à échanger avec le coordinateur en charge de ce groupe de travail, selon les termes de l'Article 30⁴ du Règlement (CE) n°178/2002 du Parlement européen et du Conseil⁵. Un expert de ce groupe de travail européen a été auditionné le 17 juin 2016 par le GT de l'Anses.

¹ <http://agriculture.gouv.fr/le-plan-ecoantibio-2-2017-2021> dernière consultation octobre 2017

² Efsa : European Food Safety Authority. Autorité européenne de sécurité des aliments

³ EMA : European Medicines Agency. Agence européenne des médicaments.

⁴ Article 30.1 : *L'Autorité fait preuve de vigilance de façon à identifier rapidement les sources potentielles de divergence entre ses avis scientifiques et les avis scientifiques émanant d'autres organismes exerçant une mission similaire.*

Article 30.2 : *Lorsque l'Autorité identifie une source potentielle de divergence, elle prend contact avec l'organisme concerné de façon à assurer que toutes les informations scientifiques pertinentes sont partagées et à identifier les questions scientifiques susceptibles d'entraîner des divergences.*

⁵ Règlement (CE) n°178/2002 du Parlement européen et du Conseil du 28 janvier 2002, établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES ET DU GT ALTERNATIVES AUX ANTIBIOTIQUES

3.1. Définition des « alternatives aux antibiotiques » et du champ de l'expertise

Le Groupe de Travail « Alternatives aux antibiotiques » (GT) a défini l'objet de la saisine comme étant, non seulement les produits et substances pouvant être utilisés en substitution des antibiotiques en élevage, mais également ceux qui, utilisés préventivement, permettent de réduire la fréquence d'apparition de certaines maladies animales bactériennes, pouvant induire ainsi un moindre recours aux antibiotiques. Le terme d'alternative aux antibiotiques est donc à comprendre dans un sens large pour identifier les produits et substances, ainsi que les modalités d'administration à recenser.

A noter par ailleurs que les vaccins et autovaccins ne sont pas compris dans le champ de l'expertise, comme indiqué dans la saisine.

Les alternatives aux antibiotiques utilisés en tant que facteurs de croissance sont également exclues de la saisine. Seuls ont été conservés les éléments scientifiques concernant des produits ou substances évalués dans des essais présentant des données en relation avec la santé animale, puisqu'il s'agit ici d'identifier des produits pouvant apporter une réponse dans le cadre de maladies bactériennes en approche soit préventive, soit curative.

Enfin, les maladies parasitaires sont exclues de la saisine, qui porte uniquement sur les maladies bactériennes, même si certains produits sont actifs sur les 2 types d'agents pathogènes, la bibliographie étant également abondante dans le domaine des parasites.

3.2. Recensement des « alternatives aux antibiotiques »

Compte tenu de l'ampleur du champ de la saisine (toutes espèces animales, multiples familles de produits et substances [cf chapitre 5 du rapport Anses 2012-SA-0067], plusieurs maladies), le recensement des substances et préparations commerciales a été établi sur la base de l'investigation de la presse professionnelle du monde de l'élevage (années 2012-2013-2014).

Ce travail de recensement a visé toutes les substances et préparations commerciales qui revendiquaient, directement ou indirectement, être une solution pour limiter l'usage des antibiotiques chez les animaux dans différentes filières animales (ruminants, volailles, porcs, lapins et poissons). Les préparations commerciales ayant une revendication uniquement sur l'amélioration des performances zootechniques n'ont pas été retenues mais toutes les allégations visant plus ou moins directement une réduction de l'utilisation d'antibiotiques en élevage ont été recensées (santé générale, amélioration des troubles digestifs, immunité, ...).

De ce recensement, il ressort que les préparations commerciales les plus fréquemment citées contiennent majoritairement :

- des extraits de plantes
- des probiotiques
- des acides (organiques et/ou gras)
- des huiles essentielles

En outre, la plus grande partie des allégations présentées est focalisée sur la sphère digestive quelle que soit l'espèce animale considérée.

- o Les porcs sont les destinataires principaux de ces préparations commerciales, avec 69 citations sur 150 au total soit près de 50%. Sur les allégations recensées, 67% concernent

l'équilibre ou la restauration du microbiote digestif, 16% s'adressent à l'état de santé global, 8,5% revendiquent explicitement constituer des alternatives aux antibiotiques et 8,5% associent divers types d'allégations.

- Les ruminants occupent la 2^{ème} place, après les porcs pour le nombre de citations relevées dans la presse professionnelle sur la période 2012-2014. Les citations « ruminants » ne représentent toutefois que moins de 20% du total, toutes espèces confondues. Au sein des « ruminants », près des 2/3 des citations concernent les bovins, le dernier tiers concernant les caprins. S'agissant des indications majeures, les ruminants n'échappent pas à la règle, les indications digestives étant majoritaires ; spécificité également des ruminants, les préparations commerciales concernant la mamelle se classent en second.
- Les volailles sont au 3^{ème} rang en termes de citations. Si le poulet est l'espèce cible première, la majorité des préparations commerciales concernent toutes les volailles, et aussi bien de ponte que de chair. La fonction digestive (ou appareil digestif) est la cible première.
- Les lapins constituent la 4^{ème} espèce en termes de citations, avec une majorité des revendications portant sur la fonction digestive.
- Le nombre de préparations commerciales destinées aux espèces d'élevage aquacole (poissons et crustacés) décrits comme ayant des propriétés correspondant à une alternative aux antibiotiques est resté limité dans ce recensement.

Il convient cependant de souligner certaines limites identifiées au cours de ce recensement :

- absence d'exhaustivité, du fait même du mode de recensement à travers la presse professionnelle sur une durée de parution limitée et du fait de l'existence probable de préparations commerciales proposées aux éleveurs sans communication ;
- représentativité des différentes filières animales probablement non homogène ;
- absence de retour sur l'efficacité, les produits recensés étant seulement identifiés par le fait qu'ils sont proposés à la vente ;
- composition imprécise des préparations commerciales recensées.

3.3. Evaluation globale de l'efficacité et de l'innocuité des substances et produits

Si le recensement des produits a reposé sur l'investigation de la presse professionnelle du monde de l'élevage, l'évaluation de l'efficacité et de l'innocuité de ces produits a été, quant à elle, réalisée sur la base de la bibliographie scientifique disponible.

Considérant :

- que la question des alternatives aux antibiotiques était un domaine d'investigation relativement récent et en pleine évolution,
 - et que des substances candidates pour cette thématique, voire de nouvelles familles de produits, étaient susceptibles d'émerger à tout moment,
- le GT a fait le choix d'élaborer une méthodologie d'analyse générique et pérenne, qui puisse accompagner ces évolutions.

Le GT a ainsi proposé de construire une méthode d'évaluation des publications scientifiques portant sur la mesure de l'efficacité de substances permettant de diminuer le recours aux antibiotiques, et de rendre cette méthode publique et disponible pour de prochaines évaluations, indépendamment de l'échéance de la présente saisine.

L'évaluation de ces publications vise à établir un niveau de preuve de l'efficacité revendiquée pour les substances ou produits « alternatifs », dans les essais publiés.

Le GT a également choisi une méthode d'évaluation de l'innocuité des produits « alternatifs », qui soit compatible avec leur grande diversité.

Le rapport d'expertise collective, joint au présent Avis, consiste donc en un descriptif, étape par étape de la méthodologie élaborée. Celle-ci a ensuite été appliquée à certaines familles de produits, pour différents couples espèce X maladie.

3.3.1. Evaluation de l'efficacité

Deux grandes catégories d'études sont ressorties de la recherche bibliographique :

- **Etudes *in vitro*** : celles-ci n'ont pas été retenues par les experts. Ces essais *in vitro* ont été considérés par les experts comme un criblage préalable aux études ultérieures sur animaux, dans le cadre de la recherche sur des produits et substances « alternatives aux antibiotiques ». Lorsque l'efficacité *in vitro* a été démontrée, le GT souligne qu'il est indispensable de mener les études *in vivo* avant de tirer des conclusions pour une maladie dans une espèce considérée.
- **Essais sur animaux** : ceux-ci ont fait l'objet de la majeure partie de la méthode construite et appliquée aux publications scientifiques dans le rapport (voir chapitres 5 et 6 du rapport d'expertise collective)

La recherche bibliographique n'a pas permis de mettre en évidence d'**études épidémiologiques** (études observationnelles ou interventionnelles) construites dans l'objectif de démontrer l'efficacité d'une alternative aux antibiotiques. Cependant, le GT considère que le concept de ces études devrait, à l'avenir, être utilisé pour apporter une réponse complémentaire aux essais expérimentaux, sur l'efficacité des substances visant à diminuer le recours aux antibiotiques, notamment à long terme. Il était donc important de préciser l'intérêt et les limites de ces études. C'est la raison pour laquelle un chapitre (*cf* chapitre 7) leur est consacré dans le rapport.

Trois grandes étapes composent la méthode d'évaluation :

- Evaluation du score méthodologique de chaque publication. Cette évaluation aboutit à un score variant de 1 à 4 ;
- Détermination des variables pertinentes de chaque publication au regard des maladies étudiées et des effets revendiqués ;
- Conclusions pouvant être tirées des publications, en les compilant, sur la base des résultats des 2 étapes précédentes.

Ces différentes étapes font l'objet d'une présentation détaillée au chapitre 5 du rapport d'expertise collective, dont seuls les principes généraux sont repris dans le présent Avis.

3.3.1.1 Critères d'évaluation du score méthodologique

En s'appuyant sur l'Avis de l'Anses 2011-SA-0150 et sur le « Guide d'analyse de la littérature et gradation des recommandations⁶ » de l'HAS⁷, l'évaluation du score méthodologique des publications *in vivo* a reposé sur la prise en compte de 5 critères caractérisant :

- ❶ l'étiologie simple ou multifactorielle de la maladie bactérienne.
- ❷ le modèle infectieux de l'étude (infection expérimentale vs infection spontanée, plus ou moins associée à des conditions sanitaires dégradées).
- ❸ le recours (ou non) à un antibiotique en comparaison d'un produit alternatif testé, en éliminant les publications dans lesquelles les antibiotiques étaient utilisés à des teneurs 'facteur de croissance' et en vérifiant que les conditions d'utilisation de l'antibiotique de référence étaient acceptables (dose, durée d'administration, choix de l'antibiotique).
- ❹ la capacité du dispositif expérimental à mettre en évidence des effets significatifs.

⁶ https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_434715/fr/guide-d-analyse-de-la-litterature-et-gradation-des-recommandations

⁷ HAS : Haute Autorité de Santé

⑤ les conditions générales de l'essai incluant la présence (ou non) d'un lot « témoin non traité » d'animaux inoculés (ou placés en conditions sanitaires dégradées) et exprimant la maladie, ainsi que la durée de l'essai, dans sa capacité à modéliser la durée de sensibilité des animaux à la maladie.

L'intégration multiple de ces critères a été effectuée selon des arbres de décision présentés au point 5.1.2 du rapport d'expertise collective, conduisant à attribuer à chaque publication scientifique un score méthodologique de 1 (score le plus élevé) à 4 (score le plus faible)

3.3.1.2 Pertinence des variables mesurées dans les publications

Les publications scientifiques décrivent différentes variables, dont l'évolution est analysée d'un lot d'animaux à un autre, en vue de conclure ou non à un effet significatif du produit testé.

Ces variables peuvent présenter un niveau de pertinence plus ou moins élevé vis-à-vis de la maladie étudiée, notamment lorsqu'elles ne sont pas spécifiques de cette maladie. En conséquence, l'analyse des effets des alternatives aux antibiotiques doit intégrer ce paramètre.

Sur la base des différentes variables étudiées dans les publications, les experts ont établi un tableau des niveaux de pertinence pour les variables de l'ensemble des maladies étudiées dans le rapport (tableau 10, chapitre 5.2).

Dans le cadre de cette approche, la pertinence d'une variable n'a pas été évaluée sur sa capacité à décrire une maladie, mais principalement sur sa capacité à permettre d'évaluer l'amélioration de l'état de santé de l'animal, suite au traitement par un produit. Ainsi, les experts ont classé très pertinentes les variables mesurant l'amélioration/la suppression des signes cliniques en priorité. Ils ont ensuite classé les autres variables relativement à ces variables prioritaires.

3.3.1.3 Conclusion par publication

Sur la base de l'analyse des publications (rassemblée dans une grille d'analyse), le GT a défini les éléments de décision permettant d'apporter une conclusion individuelle par publication sur l'efficacité d'un produit, vis-à-vis d'une maladie chez une espèce animale, en agrégeant les éléments portant sur les 3 critères rapportés :

- Score méthodologique des publications ;
- Pertinence des variables étudiées ;
- Effet statistique obtenu et amplitude biologique de cet effet.

Des formulations de conclusions ont été proposées pour chaque publication (tableaux 11 et 12, chapitre 5.4). Ces formulations visent à différencier :

- des produits pour lesquels une comparaison avec un lot recevant un antibiotique permet d'approcher leur efficacité (en approche préventive ou curative) par rapport à celle de l'antibiotique (utilisé en traitement métaglyactique ou curatif),
- des produits pour lesquels une simple comparaison à un lot témoin non traité permet d'envisager leur capacité à traiter ou prévenir une maladie mais sans pouvoir l'évaluer par rapport à ce que ferait un antibiotique en pareille situation, ne permettant pas de savoir si, *in fine*, l'éleveur n'aurait pas recours aux antibiotiques.

3.3.1.4 Conclusion par famille de produits

Ces conclusions par famille visent à estimer si une famille de produits constitue, ou non, une approche intéressante pour une maladie, dans une espèce considérée, compte tenu des modalités de la recherche bibliographique effectuée et de l'analyse réalisée.

Elles visent à répondre à la demande de la DGAL qui, au travers de cette saisine, attendait une évaluation des alternatives aux antibiotiques de façon générale, non dans un contexte individuel relevant du domaine des dispositifs réglementaires d'autorisation de mise sur le marché, mais en

vue d'identifier des familles de produits ou des produits prometteurs, selon les connaissances disponibles.

A cette fin, des tableaux de synthèse par famille de produits, à partir des grilles d'analyse des publications, ont été construits afin de comptabiliser les publications, en les séparant de la façon suivante :

- Essais avec utilisation du produit en approche préventive
 - o Base de la comparaison : témoin non traité.
 - o Base de la comparaison : antibiotique.
- Essais avec utilisation du produit en approche curative
 - o Base de la comparaison : témoin non traité
 - o Base de la comparaison : antibiotique

Ces tableaux ont fourni aux experts un document de travail synthétique leur permettant d'avoir une vision globale sur le nombre de publications analysées et leurs résultats, avant d'envisager de formuler une conclusion générale par famille de produits, pour une espèce animale et une maladie données.

Cependant, au sein d'une même famille de produits, les essais expérimentaux analysés dans les publications diffèrent par la nature exacte des produits, les doses utilisées, leurs durées d'emploi et par les associations de ces produits. Ainsi, les résultats de ces essais ne peuvent être directement comparables entre eux du fait de leur forte hétérogénéité. De ce fait, aucune approche de type 'méta-analyse' n'a pu être réalisée, ce qui a conduit le GT à considérer que l'instauration d'une règle de décision précise, visant à combiner ces publications entre elles pour en déduire une conclusion générale au niveau d'une famille de produits, ne pouvait être scientifiquement justifiée.

Dans ce contexte, le GT a opté pour l'élaboration d'une conclusion qualitative et à dire d'expert, là où la répétition d'essais réalisés avec des produits d'une même famille, selon des modalités expérimentales adaptées, permettait d'envisager une telle conclusion globale

3.3.1.5 Conclusion par produit et niveau de confiance associé

La conclusion générale pour un produit doit tenir compte, pour une maladie et une espèce animale données, des conclusions individuelles de l'ensemble des publications le concernant. Ainsi, le GT a été amené à définir une règle de décision permettant d'agrèger ces conclusions individuelles, afin d'aboutir à une conclusion générale assortie d'un niveau de confiance.

Cette règle de décision repose sur 3 critères :

- hétérogénéité des résultats des publications, c'est-à-dire coexistence de publications avec effet significatif allant dans le même sens et d'autres avec effet non significatif ou contraire ;
- scores méthodologiques des différentes publications ;
- nombre de publications disponibles sur le même produit.

Ces critères déterminent à la fois la possibilité ou non de conclure et, en cas de conclusion, le niveau de confiance de cette conclusion.

Deux niveaux de confiance ont été fixés : faible/élevé.

La règle de décision propose d'une part, des modalités de combinaison de publications présentant des résultats convergents et d'autre part, des modalités de combinaison de publications présentant des résultats divergents, afin d'aboutir à une conclusion sur l'efficacité du produit, assorti d'un niveau de confiance faible ou élevé (cf chapitre 5.6 du rapport).

3.3.1.6 Application de la méthode proposée

Afin de tester et d'illustrer la méthode construite, des combinaisons de famille de substances, espèce animale, maladie ont été déterminées pour les étudier sur le plan bibliographique.

- Pour ce faire, le GT a sélectionné certaines familles de substances, les plus fréquemment citées dans le recensement préalable, pour lesquelles l'information scientifique (publications) est *a priori* abondante.

Le recensement décrit au point 3.2 a permis d'identifier les préparations commerciales les plus fréquemment citées. Quatre familles de substances ressortaient des citations rencontrées dans la presse professionnelle :

- les extraits de plantes ;
- les huiles essentielles ;
- les probiotiques ;
- les acides organiques.

Derrière elles, sont cités : enzymes, peptides antimicrobiens, plasma, algues, prébiotiques,...

Ainsi, le GT a retenu d'analyser en priorité la bibliographie sur les quatre premières familles de substances. La possibilité a néanmoins été laissée, pour certaines espèces et certaines maladies, d'élargir à d'autres familles lorsque la bibliographie scientifique s'avérait abondante et aboutie (publications faisant état d'essais sur animaux, de bonne qualité scientifique). Les familles de produits n'ayant pas fait l'objet d'une évaluation par le GT ont été décrites dans un chapitre 8 « Autres approches ». Il est néanmoins possible d'envisager pour elles une évaluation similaire, au moyen de la méthode élaborée dans le rapport.

- En ce qui concerne les espèces animales, le GT a estimé que toute espèce animale pouvant être utilisée en tant qu'animal de production, affectée par une maladie bactérienne donnée, devait faire l'objet d'une application de cette méthode, afin de la tester et de l'améliorer pour toutes les espèces.

Ainsi, les espèces ou groupes d'espèces suivants ont été retenus : porc, volaille, lapin, bovin, petit ruminant, pré-ruminant, poissons.

Le cheval a été également retenu dans la réponse à la saisine, même si la partie relative au recensement ne l'incluait pas. Cette décision a notamment été motivée par l'existence d'une maladie bactérienne chez le poulain : la rhodococcose, pour laquelle le traitement antibiotique fait appel (faute d'alternative) à une association d'antibiotiques comportant de la rifampicine, désormais classée parmi les antibiotiques d'importance critique, mais bénéficiant d'un statut exceptionnel en tant que substance essentielle pour les équidés atteints de cette maladie.

Faute de temps, le GT n'a pas été en capacité d'élargir son investigation, pour prendre en compte les animaux de compagnie (carnivores domestiques) tels que les chiens et les chats.

- Le ciblage des maladies bactériennes a tenu compte en premier lieu des maladies les plus fréquemment citées dans le recensement de la presse professionnelle, à savoir les infections bactériennes digestives, loin devant les autres affections.

Néanmoins, plutôt que d'appliquer la méthode pour toutes les espèces aux seules maladies digestives, le GT a souhaité croiser cette information avec les données de l'avis de l'Anses 2011-SA-0071 relatif aux « risques d'émergence d'antibiorésistances, liés aux modes d'utilisation des antibiotiques, dans le domaine de la santé animale ». Cet avis, dans son chapitre 4, recense les pratiques d'antibiothérapie dans les différentes filières animales, permettant d'identifier certaines affections plus génératrices de prescriptions d'antibiotiques que d'autres, par espèce animale.

Sur ces bases, le GT a arbitré de la manière suivante :

- Troubles digestifs : porcelet au sevrage, lapin, petits ruminants, pré-ruminant, cheval
- Mammites : bovin laitier

- Métrites : vache
- Colibacillose systémique : volailles
- Maladies systémiques : poissons
- Rhodococcose : poulain

L'application de l'ensemble de la méthode, visant à établir un niveau de preuve de l'efficacité revendiquée pour les substances ou produits « alternatifs », figure au chapitre 6 du rapport d'expertise collective, pour chaque combinaison de famille de substances, espèce animale, maladie étudiée.

3.4. Evaluation de l'innocuité des produits et substances identifiés

Compte tenu du nombre important de produits et substances identifiés (molécules, plantes, extraits de plantes et microorganismes), le principe retenu dans la recherche bibliographique concernant leur innocuité a été de prendre comme source prioritaire, les synthèses issues d'un organisme scientifique de référence, l'Efsa, sans reprendre l'analyse de ces synthèses au niveau de chaque publication référencée.

Par ailleurs, en l'absence de données pour certains produits, molécules, plantes, extraits de plantes et microorganismes dans ces documents de synthèse, l'analyse a été effectuée au cas par cas sur la base de publications scientifiques individuelles ou sur la base d'éléments scientifiques disponibles sur des sites internet référencés.

La recherche bibliographique a concerné l'innocuité des différents produits, molécules, plantes, extraits de plantes et microorganismes pour les espèces animales cibles, l'homme utilisateur (i.e. manipulateur des produits, substances et microorganismes), l'homme consommateur de denrées alimentaires d'origine animale contenant de possibles résidus de ces produits, substances et microorganismes et l'environnement. La question du risque de résistance aux antibiotiques éventuellement induit par les produits et substances identifiés a également été posée, même si pour le moment, ces aspects sont peu étudiés.

Le tableau recensant plus de 220 microorganismes, substances ou produits différents ainsi que les données disponibles quant à leur innocuité pour l'homme, l'animal et l'environnement, figure en annexe 4 du rapport d'expertise collective.

En outre, le GT a croisé la liste des produits paraissant prometteurs sur le plan de l'efficacité, au regard de la bibliographie disponible, avec les données connues d'innocuité les concernant, afin d'avoir une vision plus globale sur ces substances (chapitre 9.4 du rapport).

3.5. Réflexions sur le positionnement réglementaire des produits et substances identifiés

Après avoir constaté la pluralité des statuts possibles, au plan réglementaire, des produits identifiés, le GT a conduit son travail d'expertise et l'application de la méthode élaborée, sans tenir compte du positionnement réglementaire, pour ne s'intéresser qu'aux données d'efficacité et d'innocuité, sans aucun lien avec les différentes lignes directrices des dossiers d'autorisation (additifs ou médicaments notamment).

Le GT a cependant amorcé une réflexion sur le positionnement réglementaire que pourraient avoir ces différents produits, à la fois compte tenu des réglementations existantes et dans la perspective d'évolutions réglementaires ultérieures (chapitre 10 du rapport d'expertise collective).

Ces réflexions doivent nécessairement s'inscrire dans un contexte européen, compte tenu de l'origine des dispositifs réglementaires régissant à la fois l'alimentation animale et le médicament vétérinaire.

3.6. Conclusions du GT Alternatives aux antibiotiques et du CES Alimentation animale

3.6.1. Contexte et limites des travaux du GT

1. Durant les travaux du GT, le concept d'alternatives aux antibiotiques a englobé 2 approches complémentaires:
 - ✓ dans le cadre d'une approche curative des maladies bactériennes animales, les alternatives aux antibiotiques ont inclus toutes substances ou produits pouvant se substituer totalement ou partiellement aux antibiotiques utilisés en traitement curatif, en démontrant une efficacité équivalente (non inférieure) voire supérieure aux traitements antibiotiques de référence ;
 - ✓ dans le cadre d'une approche préventive des maladies, les alternatives aux antibiotiques ont inclus toutes substances ou produits qui permettaient de réduire la fréquence d'apparition de certaines maladies animales, pouvant ainsi induire un moindre recours à l'utilisation des antibiotiques.
2. Compte tenu des limites des données bibliographiques *in vivo*, et notamment en l'absence de faisabilité d'une approche de type méta-analyse, le GT a été amené avant tout à proposer une démarche méthodologique pour caractériser le niveau de preuve apporté par l'ensemble des publications scientifiques, relatives aux produits alléguant des propriétés d'alternatives aux antibiotiques. Cette méthode a ensuite été appliquée à des combinaisons d'un produit, d'une espèce animale et d'une maladie.

Cette méthode présente un caractère de généralité suffisamment élevé (qualification méthodologique des publications, pertinence des variables analysées, proposition de compilation semi quantitative des résultats) pour pouvoir être utilisée pour d'autres combinaisons d'un produit, d'une espèce et d'une maladie, ou dès lors que de nouvelles données scientifiques seront accessibles sur cette thématique, ou même par d'autres groupes de travail sur d'autres thématiques, moyennant d'éventuelles adaptations.
3. Cette approche a cependant été limitée dans le cas des travaux de ce GT du fait de l'identification de trois biais de publications pouvant influencer les conclusions :
 - Biais de « publication sélective » : les essais présentant un effet positif d'un produit ont une plus forte probabilité d'être publiés que ceux ne montrant pas d'efficacité. Ceci influence probablement les conclusions, établies dans une large mesure sur la base du nombre d'essais montrant des effets positifs significatifs d'un produit, mis en balance avec les essais n'en montrant pas.
 - Biais de « prime à l'originalité » : certains essais peuvent ne pas avoir été acceptés pour publication de par leur caractère peu original, dans la mesure où la comparaison du produit étudié avec les antibiotiques ou son efficacité contre témoin non traité ont déjà fait l'objet de publications.
 - Biais de privatisation des résultats : lié au fait que la recherche sur ces produits est souvent réalisée à partir de financements privés et les résultats sont le plus souvent non publiés pour des raisons de confidentialité et de stratégie d'entreprise.
4. Au regard du peu de publications scientifiques disponibles, les approches par méta-analyses, qui constituent la méthode de référence pour caractériser des efficacités moyennes et l'hétérogénéité de réponse des produits étudiés, n'ont pas été retenues. De plus, même dans le cas où un nombre suffisant d'essais existe pour une famille de produits donnée (exemple des probiotiques ou des huiles essentielles), les molécules ou les souches étudiées sont très hétérogènes, avec des mécanismes d'action différents, ce qui limite les possibilités de regroupement des publications à des fins d'analyse quantitative. Enfin, dans le secteur de l'alimentation et de la santé animale, il est peu probable qu'un grand nombre de publications traitant d'une même combinaison d'un produit, d'une espèce animale et d'une maladie existe.

L'approche semi-quantitative retenue dans ce GT constitue en ce sens une méthode pertinente d'analyse associant l'élaboration d'une grille d'analyse des publications du point de vue de leur méthodologie, la définition de variables pertinentes pour caractériser l'évolution de la maladie en présence d'une substance potentiellement alternative aux antibiotiques, et l'élaboration de règles de décision en présence de publications dont les résultats peuvent être hétérogènes.

5. La grille de score méthodologique des publications a permis d'établir un niveau de preuve de l'efficacité revendiquée pour les produits alternatifs pour chaque essai publié, sur la base d'un arbre de décision (score de 1 à 4). Certains choix du GT dans l'élaboration de ce score méthodologique ont pu pénaliser certaines publications dont le score méthodologique serait passé de 2 à 3, ce qui influence le degré de confiance des conclusions associées aux produits.
6. Parmi l'ensemble des variables mesurées dans les publications, un nombre limité a été retenu par les experts, sur la base de leur pertinence biologique, pour caractériser l'évolution de l'état de santé de l'animal ayant reçu les produits alternatifs aux antibiotiques. Ces variables ont été considérées de façon unitaire, sans tenir compte du caractère multidimensionnel que peut revêtir l'évolution de l'état de santé d'un animal suite aux traitements (amélioration simultanée de plusieurs indicateurs).
7. La principale limite de la méthode concerne l'élaboration de règles de conclusion en présence de publications dont les résultats sont hétérogènes pour un même type de produit. La règle de décision, forcément simple pour être générique, se base néanmoins logiquement sur la combinaison de l'hétérogénéité des résultats en terme statistique et du score méthodologique de ces publications. Le choix consensuel des experts a consisté à privilégier les publications présentant un score méthodologique élevé (scores 1, 2), et ce, indépendamment du nombre de publications de scores 3, 4, ce qui peut induire un biais dans les conclusions.
8. Une difficulté supplémentaire des travaux du GT a consisté à tenter de relier les approches de recensement des données issues de la presse professionnelle (phase 1) et celles issues de la bibliographie (phase 2). En effet, on trouve dans la presse professionnelle un certain nombre de produits résultant de l'association, soit de produits d'une même famille (ex : mélange d'huiles essentielles ou de micro-organismes), soit de produits de familles différentes (association de levures et d'acides organiques). Dans les publications scientifiques, les produits étudiés sont le plus souvent des produits simples, avec pour objectif de montrer une efficacité associée à des modes d'actions. Ces publications ne peuvent donc pas révéler les synergies ou antagonismes potentiels entre produits, tels qu'ils peuvent exister dans les produits complexes présents sur le marché. Les conclusions issues des publications peuvent donc ne pas entièrement refléter une efficacité de l'association de produits, constatée sur le terrain. On notera en outre que les associations de produits n'ont pas pu non plus être évaluées quant à leur innocuité en tant que mélange (potentiel antagonisme).
Il faut par ailleurs souligner le décalage entre l'abondance des produits relevés dans le recensement initial de la presse professionnelle et le peu de publications scientifiques disponibles pour ces produits.
9. Les travaux du GT n'ont porté que sur les essais effectués *in vivo*. En effet, s'il existe un très grand nombre de publications *in vitro* portant sur le potentiel de certains produits pour se substituer aux antibiotiques, ces études ne constituent dans la très grande majorité des cas que des études préliminaires visant à identifier des activités antibactériennes ou à caractériser des mécanismes moléculaires (criblage).

3.6.2. Résultats

1. Dans la phase 1 des travaux, l'analyse de la presse professionnelle a révélé que les principales citations concernaient l'appareil digestif et ce, quelles que soient les espèces animales (à l'exception des poissons), avec toutefois une difficulté récurrente à discerner chez les volailles et les porcs, l'objectif des études, entre alternatives aux antibiotiques facteurs de croissance et prévention/traitement d'une maladie bactérienne.

Les principales espèces animales ciblées sont, dans l'ordre de citation décroissant, les porcs, les ruminants, les volailles, et les lapins. Le cas des poissons est particulier puisque la consultation de la presse professionnelle n'a fait apparaître que peu d'allégations concernant les produits alternatifs aux antibiotiques, ces allégations portant essentiellement sur l'état de santé général.

Les principaux produits ou familles de produits identifiés sont les extraits de plantes et huiles essentielles, les acides organiques, les probiotiques.

2. Le GT s'est appuyé sur ces éléments principaux du recensement pour conduire la phase 2 d'analyse de la bibliographie scientifique. Cependant pour certaines espèces, quand la littérature scientifique s'y prêtait, d'autres alternatives ont été envisagées et intégrées dans l'analyse. Ainsi, par exemple, les prébiotiques ont été étudiés dans le cadre des diarrhées chez le lapin et le porcelet ; de même le plasma pour différentes espèces animales.

Par ailleurs, d'autres maladies ont été ajoutées lorsque, selon le rapport sur « Évaluation des risques d'émergence d'antibiorésistance liées aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale » (Anses, 2014), elles induisaient une forte utilisation d'antibiotiques. Ainsi, les métrites chez la vache et les mammites cliniques et subcliniques de la vache laitière ont été intégrées dans l'analyse.

Enfin, l'espèce Cheval a été incluse dans le travail d'analyse de la phase 2 pour la rhodococcose du poulain et les diarrhées du cheval adulte, compte tenu de l'importance de ces maladies au regard de l'utilisation d'antibiotiques. Dans ce cadre spécifique, des produits particuliers ont été intégrés dans l'analyse en fonction de la disponibilité des références bibliographiques.

3. Le recensement bibliographique montre que la disponibilité des informations n'est pas identique entre les produits étudiés. Ainsi, toutes espèces animales et toutes maladies confondues, l'information collectée a principalement concerné les probiotiques, les huiles essentielles et les extraits de plantes, les données sur les prébiotiques et les acides organiques étant moins nombreuses. Il convient à ce titre de noter que les publications sur les acides organiques sont souvent anciennes, et n'ont donc pas été toutes recensées lors de la recherche bibliographique qui s'est limitée, sauf exception, à 10 ans. Par ailleurs, à l'exception de quelques maladies spécifiques, l'information bibliographique est nettement plus abondante pour les produits destinés à une approche préventive que ceux destinés à une approche curative, dans le cadre des maladies considérées dans ce rapport. Ceci ne constitue pas une preuve d'inefficacité de ces produits en cas de traitement curatif. Il est cependant nécessaire, pour en savoir plus, de conduire des essais dans cet objectif précis.
4. L'information la plus abondante dans la bibliographie concerne le traitement curatif ou préventif des troubles digestifs chez le jeune animal au sevrage, ou chez l'adulte. Pour les 4 principales familles de produits, le GT a compilé des données afin de dégager d'éventuelles tendances permettant, soit de caractériser l'efficacité de ces produits, soit d'identifier les familles de produits qui semblaient les plus prometteuses pour ces affections.

Pour chacune des familles de produits considérés, il n'existe qu'un nombre faible de publications comparant directement ces produits à un antibiotique, la majorité des essais s'effectuant dans le cadre de la prévention de troubles digestifs et non pas dans un cadre curatif. Il existe en revanche un corpus de données un peu plus important concernant l'utilisation de ces 4 familles dans une approche curative ou préventive des désordres

digestifs, sans comparaison à un antibiotique. Si les études répertoriées ne mettent pas en œuvre de comparaison avec un antibiotique, les conclusions obtenues mettent néanmoins en évidence que certaines familles peuvent constituer des approches intéressantes pour maîtriser de manière préventive ou curative ces désordres :

- Les huiles et extraits de plantes présentent une certaine hétérogénéité vis-à-vis de leur effet sur les désordres digestifs chez les lapins et les porcelets, même si plusieurs publications de score méthodologique élevé vont dans le sens d'une réduction des troubles digestifs chez ces espèces. L'hétérogénéité des produits considérés ne permet pas d'aller plus loin dans l'analyse de produits spécifiques.
 - Le faible nombre de publications concernant les acides organiques ne permet pas de conclure sur l'efficacité de ces produits sur les troubles digestifs. Ceci tient probablement à la fenêtre temporelle de sélection des publications, ces produits ayant été étudiés dans un passé plus lointain.
 - Les prébiotiques sont une famille de produits ayant montré dans certains cas chez le lapin, une efficacité pour prévenir les désordres digestifs, efficacité qui dans un nombre de cas très limité est similaire à celle des antibiotiques, dans les conditions expérimentales décrites.
 - Les probiotiques apparaissent comme une famille de produits prometteuse, puisqu'une majorité des publications analysées suggère des capacités à prévenir dans une certaine mesure les désordres digestifs dans de nombreuses espèces et donc à contribuer à la diminution du recours aux antibiotiques, en particulier chez le porcelet au sevrage. Néanmoins, pour chaque espèce animale ou groupe d'espèces, l'hétérogénéité des agents responsables des désordres digestifs, des situations sanitaires (notamment en cas de maladie multifactorielle) d'une part et la diversité des souches de probiotiques utilisées d'autre part, empêchent une généralisation de ces conclusions, qui n'ont de validité que dans les conditions expérimentales des essais (espèce x agent pathogène x souche(s), dose du probiotique, chronologie de l'administration ...).
5. Concernant d'autres combinaisons d'espèces animales et de maladies, la recherche bibliographique sur les maladies systémiques des poissons a fourni un assez grand nombre d'essais relatifs aux probiotiques, ainsi que des essais sur les huiles essentielles et les extraits de plantes.

Une majorité des publications analysées indique un effet favorable significatif des probiotiques sur la mortalité. Cependant, les effets favorables décrits, même lorsqu'ils sont significatifs d'un point de vue statistique, sont d'amplitude très variable.

En considérant l'ensemble des publications analysées, il est néanmoins possible de conclure que certains probiotiques ont un effet préventif leur permettant de réduire les mortalités des poissons liées aux maladies bactériennes. Cette famille de produits peut donc être considérée comme prometteuse dans un objectif de réduction du recours aux antibiotiques chez les poissons.

Concernant les huiles essentielles et extraits de plantes, bien que des publications rapportent quelques résultats favorables, leur nombre réduit rend impossible ou très fragile toute conclusion sur un potentiel d'efficacité curative ou préventive de ces familles de produits chez les poissons.

6. Quant à l'analyse bibliographique relative à la rhodococcose chez le poulain, celle-ci a fourni un assez grand nombre de publications portant sur les plasmas hyperimmuns. Si les différences observées, nombreuses et variées, rendent particulièrement délicate toute comparaison des résultats de ces publications, on peut cependant considérer que, dans leur ensemble, elles suggèrent que l'administration de plasmas hyperimmuns à des poulains pourrait être un moyen de prévenir la rhodococcose pulmonaire.

Il s'agit d'une famille de produits prometteurs dont l'efficacité doit être confirmée au moyen d'essais ciblant des produits précis.

7. Pour les autres combinaisons d'espèces animales et de maladies, telles que les métrites chez la vache et les mammites cliniques et subcliniques chez les vaches laitières, il n'a pas été possible de tirer de conclusions sur les familles de produits analysées, essentiellement du fait d'un nombre extrêmement réduit de publications disponibles pour les familles de produits étudiées. Ce constat d'absence de référence scientifique devrait encourager la recherche dans ces domaines, afin de pouvoir identifier les produits prometteurs et caractériser leurs effets.
8. L'effet favorable des probiotiques qui commence à ressortir de cette analyse est associé à un usage des produits en approche préventive. Se pose alors la question de leur chronologie d'administration en conditions d'élevage. Une administration en continu est-elle envisageable dans des conditions économiques acceptables ? Ou devrait-elle être limitée à certains stades plus fragiles, ou en conditions d'élevage dégradées ? L'utilisation de probiotiques en métaphylaxie (donc en remplacement d'un traitement antibiotique classique) pourrait être intéressante pour induire une « protection » des animaux encore indemnes, dans un lot dans lequel une maladie s'est déjà déclarée. Ceci supposerait d'obtenir une efficacité de l'effet probiotique protecteur sur un temps d'administration court et au sein d'un environnement potentiellement infecté. Il s'agit là d'un domaine à explorer.
9. Approches épidémiologiques : à ce jour, peu d'études épidémiologiques ont investigué l'effet des substances alternatives aux antibiotiques sur les usages d'antibiotiques ou le risque de survenue de maladie. Le GT a cependant consacré un chapitre à ces études dans la mesure où elles présentent une complémentarité intéressante avec les essais expérimentaux.
10. Approche toxicologique : parmi l'ensemble des produits alternatifs considérés, un grand nombre présente une innocuité avérée après évaluation pour l'animal, le consommateur et l'environnement. C'est le cas de nombreuses levures et bactéries bénéficiant du statut QPS⁸, des anticorps présents dans les plasmas (après vérification de l'absence de contamination par des micro-organismes), de certaines substances chimiquement définies extraites de plantes ou de parties de plantes, des enzymes, des acides organiques ou des prébiotiques déjà évalués favorablement. Cependant, leur caractère irritant cutané, respiratoire ou oculaire nécessite des précautions pour les utilisateurs.

Certains produits utilisés dans les essais (probiotiques, notamment bactéries) n'ont pas été évalués pour leur innocuité concernant parfois l'animal, l'Homme ou plus souvent l'environnement. Ainsi, certaines bactéries utilisées peuvent présenter un caractère potentiellement pathogène pour l'Homme, ou sont caractérisées par l'absence de données concernant leur innocuité. Une évaluation de ces produits reste donc nécessaire et obligatoire réglementairement avant toute utilisation en pratique.

Les plantes et extraits de plantes (autres que les substances chimiquement définies, extraites de plantes) sont caractérisés par une hétérogénéité forte concernant la présence ou l'absence d'information relative à leur innocuité pour l'animal, le consommateur, l'utilisateur ou l'environnement. Il s'agit donc pour ces produits de conduire des analyses au cas par cas.

Un dernier risque concernant l'utilisation de ces produits est à mentionner : il concerne leur capacité (ou non) à promouvoir la résistance aux antibiotiques. Pour l'instant, ces aspects sont peu étudiés mais quelques publications scientifiques montrent que le risque n'est pas nul, pour ce qui concerne par exemple des acides organiques (utilisés comme biocides), des probiotiques ou des bactériophages. Il conviendrait de mettre en place une surveillance post-autorisation de l'usage et d'être en mesure d'assurer une surveillance de la résistance des flores environnementales.

⁸ QPS : « Qualified Presumption of Safety » = présomption d'innocuité reconnue

11. Le positionnement réglementaire des produits recensés au cours de cette étude, se trouve aujourd'hui essentiellement lié aux allégations et revendications développées sur l'ensemble des documents relatifs à ces produits. Il apparaît, en première analyse :
- que de nombreuses allégations rencontrées lors du recensement conduisent à considérer le produit comme un médicament vétérinaire (notamment l'allégation générique « alternative aux antibiotiques ») ;
 - que plusieurs produits utilisés sont d'ores et déjà autorisés comme additifs en alimentation animale, mais pour des usages qui n'ont pas forcément de rapport avec celui relevé par les experts au cours du recensement ;
 - que les allégations comme « contribue à diminuer le recours aux antibiotiques » n'ont pas fait l'objet d'une classification réglementaire particulière jusqu'à présent, conduisant à explorer le besoin et la pertinence de créer de nouvelles dispositions réglementaires au plan européen pour ces produits, s'ils ne relèvent pas du statut de médicament vétérinaire par fonction.

3.6.3. Recommandations

1. Comme indiqué *supra*, dans un grand nombre de cas, le GT n'a pas pu se prononcer sur l'efficacité de produits en tant qu'alternatives aux antibiotiques, faute d'éléments bibliographiques suffisants. Cela ne signifie pas forcément que ces produits sont inefficaces, mais souligne la nécessité d'encourager les recherches dans ce domaine, afin de pouvoir identifier les produits prometteurs et caractériser leurs effets.

Par ailleurs, la bibliographie n'a pas permis d'étudier les éventuels effets d'association d'alternatives sur la réduction d'utilisation des antibiotiques en élevage, même si le recensement de la phase 1 a identifié de nombreuses citations d'associations. Il conviendrait de conduire des recherches étudiant des combinaisons de ces alternatives dans le futur.

Enfin, si la recherche doit encore se développer pour identifier des produits prometteurs et apporter une preuve de leur efficacité, leurs modalités d'utilisation doivent également être étudiées afin de définir, notamment en approche préventive, les modalités de distribution les plus appropriées.

2. L'efficacité d'un produit en tant qu'alternative aux antibiotiques ne doit pas se limiter à la seule démonstration expérimentale telle que décrite dans la littérature. Au-delà de l'éventuelle démonstration issue des travaux du GT (prise en compte d'un score méthodologique, pertinence de variables, compilation des publications), l'efficacité de ces produits doit être également validée dans leur capacité à diminuer la probabilité d'utilisation d'antibiotiques ou la fréquence de traitement sur plusieurs cycles de production d'un élevage. C'est à ce titre que des approches épidémiologiques (et en particulier les approches interventionnelles) devraient être associées à ces approches expérimentales *sensu stricto*, permettant ainsi d'étudier des aspects difficiles à prendre en compte dans le cadre des essais expérimentaux, qui sont pourtant déterminants pour juger d'un moindre recours aux antibiotiques à long terme.

Ce sont aussi ces études épidémiologiques complémentaires qui permettraient d'analyser, dans l'optique d'une réduction des antibiotiques en élevage, l'effet de ces alternatives de manière conjointe à celui d'autres mesures de prévention. En effet, le GT souligne que ces familles de produits ne sont qu'un levier pour diminuer l'utilisation des antibiotiques en élevage et qu'une approche systémique de cette question, incluant les différents paramètres d'élevage, est indispensable.

3. Au vu de la bibliographie disponible, la perspective apportée par les différentes familles de produits semble être souvent caractérisée par un effet de plus faible ampleur que celle des antibiotiques. S'il ne s'agit pas uniquement d'une question de dose d'emploi, cette situation

constitue un défi important pour la recherche expérimentale, qui doit adapter ses protocoles à la mise en évidence d' « effets de faible intensité ». Le GT recommande que les recherches sur ces nouveaux protocoles (conditions sanitaires dégradées, nouvelles variables à mesurer, associations d'études expérimentales et d'enquêtes épidémiologiques, études d'associations de produits, etc ...) soient fortement encouragées.

L'ensemble de ces recommandations de recherche s'inscrit pleinement dans les objectifs du Plan Ecoantibio 2, dont l'action 2 est « *d'acquérir des références sur les traitements alternatifs permettant de limiter la prescription d'antibiotiques* ».

Par ailleurs, du fait de réponses le plus souvent de plus faible ampleur pour ces substances que pour les antibiotiques, ces produits ne pourront probablement pas représenter seuls une alternative au sens strict aux antibiotiques, en termes d'efficacité. Le GT souligne donc, comme au point précédent, l'importance de considérer ces substances comme s'inscrivant dans une démarche plus intégrée, les alliant à d'autres mesures de maîtrise des maladies (conduite d'élevage, biosécurité, vaccination, nutrition ...)

4. Au plan réglementaire, ces produits et substances permettant de diminuer le recours aux antibiotiques, peuvent relever de divers statuts juridiques selon leur fonction, leur présentation et/ou revendication.

Certains produits, de par leur présentation ou leur fonction, relèvent du statut juridique des médicaments vétérinaires. Pour autant, si des produits sont assimilés à des médicaments vétérinaires par présentation, notamment au travers du libellé des revendications des opérateurs, leur fonction peut en être éloignée et une présentation alternative pourrait être envisagée les concernant :

- soit au travers de la réglementation des additifs pour aliments des animaux, en proposant une nouvelle catégorie d'additif ou en faisant évoluer la définition des additifs zootechniques, avec un groupe fonctionnel approprié, ce qui demanderait une modification de la réglementation européenne ;
- soit, pour certains produits, au travers de la réglementation sur les objectifs nutritionnels particuliers (évolution de certains objectifs existant ou création d'un (de) nouvel (aux) objectif(s)) ;
- soit par le biais des allégations portées sur des matières premières (pour les produits pouvant être considérés comme des matières premières pour aliment des animaux).

Ces différentes possibilités impliquent de réfléchir à l'évolution de la réglementation en alimentation animale au niveau européen, à la définition de nouvelles catégories d'additifs ou d'ONP ou d'allégations appropriées, ainsi qu'aux conditions d'intégration d'expressions comme « *diminue (ou contribue à diminuer) le recours aux antibiotiques* », dans les différentes réglementations susceptibles d'évoluer.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse l'analyse et les conclusions du CES Alimentation animale sur l'état des lieux des alternatives aux antibiotiques en vue de diminuer leur usage en élevage et sur l'élaboration d'une méthode d'évaluation des publications scientifiques et leurs résultats.

L'Agence note l'existence d'un grand nombre de produits et substances (molécules, plantes, extraits de plantes et microorganismes) utilisés comme alternatives aux antibiotiques. Elle souligne l'hétérogénéité et la variabilité de la base bibliographique observée dans l'expertise, qui constituent

une limite pour évaluer l'innocuité et l'efficacité d'un grand nombre de ces alternatives, comme la capacité de ces alternatives à provoquer l'apparition ou le développement de résistances. L'Anses souligne la nécessité d'engager une réflexion pour définir, pour les principales filières animales concernées, les classes d'alternatives qui devraient faire en priorité l'objet de travaux approfondis pour lever les incertitudes sur leur efficacité et leur innocuité.

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail appelle l'attention sur l'importance de déterminer, en amont des études et expérimentations, le statut juridique de ces produits, dans la mesure où ce statut permettra de définir les études nécessaires ainsi que les conditions de leur réalisation, préalablement à la mise sur le marché du produit et à son utilisation. L'Anses recommande de porter au niveau européen, dans le cadre du plan de lutte contre la résistance aux antibiotiques, la question du statut juridique de ces produits, afin que soit étudiée la pertinence et la faisabilité de créer un statut spécifique pour les produits induisant la réduction de l'usage des antibiotiques sans les considérer comme des médicaments vétérinaires.

Enfin, l'Agence souligne les différents besoins de recherche méthodologique, pour mieux asseoir les démonstrations en matière d'efficacité et d'innocuité de ces produits sur des bases scientifiques solides.

Dr Roger Genet

MOTS-CLES

Alimentation animale, alternatives aux antibiotiques, antibiorésistance, probiotique, prébiotique, acide organique, huile essentielle, extrait de plante, peptide antimicrobien, phage, algue, plasma, porc, volaille, vache laitière, ovin, caprin, pré-ruminant, veau, cheval, lapin, poisson, troubles digestifs, colibacillose systémique, entérocolite, rhodococcose, mammite, métrite.

Feed, antimicrobial alternatives, antimicrobial resistance, probiotic, prebiotic, organic acid, essential oil, plant extract, antimicrobial peptide, phage, seaweed, plasma, pig, poultry, dairy cow, sheep, goat, calf, rabbit, fish, horse, digestive disorders, systemic colibacillosis, enterocolitis, rhodococcosis, mastitis, metritis.

Etat des lieux des alternatives aux antibiotiques
en vue de diminuer leur usage en élevage
Elaboration d'une méthode d'évaluation
des publications scientifiques et résultats

Saisine 2013-SA-0122
Saisines liées 2011-SA-0071 et 2012-SA-0067

RAPPORT
d'expertise collective

CES Alimentation animale

Groupe de Travail « Alternatives aux antibiotiques »

Décembre 2017

Mots clés

Alimentation animale, alternatives aux antibiotiques, antibiorésistance, probiotique, prébiotique, acide organique, huile essentielle, extrait de plante, peptide antimicrobien, phage, algue, plasma, porc, volaille, vache laitière, ovin, caprin, pré-ruminant, veau, cheval, lapin, poisson, troubles digestifs, colibacillose systémique, entérocolite, rhodococcose, mammite, métrite.

Feed, antimicrobial alternatives, antimicrobial resistance, probiotic, prebiotic, organic acid, essential oil, plant extract, antimicrobial peptide, phage, seaweed, plasma, pig, poultry, dairy cow, sheep, goat, calf, rabbit, fish, horse, digestive disorders, systemic colibacillosis, enterocolitis, rhodococcosis, mastitis, metritis.

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE DE TRAVAIL

Président

M. Philippe SCHMIDELY – Professeur, AgroParisTech (alimentation animale, additifs, zootechnie, élevage des ruminants)

Membres

Mme Catherine BELLOC¹ – Professeur, Oniris – Ecole vétérinaire de Nantes (médecine des animaux d'élevage, monogastriques)

M. Frédéric DELBAC¹ – Professeur, Université Clermont Auvergne, Laboratoire Microorganismes Génome et Environnement UMR 6023 (microbiologie, interaction hôte-parasite)

Mme Anne FERLAY – Directrice de recherche INRA Centre Auvergne-Rhône-Alpes (alimentation des ruminants)

M. Thierry GIDENNE – Directeur de recherche INRA Centre Occitanie-Toulouse (alimentation/nutrition, écosystème digestif du lapin, santé et efficacité digestive)

M. Etienne GIRAUD¹ – Chargé de recherche INRA Centre Occitanie-Toulouse (microbiologie, antibiorésistance, environnement, élevages piscicoles)

M. Hervé JUIN – Ingénieur de recherches INRA Centre Poitou-Charentes (physiologie et nutrition des volailles, additifs en alimentation animale)

Mme Maryline KOUBA – Professeur, Agrocampus Ouest (zootechnie, physiologie et nutrition des monogastriques)

Mme Claire LAUGIER – Directrice, Laboratoire de pathologie équine, Anses Dozulé (pathologie des équidés)

Mme Arlette LAVAL – Professeur honoraire, Oniris – Ecole vétérinaire de Nantes (pathologie des animaux d'élevage)

Mme Françoise MÉDALE – Chef du département Physiologie animale et systèmes d'élevage, INRA Centre Bordeaux-Aquitaine (physiologie et nutrition des poissons)

M. Yves MILLEMANN – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (pathologie des animaux d'élevage)

Mme Mathilde PAUL¹ – Maître de conférences, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (épidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles)

M. Hervé POULIQUEN – Professeur, Oniris – Ecole vétérinaire de Nantes (pharmacologie, toxicologie, antibiorésistance)

Mme Jaqueline VIALARD² – Directrice du Laboratoire de Niort, Anses (pathologie infectieuse, pathologie des ruminants)

¹ A participé uniquement à la phase 2 des travaux

² A participé uniquement à la phase 1 des travaux

COMITÉS D'EXPERTS SPÉCIALISÉS

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

■ CES Alimentation animale

Président

M. Francis ENJALBERT – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (alimentation animale, additifs, zootechnie, élevage des ruminants)

Membres

Mme Corine BAYOURTHE – Professeur, ENSA Toulouse (zootechnie, physiologie et nutrition des ruminants)

M. Jean DEMARQUOY – Professeur, Université de Bourgogne (physiologie métabolique et moléculaire)

Mme Marianne DIEZ – Chargée de Cours, Faculté de Médecine Vétérinaire de Liège (nutrition des animaux de compagnie)

Mme Anne FERLAY – Directrice de recherche, INRA Centre Auvergne-Rhône-Alpes (alimentation des ruminants)

Mme Evelyne FORANO – Directrice de recherche, INRA Centre Auvergne-Rhône-Alpes (microbiologie du rumen, additifs en nutrition animale)

M. Didier GAUDRÉ – Ingénieur d'études, IFIP - Institut du Porc (nutrition porcine)

M. Thierry GIDENNE – Directeur de recherche, INRA Centre Occitanie-Toulouse (alimentation/nutrition, écosystème digestif du lapin, santé et efficacité digestive)

M. Jean-Philippe JAEG – Maître de conférences, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (pharmacologie, toxicologie)

M. Hervé JUIN – Ingénieur de recherches, INRA Centre Poitou-Charentes (physiologie et nutrition des volailles, additifs en alimentation animale)

M. Stephan JURJANZ – Maître de conférences, Université de Lorraine (physiologie et alimentation animales, transfert de micropolluants et résidus)

Mme Maryline KOUBA – Professeur, Agrocampus Ouest (zootechnie, physiologie et nutrition des monogastriques)

M. Jean LEGARTO – Ingénieur de recherches, Institut de l'Élevage (alimentation, nutrition et conduite d'élevage des ruminants laitiers)

M. Michel LESSIRE – Ingénieur de recherches, INRA Centre Val-de-Loire (physiologie et nutrition des volailles)

Mme Françoise MÉDALE – Chef du département Physiologie animale et systèmes d'élevage, INRA Centre Bordeaux-Aquitaine (physiologie et nutrition des poissons)

Mme Isabelle OSWALD – Directrice de recherche, INRA Centre Occitanie-Toulouse (pharmacologie, toxicologie, mycotoxines)

M. Alain PARIS – Professeur, Muséum National d'Histoire Naturelle (toxicologie, métabolomique)

M. Hervé POULIQUEN – Professeur, Oniris – Ecole vétérinaire de Nantes (pharmacologie, toxicologie, antibiorésistance)

Mme Nathalie PRIYMENKO – Maître de conférences, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (botanique, alimentation et nutrition des animaux de compagnie)

M. Philippe SCHMIDELY – Professeur Sciences animales, AgroParisTech (alimentation animale, additifs, zootechnie, élevage des ruminants)

M. Yves SOYEUX – Professeur honoraire, AgroParisTech (alimentation et droit alimentaire)

Ces travaux ont également été suivis par le CES Santé et bien-être des animaux (SABA)

■ CES SABA

Président

M. Etienne THIRY – Professeur, Faculté de médecine vétérinaire de Liège (infectiologie, immunologie, vaccinologie, virologie)

Membres

Mme Suzanne BASTIAN – Maître de conférences, Oniris - Ecole vétérinaire de Nantes (épidémiologie, bactériologie, parasitologie)

Mme Catherine BELLOC – Maître de conférences, Oniris – Ecole vétérinaire de Nantes (médecine des animaux d'élevage - monogastriques)

M. Alain BOISSY – Directeur de recherche, INRA Centre Auvergne-Rhône-Alpes (éthologie, bien-être animal, ruminants, physiologie, zootechnie)

M. Jordi CASAL – Professeur, Université de Barcelone (zoonoses, épidémiologie quantitative, maladies animales exotiques, AQR)

M. Christophe CHARTIER – Professeur, Oniris – Ecole vétérinaire de Nantes (parasitologie, techniques d'élevage, petits ruminants, épidémiologie)

M. Eric COLLIN – Vétérinaire praticien (pathologie des ruminants)

M. Frédéric DELBAC – Professeur, Université Clermont Auvergne, Laboratoire Microorganismes Génome et Environnement UMR 6023 (abeilles, épidémiologie, parasitologie, microbiologie, interactions hôte-parasite)

Mme Barbara DUFOUR – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (maladies contagieuses, épidémiologie générale, évaluation de risques)

M. Guillaume FOURNIÉ – Enseignant chercheur, Royal Veterinary College (évaluation des risques quantitative et qualitative, modélisation, épidémiologie)

M. Jean-Pierre GANIÈRE – Professeur émérite, Oniris – Ecole vétérinaire de Nantes (maladies contagieuses, réglementation, zoonoses)

M. Dominique GAUTHIER – Directeur, Laboratoire départemental d'Analyses des Hautes Alpes (laboratoire, faune sauvage, méthodes diagnostiques)

M. Etienne GIRAUD – Chargé de recherches, INRA Centre Occitanie-Toulouse (microbiologie, antibiorésistance, environnement, élevages piscicoles)

M. Jacques GODFROID – Professeur, Université Arctique de Norvège (évaluation des risques, zoonoses, épidémiologie, bactériologie, faune sauvage marine)

M. Jean-Luc GUERIN – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (volailles et lagomorphes, immunologie, virologie, zoonoses et santé publique)

M. Jean GUILLOTIN – Directeur, Laboratoire départemental d'Analyses du Nord (diagnostic de laboratoire, infectiologie)

Mme Nadia HADDAD – Professeur, Directrice adjointe de l'UMR BIPAR, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (microbiologie, épidémiologie, maladies contagieuses)

M. Jean HARS – Inspecteur Général de Santé Publique Vétérinaire, retraité de l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (pathologie de la faune sauvage libre, épidémiologie)

Mme Véronique JESTIN – Ex-directrice de recherche et ex-responsable d'unité et du Laboratoire National de Référence Influenza aviaire, Anses Laboratoire de Ploufragan-Plouzané (virologie, infectiologie, pathologie aviaire, vaccinologie, méthodes de diagnostic, analyse de risque)

Mme Elsa JOURDAIN – Chargée de Recherche, INRA Auvergne-Rhône-Alpes (zoonoses, épidémiologie quantitative, faune sauvage)

Mme Claire LAUGIER – Directrice, Laboratoire de pathologie équine, Anses Dozulé (pathologie équine, diagnostic de laboratoire)

Mme Monique L'HOSTIS – Professeur, Oniris - Ecole vétérinaire de Nantes (parasitologie, pathologie des abeilles, faune sauvage)

Mme Coralie LUPO – Chercheur épidémiologiste, IFREMER (épidémiologie, pathologie aviaire, pathologie des mollusques)

M. Gilles MEYER – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (pathologie des ruminants, virologie)

M. Pierre MORMEDE – Directeur de recherche émérite, INRA – Centre Toulouse-Midi-Pyrénées (génétique du stress, endocrinologie, bien-être animal)

Mme Carine PARAUD – Responsable secteur parasitologie, Anses Niort (statistiques, pathologie des petits ruminants, parasitologie)

Mme Claire PONSART – Chef d'Unité, Unité zoonoses bactériennes, Laboratoire de santé animale, Anses Maisons-Alfort (épidémiologie, bactériologie, statistiques, virologie, pathologie de la reproduction)

Mme Nathalie RUVOEN – Professeur, Oniris – Ecole vétérinaire de Nantes (maladies contagieuses, zoonoses, réglementation)

M. Claude SAEGERMAN – Professeur, Faculté de médecine vétérinaire de Liège (épidémiologie quantitative, maladies contagieuses, maladies émergentes)

M. Stéphan ZIENTARA – Directeur UMR Virologie, Anses Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort (virologie)

PARTICIPATION ANSES

Contribution scientifique

M. Damien BOUCHARD – microbiologiste, Anses-ANMV (antibiorésistance)

Coordination scientifique

Mme Caroline BOUDERGUE – Chef de projet scientifique – Anses-DER-UERSABA

Mme Charlotte DUNOYER – Chef d'Unité – Anses-DER-UERSABA

Secrétariat administratif

Mme Angélique LAURENT – Anses

AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES

EFSA-EMA WG RONAF³

M. Pietro STELLA, Efsa, Scientific Officer, Unit on Biological Hazards and Contaminants (BIOCONTAM), Department on Risk Assessment and Scientific Assistance (RASA)

M. Pascal SANDERS, expert du WG RONAF, Directeur du laboratoire Anses de Fougères

³ Groupe de Travail conjoint Efsa – EMA chargé du traitement de la saisine de la Commission Européenne : “*measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the EU, and the resulting impacts on food safety*”

CONTRIBUTIONS EXTÉRIEURES AU(X) COLLECTIF(S)

Des experts relecteurs du rapport final, extérieurs au GT et aux CES ont été sollicités pour recueillir leur avis sur la rédaction du rapport et sur sa compréhension :

M. Christian DUCROT, Directeur de recherche INRA, Chef de département adjoint Santé Animale.

M. Pascal SANDERS, Directeur du laboratoire Anses de Fougères

Une contribution extérieure a par ailleurs été sollicitée auprès du Pr Yves SOYEUX, Professeur honoraire, Pôle de recherche en droit d'AgroParisTech (PREDA), qui a été chargé de proposer un rapport relatif au statut réglementaire des produits visés par la saisine.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Extraction du tableau général de recensement	14
Tableau 2 : Effectifs de préparations commerciales « complexes » et « simples » recensées	15
Tableau 3 : Citation des différents préparations commerciales « simples » par appareil (ou fonction)	16
Tableau 4 : Familles de préparations commerciales ciblant l'état de santé global de l'animal	17
Tableau 5 : Familles de préparations commerciales ciblant l'appareil digestif	17
Tableau 6 : Familles préparations commerciales ciblant l'appareil respiratoire	17
Tableau 7: Familles de préparations commerciales ciblant les infections de type mammites	17
Tableau 8: Familles de préparations commerciales utilisés	18
Tableau 9: Citation des produits par espèces et par appareil ou fonctions ciblés	19
Tableau 10 : pertinence des variables mesurées en fonction des maladies/espèces animales	36-37
Tableau 11 : Conclusions pour des étiologies multifactorielles	44
Tableau 12 : Conclusions pour des étiologies mono-agent	45
Tableau 13 : Tableaux de synthèse-types par famille de produits pour une espèce et une maladie	47
Tableau 14 : Libellés des conclusions générales par produit après combinaison des publications	51
Tableau 15 : Analyse des publications relatives aux troubles digestifs du porcelet au sevrage	54-58
Tableau 16 : Synthèse des publications relatives aux HE et extraits de plantes – diarrhée du porcelet	59
Tableau 17 : Synthèse des publications relatives aux probiotiques – diarrhée du porcelet	60
Tableau 18 : Synthèse des publications relatives aux prébiotiques – diarrhée du porcelet	60
Tableau 19 : Synthèse des publications relatives aux caséines – diarrhée du porcelet	61
Tableau 20 : Synthèse des publications relatives au plasma porcin – diarrhée du porcelet	61
Tableau 21 : Analyse des publications relatives à la colibacillose systémique chez les volailles	62-63
Tableau 22 : Synthèse pour les publications relatives aux extraits de plantes et HE – colibacillose systémique	64
Tableau 23 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – colibacillose systémique	64
Tableau 24 : Synthèse pour les publications relatives aux prébiotiques – colibacillose systémique	65
Tableau 25 : Analyse des publications relatives aux troubles digestifs chez le lapin	68-71
Tableau 26 : Synthèse pour les publications relatives aux extraits de plantes – troubles digestifs lapin	72
Tableau 27 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – troubles digestifs lapin	72
Tableau 28 : Synthèse pour les publications relatives aux prébiotiques – troubles digestifs lapin	73
Tableau 29 : Synthèse pour les publications relatives aux acides organiques – troubles digestifs lapin	73
Tableau 30 : Synthèse pour les publications relatives à <i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoï</i> – troubles digestifs du lapin	74
Tableau 31 : Synthèse pour les publications relatives au manno-oligosaccharide – troubles digestifs du lapin	74
Tableau 32 : Analyse des publications relatives aux mammites chez la vache laitière	76-77
Tableau 33 : Synthèse pour les publications relatives aux huiles essentielles et extraits de plantes mammites cliniques chez la vache laitière	79
Tableau 34 : Synthèse pour les publications relatives aux huiles essentielles et extraits de plantes mammites sub-cliniques chez la vache laitière	80
Tableau 35 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – mammites cliniques chez la vache laitière	80
Tableau 36 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – mammites sub-cliniques chez la vache laitière	81
Tableau 37 : Analyse des publications relatives au traitement des métrites chez la vache	82
Tableau 38 : Synthèse pour les publications relatives aux extraits de plantes-métrites de la vache laitière	83

Tableau 39 : Analyse des publications relatives aux troubles digestifs chez les petits ruminants	84-85
Tableau 40 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – troubles digestifs des ovins	86
Tableau 41 : Synthèse pour les publications relatives aux extraits de plantes – troubles digestifs des caprins	87
Tableau 42 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – troubles digestifs des caprins	87
Tableau 43 : Analyse des publications relatives aux troubles digestifs chez les pré-ruminants	90-92
Tableau 44 : Synthèse pour les publications relatives aux huiles essentielles et aux extraits de plantes -troubles digestifs veau	93
Tableau 45 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – troubles digestifs veau	93
Tableau 46 : Synthèse pour les publications relatives aux prébiotiques – troubles digestifs du veau	94
Tableau 47 : Synthèse pour les publications relatives aux Ig γ – troubles digestifs du veau	94
Tableau 48 : Analyse des publications relatives aux maladies des poissons	96-101
Tableau 49 : Synthèse pour les publications relatives aux HE-extraits de plantes en approche curative – maladies des poissons	102
Tableau 50 : Synthèse pour les publications relatives aux HE-extraits de plantes en approche préventive – maladies des poissons	103
Tableau 51 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – maladies des poissons	104
Tableau 52 : Analyse des publications relatives à la rhodococcose chez le poulain	106-109
Tableau 53 : Synthèse pour les publications relatives aux plasmas hyperimmuns – rhodococcose	111
Tableau 54 : Synthèse pour les publications relatives au plasma hyperimmun commercial n°1 – rhodococcose	112
Tableau 55 : Synthèse pour les publications relatives au plasma hyperimmun commercial n° 2 – rhodococcose	113
Tableau 56 : Synthèse pour les publications relatives au maltolate de gallium – rhodococcose	113
Tableau 57 : Analyse des publications relatives à la diarrhée du poulain	116
Tableau 58 : Analyse des publications relatives aux diarrhées chez le cheval adulte	117
Tableau 59 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – diarrhée du cheval adulte	118
Tableau 60 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – diarrhée du poulain	119
Tableau 61 : Synthèse pour les publications relatives à des préparations commerciales de probiotiques de composition identique – diarrhée du cheval adulte	119
Tableau 62 : croisement efficacité x innocuité pour les produits ou familles de produits prometteurs	136
Tableau 63 : Calculateur pour les maladies multifactorielles	163
Tableau 64 : Calculateur pour les maladies mono-agent	163
Tableau 65. Récapitulatif du nombre de publications retenues concernant les effets significatifs ou non des probiotiques, des prébiotiques, des acides organiques, et des extraits de plantes/huiles essentielles	181

Liste des figures

Figure 1 : Arbre de décision pour l'évaluation du score méthodologique des publications dans le cas de maladies multifactorielles	32
Figure 2 : Arbre de décision pour l'évaluation du score méthodologique des publications dans le cas de maladies mono-agents	32
Figure 3 : Règle de décision pour les conclusions générales par produit, assorties du niveau de confiance, après combinaison des publications	50
Figure 4 : Schéma méthodologique général pour l'évaluation des publications scientifiques relatives à l'efficacité des produits	52

1. Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise

1.1. Contexte

Le Plan « Ecoantibio 2017 », ou « Ecoantibio 1 », publié en 2012 avec un plan d'action sur 5 ans, prévoyait dans l'Axe 2 : « Développer les alternatives permettant d'éviter les recours aux antibiotiques » et sa mesure n°19, l'évaluation du bénéfice de traitements alternatifs permettant de limiter le recours aux antibiotiques. C'est dans ce cadre que l'Anses a été saisie.

L'objectif de réduction de l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire ne peut être atteint que si des méthodes alternatives au recours aux antibiotiques sont développées dans les différentes situations sanitaires rencontrées sur le terrain. A ce titre, la mesure 19 était complémentaire des mesures 14 et 15 du Plan, prévoyant respectivement de développer les outils en faveur de la prophylaxie sanitaire et des mesures zootechniques et de promouvoir la recherche dans le domaine de l'immunité et de l'utilisation de vaccins ou d'auto-vaccins. C'est dans ce contexte que les « alternatives » (au sens produits et substances) doivent être envisagées et analysées.

En 2014, l'Anses a publié un rapport, suite à une autosaisine sur l'antibiorésistance et l'évaluation des pratiques à risque en matière d'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire. L'expertise collective avait alors posé la question de l'existence d'alternatives aux antibiotiques, mais ne prévoyait pas d'entrer dans le détail des produits concernés.

En outre, l'Anses a rendu en 2013 un avis relatif à l'utilisation de l'oxyde de zinc dans l'alimentation des porcelets au sevrage pour diminuer le recours aux antibiotiques. Il s'agissait de la première évaluation d'alternative au sens de la mesure 19. A la suite de ce premier avis, la DGAL a précisé sa demande concernant les autres alternatives à évaluer, qui constitue la présente saisine.

Il convient de noter que la notion d'alternatives aux antibiotiques a elle-même évolué au cours des réflexions, notamment dans le cadre du plan Ecoantibio¹, passant d'une définition assez restrictive (alternative utilisée « à la place » des antibiotiques) à une conception beaucoup plus large (contribue à diminuer le recours aux antibiotiques), comme l'explique le chapitre 2. C'est aussi dans ce contexte qu'a pris place le plan Ecoantibio 2⁴ (et notamment son Axe 1) publié le 19 avril 2017 par le ministère de l'Agriculture.

1.2. Objet de la saisine

La DGAL, dans sa saisine 2013-SA-0122 (annexe 1) demande

- de réaliser un état des lieux des produits actuellement utilisés comme alternatives aux antibiotiques en vue de diminuer leur usage, en précisant l'espèce de destination et la maladie concernée ;
- puis d'évaluer l'efficacité et l'innocuité, de façon globale, des substances n'ayant pas fait l'objet d'évaluations, pour l'Homme (consommateur et manipulateur), l'animal et l'environnement, après un examen de la bibliographie existante.

La saisine précise que les vaccins et autovaccins ne sont pas inclus dans le champ de la présente saisine.

⁴ <http://agriculture.gouv.fr/le-plan-ecoantibio-2-2017-2021> dernière consultation octobre 2017

1.3. Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au groupe de travail (GT) « Alternatives aux antibiotiques », rattaché au comité d'experts spécialisé « Alimentation animale » (CES Alan) l'instruction de cette saisine.

La saisine a été traitée en deux temps distincts :

- Phase 1 : recensement des produits ou substances actuellement utilisés comme alternatives aux antibiotiques en vue de diminuer leur usage ;
- Phase 2 : évaluation globale des produits (efficacité et innocuité) après un examen de la bibliographie existante.

Le GT a vu sa composition évoluer entre la phase 1 et la phase 2, compte tenu des compétences spécifiques nécessaires à la phase 2.

L'Anses a organisé 18 réunions du GT pour réaliser l'ensemble de l'expertise et aboutir au rapport final. Le recensement des produits ou substances a été réalisé au cours de l'année 2015. L'évaluation globale s'est effectuée durant en 2016-2017. Les conclusions de l'évaluation et la rédaction du rapport ainsi que sa validation ont été effectuées au 2^{ème} semestre 2017.

Les travaux d'expertise du GT ont été soumis régulièrement, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques, au CES Alan qui a, *in fine*, adopté le rapport le 21 novembre 2017.

Le CES « Santé et bien-être des animaux » (SABA) a également suivi régulièrement les travaux du GT « Alternatives aux antibiotiques ».

Le rapport produit par le GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres de ces CES.

Ces travaux sont ainsi issus de collectifs d'experts aux compétences complémentaires.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (mai 2003) »

L'existence concomitante d'un groupe de travail européen, conjoint à l'Efsa et l'EMA, dont le mandat était de donner un avis scientifique sur : « *measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the EU, and the resulting impacts on food safety* », a conduit l'Anses à échanger avec le coordinateur en charge de ce groupe de travail, selon les termes de l'Article 30⁵ du Règlement (CE) n°178/2002 du Parlement européen et du Conseil⁶. Un expert de ce groupe de travail européen a été auditionné le 17 juin 2016 par le GT de l'Anses.

1.4. Prévention des risques de conflits d'intérêts.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'agence (www.anses.fr).

⁵ Article 30.1 : *L'Autorité fait preuve de vigilance de façon à identifier rapidement les sources potentielles de divergence entre ses avis scientifiques et les avis scientifiques émanant d'autres organismes exerçant une mission similaire.*

Article 30.2 : *Lorsque l'Autorité identifie une source potentielle de divergence, elle prend contact avec l'organisme concerné de façon à assurer que toutes les informations scientifiques pertinentes sont partagées et à identifier les questions scientifiques susceptibles d'entraîner des divergences.*

⁶ Règlement (CE) n°178/2002 du Parlement européen et du Conseil du 28 janvier 2002, établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires.

2. Définition des « alternatives aux antibiotiques » et du champ de l'expertise

Le terme « alternatives aux antibiotiques » nécessite d'être défini pour la présente saisine dans la mesure où il peut être interprété, soit de façon large, soit de façon spécifique.

- Large :
 - Certaines interprétations peuvent y intégrer, non seulement des substances chimiques, mais également des vaccins et autovaccins et des mesures de protection sanitaire (biosécurité externe et interne) et d'organisation de la production. Il convient de préciser que ces mesures, ainsi que les vaccins et autovaccins ne sont pas compris dans le champ de la présente expertise.
 - Les alternatives aux antibiotiques utilisés en tant que facteurs de croissance sont exclues de la saisine. Seuls ont été conservés les éléments scientifiques concernant des produits ou substances évalués dans des essais présentant des données en relation avec la santé animale, puisqu'il s'agit ici d'identifier des produits pouvant apporter une réponse dans le cadre de maladies bactériennes en approche soit préventive, soit curative.
 - Les maladies parasitaires sont exclues de la saisine, qui porte uniquement sur les maladies bactériennes, même si certains produits sont actifs sur les 2 types d'agents pathogènes, la bibliographie étant également abondante dans le domaine des parasites.
- Spécifique si ce terme est compris comme visant les substances et produits pouvant être utilisés « en substitution totale » des antibiotiques en élevage. En réalité, l'objet de l'expertise vise non seulement les éventuelles substances pouvant être utilisées « en substitution » des antibiotiques (au sens curatif du terme), mais également celles qui, en étant utilisées préventivement, permettent de réduire la fréquence d'apparition (incidence) de certaines maladies animales bactériennes, pouvant induire ainsi un moindre recours aux antibiotiques.

L'Avis de l'Anses 2011-SA-0071, relatif aux risques d'émergence d'antibiorésistances liés aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale, avait recommandé l'arrêt de l'utilisation des antibiotiques à titre préventif et précisé la définition de la métaphylaxie, afin d'en délimiter le recours.

A noter enfin que les antibiotiques sont définis comme des composés chimiques élaborés par un organisme vivant ou produits artificiellement, à coefficient chimiothérapeutique élevé, dont l'activité se manifeste à très faible dose, d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux à l'égard des bactéries (Hervé Pouliquen, communication personnelle).

En conclusion, le Groupe de Travail a défini l'objectif visé comme étant la diminution du recours aux antibiotiques en élevage.

Compte tenu de cet objectif et des points d'exclusion rappelés ci-dessus, la présente expertise visera les substances et produits, autres que les vaccins, autovaccins, pouvant être utilisés en prévention ou en traitement de maladies bactériennes, dans le but de réduire le recours aux antibiotiques.

Au cours de cette expertise, le Groupe de Travail a toutefois tenu à souligner les besoins de clarification de certaines allégations, appellations ou revendications, en fonction des éléments scientifiques disponibles (cf. 5.4), afin de différencier des produits pouvant représenter une « alternative aux antibiotiques », en permettant de réduire le recours aux antibiotiques (essais en comparaison avec des antibiotiques), des autres produits dont l'action démontrée permet seulement d'indiquer qu'ils peuvent prévenir ou traiter une maladie, sans comparaison possible avec l'efficacité des antibiotiques (pas de comparaison avec un antibiotique dans l'essai).

3. Recensement des « alternatives aux antibiotiques »

3.1 Méthode

Le recensement des substances et préparations commerciales entrant dans la catégorie « alternatifs aux antibiotiques » a été établi sur la base de l'investigation de la presse professionnelle du monde de l'élevage. Ce travail de recensement vise toutes les substances et préparations commerciales qui revendiquent, directement ou indirectement, être une solution pour limiter l'usage des antibiotiques chez les animaux dans différentes filières animales (ruminants, volailles, porcs, lapins et poissons). A titre de rappel, les mesures de prévention en termes zootechniques et de biosécurité, ainsi que les vaccins ou auto-vaccins ne font pas partie de la saisine et sont traités par d'autres partenaires du plan Ecoantibio 2017. Les revendications qui ont été retenues visent un renforcement ou une stabilisation (voire une amélioration) de l'état de santé de l'animal. Les préparations commerciales ayant une revendication uniquement sur l'amélioration des performances zootechniques n'ont pas été retenues mais toutes les allégations visant plus ou moins directement une réduction de l'utilisation d'antibiotiques en élevage ont été recensées (santé générale, amélioration des troubles digestifs, immunité, ...).

Dans le cadre de cette recherche, les publicités dans les journaux professionnels, les communications en séminaires, quelques rapports d'essais et articles de presse ont été les principales sources de références.

Les années de référence des périodiques étudiés sont 2012, 2013 et 2014 (3 ans).

Une grille de recensement commune aux experts a été proposée afin de caractériser de façon identique tous les préparations commerciales. Les préparations de même nom, et destinées à la même espèce ne seront citées qu'une seule fois. La liste des revues françaises étudiées est la suivante :

- Petits ruminants : *La chèvre, Pâtre*
- Gros ruminants : *Réussir lait, PLM, Réussir bovin viande*
- Volailles : *Filières avicoles, Réussir volailles, Interagri*
- Porcs : *Porc magazine, Réussir porc, Atout porc, Baromètre du porc*
- Lapin : *L'éleveur de lapin, Cuniculture info (site internet)*
- Poissons : *Le marin, Fish international, International aquafeed,*
- Toutes espèces : *Le Point vétérinaire, Le nouveau praticien « élevages et santé », le Bulletin des GTV*
- *La Semaine vétérinaire* et la *Dépêche vétérinaire* (hebdomadaire) : sondage sur l'année 2013 uniquement
- *La Revue de l'alimentation animale*

Les experts ont noté qu'il existait beaucoup d'informations sur les sites internet des fabricants et distributeurs, mais il est difficile d'en avoir une approche exhaustive. Les experts sont donc partis de l'hypothèse que l'investigation qui a été faite dans la presse spécialisée fournissait un premier aperçu intéressant de ce qui existe sur le marché. Toutefois, le GT souligne les limites de ce recensement *via* la presse professionnelle : non seulement ce recensement n'est pas exhaustif, mais il ne fournit probablement pas non plus la même quantité d'informations d'une filière animale à une autre, la presse professionnelle n'étant pas toujours le *media* prioritaire pour s'adresser aux éleveurs dans certaines filières. Enfin, des préparations commerciales peuvent être vendues sur le terrain, en l'absence de toute communication dans la presse.

A l'issue de l'analyse de tous ces documents, les experts ont répertorié les informations suivantes :

- Espèce animale concernée,
- Type de production,
- Affection ciblée,
- Appareil ou fonction ciblés,
- Allégation du produit,
- Nom commercial de la préparation,
- Composition,
- Nature des substances (mélange ou individuel),
- Existence d'un statut réglementaire,
- Référence de la revue/type de support de publication.

Les experts du GT ont ainsi réalisé un tableau de recensement général en regroupant et en classant comme suit :

- Espèces animales : porcs, volailles, ruminants, lapins, poissons.
- Appareils ou organes ciblés : digestif, urinaire, respiratoire, reproducteur, locomoteur, la glande mammaire, la peau et l'état de santé général.

Les substances ont été classées dans différentes catégories : probiotiques, prébiotiques, huiles essentielles (HE), extraits de plantes, acides (organiques et gras), biocides, algues, enzymes, minéraux, peptides, plasma, colostrum et poudre de lait.

Le tableau 1 donne un exemple du recensement effectué et de la classification des préparations commerciales identifiées.

Tableau 1 : Extraction du tableau général de recensement

Espèce animale	type de production	affection	appareil ciblé	allégation	composition du produit	famille de produits	mélange ou individuel	Positionnement réglementaire	type de support
porc	Porcelet au sevrage	Diarrhée	digestif	sécurité et confort digestif	Mélange d'AA proche de la protéine idéale + acides organiques + fibres + HE	mélange	mélange	aliment composé 1er âge blanc pour porcelets	communication
porc	tous stades	Diarrhée	digestif	confort digestif/diminue les pathogènes (E coli et Clostridia)	Levures vivantes de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	probiotiques	Individuel	additif	article
porc	sevrage précoce	diarrhée	digestif	améliore la croissance et la sécurité digestive+immunité	contient du plasma	plasma	Individuel	aliment composé 1er âge	publicité technique
porc	pas d'âge mini	diarrhée néonatale	digestif	équilibre digestif	levures vivantes <i>Saccharomyces boulardii</i>	probiotiques	Individuel	additif	publicité technique

A l'issue de ce travail de recensement, les experts ont retenu comme premier critère d'analyse, les préparations qui présentaient une ou plusieurs substances de la même famille (par exemple, un produit contenant plusieurs huiles essentielles a été considéré comme une préparation commerciale « simple ») ou ceux composés de plusieurs substances de familles différentes

(préparations commerciales « complexes »). Les préparations « complexes » ont fait l'objet d'une analyse séparée des préparations « simples⁷ ».

A partir du tableau général, la fréquence des préparations commerciales recensées en fonction de différents critères a été déterminée. Comme indiqué ci-dessus, le GT a choisi de séparer dans un premier temps les préparations commerciales « complexes » et les préparations commerciales qui ne contiennent qu'une ou plusieurs substances de même nature (produits « simples ») (tableau 2). Ensuite, les différentes classes de préparations commerciales « simples » ont été croisées successivement avec les fonctions ciblées puis avec les espèces animales (tableau 3 à tableau 9). Tous ces tableaux ont ensuite été analysés ci-dessous (3.2).

3.2 Présentation et analyse des tableaux

3.2.1 Analyse des préparations commerciales dits « complexes » et « simples »

Tableau 2 : Effectifs de préparations commerciales « complexes » et « simples » recensées

préparations commerciales « complexes »	54
préparations commerciales « simples »	150
Total	204

Parmi les 204 préparations commerciales identifiées (*cf.* tableau 2), environ 25% concernent des associations de deux ou plusieurs composants de nature différente alors que 75% des préparations commerciales ne contiennent qu'un type de composants. Ces derniers peuvent néanmoins associer plusieurs molécules de même nature, comme des mélanges d'huiles essentielles, ou des mélanges d'acides organiques par exemple.

Parmi les préparations commerciales « simples », les plus représentées sont, par ordre décroissant :

- ✓ les extraits de plantes,
- ✓ les probiotiques,
- ✓ les acides organiques,
- ✓ les huiles essentielles,
- ✓ les minéraux.

Les appareils et les affections ciblées en fonction des espèces pour ces préparations commerciales « simples » sont présentées ci-dessous (*cf.* 3.2.2).

En ce qui concerne les préparations commerciales « complexes », il est délicat d'effectuer une caractérisation précise, dans la mesure où,

- les informations fournies sur ces préparations commerciales sont assez souvent imprécises et générales (« algues », « argiles », « substances phytogéniques », « composés anti-inflammatoires », « composés antioxydants » « composants strictement naturels »),

⁷ Si dans ce rapport, une séparation est faite entre produits « simples » et produits « complexes » comme définie ci-dessus, la classification des probiotiques en préparations commerciales « simples » peut être mal comprise car les propriétés et processus propres à ces alternatives biologiques sont, eux, complexes. En réalité, un probiotique aura un effet bénéfique de par l'association, qui est souvent recherchée, de plusieurs des mécanismes possibles d'action (Reid G., 2016 ; LeBlanc *et al.*, 2017 ; Dos Reis *et al.*, 2017)

- ils peuvent contenir jusqu'à 5 types de composants différents. Néanmoins, dans les 54 préparations commerciales « complexes » répertoriées, les acides organiques, les huiles essentielles, et les extraits de plantes sont cités respectivement 17, 16 et 11 fois.

Ces préparations commerciales « complexes » ciblent essentiellement les porcins, principalement au niveau de l'appareil digestif, et les volailles.

3.2.2 Analyse du tableau pour les préparations commerciales « simples »

3.2.2.1 Types de préparations commerciales par appareil ou fonction ciblés

Indépendamment des espèces animales, la majorité des familles des préparations commerciales recensées cible l'appareil digestif (66%) et l'état de santé général (19%), l'appareil respiratoire ou la glande mammaire (5% pour chaque), la peau (2%), l'appareil urinaire (1%), et l'appareil reproducteur ou locomoteur (0,6% chaque) (tableau 3).

Tableau 3 : Citation des différents préparations commerciales « simples » par appareil (ou fonction) ciblé

Produits/appareil	Etat de santé global	Appareil digestif	Appareil respiratoire	Appareil locomoteur	Appareil reproducteur	Appareil urinaire	Mamelle	Peau	Total général
Nature non décrite	5	2							7
acides (organiques et gras)	2	17				1			20
algues	2	1							3
biocides							7		7
enzymes	2	1							3
extraits de plantes	6	27	5		1			3	42
huiles essentielles	1	10	3			1	1		16
minéraux	3	11		1					15
peptides		2							2
plasma		1							1
prébiotiques	1	4							5
probiotiques	5	20							25
Produits d'origine laitière		5							5
Total général	27	101	8	1	1	2	8	3	151

Les familles les plus utilisées sont

- ✓ les extraits de plantes (28%),
- ✓ les probiotiques (17%),
- ✓ les acides organiques et acides gras (13%),
- ✓ les huiles essentielles (10%),
- ✓ les minéraux (10%).

Le reste du recensement concerne des biocides (5%), des prébiotiques (4%), le colostrum ou poudre de lait (3%), des algues (2%), des enzymes (1%), des peptides (1%), du plasma (1%) ou des préparations commerciales dont la composition n'est pas précisée.

Le tableau 4 décrit les préparations commerciales ciblant l'état de santé général de l'animal. Les tableaux 5 à 8 décrivent les préparations commerciales identifiées par appareil cible.

3.2.2.1.1 Etat de santé global de l'animal

Vingt-sept préparations commerciales sur 150 ciblent l'état de santé (soit **19%**).

Tableau 4 : Familles de préparations commerciales ciblant l'état de santé global de l'animal

Familles	Nombre d'utilisations
Non précisé	5
Extraits de plante	6
Probiotiques	5
Minéraux	3
Acides organiques (et gras)	2
Algues	2
Enzymes	2
Prébiotiques	1
Huiles essentielles	1
Total	27

3.2.2.1.2 Appareil digestif

Cent produits sur 150 ciblent l'appareil digestif, soit **66%**.

Tableau 5 : Familles de préparations commerciales ciblant l'appareil digestif

Familles	Nombre de citations
Extraits de plantes	27
Probiotiques	20
Acides organiques (et gras)	17
Minéraux	11
Huiles essentielles	10
Prébiotiques	4
Produits d'origine laitière	5
Peptides	2
Plasma	1
Algues	1
Enzymes	1
Non précisé	1
Total	100

3.2.2.1.3 Appareil respiratoire

Huit préparations commerciales sur 150 ciblent les affections respiratoires, soit **5%**.

Tableau 6 : Familles préparations commerciales ciblant l'appareil respiratoire

Familles	Nombre de citations
Extraits de plantes	5
Huiles essentielles	3
Total	8

3.2.2.1.4 Mammites

Huit préparations commerciales sur 150 ciblent les mammites, soit **5%**.

Tableau 7: Familles de préparations commerciales ciblant les infections de type mammites

Familles	Nombre de citations
Biocides	7
Huiles essentielles	1
Total	8

3.2.2.1.5 Appareils urinaire, locomoteur, reproducteur et la peau

En comparaison avec les appareils précédemment étudiés, les appareils ou organes les moins représentés dans les revues sont les appareils urinaire, locomoteur, reproducteur et la peau (tableau 8).

Tableau 8: Familles de préparations commerciales utilisées

Famille	Nombre de citations			
	Appareil urinaire	Peau	Appareil locomoteur	Appareil Reproducteur
Acides organiques (et gras)	1			
Extraits de plantes		3		1
Huiles essentielles	1			
Minéraux			1	
Total	2	3	1	1

3.2.2.2 Types de préparations commerciales par espèces et appareil ou fonction

Dans le tableau 9, les préparations commerciales « complexes » ne sont pas comptabilisées. Par espèce animale, on peut ainsi dégager les principales préparations commerciales utilisées ainsi que les principaux appareils ou affections visés.

Tableau 9: Citation des produits par espèces et par appareil ou fonctions ciblées

Appareil / espèces	bovins	caprins	lapin	Poissons/crevette	porc	volailles	toutes espèces	Total général
Produits non précisés	1		1	1		2	1	6
Appareil digestif			1					1
Santé générale	1			1		2	1	5
acides (organiques et gras)		1	3		12	3	1	20
Appareil digestif		1	3		11	2		17
Santé générale						1	1	2
Appareil urinaire					1			1
algues				1	1		1	3
Appareil digestif					1			1
Santé générale				1			1	2
biocides	7							7
Glande mammaire	7							7
enzymes					1	2		3
Appareil digestif					1			1
Santé générale						2		2
extraits plantes	9	4	5		13	7	4	42
Peau	2						1	3
Appareil digestif	5	1	2		11	7	1	27
Santé générale		1	2		2		1	6
Appareil reproducteur	1							1
Appareil respiratoire	1	2	1				1	5
HE		5	1	1	6	3		16
Appareil digestif		3			5	2		10
Santé générale				1				1
Glande mammaire		1						1
Appareil respiratoire		1	1			1		3
Appareil urinaire					1			1
minéraux			2		13			15
Appareil digestif					11			11
Santé générale			2		1			3
Appareil locomoteur					1			1
peptides					2			2
Appareil digestif					2			2
plasma					1			1
Appareil digestif					1			1
prébiotiques			2				3	5
Appareil digestif			2				2	4
Santé générale							1	1
probiotiques	1			3	15	6		25
Appareil digestif	1			1	15	3		20
Santé générale				2		3		5
produits biologiques					5			5
Appareil digestif					5			5
Total général	18	10	14	6	69	23	10	150

3.2.2.2.1 Porc :

Les porcins sont les destinataires principaux de ces préparations commerciales, avec un total de 69 citations sur 150 au total soit près de 50%.

Pour cette espèce, les préparations commerciales les plus souvent citées sont les probiotiques, les minéraux, les extraits de plantes et les acides organiques, avec respectivement 15, 13, 13 et 12 citations. Les cibles majeures sont l'appareil digestif, avec des revendications très diverses et souvent assez vagues : « sécurité et confort digestif », « équilibre digestif », « augmentation de l'absorption digestive », « meilleur démarrage du sevrage », « protection du système digestif »,

« prévention des diarrhées non spécifiques », « stimulation de l'immunité locale », « réduction du nombre de bactéries pathogènes (*Escherichia coli* et clostridies) », « antioxydant », « anti-inflammatoire », « amélioration de la flore » et même « remplace les antibiotiques chez le porcelet récemment sevré ».

Dans la mesure où l'utilisation de ces préparations commerciales est particulièrement fréquente chez les porcins (cf. ci-dessus), il est possible d'obtenir une analyse plus détaillée des allégations, en considérant exclusivement les préparations commerciales individuelles ciblant la fonction digestive d'une part, ou la restauration de l'état de santé global d'autre part. Après analyse de la diversité de ces allégations, 4 catégories ont été considérées :

- (1) Equilibre du microbiote digestif et prévention des diarrhées /restauration du microbiote digestif
- (2) Préservation ou amélioration de l'état de santé global par stimulation de l'immunité, du statut antioxydant ou du statut anti-inflammatoire
- (3) Alternative à l'utilisation des antibiotiques
- (4) Association des allégations (1) et (2)

Sur les 65 allégations recensées, 67% concernent l'équilibre ou la restauration du microbiote digestif, 16% s'adressent à l'état de santé global, 8,5% revendiquent explicitement constituer des alternatives aux antibiotiques et 8,5% associent divers types d'allégations. Concernant l'allégation 1, les préparations commerciales les plus citées sont par ordre décroissant les probiotiques (14 citations), les minéraux (11 citations, notamment l'oxyde de zinc) et les acides organiques (8 citations).

Les autres cibles sont l'appareil locomoteur, cité une fois pour des composés minéraux et l'appareil urinaire, mentionné lors de l'usage des huiles essentielles. Sur la période 2012-2014, ces préparations commerciales sont largement citées, manifestement du fait des restrictions annoncées de l'usage des antibiotiques.

Dans la presse internationale, les effets « facteur de croissance », « confort digestif », « augmentation de l'absorption digestive » visent clairement le remplacement des antibiotiques régulateurs de flore, encore utilisés dans de nombreux pays. Le mode d'action commence à faire l'objet d'investigations, qu'il s'agisse de l'impact sur les bactéries cibles (colibacilles, clostridies et même salmonelles), ou des effets sur l'immunité et l'inflammation.

3.2.2.2 Ruminants

Les ruminants occupent la 2^{ème} place, après les porcins pour le nombre de citations relevées dans la presse professionnelle sur la période 2012-2014. Ces 28 citations « ruminants » ne représentent toutefois que moins de 20% du total, toutes espèces confondues. Au sein des « ruminants », près des 2/3 des citations concernent les bovins, le dernier tiers concernant les caprins.

Soulignons également que les préparations commerciales ainsi présentées sont majoritairement des extraits de plantes (13) ou des huiles essentielles (5) : l'ensemble représente 60% des préparations commerciales recensées pour les « ruminants ». Ensuite, on trouve des préparations commerciales spécifiques des bovins laitiers, à savoir ceux d'antisepsie de la mamelle ou de prévention des mammites (ex : obturateur) (7 citations).

S'agissant des indications majeures, les ruminants n'échappent pas à la règle, les indications digestives étant majoritaires (13 produits), mais beaucoup moins que dans les autres espèces (porc, lapin...) ; spécificité également des ruminants, les préparations commerciales concernant la mamelle se classent en second (8 produits).

3.2.2.2.3 Volailles

Les volailles sont au 3^{ème} rang en termes de citations avec 23 produits simples répertoriés. Si le poulet est l'espèce cible première, la majorité des préparations commerciales concernent toutes les volailles, aussi bien de ponte que de chair.

La fonction digestive (ou appareil digestif) est la cible première. Les préparations commerciales sont en majorité des extraits de plantes, seuls ou associés. Trois probiotiques sont cités.

A part la « santé du tube digestif », les indications sont le plus souvent non ciblées : « réduction des antibiotiques », « atténuation des conséquences d'un stress ». Le positionnement est très clairement annoncé comme alternative aux antibiotiques, mais les recherches bibliographiques scientifiques de la 2^{ème} phase des travaux ont montré qu'il s'agissait très probablement d'une recherche d'alternative aux antibiotiques facteurs de croissance.

3.2.2.2.4 Lapins

Avec 14 préparations commerciales identifiées, les lapins constituent la 4^{ème} espèce en termes de citations. Les 18 citations « lapins » représentent 12% (18/154) du total toutes espèces confondues. Huit citations sur 18 portent sur la fonction digestive, 4 pour la fonction respiratoire, et 2 sur l'immunité.

Les préparations commerciales ainsi présentées sont en majorité des extraits de plantes et des huiles essentielles (8 cas), puis 3 citations pour les acides organiques. Les probiotiques font l'objet d'une seule citation (bactérie lactique), et les prébiotiques sont cités 3 fois.

3.2.2.2.5 Poissons

Du fait du faible nombre de préparations commerciales recensées, le tableau a été complété en explorant quelques sites internet de fabricants. Cependant le nombre de préparations commerciales destinées aux espèces d'élevage aquacole (poissons et crustacés) décrits comme ayant des propriétés correspondant à une alternative aux antibiotiques reste limité. Les préparations commerciales trouvées sont principalement des prébiotiques (manno- et fructo oligosaccharides, parois de levures) ou des probiotiques, suivis des huiles essentielles. Les cibles majeures sont soit le système immunitaire en général, soit l'appareil digestif. Les allégations sont parfois soutenues par des tests infectieux visant à mesurer la résistance aux pathogènes.

3.3 Statut réglementaire des produits recensés

Le présent recensement identifie un certain nombre de produits dont la plupart est administrée aux animaux après incorporation aux aliments qu'ils ingèrent. Les principales familles identifiées sont les suivantes : huiles essentielles et extraits de plantes, acides organiques, probiotiques et, dans une moindre mesure, prébiotiques. Le recensement des produits opéré par le GT à partir de la presse professionnelle montre la diversité des statuts réglementaires potentiels⁸. Pour certains produits ou famille de produits, des interrogations et des propositions avaient été formulées quant à leur statut réglementaire actuel ou envisageable. Ces propositions figurent notamment dans les documents suivants :

- Rapport Afssa de février 2007⁹ ;
- Avis du 3 juin 2010¹⁰ et rapport du 30 juin 2010¹¹ de l'Académie vétérinaire de France ;

⁸ Les autorités de contrôle et, en dernier lieu, le juge peuvent procéder à une requalification de ce statut si le choix de l'opérateur s'avère erroné.

⁹ Propositions pour une démarche d'évaluation de substances ou de produits « nouveaux » destinés à l'alimentation animale. Cas particulier des substances et produits à base de plantes (65 pages).

¹⁰ Avis du 3 juin 2010 relatif aux conditions d'utilisation, en France, des préparations à base de plantes chez les animaux de production (2 pages).

¹¹ Rapport du 30 juin 2010 sur les conditions d'utilisation en France des préparations à base de plantes chez les animaux de production (59 pages).

- Recommandation de la Commission (2011/25/UE) du 14 janvier 2011¹² ;
- Note de l'ANMV du 25 septembre 2013¹³ ;
- Avis scientifique conjoint RONAFA (EMA-EFSA, 2017)¹⁴.

3.3.1 Différents statuts des produits en alimentation animale

Le statut réglementaire d'un produit utilisé en alimentation animale peut être identifié *via* l'information figurant sur l'étiquette du produit, notamment le libellé de l'allégation revendiquée par l'opérateur. Ces informations, dont les allégations portant sur les aliments pour animaux, sont encadrées réglementairement de façon plus ou moins contraignante.

Pour certains aliments, l'encadrement réglementaire fixe des contraintes fortes. C'est le cas des produits :

- autorisés en tant qu'additifs aux aliments des animaux (article 17 du règlement 1831/2003¹⁵). Dans ce cas, seule l'allégation figurant dans le règlement d'autorisation de l'additif concerné est utilisable¹⁶. Toute autre allégation, portant par hypothèse sur une fonction autre que celle pour laquelle l'additif a été autorisé, est interdite et ne pourrait être utilisée qu'après autorisation de l'additif pour cette nouvelle fonction. C'est le cas par exemple de certains probiotiques et de certains extraits de plantes ;
- autorisés en tant qu'aliments diététiques répondant à un objectif nutritionnel particulier (ONP) en vertu de l'article 9 du règlement (CE) n° 767/2009¹⁷ et pouvant relever de la liste établie par la directive 2008/38/CE¹⁸. Cette liste comporte les mentions suivantes : la destination précise, à savoir l'objectif nutritionnel particulier, les caractéristiques nutritionnelles essentielles, l'espèce ou catégorie d'animaux, les déclarations d'étiquetage, la durée d'utilisation recommandée et, le cas échéant, les indications particulières d'étiquetage. Ainsi, l'utilisation d'allégations comme « stabilisation de la fonction digestive » ou « atténuation des conséquences d'un stress », figurant dans la liste des ONP autorisés, conduit à devoir respecter l'ensemble des éléments précités.

Pour les autres aliments (matières premières, aliments complets ou complémentaires autres que les aliments diététiques), l'allégation est libre à la condition de respecter les dispositions prévues par l'article 13 du règlement (CE) n° 767/2009.

3.3.2 Le cas particulier du médicament vétérinaire

Il faut d'emblée noter que, dans tous les cas de figure, les allégations pouvant faire relever le produit de la catégorie des médicaments vétérinaires sont interdites pour les aliments des animaux. L'usage de telles allégations condamne inmanquablement le produit à devoir respecter l'intégralité des dispositions relatives au médicament vétérinaire. La seule exception existante depuis l'origine de la réglementation européenne est celle des coccidiostatiques et histomonostatiques autorisés en tant qu'additifs aux aliments des animaux.

¹² Recommandation de la Commission (2011/25/UE) du 14 janvier 2011 arrétant des lignes directrices pour la distinction entre les matières premières pour aliments des animaux, les additifs pour l'alimentation animale, les produits biocides et les médicaments vétérinaires (JOUE L 11 du 15.01.2011, pages 75 à 79).

¹³ Note ANMV du 25 septembre 2013 sur le statut juridique du médicament vétérinaire au regard des produits à base de plantes, 16 pages.

¹⁴ EMA and EFSA Joint Scientific Opinion on measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the European Union, and the resulting impacts on Food safety (RONAFA) EFSA journal, 2017,15(1), 4666 (245 pages).le règlement (UE) n° 1947/2012

¹⁵ Règlement (CE) n° 1831/2003 du 22 septembre 2003 relatif aux additifs destinés à l'alimentation des animaux, modifié en dernier lieu par le règlement (UE) 2015/2294 de la Commission du 9 décembre 2015.

¹⁶ C'est aussi le cas pour les mentions devant figurer sur l'étiquette des matières premières ou des aliments composés dans lesquels un additif est incorporé. (articles 15 et 16 du règlement (CE) n° 767/2009). C'est du moins la position des autorités françaises. Dans d'autres Etats membres, notamment les Pays Bas, l'interprétation semble être plus ouverte.

¹⁷ Règlement (CE) n° 767/2009 du Parlement européen et du Conseil du 13 juillet 2009 concernant la mise sur le marché et l'utilisation des aliments pour animaux, modifié en dernier lieu par le règlement (UE) n° 939/2010 de la Commission du 20 octobre 2010.

¹⁸ Directive 2008/38/CE de la Commission du 5 mars 2008 établissant une liste des destinations des aliments pour animaux visant des objectifs nutritionnels particuliers, modifiée en dernier lieu par le règlement (UE) n° 1123/2014 de la Commission du 22 octobre 2014.

La définition du médicament vétérinaire¹⁹, à l'instar de celle du médicament de l'homme, est double :

- Un produit est un médicament par présentation dès lors qu'il est présenté (notamment par l'allégation revendiquée) comme possédant des propriétés préventives ou curatives vis-à-vis d'une maladie. Qui plus est, dans un tel cas, la jurisprudence tant communautaire que nationale est extensive, c'est-à-dire que la véracité de cette affirmation est indifférente à la qualification du produit en médicament vétérinaire ;
- Un produit est un médicament par fonction dès lors que l'ensemble de ses propriétés, examinées selon une grille d'analyse en vertu de la jurisprudence restrictive, permettent de conclure que ce produit permet de restaurer, de corriger ou de modifier des fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique.

En conséquence, tous les produits examinés par le GT relèvent du statut du médicament vétérinaire dès lors qu'ils sont présentés par celui qui les met en circulation comme ayant des propriétés préventives ou curatives vis-à-vis d'une maladie animale ou que, après application de grille d'analyse ci-dessus évoquée, les preuves scientifiques rapportées permettent d'établir qu'il s'agit d'un médicament vétérinaire par fonction.

Ainsi, le positionnement réglementaire des produits recensés au cours de cette étude, se trouve aujourd'hui essentiellement lié aux allégations et revendications développées sur l'ensemble des documents relatifs à ces produits. Il apparaît, en première analyse :

- que de nombreuses allégations rencontrées lors du recensement peuvent conduire à classer le produit dans la catégorie des médicaments vétérinaires (notamment l'allégation générique « alternative aux antibiotiques ») ;
- que plusieurs produits utilisés sont d'ores et déjà autorisés comme additifs en alimentation animale, mais pour des usages qui n'ont pas forcément de rapport avec celui relevé par les experts au cours du recensement.
- que les allégations comme « contribue à diminuer le recours aux antibiotiques » n'ont pas fait l'objet d'une classification réglementaire particulière jusqu'à présent, conduisant à explorer le besoin et la pertinence de créer de nouvelles dispositions réglementaires pour ces produits, très attendus pour les productions animales (*cf.* chapitre 10).

Compte tenu de cette pluralité de statuts possibles et de certaines situations non encore explorées réglementairement, le Groupe de Travail souligne que l'analyse des publications scientifiques relatives aux produits recensés, qui fait l'objet des chapitres suivants, a fait abstraction de leur statut réglementaire, pour ne s'intéresser qu'aux données d'efficacité et d'innocuité, sans aucun lien avec les différentes lignes directrices des dossiers d'autorisation (additifs ou médicaments notamment).

3.4 Conclusion

Les préparations commerciales les plus citées dans le tableau de recensement contiennent majoritairement :

- des extraits de plantes
- des probiotiques
- des acides (organiques et/ou gras)
- des huiles essentielles

¹⁹ Directive 2001/82/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments vétérinaires, modifiée en dernier lieu par le règlement (CE) n° 596/2009 du Parlement et du Conseil du 18 juin 2009. Article L5111-1 du Code de la Santé Publique

Ainsi, le GT a retenu de rechercher la bibliographie scientifique pertinente en lien avec ces quatre familles de substances en priorité.

Par ailleurs, la plus grande partie des allégations présentées est focalisée sur la sphère digestive quelle que soit l'espèce animale considérée. L'étude de l'utilisation des 4 familles de substances comme alternatives aux antibiotiques pour les affections de la sphère digestive sera donc privilégiée dans la suite de ce rapport.

Néanmoins, dans la mesure où le rapport Antibiorésistance (Anses 2015) a pu mettre en évidence que certaines autres maladies pouvaient conduire à une utilisation importante d'antibiotiques en fonction des espèces (mammites chez la vache laitière par exemple), la suite de ce rapport envisagera également l'utilisation d'autres familles de substances pour le traitement de ces autres affections.

Les experts soulignent néanmoins certaines limites identifiées au cours de ce recensement :

- absence d'exhaustivité, du fait même du mode de recensement à travers la presse professionnelle sur une durée de parution limitée et du fait de l'existence probable de préparations commerciales proposées aux éleveurs sans communication ;
- représentativité des différentes filières animales probablement non homogène ;
- absence de retour sur l'efficacité, les produits recensés étant seulement identifiés par le fait qu'ils sont proposés à la vente ;
- composition imprécise des préparations commerciales recensées.

4. Introduction à l'évaluation des alternatives aux antibiotiques : méthodologie d'expertise

4.1 Choix de la méthode employée pour la phase 2 d'évaluation

Préalablement au choix de la méthode d'évaluation, le GT a identifié un certain nombre de considérants :

- d'une part, la demande de la DGAL consistant à évaluer les alternatives aux antibiotiques de façon générale et non dans un contexte individuel relevant du domaine des dispositifs réglementaires d'autorisation de mise sur le marché, en vue d'identifier des familles de produits ou des produits prometteurs, selon les connaissances disponibles ;
- d'autre part un domaine d'investigation relativement récent et en pleine évolution ;
- enfin, des substances candidates pour cette thématique elles-mêmes en pleine évolution, de nouvelles familles étant susceptibles d'émerger à tout moment.

En conséquence, les experts ont fait le choix de mener leur expertise avec l'objectif d'élaborer une méthodologie d'analyse générique et pérenne, qui puisse accompagner les évolutions soulignées précédemment.

Le GT a ainsi proposé de construire une méthode d'évaluation des publications scientifiques portant sur la mesure de l'efficacité de substances permettant de diminuer le recours aux antibiotiques, et de rendre cette méthode publique et disponible pour de prochaines évaluations, indépendamment de l'échéance de la présente saisine. L'évaluation de ces publications vise à établir un niveau de preuve de l'efficacité revendiquée pour les substances ou produits « alternatifs », dans les essais publiés.

Le GT a également choisi une méthode d'évaluation de l'innocuité des produits « alternatifs », qui soit compatible avec leur grande diversité.

Sur le plan de la terminologie, il est à noter que dans la suite du document, les termes produits ou substances sont employés indifféremment.

4.1.1 Mise au point de la méthode d'évaluation de l'efficacité des « alternatives »

Trois grandes étapes composent cette méthode :

- Evaluation du score méthodologique de chaque publication. Cette évaluation aboutit à un score variant de 1 à 4 ;
- Détermination des variables pertinentes de chaque publication au regard des maladies étudiées et des effets revendiqués ;
- Conclusions pouvant être tirées des publications en fonction des 2 étapes précédentes.

Ces différentes étapes font l'objet d'une présentation détaillée au chapitre 5

4.1.2 Choix de la méthode d'évaluation de l'innocuité des « alternatives »

Compte tenu de la très grande variété des substances citées dans la bibliographie scientifique, le GT a été conduit à privilégier une approche synthétique, à partir de documents de référence dans lesquels l'évaluation de l'innocuité avait déjà été réalisée.

Cette méthode est décrite dans le chapitre 9, de même que les données d'innocuité ainsi obtenues pour les substances étudiées.

4.2 Choix des produits/espèces/maladies à étudier

Afin de tester et d'illustrer la méthode construite par le GT, l'objectif était de déterminer des combinaisons de famille de substances, espèce animale, maladie à étudier sur le plan bibliographique.

4.2.1 Familles de produits

Les experts ont sélectionné certaines familles de substances, les plus fréquemment citées dans le recensement préalable, pour lesquelles l'information scientifique (publications) est *a priori* abondante.

L'examen du tableau de recensement du chapitre 3 a permis d'identifier les préparations commerciales les plus fréquemment citées.

Quatre familles de substances ressortent des citations rencontrées dans la presse professionnelle :

- les extraits de plantes ;
- les huiles essentielles ;
- les probiotiques ;
- les acides organiques.

Derrière elles, sont cités : enzymes, peptides antimicrobiens, plasma, algues, prébiotiques, ...

Ainsi, le GT a retenu d'analyser en priorité la bibliographie sur les quatre premières familles de substances. La possibilité a néanmoins été laissée, pour certaines espèces et certaines maladies, d'élargir à d'autres familles lorsque la bibliographie scientifique s'avérait abondante et aboutie (publications faisant état d'essais sur animaux, de bonne qualité scientifique) (*cf.* chapitre 5).

4.2.2 Espèces animales

Le GT a estimé que toute espèce animale pouvant être utilisée en tant qu'animal de production, affectée par une maladie bactérienne donnée, devait faire l'objet d'une application de cette méthode, afin de la tester et de l'améliorer pour toutes les espèces.

Ainsi, les espèces ou groupes d'espèces suivants ont été retenus : porc, volaille, lapin, ruminant, petit ruminant, pré-ruminant, poissons. Le cheval a été également retenu dans la réponse à la saisine, même si la partie relative au recensement ne l'incluait pas. Cette décision a notamment été motivée par l'existence d'une maladie bactérienne chez le poulain : la rhodococcose pour laquelle le traitement antibiotique fait appel à des molécules de dernière génération.

Faute de temps, le GT n'a pas été en capacité d'élargir son investigation, pour prendre en compte les animaux de compagnie (carnivores domestiques) tels que les chiens et les chats.

4.2.3 Maladies

Les maladies les plus souvent citées dans la presse professionnelle sont les maladies digestives, loin devant les autres affections.

Néanmoins, plutôt que d'appliquer la méthode pour toutes les espèces aux seules maladies digestives, le GT a souhaité croiser cette information avec les données de l'avis de l'Anses 2011-SA-0071 relatif aux « risques d'émergence d'antibiorésistances, liés aux modes d'utilisation des antibiotiques, dans le domaine de la santé animale ». Cet avis, dans son chapitre 4, recense les pratiques d'antibiothérapie dans les différentes filières animales, permettant d'identifier certaines affections plus génératrices de prescriptions d'antibiotiques que d'autres, par espèce animale.

Sur ces bases, le GT a arbitré de la manière suivante :

- Porc : troubles digestifs chez le porcelet post-sevrage, considérés jusqu'à présent comme fortement générateurs de prescriptions d'antibiotiques ;

- Volailles : les experts ont fait le choix de la colibacillose systémique comme maladie d'intérêt chez les volailles²⁰ au regard de la prescription d'antibiotiques qu'elle engendre (y compris d'antibiotiques d'importance critique).
- Lapin : ont été pris en compte les troubles digestifs, considérés jusqu'à présent comme fortement générateurs de prescriptions d'antibiotiques, en lien notamment avec l'entérococolite et les colibacilloses chez le lapin en croissance ;
- Bovins : mammites, considérées jusqu'à présent comme fortement génératrices de prescriptions d'antibiotiques, ainsi que les métrites ;
- Petits ruminants : troubles digestifs, en tant que base commune d'étude suite au recensement (cf. point 3.3) ;
- Pré-ruminants²¹ : troubles digestifs, considérés jusqu'à présent comme fortement générateurs de prescriptions d'antibiotiques en prévention, notamment en ateliers de veaux de boucherie ;
- Poissons : maladies systémiques. La plupart des maladies bactériennes chez les poissons prennent une forme systémique et font l'objet de traitements antibiotiques majoritairement métaphylactiques²² ;
- Cheval : La rhodococcose est une maladie bactérienne à tropisme principalement respiratoire et constitue la première cause de mortalité chez le poulain de moins de 3 mois. A ce jour, elle ne peut être traitée qu'avec une association d'antibiotiques comportant de la rifampicine, désormais classée parmi les antibiotiques d'importance critique, mais bénéficiant d'un statut exceptionnel pour la rhodococcose en tant que substance essentielle pour les équidés atteints de cette maladie.

A cette maladie respiratoire s'ajoutent les entérocolites et typhlocolites, qui affectent les poulains comme les adultes, et qui peuvent être d'origine multifactorielle mais impliquent souvent des entérobactéries ou des bactéries anaérobies. La place de l'antibiothérapie dans le traitement de ces infections est différente selon l'âge de l'animal. Contrairement aux poulains, l'administration d'antibiotiques lors d'entérocolite ou de typhlocolite bactériennes chez le cheval adulte est controversée, sauf dans certaines circonstances (forte neutropénie, signes de septicémie, infection à *Clostridium difficile*, ...) (Murray, 1992 ; Jones and Spier, 1998 ; Weese *et al.*, 2001).

4.3 Recherche bibliographique

La recherche bibliographique a été réalisée par les experts sur la base des combinaisons d'une famille de substances, d'une espèce animale et d'une maladie définies précédemment, selon les modalités décrites ci-dessous.

4.3.1 Répartition des travaux de recherche bibliographique et d'analyse

Les combinaisons d'une famille de substances, d'une espèce animale et d'une maladie ont été réparties parmi les experts du GT. Les résultats de ces recherches bibliographiques et de l'analyse des publications, selon la méthode développée par le GT, ont ensuite été discutés en séances plénières à des fins de mise en cohérence et d'harmonisation.

²⁰ Les Salmonelloses chez les volailles ont été exclues de la saisine. La pullorose (infection à *S. pullorum*) est aujourd'hui considérée comme éradiquée en France. Les autres infections salmonelliques des volailles sont souvent inapparentes, la plupart des sérovars se limitant à coloniser le tube digestif. Leur importance est essentiellement liée à leur impact en sécurité sanitaire des aliments, entraînant des mesures de surveillance et d'élimination des troupeaux contaminés

²¹ Pré-ruminant : Stade de développement du veau qui ne rumine pas encore

²² Traitement métaphylactique : traitement des animaux cliniquement malades et des autres animaux d'un même groupe qui sont encore cliniquement sains mais avec une forte probabilité d'être infectés à cause du contact étroit avec les animaux malades.

4.3.2 Règles communes pour la recherche bibliographique

4.3.2.1 Moteurs de recherche et bases de données

Les bases de données bibliographiques et les moteurs de recherche utilisés par les experts ont été :

- Scopus
- Pubmed
- Web of Science
- Google
- Google Scholar

Pour les aspects d'innocuité, outre les moteurs de recherche cités, les sites suivants ont servi de sources de données : Efsa – OMS – Toxnet du NIH

4.3.2.2 Mots clés

Pour la recherche bibliographique, les points suivants ont été fixés par le GT :

- Effet recherché : efficacité du produit pour diminuer le recours aux antibiotiques, en usage préventif ou curatif vis-à-vis d'une maladie bactérienne.

A noter que depuis le 1^{er} janvier 2006, en vertu de l'article 11, paragraphe 2 du règlement (CE) n° 1831/2003, les antibiotiques et leurs dérivés, autres que les coccidiostatiques et les histomonostatiques, [c'est-à-dire ceux autorisés jusqu'alors en tant que facteurs de croissance] ont été supprimés du registre des additifs autorisés pour l'alimentation animale. Depuis cette date, le marché des produits de remplacement s'est considérablement développé. Le GT a décidé d'écarter les publications relatives à ces produits de remplacement des antibiotiques facteurs de croissance (AFC), estimant qu'il ne s'agissait pas d'une alternative aux antibiotiques utilisés à titre préventif ou curatif d'une maladie bactérienne. Même s'il a été noté à plusieurs reprises que les facteurs de croissance donnaient des résultats d'autant plus marqués sur la croissance, que l'état sanitaire des élevages concernés était dégradé, les experts ont considéré que l'objectif n'était pas le même. De plus, le produit de référence (antibiotique) dans les essais n'étant alors pas utilisé dans les conditions recherchées dans le cas de maladies bactériennes (dose et durée d'administration), ces publications n'ont pas été retenues.

Cette distinction peut, certes, être discutée dans le cas particulier des produits de remplacement des AFC classés dans les additifs « stabilisateurs de flore ». En effet, il n'est pas exclu que la stabilisation du microbiote digestif, si elle peut être durable, permette sur le long terme d'utiliser moins d'antibiotiques en élevage. Mais la démonstration du lien entre la stabilisation de cette flore et le moindre recours aux antibiotiques requiert des études en élevages qui s'apparentent davantage à des études épidémiologiques qu'à des essais expérimentaux qui sont limités dans le temps (*cf.* chapitre 7). Dans l'attente de tels essais publiés, seuls ont été conservés par le GT, les éléments scientifiques concernant des produits ou substances évalués dans des essais présentant des données en relation avec la santé animale.

- Après analyse préliminaire, il s'est avéré nécessaire de regrouper dans une même catégorie les plantes, les extraits de plantes et les huiles essentielles.
- Afin de limiter le nombre de publications non pertinentes, les modalités adéquates de combinaison des mots clés étaient importantes à identifier. Les experts ont déterminé les combinaisons suivantes :
 - « Maladie » *and* « Espèce » *and* « catégorie de produits » *and not* « facteurs de croissance ». Le mot clé lié à la maladie ainsi que le comparateur « and not » ont été utilisés pour exclure les articles relatifs aux facteurs de croissance. Dans un second temps le tri des articles restants, pour éliminer ceux relatifs aux facteurs de croissance, a été réalisé par les experts avec discussion en réunion plénière, au regard de la dose

d'antibiotique employée, de la durée d'administration, des variables mesurées et de l'étude, effective ou non, d'une maladie au cours de l'essai.

- La recherche de publications relatives aux acides organiques s'est révélée plus efficace lorsqu'est indiqué dans les mots clés le nom précis d'un acide organique plutôt que le nom générique « organic acids ».
 - Le GT a convenu de prendre en compte également les revues (Reviews), permettant d'identifier des références bibliographiques qui ne sont pas ressorties au 1^{er} recensement bibliographique, *via* les moteurs de recherche.
 - Alternatives aux antibiotiques : ont été utilisés à la fois les termes « antimicrobial » et « antibacterial ».
- Le recensement bibliographique a pu faire ressortir des publications relatives à d'autres familles de substances que celles considérées comme prioritaires pour le traitement de la saisine. Elles ont, soit été prises en compte par l'expert pour une espèce/maladie donnée car suffisamment abondantes et abouties (cas des prébiotiques par exemple) ; soit conservées pour constituer le support du chapitre 8 : « Autres approches », portant sur les produits émergents dans ce domaine des « alternatives » aux antibiotiques, pour lesquelles les publications avec essais sur animaux n'existent pas encore ou en nombre très limité, mais qui méritent d'être citées en termes de perspective.
 - Les biocides, notamment antiseptiques et désinfectants ont été considérés hors champ de la saisine et donc du recensement bibliographique (y compris dans le cadre des mammites).
 - Le recensement bibliographique a été réalisé en faisant abstraction du statut réglementaire des produits. L'objectif de ce travail était en effet de répertorier les essais publiés et d'évaluer leur niveau de preuve scientifique pour les produits considérés.
 - La dose d'emploi a constitué un élément important à relever pour étayer le rôle en tant qu'alternative aux antibiotiques.
 - La période sur laquelle les publications ont été recherchées a été globalement fixée à 10 années (de 2005 à 2014). Cette période a néanmoins pu être allongée par certains experts pour une espèce/maladie donnée. Cet élargissement temporel est alors précisé dans le chapitre 6.
 - La prise en compte des sources de financement des essais décrits dans les publications scientifiques n'a pas été possible dans la mesure où, cette information étant relativement récente dans les articles scientifiques, elle n'était pas généralisée à l'ensemble des publications retenues.
 - Les noms des différentes substances citées dans les publications apparues au travers de ce recensement bibliographique scientifique ont été collectés et ont servi de base à la recherche sur l'innocuité des substances (*cf* chapitre 9).

4.3.2.3 Types d'études recensés

Deux grandes catégories d'études sont ressorties de la recherche bibliographique :

- **Etudes in vitro** : celles-ci n'ont pas été retenues par les experts. Le GT a en effet décidé de ne pas retenir les études *in vitro* lorsque des études *in vivo* étaient disponibles et en nombre suffisant pour caractériser un niveau de preuve suffisant vis-à-vis de l'efficacité des produits chez les animaux.

Ces essais *in vitro* ont été considérés par les experts comme un criblage préalable aux études ultérieures sur animaux, dans le cadre de la recherche sur des produits et substances « alternatives aux antibiotiques ». Lorsque l'efficacité *in vitro* a été démontrée, le GT souligne qu'il est indispensable de mener les études *in vivo* avant de tirer des conclusions pour une maladie dans une espèce considérée.

- **Essais sur animaux** : ceux-ci ont fait l'objet de la majeure partie de la méthode construite et appliquée aux publications scientifiques dans le présent rapport (voir chapitres 5 et 6)

La recherche bibliographique n'a pas permis de mettre en évidence d'**études épidémiologiques** (études observationnelles ou interventionnelles) construites dans l'objectif de démontrer l'efficacité d'une alternative aux antibiotiques. Cependant, le GT considère que le concept de ces études devrait, à l'avenir, être utilisé pour apporter une réponse complémentaire aux essais expérimentaux, sur l'efficacité des substances afin de diminuer le recours aux antibiotiques. Il est donc important de préciser l'intérêt et les limites de ces études. C'est la raison pour laquelle le chapitre 7 leur est consacré.

5. METHODE D'ÉVALUATION DES PUBLICATIONS RELATIVES AUX ESSAIS SUR ANIMAUX

La méthode d'évaluation, pour les essais expérimentaux sur animaux, comporte 3 étapes :

- Evaluation du score méthodologique de chaque publication : ce score évalue les différentes caractéristiques de la publication au regard de la preuve attendue pour démontrer qu'une substance peut représenter une alternative aux antibiotiques pour une maladie et une espèce animale donnée ;
- Détermination des variables pertinentes au regard des maladies étudiées et amplitude des effets revendiqués (signification biologique) et analyse des effets des alternatives sur ces variables ;
- Conclusions pouvant être tirées des publications prises individuellement puis dans leur ensemble, en fonction des 2 étapes précédentes, en ce qui concerne l'efficacité d'une substance (ou d'une famille de substances) en tant qu'alternative aux antibiotiques.

5.1 Score méthodologique des publications d'essais sur animaux

5.1.1 Critères d'évaluation du score méthodologique

En s'appuyant sur l'Avis de l'Anses 2011-SA-0150 et sur le « Guide d'analyse de la littérature et gradation des recommandations » de l'ANAES²³, l'évaluation du score méthodologique des publications *in vivo* a reposé sur la prise en compte de 5 critères caractérisant :

❶ l'étiologie simple ou multiple de la maladie. Des grilles d'analyse séparées ont été créées pour les maladies d'étiologie multifactorielle, d'une part et les maladies « mono-agent », d'autre part. Cette décision est motivée par le fait que certaines maladies, comme par exemple la diarrhée du porcelet au sevrage ou l'entérocolite du lapin ne sont pas seulement liées à un agent pathogène bactérien (comme *E. coli* pour la diarrhée du porcelet) mais également à un ensemble de cofacteurs intervenant eux aussi dans la survenue de la maladie (alimentation, conditions d'élevage, etc ...). Ces maladies sont alors mieux reproduites par des situations d'infection spontanée en milieu infecté, que par des infections expérimentales avec inoculation de l'agent pathogène. Il n'en est pas de même pour les maladies « mono-agent » pour lesquelles l'agent pathogène est bien identifié et que l'on peut reproduire par une inoculation expérimentale maîtrisée.

❷ le modèle infectieux de l'étude (infection expérimentale vs infection spontanée, plus ou moins associée à des conditions sanitaires dégradées).

❸ le recours (ou non) à un antibiotique en comparaison d'un produit alternatif testé, en éliminant les publications dans lesquelles les antibiotiques étaient utilisés à des teneurs 'facteur de croissance' et en vérifiant que les conditions d'utilisation de l'antibiotique de référence étaient acceptables (dose, durée d'administration, choix de l'antibiotique).

❹ la capacité du dispositif expérimental à mettre en évidence des effets significatifs. Le critère statistique pertinent constitué par 'la puissance statistique' de l'essai n'a pu être utilisé dans la mesure où l'hétérogénéité des variables étudiées et des modes d'expression de la variabilité animale était trop importante entre publications. Seuls ont donc été considérés comme critères la randomisation (ou non) des individus, l'existence (ou non) d'un dispositif expérimental adapté et les effectifs par lot expérimental.

²³ ANAES : Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé. Regroupée, avec d'autres commissions, au sein de la Haute Autorité de santé (HAS) depuis le 13 août 2004.

5 les conditions générales de l'essai incluant la présence (ou non) d'un lot « témoin non traité » d'animaux inoculés (ou placés en conditions sanitaires dégradées) et exprimant la maladie, ainsi que la durée de l'essai, dans sa capacité à modéliser la durée de sensibilité des animaux à la maladie.

5.1.2 Arbres de décision

L'intégration multiple de ces critères a été effectuée selon l'arbre décisionnel présenté à la figure 1 pour les maladies multifactorielles et à la figure 2 pour les maladies « mono-agent », aboutissant à un classement des publications selon un score méthodologique (cf. ci-dessous).

Figure 1 : Arbre de décision pour l'évaluation du score méthodologique des publications dans le cas de maladies multifactorielles

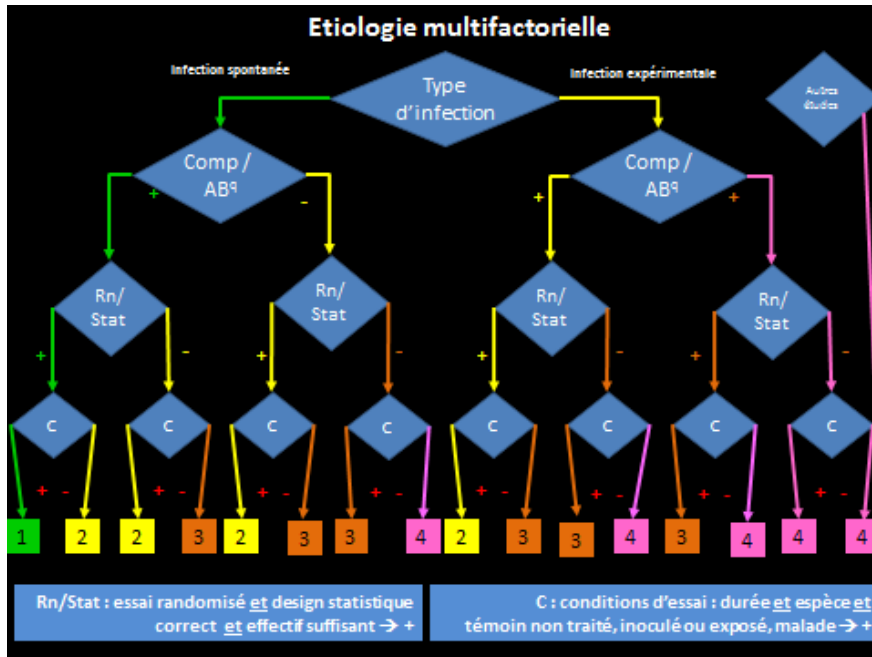
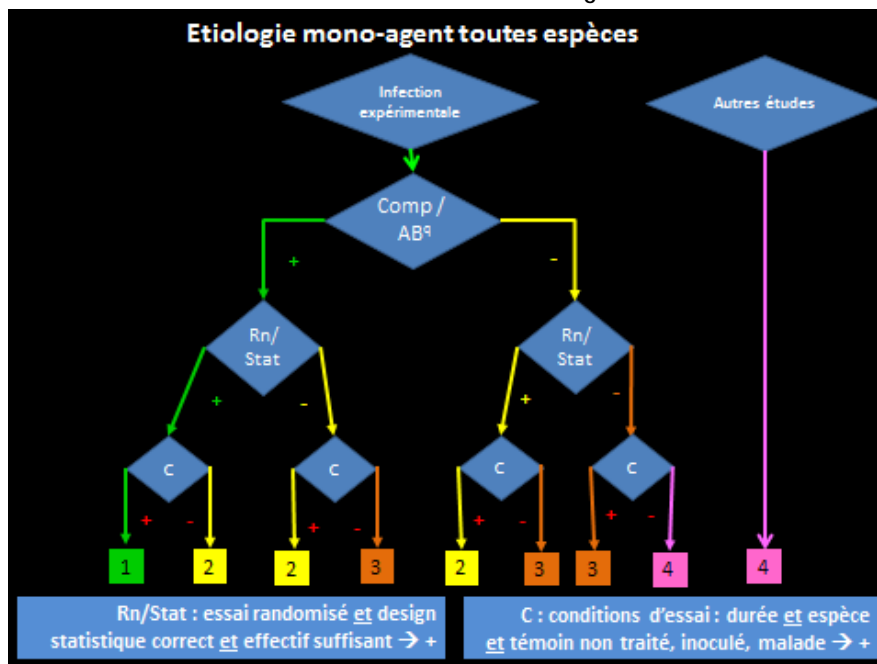


Figure 2 : Arbre de décision pour l'évaluation du score méthodologique des publications dans le cas de maladies mono-agents.



D'un point de vue méthodologique, à l'intérieur des 2 arbres de décision, les critères ② à ⑤ ont été quantifiés à l'aide d'une note, pour chacune des publications, de la façon suivante :

Critère ② : Dans le cas des infections multifactorielles, la note pouvait être 1 (infection spontanée) vs 0 (infection expérimentale) vs -1 (autres études). L'infection spontanée a ainsi été considérée comme le challenge de référence dans le cas de maladies multifactorielles. Cette hiérarchie a donné dans l'analyse un poids plus important aux publications dans lesquelles la maladie observée résultait de conditions d'infection spontanée, reflétant les conditions d'exposition à plusieurs facteurs, par rapport à des infections par inoculation expérimentale. En effet, pour ces maladies, il est davantage pertinent de tester l'efficacité d'un produit, dont on ne connaît en général pas le mécanisme d'action, dans les réelles conditions d'une infection spontanée, que dans un modèle expérimental ne mettant en jeu que l'agent pathogène.

Dans le cas des infections « mono-agent », les 2 notes possibles étaient 1 (infection expérimentale) vs -1 (autres études). La référence pour les maladies « mono-agent » reste donc l'infection expérimentale. Une exception est à noter pour des maladies « mono-agent » qui ne peuvent pas ou sont difficilement reproduites expérimentalement : l'absence d'infection expérimentale et le remplacement par une infection spontanée ne sont alors pas pénalisés dans l'analyse. C'est le cas ici pour la rhodococcose du poulain.

En effet, pour cette maladie, les modèles d'infection expérimentale mis en œuvre jusqu'à récemment (2013) et fondés sur le dépôt dans la lumière bronchique de doses infectantes très élevées ($\geq 10^8$ UFC) ne permettent pas de reproduire la maladie telle qu'observée sur le terrain avec une évolution clinique lente pouvant aboutir à des lésions caractéristiques de bronchopneumonie suppurée chronique mais également à des cas de guérison spontanée. Ainsi, en l'absence de modèle expérimental pertinent, les études conduites dans des élevages où la maladie sévissait de façon enzootique et fondées sur une infection spontanée n'ont pas été pénalisées lors de leur évaluation.

Critère ③ : La note 1 a été attribuée quand il y avait recours à un antibiotique en comparaison du (des) produit(s) alternatif(s) et la note 0 en l'absence de comparaison à un antibiotique. Cette décision a été adoptée par le Groupe de Travail, qui a estimé que pour déterminer si une substance pouvait contribuer à diminuer le recours aux antibiotiques, voire revendiquer l'appellation « alternatives aux antibiotiques », la présence d'un lot avec antibiotique dans l'essai était nécessaire, avec des conditions d'utilisation de l'antibiotique acceptables (dose, durée d'administration, choix de l'antibiotique).

Toutefois, les experts ont voulu que la méthodologie proposée permette également d'identifier, en l'absence de comparaison à un antibiotique, si le produit étudié peut avoir un effet sur la prévention ou sur le traitement de la maladie. Ainsi, les essais ne comparant le produit qu'à un témoin non traité ne sont pas rejetés, mais ils sont classés avec un score méthodologique inférieur d'un point, dans la mesure où il demeure une incertitude sur leur niveau d'efficacité (en approche préventive d'une infection ou en approche curative) par rapport à un antibiotique (en traitement métaphylactique ou curatif) et donc sur le fait que l'éleveur n'aura pas recours, *in fine*, aux antibiotiques.

Critère ④ : Trois conditions ont contribué à la note globale de ce critère :

- La randomisation de l'essai : 1 (oui) vs 0 (non)
- Un dispositif expérimental adapté : 1 (oui) vs 0 (non)
- Un effectif suffisant d'animaux par lot expérimental au vu de l'expérience des experts : 1 (oui) vs 0 (non).

La note globale pour ce critère est de 1 si les 3 conditions sont réunies simultanément (0 sinon).

Critère 5 : Trois conditions ont contribué à la note globale de ce critère :

- La présence d'un lot témoin non traité, infecté expérimentalement ou exposé et exprimant la maladie : 1 (oui) vs 0 (non)
- Une durée appropriée de l'essai : 1 (oui) vs 0 (non)
- L'espèce étudiée dans l'essai est bien l'espèce cible : 1 (oui) vs 0 (non).

La note globale pour ce critère est de 1 si les 3 conditions sont réunies simultanément (0 sinon).

In fine, une note globale de score méthodologique par publication a été générée par compilation des notes des critères 2 à 5 et traduite en score méthodologique selon 4 niveaux, (cf. feuille de calcul Excel en annexe 2), et ce pour chaque type de maladie (multifactorielle ou mono-agent). Ce score est calculé à partir de la somme des notes affectées aux publications pour chacun des critères 2 à 5, et en fixant

Score 1 (score le plus élevé) ⇔ somme des notes des critères = 4

Score 2 ⇔ somme des notes des critères = 3

Score 3 ⇔ somme des notes des critères = 2

Score 4 (score le plus faible) ⇔ somme des notes des critères entre [-1 ; 1]

Cette évaluation du score méthodologique des publications a été par ailleurs conduite séparément pour les études où les produits destinés à réduire l'utilisation des antibiotiques étaient utilisés à des fins curatives des maladies vs des fins préventives.

5.1.3 Limites de la méthode

Le GT souligne les limites inhérentes à la méthode adoptée, pouvant avoir un impact sur les résultats obtenus :

- le critère relatif au modèle statistique de l'étude était apprécié au travers de la randomisation (ou non) des individus, de l'existence (ou non) d'un dispositif expérimental approprié, et d'un nombre suffisant d'animaux par lot expérimental.

Dans de nombreuses publications, les éléments relatifs aux « matériels et méthodes » sont insuffisamment caractérisés quant à la randomisation des individus. Lorsque l'information n'était pas précise, les experts ont pu être amenés à considérer que les individus n'étaient pas randomisés, conduisant à donner une note 0 à ce critère. Cette interprétation en l'absence d'information a ainsi pu conduire à dégrader d'un point le score méthodologique de certaines études.

Cette incertitude sur le modèle statistique, notamment *via* la question de la randomisation, a un poids non négligeable sur le résultat des travaux. En effet, cette appréciation a conduit dans plusieurs cas à classer des études en score méthodologique de 3 plutôt qu'en score de 2. Dans la mesure où les options prises dans la suite de la méthodologie conduisent à donner aux publications de score 1-2 un poids supérieur à celles de score 3-4, ce choix méthodologique a été déterminant dans l'élaboration des conclusions (cf. point 5.5).

- la décision du GT de considérer comme standard de référence, les études comparant le produit à un antibiotique, conduit à dégrader d'un point les études ne comparant le produit qu'à un témoin non traité. Cela influe sur la notation des essais pour ce qui concerne la comparaison au témoin non traité. En effet, tous critères égaux par ailleurs, la comparaison au témoin non traité sera mieux notée (+ 1 point) dans une étude comparant aussi le produit à un antibiotique que dans une étude ne comparant le produit qu'à un témoin non traité. La possibilité de prévoir un réajustement du score dans ces situations n'a pas été retenue par le GT par souci de ne pas alourdir davantage la méthode proposée. En revanche, ce biais méthodologique a été partiellement compensé par les options prises dans la suite de la méthodologie, consistant à regrouper les publications de score 1-2 et celles de score 3-4. Toutefois, certaines publications auront pu être classées en score 3

plutôt qu'en score 2 par ce biais. Cela signifie alors que d'autres aspects de l'essai (design statistique et/ou conditions de l'essai) n'étaient pas à leur optimum non plus. Ainsi, dans de rares situations, certaines études ne comparant le produit qu'à un témoin non traité, avec des conditions d'essai non optimum auront pu être pénalisées d'un point supplémentaire.

5.2 Pertinence des variables mesurées dans les publications

Les publications scientifiques décrivent différentes variables, dont l'évolution est analysée d'un lot d'animaux à un autre, en vue de conclure ou non à un effet significatif du produit testé.

Ces variables peuvent présenter un niveau de pertinence plus ou moins élevé vis-à-vis de la maladie étudiée, notamment lorsqu'elles ne sont pas spécifiques de cette maladie. En conséquence, l'analyse des effets des alternatives aux antibiotiques doit intégrer ce paramètre.

Sur la base des différentes variables étudiées dans les publications, les experts ont établi un tableau des niveaux de pertinence pour les variables de l'ensemble des maladies étudiées dans le présent rapport. Le principe est le suivant :

- Définir *a priori* une hiérarchie de niveau de pertinence des variables, basée sur une échelle de 1 à 4
 - 0 = non pertinent ; * = peu pertinent ; ** = pertinent ; *** = très pertinent.
- Pour chaque variable répertoriée dans les publications, attribuer le niveau de pertinence correspondant au sein d'un petit groupe d'experts compétents pour la maladie et l'espèce considérées, réunis en expertise collective.

Ce principe a été appliqué dans le GT pour les combinaisons (produit, espèce, maladie) retenues pour le présent rapport et a conduit au tableau 10, de pertinence, ci-dessous.

Dans le cadre de cette approche, la pertinence d'une variable n'a pas été évaluée sur sa capacité à décrire une maladie, mais principalement sur sa capacité à permettre d'évaluer l'amélioration de l'état de santé de l'animal, suite au traitement par un produit. Ainsi, les experts ont classé très pertinentes (***) les variables mesurant l'amélioration/la suppression des signes cliniques en priorité. Ils ont ensuite classé les autres variables relativement à ces variables prioritaires.

En outre, les experts ont fait le choix de ne pas envisager une quelconque additivité de la pertinence des variables :

- D'une part, 2 variables de pertinence * n'équivalent pas à 1 variable de pertinence **. Ceci n'aurait pas de fondement scientifique ;
- D'autre part, une variable de pertinence *, prise isolément, pourrait être considérée comme plus pertinente (**) si elle était associée à une variable de pertinence *** : par exemple des éléments histologiques du tube digestif (*) associés à un score de diarrhée. Mais le GT a estimé qu'une telle approche rendrait la méthode trop complexe.

Ainsi, l'analyse de la pertinence a été réalisée variable par variable.

Tableau 10 : pertinence des variables mesurées en fonction des maladies/espèces animales (sur 2 pages)

Variables	Troubles digestifs toutes espèces*		Mammites <u>subcliniques</u> ruminants laitiers		Mammites <u>cliniques</u> ruminants laitiers		Maladies des poissons		Colibacillose systémique aviaire		Métrites bovines		Rhodococcose équine		Exceptions
Score clinique général	Température corporelle	*	Température corporelle	*	Température corporelle	*	Température corporelle	SO	Température corporelle	SO	Température corporelle	*	Température corporelle	*	
	Etat général, comportement	**	Etat général, comportement	*	Etat général, comportement	*	Etat général, comportement		Etat général, comportement		Etat général (toxémie), comportement	**	Etat général, comportement, croissance	*	
	Intervention thérapeutique (vétérinaire, traitement)	**							Intervention thérapeutique (vétérinaire, traitement)	**			Existence d'un traitement et durée	**	
Score clinique spécifique	score de diarrhée (hors volailles)	***	Symétrie mamelle	*	Symétrie mamelle	*					palpation vaginale (secrétions vaginales, symétrie utérus)	***	Age apparition maladie	**	
	Etat litière (volaille)	**	Volume/œdème mamelle	*	Volume/œdème mamelle	*					Echographie (diamètre augmenté, viscosité du contenu)	***	Dyspnée/auscultation pulmonaire	**	
	Morbidité	**	Couleur mamelle	*	Couleur mamelle	*							radiographie et/ou échographie pulmonaires	***	
			Douleur	*	Douleur	*							signes respiratoires (toux jetage polypnée)	*	
Guérison	Diminution/Arrêt diarrhée (préciser durée d'observation)	** (***) selon maladie	Guérison clinique	*	Guérison clinique	**									
Paramètres vitaux	Mortalité	***	Mortalité	SO	Mortalité	SO	Mortalité	***	Mortalité	***	Mortalité	SO	Mortalité	***	
													âge de la mort	**	
	Courbes de survie	***	Courbes de survie	SO	Courbes de survie	SO	Courbes de survie	***	Courbes de survie	***	Courbes de survie	SO	Taux de survie (létalité)	***	
						RLP : related level of protection	***						Durée de survie	***	
Comptages bactériens	Comptages fécaux des bactéries pathogènes	**	Dénombrement bactéries pathogènes	***	Dénombrement bactéries pathogènes	**					Dénombrement des bactéries pathogènes sur sécrétions	**	Dénombrement de bactéries pulmonaires	**	
	Evolution du profil du microbiote intestinal (préciser paramètre mesuré)	*													
Paramètres histologiques et histopathologiques	Hauteurs des villosités intestinales	*											importance fibrose (collagène total)	*	entérococolites équines : critères lésionnels, macroscopiques ou histologiques, non utilisés dans les publications
	Profondeur des cryptes intestinales	*													
	observation macroscopique des lésions	**						observation des lésions (autopsies)	**				score lésionnel pulmonaire (% du volume de tissu atteint ou nombre d'abcès)	***	
	Infiltration cellulaire inflammatoire de l'épithélium intestinal	*													

Variables	Troubles digestifs toutes espèces*		Mammites <u>subcliniques</u> ruminants laitiers		Mammites <u>cliniques</u> ruminants laitiers		Maladies des poissons		Colibacillose systémique aviaire		Métrites bovines		Rhodococcose équine		Exceptions	
Paramètres sanguins	Globules blancs	0	Taux de macrophages	*	Taux de macrophages	*	Globules blancs	* si cohérent avec challenge					leucocytes dont PNN	**	** salmonellose cheval	
			Activité myéloperoxydase et phosphatase	*	Activité myéloperoxydase et phosphatase	*								IgG sériques spécifiques VapA et sous classes	*	*** IgA-IgG chez la truie contre diarrhée porcelet en pré-sevrage
														IgG spécifiques VapA et sous classes dans liquide lavage broncho-alvéolaire	*	
	Taux d'immunoglobulines sériques	0					Taux d'immunoglobulines sériques			Taux d'immunoglobulines sériques	0	Taux d'immunoglobulines sériques	0	Taux d'immunoglobulines sériques	0	
	autres paramètres sanguins : cytokines	0							Différents paramètres biochimiques: protéines tot., glucides, cholestérol		Autre paramètre sanguin de l'inflammation : haptoglobine	0 à * selon publi	fibrinogénémie	*		
														gaz sanguins (pCO2, SO2, tCO2)	0 à *	
Cytokines et autres paramètres locaux	Cytokines inflammatoires (dosage)	*	Cytokines	**	Cytokines	**							panel de cytokines (au moins voie TH1)	**		
	Expression gène cytokines	0											expression/régulation des gènes de la réponse immunitaire (plusieurs cytokines)	*		
													phagocytose (macrophages alvéolaires et/ou monocytes sanguins)	*		
													prolifération de R equi dans les macrophages dérivés des monocytes	*		
													prolifération des monocytes sanguins	0		
													relargage oxydatif des PNN	0 à *		
													% de monocytes sanguins sécrétant IN _γ et IL4	*		
Immunité locale	*	Taux de métalloprotéinases MMF	*	Taux de métalloprotéinases MMF	*								expression/régulation des gènes de la réponse inflammatoire	0		
Paramètres cellulaires du stress oxydatif	0		0	0	0	burst oxydatif (essai NBT), activités SOD et MPO (oxydases)	0	0	0	0	0	0	0	0		
Paramètres zootechniques, si reflet du retour à un bon état général	GMQ	**	Production lactée	**	Production lactée	**	Gain de poids	*	GMQ	**	Taux de fertilité (intervalle vêlage-IA)	*	prise de poids	*		
	IC	*							IC	*	Production laitière/MSI	*				
Paramètres de sécrétions			Cellules du lait (CMT / SCC)	***	Cellules du lait (CMT / SCC)	**										
			Taux polynucléaires neutrophiles	*	Taux polynucléaires neutrophiles	*										
			Conductivité du lait	**	Conductivité du lait	**										
			pH du lait	**	pH du lait	**										
			Viscosité/consistance du lait	**	Viscosité/consistance du lait	**										
			Couleur du lait	*	Couleur du lait	*										
			Odeur du lait	*	Odeur du lait	*										
			Composition du lait en caséine/lactoférine	*	Composition du lait en caséine/lactoférine	*										
		Test N acetyl B D glucosaminidas	*	est N acetyl B D glucosaminidas	*											

Les variables reprises ci-dessous sont spécifiques d'une maladie ou non spécifiques (pouvant s'appliquer à plusieurs maladies). Pour chacune de ces 2 situations, elles ont été classées par groupe de variables homogènes.

5.2.1 Variables non spécifiques

- Variables de score clinique général

- La température corporelle est une variable peu pertinente (*) en l'absence de manifestation clinique. En revanche, lorsqu'elle est associée à d'autres variables cliniques pertinentes, sa pertinence peut être plus importante.
- L'état général / le comportement est une variable peu pertinente (*) en l'absence de manifestation clinique.
- L'existence d'une intervention thérapeutique peut, d'une part illustrer le fait que le lot témoin non traité est malade, et d'autre part faire l'objet d'une comparaison témoin non traité / lot testé. Cette variable est donc pertinente (**) pour certaines maladies et dans certains essais.

- Variable de guérison

La guérison clinique peut être une variable pertinente (**) si l'observation de l'arrêt des signes cliniques est suffisamment longue pour limiter le risque de rechute.

- Paramètres vitaux

La mortalité et les variables qui lui sont associées sont très pertinentes (***) pour toutes les maladies dont l'issue est rapidement fatale, ou dans les situations pour lesquelles il est particulièrement difficile de percevoir des signes cliniques avant la mort des animaux (élevages de poissons par exemple).

- Comptages bactériens

- Le dénombrement des bactéries pathogènes est une variable pertinente (**) mais ne peut être, à lui seul, très pertinent dans la mesure où l'amélioration clinique est considérée par les experts comme prépondérante dans l'évaluation de l'effet d'une substance. Le cas des mammites subcliniques est différent (pas de signes cliniques). Pour cette maladie, cette variable a été considérée comme très pertinente (**).
- Par ailleurs, concernant l'appareil digestif, l'évolution du profil du microbiote intestinal ne peut pas être considérée aujourd'hui comme une variable pertinente (0) dans la mesure où les connaissances relatives aux caractéristiques d'un microbiote considéré "à l'équilibre" sont encore très insuffisantes.

- Variables histologiques et histopathologiques

L'observation de lésions macroscopiques est une variable pertinente (**) pour toutes les maladies pour lesquelles l'autopsie est couramment pratiquée. Toutefois, les experts considèrent que les variables liées à l'état clinique des animaux restent plus pertinentes encore (***) dans l'évaluation de l'effet d'une substance.

- Variables sanguines et sériques

- Globules blancs : de manière générale, les taux de globules blancs ne sont pas assez spécifiques pour constituer une variable pertinente (0) dans les maladies étudiées. Ils peuvent varier sous l'influence de beaucoup d'autres facteurs que la maladie étudiée.
- Immunoglobulines sériques : de manière générale, les taux d'immunoglobulines sériques ne sont pas assez spécifiques pour constituer une variable pertinente (0)

dans les maladies étudiées. Ils peuvent varier sous l'influence de beaucoup d'autres facteurs que la maladie étudiée (voir point 5.2.3 ci-dessous).

Une exception a été considérée : les IgA - IgG de la truie lors de diarrhée chez le porcelet en pré-sevrage ont été considérées très pertinentes (***).

- Il en est de même pour la plupart des autres paramètres sanguins (0 à *).

- Paramètres du fonctionnement cellulaire

Le stress oxydatif est une variable non pertinente (0) car pas assez spécifique. Il peut varier à la fois en fonction des techniques d'analyse mais aussi sous l'influence de beaucoup d'autres facteurs que la maladie étudiée.

- Paramètres zootechniques

De manière générale, les variables zootechniques induisent une confusion entre amélioration de l'état de santé et promotion de la croissance. Elles ont donc été considérées comme peu pertinentes (*) sauf lorsque, dans les publications étudiées, elles reflétaient bien le retour à un bon état général, suite à une maladie avérée (cas par exemple de la colibacillose systémique aviaire). C'est notamment le cas pour la prise de poids vif (vitesse de croissance) ou le « GMQ » (**).

5.2.2 Variables spécifiques de chaque infection

- Troubles digestifs toutes espèces (y compris pré-ruminant)

Les experts considèrent que la variable spécifique exprimant le signe clinique principal de ces troubles digestifs d'origine bactérienne, autrement dit la diarrhée, et les variables indiquant l'arrêt de la diarrhée, sont très pertinentes (***), de même que les variables exprimant la mortalité ou la survie post-infection.

En matière de variables histopathologiques, la pertinence ne peut égaler celle des variables liées à l'état clinique des animaux. L'infiltration cellulaire inflammatoire de l'épithélium intestinal, qui traduit l'inflammation intestinale provoquée par les bactéries pathogènes, est considérée par les experts comme peu pertinente (*).

Bien que souvent étudiées, la hauteur des villosités intestinales et la profondeur des cryptes intestinales sont des variables peu pertinentes (*)

Pour ces deux types de variables, la corrélation entre ces données histologiques et la réduction des signes de diarrhée d'origine bactérienne n'est pas établie.

En ce qui concerne les entéocolites ou typhlocolites dues à des salmonelles chez les équidés, la numération des leucocytes sanguins, dont des polynucléaires neutrophiles, est considérée comme pertinente (**). En effet, chez le cheval, à l'exception de l'état de porteur inapparent, les 3 autres formes de salmonellose se caractérisent en début de maladie par une neutropénie, parfois profonde, et une lymphopénie ; la neutropénie apparaissant souvent en même temps que la fièvre. Ensuite, au cours de la maladie, l'installation d'une leucocytose neutrophilique traduit l'évolution vers la guérison (Jones and Spier, 1998).

- Mammites de la vache laitière

Le premier indicateur d'une mammite chez un ruminant laitier est l'augmentation du taux de cellules somatiques dans le lait, avec toutefois une différence entre les mammites subcliniques et cliniques. A ce titre, cette variable est considérée par le GT comme très pertinente (***) pour les mammites subcliniques, et pertinente (**) pour les mammites cliniques. La guérison bactériologique est quant à elle considérée comme une variable très pertinente (***) pour les 2 types de mammites.

Les différentes variables exprimant le changement de nature physique du lait, en lien avec la mammite, sont d'un niveau de pertinence **. En revanche, les aspects

macroscopiques du lait (couleur, odeur, ...) sont peu pertinents car ne peuvent suffire à la détermination de l'amélioration de l'état de l'animal (*).

On notera par ailleurs que les signes cliniques relatifs à l'état de la mamelle (symétrie, volume, couleur...) sont considérés comme peu pertinents (*) car ils ne représentent pas des indicateurs robustes de l'amélioration de l'état de santé de l'animal traité. Il en est de même pour certaines variables trouvées au cours de l'analyse des publications (cf. tableau 10), dont la pertinence n'a pas été retenue comme élevée.

- Maladies des poissons

La particularité de l'élevage des poissons, pour lequel un diagnostic individuel *ante mortem* est rare, conduit à considérer comme très pertinentes (***) des variables relatives à la mortalité ou à la survie des animaux au sein d'un lot. Ce sont ces variables qui sont principalement considérées pour mesurer les effets d'un traitement lors d'infections expérimentales, les autres variables éventuellement mesurées (contamination des organes, indicateurs d'immunité, ...) ayant plutôt une valeur explicative. Ces autres variables sont donc considérées comme peu pertinentes (*).

- Colibacillose systémique aviaire

Contrairement aux colibacilloses chez les mammifères, les colibacilloses aviaires prennent des formes générales (colisepticémie) et ne s'expriment pas par des signes cliniques ciblés sur des organes précis. Elles affectent l'état général des oiseaux et provoquent des taux de mortalité (brutale) variables. Ainsi, les variables très pertinentes (***) sont liées à la mortalité et/ou à la survie et, dans une moindre mesure, celles liées à la croissance des animaux comme le GMQ sont considérées comme pertinentes (**) en l'absence de mortalité.

Le recours fréquent à l'autopsie des premiers oiseaux morts conduit à considérer également comme pertinente (**) la variable relative aux lésions macroscopiques provoquées par la colibacillose, bien que peu spécifiques (lésions inflammatoires multiples).

- Métrite bovine

L'infection de l'utérus chez la vache est caractérisée de façon spécifique par l'examen clinique (palpation vaginale, échographie), conduisant à considérer comme très pertinentes (***) les variables issues de cet examen clinique, en plus du dénombrement des bactéries pathogènes sur les sécrétions vaginales, qui lui aussi est considéré comme très pertinent (***) dans ce cas particulier.

En revanche, les variables liées aux paramètres de la reproduction (intervalle vélage-vélage par exemple) sont considérées comme peu pertinentes (*), car pas assez spécifiques, à elles seules, de la maladie.

- Rhodococcose équine

La rhodococcose équine est une maladie respiratoire touchant les jeunes poulains, dont l'issue est toujours fatale en l'absence de traitement antibiotique (recours notamment à un antibiotique d'importance critique). Dans ce contexte, tout traitement permettant une moindre mortalité ou une survie plus longue peut présenter un intérêt. Ainsi, les variables relatives à la mortalité et à la survie sont considérées comme très pertinentes (***) .

En lien avec le tropisme respiratoire de la bactérie responsable de la rhodococcose, les variables permettant de quantifier la sévérité des lésions pulmonaires, qu'elles soient issues d'investigations *in vivo* par différentes techniques d'imagerie (échographie, radiographie) ou d'investigations *post mortem* (évaluation macroscopique ou histologique), et d'établir un score lésionnel pulmonaire, sont également considérées comme très pertinentes (***) .

Parmi les variables résultant de l'examen physique et traduisant une atteinte respiratoire, seule la présence d'une dyspnée accompagnée d'une auscultation pulmonaire anormale a été considérée comme pertinente (**).

Concernant les publications visant à étudier l'effet immunomodulateur d'un produit, les variables relatives à l'expression des gènes codant les principales cytokines des voies Th1 et Th2 ou au dosage direct de ces cytokines ont été considérées comme pertinentes (**).

5.2.3 Le cas particulier du renforcement de l'immunité

Certains produits ayant pour action de renforcer l'immunité des animaux pourraient amener les opérateurs à revendiquer une propriété d'alternatives aux antibiotiques pour ces substances.

Les experts soulignent l'importance de bien distinguer ce qui peut relever de la description du mécanisme d'action d'un produit de ce qui relève d'une preuve de son efficacité en tant qu'alternative aux antibiotiques.

Si l'on veut revendiquer pour le produit une efficacité dans la prévention d'une maladie bactérienne en vue de diminuer le recours aux antibiotiques, la preuve de son efficacité doit passer par des essais mettant en évidence une amélioration de l'état de santé des animaux vis-à-vis de la maladie considérée, quel que soit le mode d'action de la substance, fût-il de renforcer l'immunité des animaux. La conclusion sur son efficacité dépendra de la manière dont a été conduit l'essai (avec ou sans lot d'animaux recevant un antibiotique).

Aussi, les variables relatives aux immunoglobulines (Ig) sériques (hormis les Ig spécifiques), n'ont pas été retenues comme pertinentes par les experts, pour l'évaluation des produits vis-à-vis des maladies étudiées dans le présent rapport, parce qu'elles ne permettent pas de rendre compte de l'évolution effective de l'état de santé des animaux vis-à-vis d'une maladie.

Si le fait de renforcer l'immunité des animaux peut être un élément positif global pour leur santé, une allégation relative à ce renforcement ne permet pas de revendiquer une efficacité sur la prévention d'une infection bactérienne, sauf à conduire également des essais mettant en évidence une amélioration de l'état de santé des animaux, vis-à-vis de la maladie considérée.

5.3 Grille d'analyse des publications

Sur la base des deux critères que sont le score méthodologique de la publication et la pertinence des variables mesurées au regard de la maladie considérée, les experts ont analysé l'ensemble des publications collectées et ont rapporté leur analyse dans des grilles, en renseignant les différents critères ainsi que l'effet obtenu pour chaque variable mesurée (significatif en amélioration ou en détérioration, ou non significatif), en fonction de la base de comparaison (témoin non traité vs antibiotique) et de son amplitude. Les conditions de l'essai ont également été relevées (cf. applications au chapitre 6).

Il est rappelé que dans toutes les analyses de publications, le terme « témoin non traité » est affecté au lot d'animaux infectés (expérimentalement) ou exposés (infection spontanée), malades et ne recevant pas de produit.

5.4 Conclusion par publication

Sur la base de l'analyse des publications, le GT a défini les éléments de décision permettant d'apporter une conclusion individuelle par publication sur l'efficacité d'un produit, vis-à-vis d'une maladie chez une espèce animale, en agrégeant les éléments portant sur les 3 critères rapportés :

- Score méthodologique des publications (score 1 à 4) ;
- Pertinence des variables étudiées (0, *, **, ***) ;

- Effet statistique obtenu et amplitude biologique de cet effet.

5.4.1 Règles de décision

Les experts ont retenu les règles suivantes pour apporter une conclusion aux publications :

- L'absence d'effet du produit doit être prise en considération dans les conclusions, autant que l'existence d'un effet. Si l'absence d'effet est à attribuer à un manque de puissance statistique, le plus faible score méthodologique de la publication, correspondant à ce manque de puissance, modulera la conclusion ;
- Dans les essais incluant un lot témoin non traité et un lot « antibiotique », il convient de distinguer d'une part l'effet du produit alternatif étudié vs l'antibiotique, et d'autre part l'effet du produit étudié vs le lot témoin non traité ;
- La définition du critère de pertinence ne lui confère pas des propriétés d'additivité, permettant de considérer qu'une seule variable très pertinente (***) est équivalente à plusieurs variables faiblement pertinentes (*). L'objectif est de tirer des conclusions sur la base des variables les plus pertinentes au sens de l'amélioration clinique.

En conclusion, les experts ont adopté le mode de classement des publications suivant :

- a) Ne conserver que les publications présentant au moins une variable de pertinence ** ou *** (exclusion des publications n'ayant que des variables de pertinence * ou 0).
- b) Parmi les publications conservées,
 - i. Séparer les essais dans lesquels le produit est utilisé en traitement préventif de ceux dans lesquels le test est réalisé en traitement curatif. Les définitions suivantes, issues du Code de la Santé Publique ont été adoptées :
Traitement préventif : tout traitement prophylactique, individuel ou collectif, appliqué à des animaux sains, exposés à un facteur de risque pour une maladie infectieuse considérée ;
Traitement curatif : tout traitement, individuel ou collectif, des seuls animaux présentant les signes cliniques d'une maladie.
 - ii. Séparer les publications dans lesquelles l'effet est significatif, statistiquement et biologiquement, des publications dans lesquelles l'effet est non significatif.
- c) Au sein de ces groupes, classer les publications par ordre de score méthodologique (1 à 4).

5.4.2 Formulation des conclusions

Pour formuler des conclusions, par publication, vis-à-vis de l'efficacité d'un produit testé en tant qu'alternative aux antibiotiques, le GT a retenu les principes suivants :

- Comme indiqué précédemment, le GT ne considère pas possible de formuler une conclusion sur le produit en tant qu'alternative aux antibiotiques (ou contribuant à diminuer le recours aux antibiotiques) si l'essai ne comprend pas de comparaison avec un lot recevant un antibiotique ;
- La formulation de la conclusion dépend du mode d'utilisation du produit testé (utilisation en approche préventive ou curative).
- Si l'essai comprend un lot témoin non traité et un lot traité avec un antibiotique, les conclusions potentielles pour les variables pertinentes retenues doivent concerner, d'une part la comparaison entre le lot recevant l'antibiotique et celui recevant le produit ; d'autre part la comparaison entre le lot témoin non traité et celui recevant le produit (*cf.* 5.4.1).
 - o Différence entre le produit vs l'antibiotique (AB^q) :
 - si cette différence est significative et en défaveur du produit (S-), la conclusion est négative pour le produit par rapport à l'AB^q ;

- si cette différence est significative et en faveur du produit (S+), la conclusion est positive pour le produit par rapport à l'AB^q ;
- si cette différence est non significative (NS), l'effet du produit peut être considéré équivalent à celui de l'antibiotique si la puissance statistique de la comparaison est suffisante. Dans le cas contraire, on ne peut pas conclure.
- Différence entre le produit vs le lot témoin non traité :
 - si cette différence est significative et en défaveur du produit (S-), ou si cette différence est non significative (NS), la conclusion est négative pour le produit ;
 - si cette différence est significative et en faveur du produit (S+), la conclusion est positive pour le produit.

En conséquence, les formulations suivantes ont été adoptées pour les conclusions de chaque publication (tableaux 11 et 12). Ces formulations visent à différencier :

- des produits pour lesquels une comparaison avec un lot recevant un antibiotique permet d'approcher leur efficacité (en approche préventive ou curative) par rapport à celle de l'antibiotique (utilisé en traitement métaphylactique ou curatif),
- des produits pour lesquels une simple comparaison à un lot témoin non traité permet d'envisager leur capacité à traiter ou prévenir une maladie mais sans pouvoir l'évaluer par rapport à ce que ferait un antibiotique en pareille situation, ne permettant pas de savoir si, *in fine*, l'éleveur n'aurait pas recours aux antibiotiques.

Tableau 11 : Conclusions pour des étiologies multifactorielles

Etiologie multifactorielle	Type d'infection	AB ^q dans l'essai	Comparaison produit vs .	Effet 'biologique' du produit (statistique et biologique)	Conclusion par publication (curatif/préventif)	Score méthodologique	
	Infection spontanée	oui	Ab ^q		S+ / NS=	Traitement alternatif aux AB ^q / Contribue à diminuer le recours aux AB ^q	1 à 3
S-					N'est pas un traitement alternatif aux AB ^q / Ne contribue pas à diminuer le recours aux AB ^q		
Témoin non traité			S+	Traite/prévient la maladie			
			NS / S-	Ne traite pas / ne prévient pas la maladie			
Infection expérimentale		oui	AB ^q		S+ / NS=	Traitement alternatif aux AB ^q / Contribue à diminuer le recours aux AB ^q	2 à 4
					S-	N'est pas un traitement alternatif aux AB ^q / Ne contribue pas à diminuer le recours aux AB ^q	
			Témoin non traité	S+	Traite/prévient la maladie		
				NS / S-	Ne traite pas / ne prévient pas la maladie		
Infection spontanée ou expérimentale	non	Témoin non traité		S+	Traite/prévient la maladie	2 à 4	
				NS / S-	Ne traite pas / ne prévient pas la maladie		
Pas d'infection	oui	AB ^q	Témoin non traité		Pas de conclusion. Publication non prise en compte ultérieurement	4	
	non						

Tableau 12 : Conclusions pour des étiologies mono-agent

Etiologie mono-agent	Type d'infection	AB ^q dans l'essai	Comparaison produit vs .	Effet 'biologique' du produit (statistique et biologique)	Conclusion par publication (curatif/préventif)	Score méthodologique
	Infection expérimentale	oui	AB ^q	AB ^q	S+ / NS=	Traitement alternatif aux AB ^q / Contribue à diminuer le recours aux AB ^q
S-					N'est pas un traitement alternatif aux AB ^q / Ne contribue pas à diminuer le recours aux AB ^q	
Témoin non traité			S+	Traite/prévient la maladie		
			NS / S-	Ne traite pas / ne prévient pas la maladie		
non		Témoin non traité	S+	Traite/prévient la maladie	2 à 4	
			NS / S-	Ne traite pas / ne prévient pas la maladie		
Pas d'infection	oui	AB ^q	Témoin non traité	Pas de conclusion. Publication non prise en compte ultérieurement		4
	non	Témoin non traité				



Le GT souligne que les conclusions individuelles par publication sont à considérer comme des conclusions intermédiaires de travail, servant de repère aux experts, dans la perspective d'une compilation des différentes publications relatives à la même combinaison d'un produit, d'une espèce animale et d'une maladie. Ces conclusions individuelles n'ont pas de signification au regard de l'efficacité d'un produit. Seule la compilation de plusieurs essais permet d'approcher la connaissance de l'efficacité.

5.5 Élaboration de conclusions générales par famille de produits, pour une espèce animale et une maladie

5.5.1 Principes généraux

Le GT souligne que ces conclusions par famille visent à **estimer si une famille de produits constitue, ou non, une approche intéressante pour une maladie dans une espèce considérée**, compte tenu des modalités de la recherche bibliographique effectuée et de l'analyse réalisée. Elles visent à répondre à la demande de la DGAL qui, au travers de cette saisine, attendait une évaluation des alternatives aux antibiotiques de façon générale, non dans un contexte individuel relevant du domaine des dispositifs réglementaires d'autorisation de mise sur le marché, mais en vue d'identifier des familles de produits ou des produits prometteurs, selon les connaissances disponibles.

Les conclusions générales sont donc données :

- pour une famille de produits,
- pour une espèce,
- pour une maladie.

A cette fin, les publications ont été comptabilisées et classées selon 2 critères : score méthodologique (1 à 4) et effet obtenu, en adoptant les principes méthodologiques suivants :

- une partition entre les articles de score méthodologique 1 ou 2, d'une part, et ceux de score 3 ou 4, d'autre part, a été réalisée ;
- lorsque des publications présentent des résultats significatifs et simultanément des résultats non significatifs en fonction des variables pertinentes (** ou ***) analysées, les experts ont fait le choix de privilégier les variables impactées significativement par les produits étudiés.

Même si cela peut induire un biais en faveur des produits, cette option a été choisie compte tenu du faible nombre de publications disponibles et de la volonté du GT de construire une méthode permettant de repérer des produits prometteurs et pouvant présenter un intérêt, qu'il conviendrait de confirmer par la suite.

5.5.2 Tableaux de synthèse

Des tableaux de synthèse par famille de produits, à partir des grilles d'analyse des publications, ont été construits afin de comptabiliser les publications, en les séparant de la façon suivante :

- Essais avec utilisation du produit en approche préventive
 - o Base de la comparaison : témoin non traité.
Dans ce cas, le résultat du produit P par rapport au témoin non traité (Tém) peut être d'une part, significatif et favorable pour le produit (S^+ si $P > \text{Tém}$) ou d'autre part non significatif (NS si $P \approx \text{Tém}$) ou significatif mais défavorable (S^- si $P < \text{Tém}$).
 - o Base de la comparaison : antibiotique.
Dans ce cas, le résultat du produit P par rapport à l'antibiotique (AB^q) peut être d'une part, significatif et favorable (S^+ si $P > AB^q$) ou non significatif (NS si $P \approx AB^q$), ou d'autre part significatif mais défavorable (S^- si $P < AB^q$)
- Essais avec utilisation du produit en approche curative
 - o Base de la comparaison : témoin non traité (mêmes règles que ci-dessus)
 - o Base de la comparaison : antibiotique (mêmes règles que ci-dessus)

Les tableaux de synthèse-types sont présentés ci-dessous (Tableau13).

Tableau 13 : Tableaux de synthèse-types par famille de produits pour une espèce et une maladie

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publi	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publi	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)			S ⁺ (P > Tém)		
S ⁻ (P < AB ^q)			NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)		
<p>Attention ! pour les comparaisons avec AB^q : S et NS ne conduisent pas aux mêmes conclusions que pour les comparaisons au témoin et S a été divisé en S⁺ et S⁻ en fonction du positionnement du produit P à tester par rapport à l'AB^q ou par rapport au témoin</p>			<p>Attention ! Une publication qui étudierait à la fois l'effet par rapport au témoin négatif et l'effet par rapport à un antibiotique est à compter 2 fois : 1 fois dans chaque tableau.</p>		
Tableau de synthèse Curatif / AB ^q			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publi	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publi	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)			S ⁺ (P > Tém)		
S ⁻ (P < AB ^q)			NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)		

Comparaison à un antibiotique

Le résultat du produit P par rapport à l'antibiotique (AB^q) peut être significatif et favorable (S⁺ si P > AB^q) ou non significatif (NS si P ≈ AB^q), ou bien significatif mais défavorable (S⁻ si P < AB^q)

Comparaison à un témoin non traité

le résultat du produit P par rapport au témoin non traité (Tém) peut être significatif et favorable pour le produit (S⁺ si P > Tém) ou bien non significatif (NS si P ≈ Tém) ou significatif mais défavorable (S⁻ si P < Tém).

5.5.3 Formulation de conclusions par famille de produits

Ces tableaux ont fourni aux experts un document de travail synthétique leur permettant d'avoir une vision globale sur le nombre des publications analysées et leurs résultats, avant d'envisager de formuler une conclusion générale par famille de produits, pour une espèce animale et une maladie données.

Cependant, il s'est avéré que ce type de conclusion par famille ne pouvait être qu'une estimation très générale et préliminaire des potentialités de ces produits au regard de l'effet recherché. En effet, au sein d'une même famille de produits, les essais expérimentaux analysés dans les publications diffèrent par la nature exacte des produits, les doses utilisées, leurs durées d'emploi et par les associations de ces produits.

Les résultats de ces essais ne peuvent être directement comparables entre eux du fait de leur forte hétérogénéité, en particulier pour les variables mesurées et les dispositifs expérimentaux associés. De ce fait, aucune approche de type 'méta-analyse' n'a pu être réalisée, ce qui a conduit le GT à considérer que l'instauration d'une règle de décision précise, visant à combiner ces publications entre elles pour en déduire une conclusion générale au niveau d'une famille de produits, ne pourrait être scientifiquement justifiée.

Dans ce contexte, **les experts ont opté pour l'élaboration d'une conclusion qualitative et à dire d'expert, là où la répétition d'essais réalisés avec des produits d'une même famille, selon des modalités expérimentales adaptées, permettait d'envisager une telle conclusion globale** (voir chapitre 6).

Lorsque la distribution des publications dans les tableaux de synthèse présentait une grande hétérogénéité, ou si les publications étaient affectées principalement de scores 3-4, la conclusion n'a pas été possible. Les experts ont alors adopté la formulation suivante : « *Compte tenu des données identifiées dans la bibliographie scientifique (en quantité et en qualité), de la variabilité des produits employés dans les essais, et de l'hétérogénéité des résultats, il n'est pas possible de conclure, ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique sur la maladie pour cette famille* ».

5.6 Conclusions générales par produit et niveau de confiance, pour une espèce animale et une maladie

Dans la mesure où, compte tenu de l'hétérogénéité des données bibliographiques disponibles, le GT n'a pu que rarement produire une conclusion par famille de produits, les experts se sont attachés à rechercher des conclusions par produit, là où la bibliographie scientifique le permettait.

Ces conclusions supposent néanmoins que plusieurs publications concernent le même produit, ce qui s'est très rarement présenté au cours du travail des experts.

Cependant le GT a souhaité construire une règle de décision pour élaborer des conclusions, dans une perspective plus large de mise en application et au-delà du présent rapport :

- sur la base d'un corpus bibliographique élargi, intégrant des rapports non publiés ou de la « littérature grise » ;
- lors de mise en place de futurs essais par des entreprises ou des organisations, souhaitant apporter les éléments scientifiques relatifs à l'efficacité de ces produits.

A des fins d'illustration, le GT a repéré quelques produits dans le recensement bibliographique, susceptibles de faire l'objet d'une conclusion : par exemple, une même espèce microbienne pour les probiotiques, ou le même produit simple (ou la même association de produits) pour les huiles essentielles (sans critère de dose). Voir chapitre 6 par espèce, conclusions par produit.

Dans ce cadre, les experts ont construit des tableaux de synthèse identiques au tableau 13, mais s'appliquant cette fois à un même produit.

5.6.1 Règle de décision

La conclusion générale pour un produit doit tenir compte, pour une maladie et une espèce animale données, des conclusions individuelles de l'ensemble des publications le concernant. Ainsi, le GT a été amené à définir une règle de décision permettant d'agrèger ces conclusions individuelles afin d'aboutir à une **conclusion générale assortie d'un niveau de confiance**.

5.6.1.1 Critères à prendre en compte pour l'établissement de la règle de décision

Les conclusions générales par combinaison d'un produit, d'une espèce animale et d'une maladie dépendent des 3 critères suivants (cf. figure 3):

- **hétérogénéité des résultats des publications**, c'est-à-dire coexistence de publications avec effet significatif allant dans le même sens (symbolisées « S » dans la figure 3) et d'autres avec effet non significatif ou contraire (symbolisées « NS » dans la figure 3) ;
- **scores méthodologiques** des différentes publications ;
- **nombre de publications** disponibles sur le même produit.

Ces critères déterminent à la fois la possibilité ou non de conclure et, en cas de conclusion, le niveau de confiance de cette conclusion.

Deux niveaux de confiance ont été fixés : faible/élevé.

5.6.1.2 Combinaison de publications présentant des résultats convergents

Si la combinaison de résultats convergents ne pose pas de difficulté particulière pour aboutir à une conclusion générale (toutes publications S ou toutes publications NS), le niveau de confiance à attribuer à cette conclusion générale dépend du score méthodologique des publications, et du nombre de publications considérées.

Le GT a adopté les principes suivants :

- La conclusion doit donner la priorité aux publications de score 1-2. Si de telles publications existent, le niveau de confiance (faible ou élevé) avec lequel les conclusions sont établies dépend du nombre de publications. Ces conclusions ne sont pas modifiées par les résultats issus de publications de score méthodologique 3-4.
- En l'absence de publications de score 1-2, les conclusions établies (assorties de leur niveau de confiance) ou l'impossibilité de conclure dépendent du nombre de publications de score 3-4.

5.6.1.3 Combinaison de publications présentant des résultats divergents

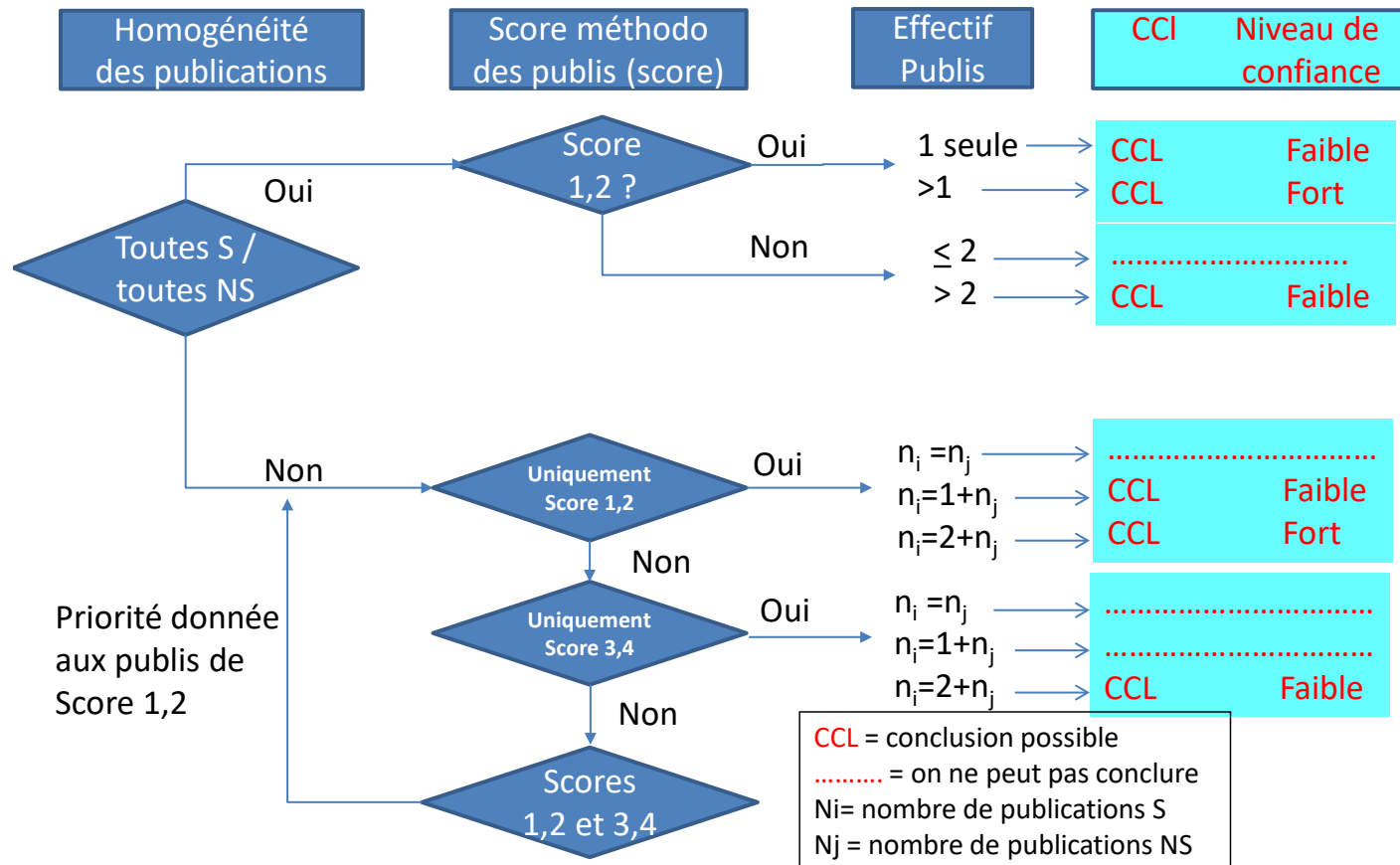
En l'absence d'homogénéité des résultats des publications, les conclusions ont été élaborées selon les 3 critères successifs suivants :

- Les publications sont toutes de score méthodologique 1-2 : l'existence de conclusion vs l'impossibilité de conclure, et le niveau de confiance associé (faible ou élevé) dépendent du nombre relatif de publications S ou NS.
- Les publications sont toutes de score méthodologique 3-4 : l'existence de conclusion vs l'impossibilité de conclure (plus fréquente que ci-dessus), et le niveau de confiance associé (faible exclusivement) dépendent du nombre relatif de publications S ou NS.
- Les publications présentent des scores méthodologiques 1-2 ou 3-4 : la priorité est donnée à celles présentant des scores 1-2. L'élaboration de conclusion et le niveau de confiance associé sont définis comme au premier point ci-dessus.

Il convient de noter que cette approche conduit à ne pas tenir compte des publications de score méthodologique 3-4, dès lors qu'il existe des publications de score 1-2. Cette position restrictive est notamment justifiée par le libellé des conclusions (4^{ème} colonne, tableau 14).

Figure 3 : Règle de décision pour les conclusions générales par produit, assorties du niveau de confiance, après combinaison des publications

Règle de décision pour combinaison des publications



5.6.2 Formulation des conclusions générales par produit

La règle de décision permettant de combiner l'ensemble des publications relatives à un même produit pour aboutir (ou non) à une conclusion générale, assortie d'un niveau de confiance sur l'effet de ce produit, est donc basée sur le raisonnement suivant :

1. La combinaison des publications permet-elle de conclure ?
 - Non → arrêt
 - Oui → estimation du niveau de confiance
2. Estimation du niveau de confiance pour la conclusion, en se basant sur l'hétérogénéité des résultats des publications, le score des publications et le nombre de publications.
3. Formulation de la conclusion en distinguant les différentes situations possibles :
 - comparaison avec antibiotique ou non ;
 - approche préventive ou curative.

Le libellé des conclusions est repris de la démarche d'analyse des publications individuelles (tableaux 11 et 12), selon le tableau 14 ci-après :

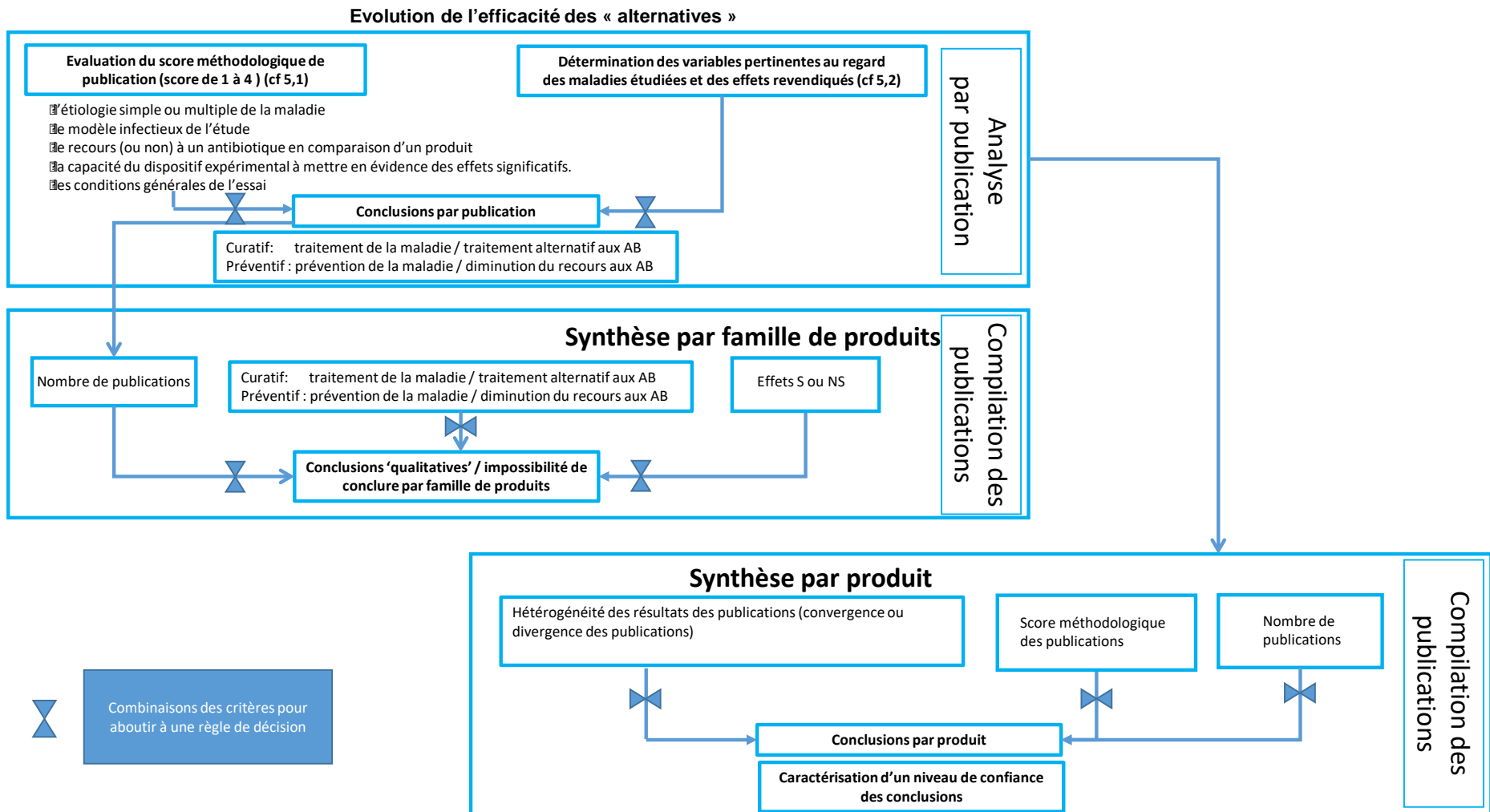
Tableau 14 : Libellés des conclusions générales par produit après combinaison des publications

AB ^q dans l'essai	Comparaison produit vs .	Résultat de la combinaison des publications selon fig.3	Conclusion sur le produit (curatif/préventif)	Niveau de confiance
oui	AB ^q	S ⁺ (P > AB ^q) ou NS (P ≈ AB ^q)	Traitement alternatif aux AB ^q / Contribue à diminuer le recours aux AB ^q	Faible ou élevé
		S ⁻ (P < AB ^q)	N'est pas un traitement alternatif aux AB ^q / Ne contribue pas à diminuer le recours aux AB ^q	Faible ou élevé
	Témoin non traité	S ⁺ (P > témoin)	Traite/prévient la maladie	Faible ou élevé
		NS (P ≈ témoin) ou S ⁻ (P < témoin)	Ne traite pas / ne prévient pas la maladie	Faible ou élevé
non	Témoin non traité	S ⁺ (P > témoin)	Traite/prévient la maladie	Faible ou élevé
		NS (P ≈ témoin) ou S ⁻ (P < témoin)	Ne traite pas / ne prévient pas la maladie	Faible ou élevé

5.7 Schéma méthodologique général

L'ensemble de la démarche proposée pour évaluer les publications scientifiques relatives à l'efficacité des produits, destinés à diminuer le recours aux antibiotiques en élevage, est résumée dans le schéma méthodologique ci-après (figure 4) :

Figure 4 : Schéma méthodologique général pour l'évaluation des publications scientifiques relatives à l'efficacité des produits



5.8 Limites de l'approche bibliographique

Le GT souligne l'existence de limites dans l'approche bibliographique, essentiellement liées à certains biais potentiels des publications scientifiques dans les revues à comité de lecture :

- Les résultats ne montrant pas d'effet favorable des produits sont en général moins publiés. Il y a donc une sous-estimation probable de ces résultats.
- Les processus éditoriaux de publications dans les revues scientifiques comportent souvent des critères d'originalité : une publication de bonne qualité, qui viendrait confirmer un précédent résultat, a moins de chance d'être acceptée qu'une publication proposant un résultat nouveau. Ainsi, il peut être difficile de retrouver dans ces recensements bibliographiques plusieurs publications portant sur le même produit, pour la même maladie et la même espèce.
- Du fait de la multiplicité des produits dans une même famille, il est également difficile d'avoir plusieurs publications relatives au même produit ou à la même combinaison de produits.
En conséquence, il n'existe dans la majorité des cas qu'un faible nombre de publications sur un même produit, ce qui rend difficile l'élaboration de conclusions sur son efficacité, et influence le niveau de confiance associé à ces conclusions.

Les experts soulignent que la méthode associée pour parvenir à ces conclusions est exigeante : règle de décision stricte pour établir les scores méthodologiques (comparaison avec un antibiotique, modèle statistique, etc ...), rejet des publications ne comportant que des variables peu pertinentes (0 ou *), regroupement des scores méthodologiques 1-2 d'une part et 3-4 d'autre part, en ne prenant pas en compte les publications de score 3-4, dès lors que des publications de score 1-2 sont disponibles, ... Ces choix exigeants conduisent à ne pas pouvoir souvent conclure dans le contexte de l'approche bibliographique adoptée pour ce travail. De plus, le GT souligne que, lorsque des conclusions sont possibles, celles-ci restent très dépendantes des conditions expérimentales, dans la mesure où les répétitions sont rares.

- Il est également difficile de conclure en raison du fait que la recherche sur ces produits est avant tout privée et ses résultats le plus souvent non publiés pour des raisons de confidentialité et de stratégie d'entreprise.

Néanmoins, la méthode élaborée dans le présent rapport pourrait voir son champ d'application élargi et être utilisée par ou pour des entreprises ou des organisations, qui souhaiteraient mettre en place des essais pertinents pour tester de tels produits, ou pour conduire une analyse bibliographique intégrant également des essais non publiés et/ou de la littérature grise.

Le GT reste conscient que le nombre d'essais pour un même produit restera toujours limité, à la fois pour des raisons de réduction de l'utilisation des animaux à des fins de recherche scientifique, et de coût des expérimentations. C'est la raison pour laquelle la règle de décision présentée en figure 3 a été conçue en considérant que le nombre de publications ou d'essais expérimentaux pour un même produit, dans le meilleur des cas, resterait de l'ordre de quelques unités. Ainsi, l'écart du nombre de publications pour passer d'un niveau de conclusion à un autre reste faible, afin de permettre que cette méthode d'évaluation puisse s'adapter à cette réalité du terrain.

6. Application de la méthode – Résultats

6.1 Troubles digestifs chez le porcelet au sevrage

6.1.1 Grille d'analyse des publications et commentaires

Tableau 15 : Analyse des publications relatives aux troubles digestifs du porcelet au sevrage (sur 2 pages)

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce animale	Maladie fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau de pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit ou souche(s)	Conditions de l'essai
Préventif	Gebru et al., 2010	porc	Troubles digestifs excréation salmonelles	Comptage fécaux salmonelles	**	Probiotique	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Infection expérimentale à <i>Salmonella</i> Typhimurium Produits distribués dans les aliments, 2 semaines avant et 2 semaines après l'infection expérimentale 1 lot témoin non traité ; 1 lot recevant 100mg/kg de chlortétracycline ; 1 lot recevant 6,5.10 ⁵ CFU/kg d'aliment de <i>L. Plantarum</i>
Préventif	Gebru et al., 2010	porc	Troubles digestifs excréation salmonelles	Comptage fécaux salmonelles	**	Probiotique	Soja fermenté avec <i>Bacillus subtilis</i>	Infection expérimentale à <i>Salmonella</i> Typhimurium Produits distribués dans les aliments, 2 semaines avant et 2 semaines après l'infection expérimentale 1 lot témoin non traité ; 1 lot recevant 100mg/kg de chlortétracycline ; 1 lot recevant 5% du produit dans l'aliment
Préventif et curatif	Trevisi et al 2015	Porc	Troubles digestifs	Score fécal	***	Probiotique	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SCC)	Infection expérimentale par <i>E coli</i> F4ac, 7 jours après le sevrage 55 porcs au sevrage à 24 jours répartis en 5 groupes : témoin non traité, colistine (1 g/kg aliment), SCC 5.10 ⁸ CFU/kg aliment pendant 21 jours, SCC 5.10 ⁸ CFU/kg de J7 à J11, One shot SCC 2. 10 ⁸ CFU le 1er jour de la diarrhée.
				Mortalité	***			
Préventif	Lebon et al., 2010	porc	Troubles digestifs	Comptage <i>E. Coli</i>	**	Probiotique	<i>Saccharomyces cerevisiae boulardii</i> (SCB) + <i>Pediococcus acidilactici</i> (PA)	Infection spontanée (conditions du sevrage). Huit porcelets sevrés répartis en 2 lots : le lot témoin non traité et un lot recevant un aliment supplémenté avec SCB à 10 ⁸ UFC/kg d'aliment durant 6 semaines puis un aliment supplémenté avec PA durant 3 semaines. A noter qu'aucun porc n'a présenté de signe clinique dans les conditions du sevrage de l'essai.
Préventif	Kiarie et al, 2012	Porc	Troubles digestifs	Score fécal	***	Probiotique	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SC)	Infection expérimentale : <i>E coli</i> résistant à la ciprofloxacine K88 à J7. 90 porcs répartis par groupes de 3 dans 5 cases par traitement, 6 traitements : Lot 1 = témoin non traité, Lot 2 = SC 0,2%, Lot 3 = antibiotiques (chlortétracycline 0,04% + tiamuline 0,004%), Lots 4-5-6 : antibiotiques + SC à 0.1, 0.2 ou 0.4%
Preventif	Trckova et al, 1992	Porc	Troubles digestifs	IgA : sérum des porcelets	**	Probiotique	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Infection expérimentale : inoculation d' <i>E Coli</i> O149:K88 le lendemain du sevrage Traitement de la truie en fin de gestation et pendant la lactation, des porcelets en maternité (1g, bolus 3 fois par semaine) et pendant le post-sevrage. Témoin non traité.
Préventif	Hancox et al, 2013	Porc	Troubles digestifs	Score diarrhéique	***	Probiotique	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Infection spontanée. Suivi de la diarrhée néo-natale. Administration d'un bolus le jour de la naissance pour le lot traité
Preventif	Zanello et al, 2013	Porc	Troubles digestifs	Incidence de la diarrhée	***	Probiotique	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SC)	Conditions naturelles. Suivi de la diarrhée néo-natale. Les porcelets ne reçoivent pas d'aliment solide. Truie reçoivent le produit dans l'aliment à partir de 86 jours de gestation et pendant la lactation SC : souches Sc01, Sc02 et Sb03 chacune à 0,5 ou 5 ppm

Base de la comparaison n°1	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n°2	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique
Produit vs témoin non traité	S	Faible à 6 jours Moyenne à 14 jours post challenge	Produit vs antibiotique	S ⁻ à 6j NS à 14j	Effet non différent produit vs antibiotique à 14j	Contribue à diminuer le recours aux antibiotiques	2
Produit vs témoin non traité	S	Moyenne à 6 jours Elevée à 14 jours post challenge	Produit vs antibiotique	NS à 6j S ⁺ à 14j	Effet non différent produit vs antibiotique à 6j et effet supérieur avec produit vs antibiotique à 14j	Contribue à diminuer le recours aux antibiotiques	2
Produit vs témoin non traité	S	Pour toutes modalités	Produits vs antibiotiques	NS	La comparaison est pertinente avec le témoin négatif, mais compliquée avec la colistine (différences NS mais sans démonstration d'une équivalence)	Prévient la maladie Modèle sévère : mortalité de 70% sur les témoins non traités. C'est en prévention que SCC est le plus efficace	1
	S	S faible pour la distribution sur 21 jours. NS pour autres modalités					
Produit vs témoin non traité	S					Prévient la maladie	4
Produits vs témoin non traité	S avec SC à 0,2%	Amplitude modérée				Prévient la maladie	1
Produit vs témoin non traité	S chez la truie et/ou le porcelet	Effet modeste				Prévient la maladie	2
Produit vs témoin non traité	S	Effet significatif mais modeste : la diarrhée persiste jusqu'à J7.				Prévient la maladie	2
Produit vs témoin non traité	NS	Tendance non significative à la réduction de l'incidence de la diarrhée				Ne prévient pas la maladie	3

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce animale	Maladie fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau de pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit ou souche(s)	Conditions de l'essai
Préventif	Jin et al, 2016	Porc	Troubles digestifs	Taux de diarrhées GMQ	*** **	Probiotique et Peptide antimicrobien	<i>Bacillus subtilis</i> et plectasine	Infection spontanée 24 porcs au sevrage à 24 jours répartis en 4 groupes : Lot 1 = témoin non traité, Lot 2 = colistine 60 mg/kg, Lot 3 = <i>Bacillus subtilis</i> > 10 ⁹ UFC, Lot 4 = plectasine 60 mg/kg, suivi 21 jours
Préventif	Kiers et al., 2003	Porc	Troubles digestifs	Diarrhée (incidence, sévérité, durée)	***	Matière première fermentée (probiotique ?)	Soja fermenté avec <i>Bacillus subtilis</i> ou <i>Rhizopus microsporus</i>	Infection expérimentale avec <i>E. coli</i> K88 (per os). Essai mené sur 4 semaines, challenge à 2 jours post-sevrage. Produits distribués dans les aliments, avant et après le challenge. 96 porcelets sevrés répartis en 4 lots : - lot 1 : aliment contenant des graines de soja toastées, servant de témoin - lot 2 : aliment contenant des graines de soja fermentées avec <i>Rhizopus microsporus</i> - lot 3 : aliment contenant des graines de soja fermentées avec <i>Bacillus subtilis</i> - lot 4 : aliment contenant des graines de soja entières décortiquées cuites
Préventif	Liu et al, 2010	Porc	Troubles digestifs	Consistance fèces Incidence diarrhée Quantification <i>E. coli</i>	*** *** **	Prébiotique	Chito-oligosaccharide	Infection expérimentale avec <i>Escherichia coli</i> K88 (per os). Produit distribué dans les aliments, avant et après le challenge. 72 porcelets répartis en 4 lots : lot 1 = aliment non contaminé et non supplémenté lot 2 = aliment contaminé et non supplémenté lot 3 = aliment contaminé et supplémenté avec le produit (160 mg) lot 4 = aliment contaminé et supplémenté avec un antibiotique (Cyadox 100 mg/kg)
Préventif	Zhou et al, 2012	Porc	Troubles digestifs	Incidence de la diarrhée Score diarrhéique	*** ***	Prébiotique	Chito-oligosaccharides	Infection naturelle. 120 porcelets sevrés répartis en 4 lots : lot 1 : témoin non traité lot 2 : témoin avec antibiotiques lot 3 : aliment avec produit à 1g/kg d'aliment lot 4 : aliment avec produit à 2g/kg d'aliment
Préventif	Owusu-Asiedu et al, 2003	Porc	Troubles digestifs	Mortalité Score diarrhée	*** ***	Plasma de porc / anticorps de jaune d'oeuf (poule immunisée contre ETEC K88) / autres produits		Infection expérimentale avec <i>E. coli</i> K88 (per os). Essai mené sur 14 jours, challenge à 7 jours. Produits distribués dans les aliments, avant et après le challenge. 90 porcelets sevrés (sevrage précoce) répartis en 6 lots : - lot 1 = aliment contenant de l'isolat de protéine de pois, servant de témoin - lot 2 : aliment contenant de l'isolat de protéine de pois + Ac de jaune d'oeuf - lot 3 : aliment contenant du plasma de porc, sans isolat de protéine de pois - lot 4 : aliment contenant de l'isolat de protéine de pois + acide fumarique - lot 5 : aliment contenant de l'isolat de protéine de pois + antibiotique (carbadox) - lot 6 : aliment contenant de l'isolat de protéine de pois + oxvde de zinc
Préventif	Peace et al, 2011	Porc	Troubles digestifs	Score diarrhéique	***	Plasma porcin séché		Infection spontanée. 48 porcs répartis en 3 lots, suivis pendant 2 semaines à partir du sevrage (18j) Lot 1 = témoin non traité Lot 2 = aliment contenant 2,5% plasma Lot 3 = aliment contenant 5% plasma
Préventif	Maribo H, 2009	Porc	Troubles digestifs	Réduction du nombre de jours de traitement de la diarrhée	***	Plasma porcin		Infection spontanée. 2 essais : l'un avec 440 porcelets, l'autre avec 288 porcelets. Sevrage à 26 jours. Lot 1 = témoin non traité Lot 2 = aliment avec 5% plasma Lot 3 = aliment avec 2500 ppm d'oxyde de zinc Lot 4 = aliment avec 5% plasma + 2500 ppm d'oxyde de zinc

Base de la comparaison n°1	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n°2	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique
Produits vs témoin non traité	Réduction de 70% avec la plectasine et la colistine, 30% avec <i>B. subtilis</i> mais pas d'analyse statistique sur ce paramètre		Produits vs antibiotique	Equivalent à l'antibiotique avec plectasine Effet inférieur à l'antibiotique avec <i>B. subtilis</i> Pas d'analyse statistique sur ce paramètre		Contribue à diminuer le recours aux antibiotiques pour plectasine Prévient la maladie pour <i>B. subtilis</i>	1
	NS pour <i>B. subtilis</i> S pour plectasine			S pour <i>B. subtilis</i> NS pour plectasine			
Produits vs témoin non traité	S	Baisse statistiquement significative de la sévérité de la diarrhée pour le lot avec <i>Rhizopus</i> Baisse de l'incidence et de la durée de la diarrhée, mais non significative pour les 3 lots expérimentaux				Prévient la maladie pour le soja fermenté avec <i>Rhizopus microsporus</i>	2
Produit vs témoin non traité	S	Faible	Produit vs antibiotique	NS	Effet non différent produit vs antibiotique	Contribue à diminuer le recours aux antibiotiques	2
	S						
	S	S dans le caecum					
Produits vs témoin non traité	S	Pour les 2 doses testées	Produits vs antibiotiques	NS	Effet non différent produit vs antibiotique	Contribue à diminuer le recours aux antibiotiques	1
Produits vs témoin non traité	S	Tous S par rapport au lot 1	Produit vs antibiotique	NS	Effet non différent produits vs antibiotique	Contribue à diminuer le recours aux antibiotiques	2
	S	Tous S par rapport au lot 1					
Produit vs témoin non traité	S	Faible				Prévient la maladie	2
Produits vs témoin non traité	S	Faible amplitude de l'effet sur la diarrhée et uniquement sur les 7 premiers jours de la vie				Prévient la maladie	2

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce animale	Maladie fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau de pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit ou souche(s)	Conditions de l'essai	Base de la comparaison n°1	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n°2	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique
Préventif	Geburu et al., 2010	porc	Troubles digestifs excretion salmonelles	Comptage fécaux salmonelles	**	Acides organiques	Mélange comportant 20% ac. citrique 20% ac. fumarique 10% ac. malique 10% ac. phosphorique	Infection expérimentale à <i>Salmonella</i> Typhimurium Produits distribués dans les aliments, 2 semaines avant et 2 semaines après l'infection expérimentale 1 lot témoin non traité ; 1 lot recevant 100mg/kg de chlortétracycline ; 1 lot recevant 0,2% du mélange d'acides organiques dans l'aliment	Produit vs témoin non traité	S	Moyenne à 6 jours Elevée à 14 jours post challenge	Produit vs antibiotique	NS à 6j et à 14j	Effet non différent produit vs antibiotique à 6j et 14j	Contribue à diminuer le recours aux antibiotiques	2
Preventif	Hermes et al, 2013	Porc	Troubles digestifs	incidence des diarrhées	***	Glyco-macropéptide	Caséine	Infection expérimentale par E.Coli K88. Distribution du produit dans l'aliment 1 semaine avant et après le challenge Lot 1 = témoin challengé non traité Lot 2 = témoin non challengé non traité Lot 3 = challengé, traité Lot 4 = non challengé, traité	Produit vs témoin non traité	NS	Amélioration qualitative				Ne prévient pas la maladie	2
				Comptage iléal des entéro-bactéries	**					NS						
Préventif	Rong et al, 2015	Porc	Troubles digestifs	Score de diarrhée	***	Glyco-macropéptide	Caséine	Infection expérimentale par E.Coli K88. Distribution du produit dans l'aliment 1 semaine avant et après le challenge Lot 1 = témoin challengé non traité Lot 2 = témoin non challengé non traité Lot 3 = challengé, traité	Produit vs témoin non traité	S	L'amélioration n'est significative qu'à partir de 7 jours				Prévient la maladie	2
				Comptage intestinal des entéro-bactéries	**											
Préventif	Bontempo et al, 2014	Porc	Troubles digestifs	Score diarrhées	***	Extrait de plante	feuilles de thé vert + grenade	Infection expérimentale par E.Coli O149 pendant traitement par les produits	Produit vs témoin non traité	S					Prévient la maladie	2
			Comptage fécal d'entéro-bactéries	**												
Préventif	Hansen et al, 2014	Porc	Troubles digestifs	Score de diarrhées	***	Extrait de plante	lupin ou racine de chicorée ou les deux ensemble	Infection expérimentale par <i>B. hyodysenteriae</i> pendant traitement par produits	Produit vs témoin non traité	S					Prévient la maladie	2

La recherche bibliographique a été menée à l'aide des moteurs de recherche Google Scholar, PubMed et Web of Science en utilisant les mots clés suivants : « diarrhoea » and (« pig » or « swine ») and (« alternatives to antibiotics » or « probiotic » or « prebiotic » or « plant » or « essential oil » or « organic acid »). En complément, une recherche par auteurs a été menée. Pour les articles de revue, certains articles cités ont pu être recherchés s'ils n'avaient pas préalablement été identifiés.

Cette recherche a permis d'obtenir 146 publications sur les 10 dernières années. Les études portant sur des essais d'additifs présentés comme alternatives aux AFC ont été éliminées.

Au final, 36 publications ont été soumises à la méthode d'analyse définie par le GT. Les publications scientifiques relatives aux traitements alternatifs aux antibiotiques chez le porc sont finalement relativement peu nombreuses.

6.1.2 Conclusions par famille

6.1.2.1 Huiles essentielles (HE) et extraits de plantes

Les recherches bibliographiques et les tris opérés ont abouti à un nombre minime de publications fournissant des données pour seulement 3 produits, qui sont différents dans leur nature et dans leurs rôles (*cf.* tableau 16). L'ingestion d'un mélange de feuilles de thé vert associé à la peau de la grenade (mélange commercial) dans une étude avec infection expérimentale mais sans antibiotique présente un effet significatif sur la santé du tube digestif et ainsi contrecarre les effets négatifs observés après une infection à *E. coli* chez le porcelet au sevrage (Bontempo *et al.*, 2014).

Concernant d'autres maladies digestives du porc, une autre étude traite de la prévention de la dysenterie chez le porcelet et compare deux produits : la graine de lupin s'avère inefficace pour limiter les effets négatifs de l'infection expérimentale avec *Brachyspira hyodysenteriae*, alors que l'inuline de racine de chicorée a eu un rôle protecteur sur le développement de la dysenterie (Hansen *et al.*, 2014).

Tableau 16 : Synthèse des publications relatives aux HE et extraits de plantes – diarrhée du porcelet

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	2	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	1	0
<p>Attention ! pour les comparaisons avec AB^q : S et NS ne conduisent pas aux mêmes conclusions que pour les comparaisons au témoin et S a été divisé en S⁺ et S⁻ en fonction du positionnement du produit P à tester par rapport à l'AB^q ou par rapport au témoin</p>			<p>Attention ! Une publication qui étudierait à la fois l'effet par rapport au témoin négatif et l'effet par rapport à un antibiotique est à compter 2 fois : 1 fois dans chaque tableau.</p>		
Tableau de synthèse Curatif / AB ^q			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	1	0

Compte tenu du peu de données identifiées dans la bibliographie scientifique, de la variabilité des produits employés dans les essais et des résultats divergents enregistrés, il n'est pas possible de conclure, positivement ou négativement, quant à un effet générique pour la famille des huiles essentielles et extraits de plante, prise dans sa globalité, vis-à-vis de la diarrhée du porcelet au sevrage.

Il est à noter que dans aucune de ces études, n'a été réalisée une comparaison avec un groupe traité à un antibiotique.

6.1.2.2 Acides organiques

Dans cette catégorie, une seule publication a pu être retenue, ne permettant pas d'analyse plus poussée sur cette famille de produits.

6.1.2.3 Probiotiques

Tableau 17 : Synthèse des publications relatives aux probiotiques – diarrhée du porcelet

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publi	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publi	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	3	0	S ⁺ (P > Tém)	7	1
S ⁻ (P < AB ^q)	1	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	1

Dans cette catégorie ont été retenues 10 publications. Plusieurs espèces de probiotiques y sont testées (*Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum*), parfois en association. Au sein d'une espèce, différentes souches ont été testées. De plus, les protocoles d'administration aux animaux sont très variables en ce qui concerne l'animal (truies ou porcelets) et la durée. Des effets significatifs sur la diminution de l'excrétion des bactéries pathogènes ont été démontrés ainsi que, dans certains cas, sur la prévention de la diarrhée du sevrage. Au bilan (cf. tableau 17), malgré l'hétérogénéité des protocoles/résultats, il semble que cette approche puisse contribuer à diminuer le recours aux antibiotiques.

6.1.2.4 Prébiotiques

Deux publications ont été retenues pour les prébiotiques (chito-oligosaccharides), de score 1 - 2 donnant des résultats intéressants sur l'incidence de la diarrhée, le score diarrhéique et l'excrétion d'*Escherichia coli*, une autre de score 3-4, n'a pas été retenue du fait de l'absence de paramètre pertinent mesuré durant l'essai. A noter que dans l'une des publications le produit testé est comparé à des antibiotiques, mais ils sont utilisés à une posologie insuffisante ce qui réduit l'intérêt de la comparaison.

La 2^{ème} publication établit une réduction de l'incidence de la diarrhée mais ne compare pas les chito-oligosaccharides à un antibiotique. En revanche, le produit testé ne corrige pas l'effet négatif de l'inoculation sur la croissance (cf. tableau 18).

Tableau 18 : Synthèse des publications relatives aux prébiotiques – diarrhée du porcelet

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publi	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publi	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	2	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

Il est impossible de conclure à l'intérêt préventif des chito-oligosaccharides au seul vu de ces travaux.

6.1.3 Conclusions par produit

Certaines publications ont porté sur des produits simples, bien identifiés, conduisant les experts à envisager de conduire des conclusions, non pas par famille mais par produit, en ayant recours à la partie méthodologique décrite au chapitre 5.6. Il s'agit de la caséine et du plasma porcin.

6.1.3.1 Caséine

Deux publications de score 1-2 ont pu être retenues. Ce sont des essais contrôlés comparant des témoins non traités inoculés ou non avec *Escherichia coli* K88. Ce produit ne donne pas les mêmes résultats entre les deux publications, notamment sur des paramètres relatifs à la diarrhée des porcelets (cf. tableau 19).

Tableau 19 : Synthèse des publications relatives aux caséines – diarrhée du porcelet

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	1	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	1	0

Des essais complémentaires sont donc indispensables pour conclure sur l'intérêt de la caséine.

6.1.3.2 Plasma porcin

Les publications retenues donnent des éléments intéressants car les critères sont pertinents : score diarrhéique et mortalité. Une comparaison avec un antibiotique laisserait présager une efficacité équivalente mais la puissance de la comparaison est faible (cf. tableau 20).

Tableau 20 : Synthèse des publications relatives au plasma porcin – diarrhée du porcelet

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	1	0	S ⁺ (P > Tém)	3	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

Concernant les essais testant le plasma (en prévention) sans comparaison avec un antibiotique, nous sommes en présence de 3 publications dont les résultats sont convergents. L'application de la règle de décision de la figure 3 nous amène à pouvoir conclure avec un niveau de confiance élevé. S'agissant d'essai en comparaison avec un témoin non traité, la conclusion finale pour ce produit est la suivante :

« Les données scientifiques disponibles permettent d'envisager que le plasma porcin prévient la diarrhée du porcelet au sevrage, avec un niveau de confiance élevé. Toutefois, compte tenu du faible nombre de publications identifiées (seulement 3), cette conclusion reste dépendante des conditions expérimentales ».

6.2 Colibacillose systémique en volaille

6.2.1 Grille d'analyse des publications et commentaires

La recherche bibliographique a été menée à partir de diverses combinaisons des mots clés suivants : « poultry », « chicken », « colibacillosis » et « alternatives to antibiotics ». Les mots clés correspondant aux 4 types de produits qui avaient été sélectionnés comme alternatives aux antibiotiques dans le cadre de cette saisine (« probiotic », « plant extract », « essential oil », « organic acid ») ont également été utilisés. Cette recherche a été élargie aux prébiotiques.

Plus de 300 publications ont été trouvées sur les 10 dernières années. Cependant, la plupart des études portaient sur des essais d'additifs présentés comme alternatives aux AFC. Dans ces travaux, il n'y a pas de challenge infectieux et les principaux critères mesurés sont les performances zootechniques. Plusieurs de ces études apportent également des données sur la flore microbienne du tube digestif et/ou sur l'immunité (mesures d'activité enzymatique). Dans certaines publications, les effets des additifs sont comparés à ceux d'un AFC utilisé comme témoin positif. Toutes ces publications ont donc été rejetées.

Au final, seuls 4 articles ont été retenus, 3 d'entre eux portent sur l'utilisation d'alternatives potentielles aux antibiotiques pour prévenir la colibacillose. Les produits étudiés appartiennent à différentes familles pour chacune de ces publications : probiotique (*Clostridium butyricum*), extraits de levure (β -glucanes de *Saccharomyces cerevisiae*), extraits de plantes (grenade et badamier) et huiles essentielles (origan) (cf. tableau 21)

Tableau 21 : Analyse des publications relatives à la colibacillose systémique chez les volailles (sur 2 pages).

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce	Maladie fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit	Conditions de l'essai
Prevention	Zhang <i>et al.</i> , 2016	poulet	Colibacillose systémique	Croissance	**	Probiotique	<i>Clostridium butyricum</i> 2 x 10 ⁷ cfu / kg aliment	Infection expérimentale avec <i>E. coli</i> K88, 6 réplicats de 15 animaux par groupe; 4 groupes (total 360 animaux) Témoins non challengé et challengé, challenge + ATB (20 mg Colistine /kg), challenge + probiotique
Prevention	Zhong <i>et al.</i> , 2014	poulet	Colibacillose systémique	Taux de survie	***	Extraits plantes	Extrait végétal de <i>Punica granatum</i> L. et <i>Terminalia chebula</i> à 3 doses Polyphénols	Infection expérimentale avec <i>E. coli</i> pathogène, 30 animaux par groupe; 5 groupes Témoins non challengé et challengé, pas de témoin ATB, 3 groupes supplémentés (3 doses pour l'alternatif)
			Croissance	**				
Prévention	Huff <i>et al.</i> , 2006	poulet	Colibacillose systémique	Mortalité	***	Prébiotique	β -1,3/1,6-glucanes de <i>S. cerevisiae</i>	Infection expérimentale par <i>E. coli</i> sérotype O2; 2 traitements différents : avant challenge uniquement (7j) ou avant et durant le challenge infectieux (25j) Pas de témoin antibiotique; effectifs peu nombreux (groupes de 10 animaux en triplicat)
			Croissance	**				
Prévention	Betancourt <i>et al.</i> , 2014	poulet	Infection spontanée	Mortalité	***	Huiles essentielles	<i>Origanum vulgare</i> L., <i>O. vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i> , <i>O. majorana</i>	Témoin, antibiotique (500 mg Chlortétracycline /kg), Produit à tester Effectifs : 750 Infection spontanée
			Croissance	**				

Base de la comparaison n° 1	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n° 2	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique
Produit vs témoin	S ⁺	moyenne	Comparaison avec l'AB	Effets similaires à l'AB		Prévient la maladie Contribue à diminuer le recours aux AB ⁹	1
Produit vs témoin	NS					Prévient la maladie	3
	S ⁺	Effet dose réponse. Effet significatif pour la croissance, pour dose élevée					
Produit vs témoin	NS					Pas de conclusion possible	4
	S ⁺	significatif pour traitement avant challenge					
Produit vs témoin	S ⁺		Comparaison avec l'AB	Effets similaires à l'AB		Prévient la maladie Contribue à diminuer le recours aux AB ⁹	4
	NS						

6.2.2 Conclusions par famille

6.2.2.1 Extraits de plantes et huiles essentielles (HE)

Tableau 22 : Synthèse pour les publications relatives aux extraits de plantes et HE – colibacillose systémique

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publis	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publis	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	1	S ⁺ (P > Tém)	0	2
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

Deux publications ont été retenues : Zhong *et al.*, (2014), évaluée de niveau 3 et Betancourt *et al.*, (2014), évaluée de niveau 4. La première étude porte sur l'utilisation d'extraits végétaux de grenade (*Punica granatum L.*) et de badamier (*Terminalia chebula*). Elle montre des effets significatifs chez des animaux challengés sur la croissance et l'inflammation mais pas sur la survie et uniquement pour les doses les plus élevées. Aucune comparaison n'a été faite avec un traitement antibiotique.

L'étude de Betancourt *et al.*, (2014) porte sur l'utilisation d'huiles essentielles d'origan dans un essai où l'infection est spontanée. Des effets significatifs sur la mortalité, similaires à ceux de l'antibiotique (chlortétracycline) ont été observés (*cf.* tableau 22).

Ces travaux et le trop petit nombre de publications disponibles ne permettent pas de conclure ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique pour la famille des extraits de plantes et des huiles essentielles prise dans sa globalité, pour prévenir la maladie et diminuer le recours aux antibiotiques.

6.2.2.2 Probiotiques

Tableau 23 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – colibacillose systémique

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publis	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publis	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	1	0	S ⁺ (P > Tém)	1	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

Une seule publication a été retenue (Zhang *et al.*, 2016), évaluée de niveau 1. Cette publication montre un effet significatif d'un probiotique (*Clostridium butyricum*) sur la croissance en comparaison avec un témoin non traité challengé avec *E. coli* K88. Les effets du produit alternatif sont équivalents à ceux de l'antibiotique (colistine) utilisé en comparaison. Il est cependant important de signaler qu'il n'y a pas eu de suivi de mortalité lors de cette étude (*cf.* tableau 23).

En conclusion, certains probiotiques pourraient constituer une approche intéressante en tant qu'alternatives aux antibiotiques pour prévenir la maladie. Cependant, compte tenu du petit nombre de publications, ce résultat positif nécessite d'être confirmé et des études supplémentaires devront être menées pour démontrer que certains probiotiques pourraient être de bons alternatives aux antibiotiques pour prévenir ou traiter la colibacillose aviaire.

6.2.2.3 Prébiotiques

Tableau 24 : Synthèse pour les publications relatives aux prébiotiques – colibacillose systémique

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publi	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publi	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	1
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

Une seule publication a été retenue (Huff *et al.*, 2006), évaluée de niveau 4 (*cf.* tableau 24). Cette étude concerne l'utilisation de polysaccharides de levures (β -1,3/1,6-glucanes de *Saccharomyces cerevisiae*) pour prévenir la colibacillose. Un effet significatif sur la croissance (mais pas sur la mortalité) a été observé pour les animaux traités avec le produit avant l'inoculation expérimentale. Aucune comparaison n'a été faite avec un traitement antibiotique.

Ces travaux et le trop petit nombre de publications disponibles ne permettent pas de conclure ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique pour la famille des prébiotiques, prise dans sa globalité.

6.2.3 Conclusions par produit

Les publications retenues portent sur des produits simples, bien identifiés, qui pourraient conduire les experts à envisager de conduire des conclusions, non pas par famille mais par produit, en ayant recours à la méthodologie décrite au chapitre 5.6. Cependant, chaque produit n'ayant qu'une ou deux publications à son appui, il demeure difficile de tirer une conclusion spécifique pour l'un ou l'autre de ces produits, comme le montre le développement ci-dessous.

6.2.3.1 Huile essentielle d'Origan

Une seule publication de score méthodologique 3-4 pour évaluer ce produit en prévention de la colibacillose systémique, par comparaison à un témoin non traité ou à un antibiotique, conduit en utilisant la règle de décision de la figure 3, à **ne pas pouvoir conclure**.

6.2.3.2 Probiotique *Clostridium butyricum*

- Concernant les essais comparant *Clostridium butyricum* (en prévention) avec un antibiotique, nous sommes en présence d'une seule publication de score méthodologique 1-2. L'application de la règle de décision de la figure 3 nous amène à pouvoir conclure, mais avec un niveau de confiance faible. S'agissant de comparaison avec un antibiotique, la conclusion finale pour ce produit est la suivante :

« Les données scientifiques disponibles permettent d'envisager que *Clostridium butyricum* contribue à diminuer le recours aux antibiotiques, dans la prévention de la colibacillose systémique, mais avec un niveau de confiance faible. Compte tenu du très petit nombre de

publications identifiées (1 seule), cette conclusion reste en outre dépendante des conditions expérimentales ».

- Concernant les essais testant *Clostridium butyricum* (en prévention) sans comparaison avec un antibiotique, nous sommes en présence d'une seule publication de score méthodologique 1-2. L'application de la règle de décision de la figure 3 nous amène à pouvoir conclure, mais avec un niveau de confiance faible. S'agissant d'essai en comparaison avec un témoin non traité, la conclusion finale pour ce produit est la suivante :
« Les données scientifiques disponibles permettent d'envisager que Clostridium butyricum prévient la colibacillose systémique, mais avec un niveau de confiance faible. Toutefois, compte tenu du très petit nombre de publications identifiées (1 seule), cette conclusion reste dépendante des conditions expérimentales ».

Des données relatives aux risques liés à certaines souches de ce probiotique sont fournies au chapitre 9.

6.3 Troubles digestifs chez le lapin

6.3.1 Grille d'analyse des publications et commentaires

La recherche de publications traitant des substances alternatives aux antibiotiques a été effectuée à l'aide des moteurs de recherche Google Scholar, PubMed et Web of Science (dernière consultation février 2017). La recherche bibliographique dans les moteurs de recherche choisis dans le GT a utilisé les mots clés et opérateurs booléens suivants : (« diarrhoea » and « rabbit » and (« alternatives to antibiotics » or « probiotic » or « prebiotic » or « plant » or « essential oil » or « organic acid »).

De plus, une recherche bibliographique a été effectuée dans les congrès nationaux et internationaux consacrés aux recherches en cuniculture (World Rabbit Congress, Journées de la Recherche Cunicole).

A partir d'un corpus d'une quarantaine de publications publiées, entre 2004 et 2016, dans des revues à comité de lecture ou dans des congrès (essentiellement avec comité de lecture), 23 publications ont été retenues (*cf.* tableau 25). Le choix de ces publications est basé sur la présence de variables pertinentes (taux de mortalité et de morbidité des animaux) mesurées sur un effectif raisonnable d'animaux, avec un protocole d'étude suffisamment adéquat (effectifs d'animaux, durée, schéma statistique, ...).

L'essentiel de ces 23 études a été réalisé en conditions conventionnelles d'élevage (n= 13) ; 5 études sont en conditions sanitaires dégradées (état sanitaire dégradé, avec une mortalité élevée ">15%" après sevrage) ; 5 études sont en conditions d'infection spontanée (présence d'une maladie identifiée, par exemple l'entéocolite épizootique du lapin (EEL) ou la colibacillose).

Tableau 25 : Analyse des publications relatives aux troubles digestifs chez le lapin (à lire sur 2 pages).

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce	Maladie fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit	Conditions de l'essai
Prévention	Belhassen et al., 2016	lapin	Troubles digestifs	Mortalité femelles et lapereaux	***	Probiotique	Levure <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées (forte mortalité). 2 lots de 26 femelles. Produit apporté par l'aliment. Suivi des femelles reproductrices et de leurs portées jusqu'au sevrage.
Prévention	Rotolo et al., 2014	lapin	Troubles digestifs	Mortalité Performances	*** **	Probiotique	Levure <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Boulardii	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées (peu de mortalité). Produit apporté par l'aliment. Suivi des lapins en croissance.
Prévention	Pascual et al., 2008	lapin	Troubles digestifs	Mortalité Morbidité	*** ***	Probiotique	<i>Bacillus cereus</i> var. toyoi	Infection expérimentale Produit apporté par l'aliment 2 lots de 50 lapins en croissance
Prévention	Pinheiro et al., 2007	lapin	Troubles digestifs	Mortalité lapereaux	***	Probiotique	<i>Bacillus cereus</i> var. toyoi	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées. Produit apporté par l'aliment. Suivi des femelles reproductrices et de leurs portées jusqu'au sevrage.
Prévention	Kritas et al., 2008	lapin	Troubles digestifs	Mortalité Performances	*** **	Probiotique	<i>Bacillus licheniformis</i> et <i>Bacillus subtilis</i>	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées. Produit apporté par l'aliment. Suivi des lapins en croissance.
Prévention	Matusevicius et al., 2006	lapin	Troubles digestifs	Troubles digestifs	***	Probiotique + prébiotique	<i>Bacillus licheniformis</i> et <i>Bacillus subtilis</i> + extrait de levures	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées. Produit apporté par l'aliment. Suivi des lapins en croissance.
Prévention	Bovera et al., 2012a	lapin	Troubles digestifs	Mortalité Performances	*** **	Probiotique	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées. Produit appliqué en spray dans le nid. Suivi des femelles reproductrices et de leurs portées jusqu'au sevrage.
Prévention	Trocino et al., 2005	lapin	Troubles digestifs	Mortalité	***	Probiotique	<i>Bacillus cereus</i> var. toyoi	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées. Produit apporté par l'aliment. Suivi des lapins en croissance.
Prévention	Bovera et al., 2010	lapin	Troubles digestifs : EEL*	Mortalité Bactério. caecale	*** **	Prébiotique	Manno-oligosaccharides (MOS)	Infection spontanée dans un élevage ayant un historique d'EEL*. Comparaison à un témoin et à un lot recevant une association d'antibiotiques (colistine+tylosine+oxytétracycline). Produits apportés par l'aliment Suivi des lapins en croissance.
Prévention	Fonseca et al., 2004	lapin	Troubles digestifs	Mortalité	***	Prébiotique	Manno-oligosaccharides (MOS)	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées. Comparaison avec un antibiotique (oxytétracycline). Pas de lot témoin. Produit apporté par l'aliment. Suivi des lapins en croissance.
Prévention	Tazzoli et al., 2012	lapin	Troubles digestifs	Mortalité Performances	*** **	Prébiotique	Manno-oligosaccharides (MOS) et/ou bêtaglucanes	Observations des performances et des indicateurs de santé des lapins en croissance en élevage. Pas de troubles digestifs observés dans le lot témoin. Produits apportés par l'aliment. Suivi des lapins en croissance.
Prévention	Bovera et al., 2012b	lapin	Troubles digestifs	Mortalité	***	Prébiotique	Manno-oligosaccharides (MOS)	Observations des performances des lapins en croissance en élevage. Comparaison avec un antibiotique (apramycine). Pas de lot témoin. Produits apportés par l'aliment. Suivi des lapins en croissance.
Prévention	Pinheiro et al., 2009	lapin	Troubles digestifs	Mortalité Performances	*** **	Prébiotique	Manno-oligosaccharides (MOS)	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées. Produit apporté par l'aliment Suivi des lapins en croissance
Prévention	Attia et al., 2016	lapin	Troubles digestifs	Mortalité Performances	*** **	Prébiotique	Manno-oligosaccharides (MOS)	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées. Comparaison à un lot avec antibiotique (bacitracine-zinc), un lot avec inuline et un témoin. Produits apportés par l'aliment. Suivi des lapins en croissance.

Base de la comparaison n° 1	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n° 2	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique
Produit vs témoin	S ⁺	moyenne				Prévient la maladie	3
Produit vs témoin	S ⁺	faible, en partie liée à la faible mortalité au départ.				Prévient la maladie	3
Produit vs témoin	S ⁺	moyenne				Prévient la maladie	3
Produit vs témoin	S ⁺	faible				Prévient la maladie	3
Produit vs témoin	S ⁺	moyenne				Prévient la maladie	3
Produit vs témoin	S ⁺	moyenne				Prévient la maladie	3
Produit vs témoin	S ⁺	moyenne				Prévient la maladie	3
Produit vs témoin	NS					Ne prévient pas la maladie	3
Produit vs témoin	Pas de comparaison possible au lot témoin qui a enregistré 78% de mortalité.		Produit vs antibiotique	S ⁺	moyenne	Contribue à diminuer le recours aux antibiotiques	1
Produit vs antibiotique	S ⁺	moyenne				Contribue à diminuer le recours aux antibiotiques	3
Produit vs témoin	NS					Ne prévient pas la maladie	4
Produit vs antibiotique	NS	Faible taux de mortalité pour les 2 lots (5,75%)				Pas de conclusion possible	4
Produit vs témoin	NS					Ne prévient pas la maladie	3
Produit vs témoin	NS					Ne prévient pas la maladie	3

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce	Maladie fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit	Conditions de l'essai
Prévention	Krieg et al., 2009	lapin	Troubles digestifs	Diarrhée lapereaux	Troubles digestifs	Extraits de plantes	oignon, ail, cumin, fenouil, gentiane, mélisse, menthe poivrée, anis, écorce de chêne, clou de girofle	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées. Produit apporté par l'aliment. Suivi des femelles reproductrices et de leurs portées jusqu'au sevrage. 9 portées de 10 lapereaux.
Prévention	Duperray et al., 2014	lapin	Troubles digestifs : EEL*	Mortalité	***	Extraits de plantes	Mélange de composition non connue	Infection expérimentale EEL* Produit apporté par l'aliment Suivi des lapins en croissance.
Prévention	Maertens & Struklec, 2006	lapin	Troubles digestifs : EEL*	Mortalité	***	Extraits de plantes	tannins de châtaigne hydrolysables	Infection spontanée dans un élevage ayant un historique d'EEL*. Produit apporté par l'aliment Suivi des lapins en croissance.
Prévention	Cullere et al., 2016	lapin	Troubles digestifs	Mortalité	***	Plante	<i>Silybum marianum</i> (Chardon-marie)	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées. Produit apporté par l'aliment Suivi des lapins en croissance
Prévention	Biagini et al., 2016	lapin	Troubles digestifs	Mortalité	***	Extraits de plantes	Substances extraites de bio-déchets végétaux**	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées. Produit apporté par l'aliment Suivi des lapins en croissance
Prévention	Celia et al., 2015	lapin	Troubles digestifs	Mortalité	***	Extraits de plantes	oignon, ail, cumin, fenouil, gentiane, mélisse, menthe poivrée, anis, écorce de chêne, clou de girofle	Observations des performances et des indicateurs de santé des femelles reproductrices et de leurs portées en élevage. Peu de mortalité observée dans le lot témoin. Produits apportés par l'aliment. Suivi des femelles reproductrices et de leurs portées jusqu'au sevrage.
Prévention	Skrivanova et al., 2009	lapin	Troubles digestifs	Mortalité	***	Acides organiques	Acides caprique et caprilique	Infection spontanée, associée à des conditions sanitaires dégradées. Produit apporté par l'aliment Suivi des lapins en croissance
Prévention	Skrivanova et al., 2008	lapin	Troubles digestifs : colibacillose	Mortalité Comptage bactérien	***	Acides organiques	Acides caprique et caprilique	Infection expérimentale à <i>Escherichia coli</i> O103 Produit apporté par l'aliment Suivi des lapins en croissance

* EEL = entérocolite épizootique du lapin

** composition du produit indiquée dans le tableau 1 de la publication

Base de la comparaison n° 1	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n° 2	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique
Produit vs témoin	S ⁺	faible				Prévient la maladie	3
Produit vs témoin	S ⁺	moyenne				Prévient la maladie	2
Produit vs témoin	S ⁺	faible				Prévient la maladie	2
Produit vs témoin	S ⁺	faible				Prévient la maladie	2
Produit vs témoin	NS					Ne prévient pas la maladie	3
Produit vs témoin	NS					Ne prévient pas la maladie	4
Produit vs témoin	S ⁺	faible				Prévient la maladie	2
Produit vs témoin	NS					Ne prévient pas la maladie	2

6.3.2. Conclusions par famille

6.3.2.1 Extraits de plantes

Sur un total de 6 publications traitant de l'effet d'extraits de plantes (ajoutés dans l'aliment) sur la prévention de troubles digestifs chez le lapin en croissance, 4 publications indiquent un effet significatif favorable mais pour des produits tous différents, alors que 2 indiquent une absence d'effet. Dans 2 des études (réalisées en conditions dégradées d'élevage, infection spontanée EEL, score méthodologique de 2) mentionnant un effet favorable, les extraits de plantes testés sont des mélanges commerciaux (l'un contenant des tannins et l'autre contenant divers extraits de plantes) dont la composition précise n'est pas donnée par les auteurs.

Pour l'un des mélanges commerciaux (2 études) une étude conclut à un effet favorable mais sur un faible effectif d'animaux, alors que l'autre conclut à une absence d'effet sur des effectifs conséquents d'animaux (cf. tableau 26).

Tableau 26 : Synthèse pour les publications relatives aux extraits de plantes – troubles digestifs lapin

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	3	1
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	2

Ainsi, sur la base de ces quelques publications, il n'est pas possible de conclure ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique pour la famille des extraits de plantes, prise dans sa globalité, sur la prévention des troubles digestifs chez le lapin.

6.3.2.2 Probiotiques

Sur un total de 8 publications traitant de l'effet de probiotiques (ajoutés dans l'aliment pour 7 études) sur la prévention de troubles digestifs chez le lapin avant sevrage (3 études : Pinheiro *et al.*, 2007; Bovera *et al.*, 2012a; Belhassen *et al.* 2016)) ou après sevrage (4 études : Matusевич *et al.*, 2006; Kritas *et al.*, 2008; Pascual *et al.*, 2008; Rotolo *et al.*, 2014)), 7 publications indiquent un effet significatif favorable pour 3 types de probiotique (2 bacilles, 1 lactobacille, 1 levure). L'ensemble de ces publications ont un score méthodologique entre 3 et 4 (cf. tableau 27).

Tableau 27 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – troubles digestifs lapin

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	7
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	1

L'absence d'étude atteignant un score méthodologique de 1 ou 2 conduit à être prudent quant à la possibilité de conclure à un effet positif significatif des probiotiques sur la prévention des troubles digestifs du lapin en croissance. En effet, bien que 7 études sur 8 indiquent un effet favorable, il

s'agit de produits différents. Des études supplémentaires sont donc requises pour permettre une conclusion plus claire.

6.3.2.3 Prébiotiques

Les 6 études traitant de l'effet de prébiotiques sur la prévention de troubles digestifs chez le lapin en croissance, concernent l'effet de manno-oligosaccharides (MOS) ajoutés à l'aliment, soit seuls (4 études : Fonseca *et al.*, 2004; Pinheiro *et al.*, 2009; Bovera *et al.*, 2010; Attia *et al.*, 2016) soit en combinaison (inuline & β -glucanes : Tazzoli *et al.*, 2012; Bovera *et al.*, 2012b). Deux publications indiquent un effet significatif favorable (scores = 1&4), alors que 3 autres (score = 3&4) indiquent une absence d'effet de l'addition de prébiotique dans l'alimentation. Enfin, une étude (score = 4) indique que l'addition de mannanes conduit au même taux de mortalité que celui obtenu avec l'addition d'antibiotique.

L'une des 2 études "positive" a été réalisée en condition d'infection expérimentale avec l'EEL (mortalité de 45% dans le groupe témoin non traité) et en comparaison avec l'usage d'antibiotique. L'autre étude indique un effet bénéfique par rapport à l'emploi d'antibiotique dans l'aliment (sans comparaison avec un témoin non traité, cf. tableau 28).

Tableau 28 : Synthèse pour les publications relatives aux prébiotiques – troubles digestifs lapin

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	1	2	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	3

Du fait de l'hétérogénéité des résultats, on ne peut conclure ni positivement, ni négativement, quant à un effet de l'addition de mannanes dans l'alimentation sur la mortalité par troubles digestifs (non spécifiques) chez le lapin.

6.3.2.4 Acides organiques

Deux études traitent de l'effet d'acides organiques à chaîne moyenne (C10 :0 à C12 :0, ajoutés dans l'aliment) sur la santé digestive du lapin en croissance (Skrivanova *et al.*, 2008 & 2009). Une étude indique un effet favorable, en conditions dégradées d'élevage. Face à une infection expérimentale colibacillaire (étude 2), cet additif n'a pas d'effet significatif sur la santé (cf. tableau 29).

Tableau 29 : Synthèse pour les publications relatives aux acides organiques – troubles digestifs lapin

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	1	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	1	0

Il n'est donc pas possible de conclure ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique pour la famille des acides organiques, sur la prévention des troubles digestifs chez le lapin.

6.3.3. Conclusions par produit

Plusieurs publications portent sur les mêmes produits, conduisant les experts à envisager de conduire des conclusions, non pas par famille mais par produit, en ayant recours à la méthodologie décrite au chapitre 5.6. Il s'agit d'un probiotique à base de *Bacillus cereus* var. *toyoi*, d'un MOS (manno-oligosaccharide) et d'acides organiques à chaîne moyenne (C10 :0 à C12 :0).

6.3.3.1 *Bacillus cereus* var. *toyoi*

Tableau 30 : Synthèse pour les publications relatives à *Bacillus cereus* var. *toyoi* – troubles digestifs du lapin

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	2
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	1

Dans le tableau 30, 3 publications de score méthodologique 3-4 ont des résultats hétérogènes, avec 1 publication d'écart entre les S et NS. L'application de la règle de décision de la figure 3 conduit les experts à **ne pas pouvoir conclure**.

6.3.3.2 Manno-oligosaccharide

Tableau 31 : Synthèse pour les publications relatives au manno-oligosaccharide – troubles digestifs du lapin

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	1	2	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	3

A la lecture du tableau 31,

- Concernant les essais comparant le manno-oligosaccharide (en prévention) avec un antibiotique, il s'agit de 3 publications de résultats homogènes : une de score méthodologique 1-2 et deux de score 3-4. L'application de la règle de décision de la figure 3 nous amène à pouvoir conclure, mais avec un niveau de confiance faible. S'agissant de comparaison avec un antibiotique, la conclusion finale pour ce produit est la suivante :
« Les données scientifiques disponibles permettent d'envisager que le manno-oligosaccharide contribue à diminuer le recours aux antibiotiques dans la prévention des troubles digestifs du lapin, mais avec un niveau de confiance faible. Compte tenu du très petit nombre de publications identifiées, cette conclusion reste en outre dépendante des conditions expérimentales ».
- Concernant les essais testant le manno-oligosaccharide (en prévention) sans comparaison avec un antibiotique, il s'agit de 3 publications de résultats homogènes (absence d'effet) et de score méthodologique 3-4. L'application de la règle de décision de la figure 3 nous

amène à pouvoir conclure, mais avec un niveau de confiance faible. S'agissant d'essai en comparaison avec un témoin non traité, la conclusion finale pour ce produit est la suivante :

« Les données scientifiques disponibles permettent d'envisager que le manno-oligosaccharide ne prévient pas les troubles digestifs du lapin, avec un niveau de confiance faible. ».

Ces conclusions montrent la nécessité de confronter ces données à d'autres résultats.

6.3.3.3 Acides organiques

Le tableau 30 nous indique qu'il s'agit de 2 publications testant le même produit en prévention, en comparaison avec un témoin non traité (sans comparaison à un antibiotique). Ces 2 publications sont de score méthodologique 1-2 et leurs résultats sont divergents. L'application de la règle de décision de la figure 3 amène les experts à **ne pas pouvoir conclure**.

6.4 Mammmites chez la vache laitière

6.4.1 Grille d'analyse des publications

Tableau 32 : Analyse des publications relatives aux mammmites chez la vache laitière (à lire sur 2 pages).

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce animale	Maladie fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit ou souche	Conditions de l'essai
Curatif	Klostermann et al., 2008	Vache laitière	Mammite	Cellules somatiques du lait (test SCC)	***	Probiotique	<i>Lactococcus lactis</i>	Essai 1 : infection spontanée, mammite subclinique 2 lots de 11 vaches laitières (VL) chacun, 1 ^{er} lot = produit ; 2 ^{ème} lot = antibiotiques (amoxicilline + ac. clavulanique) Durée = 12j Essai 2 : infection spontanée, mammite clinique. 2 lots de 25 VL chacun, 1 ^{er} lot = produit ; 2 ^{ème} lot = antibiotiques. Durée = 14 j
				Bactériologie	***			
				Symptômes cliniques	**			
Curatif	Greene et al., 1991	Vache laitière	Mammite	Cellules somatiques du lait (test SCC)	***	Probiotique	<i>Lactobacillus casei</i> et <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Infection spontanée, mammite subclinique. SCC élevé. 2 lots de 26 VL chacun, 1 ^{er} lot = produit ; 2 ^{ème} lot = antibiotique (céfapirine)
				Bactériologie	***			
				Guérison clinique	***			
Curatif	Kaithwas et al., 2011	Vache laitière	Mammite	Cellules somatiques du lait (test CMT)	***	Huile essentielle	HE de <i>Linum usitatissimum</i>	Infection spontanée, mammite clinique 9 VL réparties en 3 lots : 1 ^{er} lot = produit ; 2 ^{ème} lot = antibiotique (céfopérazone) + produit ; 3 ^{ème} lot = antibiotique
				Cellules somatiques du lait (test SCC)	***			
				Bactériologie	***			
Curatif	Xu et al., 2015	Vache laitière	Mammite	Cellules somatiques du lait (test CMT)	***	Extrait de plantes	<i>Atractylodes macrocephalae koidz</i>	Infection expérimentale, mammite subclinique Essai 1 : 24 VL avec SCC > 500.000 réparties en 4 lots : lots 1 à 3 recevant le produit à 3 doses (16mg, 32mg, 48mg) ; 4 ^{ème} lot = témoin non traité Essai 2 : 22 VL avec SCC > 500,000 et bactério + réparties en 2 lots : 1er lot = produit à 32mg ; 2ème lot = témoin non traité
				Bactériologie	***			
Curatif	Mukherhee et al., 2006	Vache laitière	Mammite	Bactériologie	***	Extrait de plantes	<i>Ocinum sanctum</i>	Infection spontanée, mammite subclinique 60 VL (saines ou atteintes de mammite subcliniques) réparties en 4 lots : lot 1 = VL saines + placebo ; lot 2 = VL saines + produit ; lot 3 = VL à mammite + placebo ; lot 4 = VL à mammite + produit
Curatif	Bhatt et al., 2016	Vache laitière	Mammite	Cellules somatiques du lait (test SCC)	***	Extrait de plantes	<i>Eucalyptus globus</i> + <i>glycyrrhiza gloria</i> + <i>curcuma longa</i> + <i>cedrus deodora</i> + <i>paearia foetida</i>	Infection spontanée 19 VL avec mammites subcliniques
				Bactériologie	***			
Curatif	Pinedo et al., 2013	Vache laitière	Mammite	Cellules somatiques du lait (test SCC)	***	Extrait de plantes	<i>Thymus vulgaris</i> + <i>Gaultheria procumbens</i> + <i>Glycyrrhiza uralensis</i> + <i>Angelica sinensis</i> + vitamine E	Infection spontanée, mammite clinique 163 VL réparties en 2 lots : lot 1 (88 VL) + produit ; lot 2 (75 VL) = témoin non traité
				Bactériologie	***			

Base de la comparaison n° 1	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n° 2	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique
produit vs antibiotique	NS	Effet non différent produit vs antibiotique				Alternative aux antibiotiques	1
	S ⁺ essais 1 & 2	Faible					
	S ⁺ essais 1 & 2	Moyenne					
produit vs antibiotique	S ⁻	Pas d'effet significatif mesuré				Ne traite pas la maladie	3
produit vs antibiotique	NS	Effet non différent produit vs antibiotique	produit vs association (produit + antibiotique)	NS	Effet non différent produit vs (produit + antibiotique)	Alternative aux antibiotiques	2
produit vs témoin non traité	S					Traite la maladie	2
produit vs témoin avec placebo	S					Traite la maladie	3
produit vs témoin non traité	NS					Traite la maladie	3
	S						
produit vs témoin non traité	NS					Ne traite pas la maladie	3

L'analyse bibliographique initiale faite à partir des mots clés retenus, tels que "mastitis AND alternative"; "mastitis AND probiotics/oil/plant/acid...", dans le but d'identifier toutes les études *in vivo* publiées relatives aux traitements et/ou à la prévention des mammites cliniques et/ou subcliniques nous a permis d'identifier seulement 11 publications. Sur ces 11 publications relatant une expérimentation *in vivo*, 7 seulement ont été retenues pour notre analyse (tableau 32) car répondant parfaitement aux critères définis dans notre approche méthodologique.

Deux des publications non retenues, malgré un intérêt scientifique certain, ne permettent pas de conclure quant à l'efficacité du traitement ou à la réduction de l'usage d'antibiotique car les conditions de l'essai ne sont pas représentatives des conditions réelles d'usage. Ces publications explorent notamment l'innocuité et l'immunité de l'hôte en réponse au traitement alternatif administré lors de la période sèche sur des animaux cliniquement sains, sans infection expérimentale ni infection spontanée de la glande mammaire. Ces publications aident à comprendre le mécanisme d'action du traitement alternatif mais ne peuvent être conservées pour notre analyse.

Une publication n'a pas été retenue sur la base des paramètres cliniques mesurés car ces derniers étaient non pertinents.

Ainsi, à l'issue de la recherche et du tri bibliographique, les 7 articles restants ont été analysés suivant l'approche méthodologique définie. Il est important de noter que concernant les mammites, toutes les études retenues concernent un usage curatif et non préventif. De plus, la diversité des "substances actives" utilisées (même au sein d'une des familles thérapeutiques sélectionnées) ainsi que l'usage sur mammites cliniques ou subcliniques ne permettent pas de statuer clairement sur un bénéfice thérapeutique par alternative au vu du très faible nombre de publications identifiées.

A noter que concernant les alternatives aux antibiotiques pour le traitement des mammites, il existe de nombreuses publications scientifiques *in vitro* témoignant d'un intérêt et d'un engouement autour de cette thématique. Ces études, allant du simple criblage de molécules à propriétés inhibitrices à la caractérisation des mécanismes d'interactions sur modèles cellulaires, présentent certes un intérêt scientifique mais ne peuvent en aucun cas venir soutenir et/ou valider une potentielle efficacité clinique. Le GT ne peut que recommander la poursuite de la recherche scientifique sur ces alternatives potentielles aux antibiotiques en obtenant des preuves réelles d'efficacité clinique par des essais terrain/*in vivo* idéalement selon la méthode de référence établie, sur la base d'une comparaison entre un lot témoin non traité et un lot traité avec un antibiotique de référence, associée à une robustesse du protocole d'essai mis en place (puissance statistique, pertinence des variables mesurées, etc...).

6.4.2 Conclusions par famille

6.4.2.1 Huiles essentielles et extraits de plantes

a. Pour le traitement curatif des mammites cliniques

Dans la littérature scientifique analysée, deux publications relatent l'usage d'huiles essentielles ou d'extraits de plantes dans le traitement des mammites cliniques de la vache laitière (tableau 33).

Une seule publication concerne l'usage d'huiles essentielles pour le traitement de mammites cliniques (Kaitwas *et al.*, 2011). Les critères définis dans notre méthodologie d'analyse permettent de lui attribuer un score méthodologique de 2. Il s'agit d'une étude faite sur animaux malades en comparaison avec un antibiotique (céfopérazone) et dont les variables mesurées sont toutes jugées pertinentes (CMT, SCC et bactériologie). De cette publication, il ressort un effet positif du traitement alternatif avec une amélioration de variables mesurées comparable à celle obtenue avec l'antibiotique.

Une seule publication concerne l'usage d'extraits de plantes pour le traitement de mammites cliniques (Pinedo *et al.*, 2013). L'étude terrain utilise une formule commerciale composée de plusieurs extraits de plantes, vitamines et autres composés chimiques non spécifiés dans la publication. Malgré un schéma d'étude robuste, notamment un nombre important d'animaux malades inclus et des variables mesurées pertinentes (SCC, bactériologie), les critères définis dans notre méthodologie d'analyse permettent d'attribuer un score méthodologique de 3, notamment en l'absence d'une randomisation et d'une comparaison avec antibiotique. De cette publication, il ressort un effet non significatif du traitement alternatif avec une absence d'amélioration des variables mesurées.

Tableau 33 : Synthèse pour les publications relatives aux huiles essentielles et extraits de plantes – mammites cliniques chez la vache laitière

Tableau de synthèse Curatif / AB ^q			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	1	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	1

Compte tenu du peu de données identifiées dans la bibliographie scientifique, de la variabilité des produits employés dans les essais et des résultats divergents enregistrés, il n'est pas possible de conclure, ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique pour la famille des huiles essentielles et extraits de plantes, prise dans sa globalité, vis-à-vis des mammites cliniques de la vache laitière.

b. Pour le traitement curatif des mammites subcliniques

Dans la littérature scientifique analysée, trois publications (*cf.* tableau 34) relatent l'usage d'huiles essentielles ou d'extraits de plantes dans le traitement des mammites subcliniques de la vache laitière (Xu *et al.*, 2015, Mukherjee *et al.*, 2006, Bhatt *et al.*, 2016).

Les critères définis dans notre méthodologie d'analyse permettent d'attribuer un score méthodologique de 2 ou 3 pour les publications concernées. Toutes les publications identifiées montrent un effet significatif pour au moins une variable pertinente. Il convient de souligner que toutes les études qui ont été identifiées sont faites sans comparaison à un antibiotique.

Tableau 34 : Synthèse pour les publications relatives aux huiles essentielles et extraits de plantes – mammites subcliniques chez la vache laitière

Tableau de synthèse Curatif / AB ^q			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	1	2
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

De ces études, il ressort un effet positif du traitement par les huiles essentielles et/ou extraits de plantes ; cependant compte tenu du peu de données identifiées dans la bibliographie scientifique, de la variabilité des produits employés dans les essais et des résultats divergents enregistrés, il n'est pas possible de conclure, ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique pour la famille des huiles essentielles et extraits de plantes, prise dans sa globalité, vis-à-vis des mammites subcliniques de la vache laitière.

6.4.2.2 Probiotiques

a. Pour le traitement des mammites cliniques

Pour l'heure il existe peu d'études *in vivo* démontrant l'intérêt des probiotiques en tant qu'alternatives aux antibiotiques dans le traitement curatif et/ou préventif des mammites cliniques chez la vache laitière. Dans la littérature scientifique analysée, une seule publication concerne l'usage des probiotiques dans le traitement des mammites cliniques (Klostermann *et al.*, 2008). Les critères définis dans notre méthodologie d'analyse permettent d'attribuer un score méthodologique de 1. Il s'agit d'une étude randomisée faite sur animaux malades en comparaison avec un antibiotique (amoxicilline + acide clavulanique) et dont les variables mesurées sont toutes jugées pertinentes (SCC, clinique et bactériologie). De cette publication, il ressort un effet positif du traitement alternatif avec une amélioration de variables mesurées comparable à celle obtenue avec l'antibiotique (*cf.* tableau 35).

Tableau 35 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – mammites cliniques chez la vache laitière

Tableau de synthèse Curatif / AB ^q			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	1	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

Compte tenu du peu de données identifiées dans la bibliographie scientifique, il n'est pas possible de conclure, ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique pour la famille des probiotiques, prise dans sa globalité, vis-à-vis des mammites cliniques de la vache laitière.

b. Pour le traitement curatif des mammites subcliniques

De la même manière que pour les mammites subcliniques, il existe peu d'études *in vivo* démontrant l'intérêt des probiotiques en tant qu'alternatives aux antibiotiques. Dans la littérature scientifique analysée, deux publications concernent l'usage des probiotiques dans le traitement des mammites subcliniques (Klostermann *et al.*, 2008, Greene *et al.*, 1991). L'analyse révèle qu'une des publications (Klostermann *et al.*, 2008) démontre une efficacité équivalente au

traitement antibiotique (amoxicilline +acide clavulanique), classée de niveau 1, alors que l'autre étude classée en niveau 3 contredit cette observation (cf. tableau 36).

Tableau 36 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – mammites subcliniques chez la vache laitière

Tableau de synthèse Curatif / AB ^q			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	1	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	1	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

Compte tenu du peu de données identifiées dans la bibliographie scientifique, de la variabilité des produits employés dans les essais et des résultats divergents enregistrés, il n'est pas possible de conclure, ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique pour la famille des probiotiques, prise dans sa globalité, vis-à-vis des mammites subcliniques de la vache laitière.

6.4.3 Conclusions par produit

Comme clairement mentionné en introduction de ce rapport, conclure sur un niveau d'efficacité par famille de produits n'est pas scientifiquement robuste. L'activité antimicrobienne, et donc l'efficacité clinique potentielle, doit pour cela être évaluée au niveau du « principe actif » qui composera le produit.

Par exemple, pour un probiotique, il est nécessaire de caractériser le potentiel de la bactérie candidate en tant qu'alternative au niveau de la souche, et non de l'espèce bactérienne. Il sera par conséquent difficile d'extrapoler une conclusion faite sur une souche, à une autre, même au sein d'une même espèce.

Ainsi, des 7 publications retenues, aucune étude n'a été réalisée dans les mêmes conditions d'essais et avec le même composé. Par conséquent l'application de la méthode « par produit » est peu pertinente car elle ne repose que sur trop peu d'études *in vivo* pour conclure quant à leur usage en tant qu'alternatives aux antibiotiques dans le traitement curatif et/ou préventif des mammites bovines.

6.5 Mérites de la vache

6.5.1 Grille d'analyse des publications

Tableau 37 : analyse des publications relatives au traitement des métrites chez la vache

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce	Maladie fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit	Conditions de l'essai	Base de la comparaison n° 1	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n° 2	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique
curatif	Sarkar et al, 2006	vache laitière	métrite/reproduction	comptage bactérien du mucus vaginal	***	extraits de plante	Ail	Infection spontanée Traitement par voie intra-utérine Lot traité (N = 10) comparé à lot témoin (N = 6) et à lot recevant un traitement hormonal (dinoprost tromethanine, N = 10).	produit vs témoin	S ⁺	Elevée				Traite la maladie	3
curatif	Yildiz et Balıkcı, 2016	vache laitière	métrite/reproduction	comptage bactérien du mucus vaginal	***	extraits de plante	Cumin noir (Nigella sativa)	Infection spontanée Traitement par voie intra-utérine Lot traité (N = 10) comparé à lot témoin (N = 10) et à lot recevant antibiotique (Ceftiofur, N = 10)	produit vs témoin	S ⁺	Elevée	produit vs AB	Effet similaire avec produit testé et antibiotique		Traite la maladie Alternative aux antibiotiques	3

L'analyse bibliographique a été réalisée avec les moteurs de recherche PubMed, Web of Science et Google Scholar. Les mots clefs ciblés ont été 'metritis and alternative to antibiotic', 'metritis and review', 'metritis and probiotic', 'metritis and essential oil', 'metritis and plant extract', et 'metritis and organic acid' croisés avec l'espèce cible 'cattle/dairy cow/beef cow'. Cette recherche a produit 31 résultats (incluant 8 revues). Seules 2 références présentaient des expérimentations *in vivo* et répondaient aux critères préalablement définis dans notre méthodologie (cf tableau 37). Ces 2 publications traitent d'un effet curatif et présentent une variable pertinente (**).

Quatre publications *in vitro* portant sur les alternatives aux antibiotiques pour le traitement des métrites sont apparues lors de la recherche bibliographique. Ces études testent les effets de différents probiotiques sur l'expression de cytokines pro-inflammatoires dans des cultures de cellules épithéliales d'endomètre, ou des mécanismes d'interaction avec des pathogènes. La preuve de concept est intéressante mais il reste à l'appliquer par la mise en place d'expérimentations *in vivo* en analysant l'effet des probiotiques par rapport à celui d'un antibiotique.

6.5.2 Conclusion par famille

Tableau 38 : Synthèse pour les publications relatives aux extraits de plantes – mérites de la vache laitière

Tableau de synthèse Curatif / AB ^q			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	1	S ⁺ (P > Tém)	0	2
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

Il n'existe aucune publication concernant l'effet des huiles essentielles en approche préventive ou curative sur les mérites chez les vaches laitières.

Deux publications (Sarkar *et al.*, 2006 ; Yildiza et Balikcib, 2016) rapportent l'effet d'extraits de plantes appliqués en approche curative sur les mérites des vaches laitières, mais ceux-ci sont de nature différente (ail *versus* cumin noir), *cf.* tableau 38. Une seule publication (Yildiza et Balikcib, 2016) présente une comparaison d'un extrait de plante avec un antibiotique. Bien qu'il existe une réduction de la charge totale bactérienne du mucus vaginal après traitement dans les 2 groupes (extrait de plante et antibiotique), l'absence du dénombrement des genres bactériens après traitement nuance fortement la conclusion d'un effet possible des extraits de plante sur les mérites. Ainsi, il n'est pas possible de conclure, ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique pour la famille des extraits de plantes vis-à-vis de la métrite bovine, avec aussi peu de publications et de score méthodologique 3.

6.5.3 Conclusion par produit

Le peu de publications retenues, la diversité des substances concernées et le score méthodologique des publications de niveau 3 ne permettent pas d'envisager une conclusion spécifique pour l'un ou l'autre de ces produits de la famille des extraits de plantes.

Par ailleurs, il n'existe aucune publication concernant l'effet des probiotiques en approche préventive ou curative sur les mérites chez les vaches laitières.

Il n'existe aucune publication concernant l'effet des acides organiques en approche préventive ou curative sur les mérites chez les vaches laitières.

6.6 Troubles digestifs chez les petits ruminants

6.6.1 Grille d'analyse des publications

La recherche de publications traitant des substances alternatives aux antibiotiques a été effectuée à l'aide des moteurs de recherche Google Scholar, PubMed et Web of Science (dernière consultation décembre 2016). Les mots clés ciblés dans les titres et les résumés ont été 'digestive disorders / diarrhea' en croisement avec les espèces concernées 'Kid/Lamb/Goat/Sheep' et les produits ciblés 'Antibiotics/Alternatives/Essential oils/ herbs/probiotic/ plants/plant extract/organic acids'.

Cette recherche a conduit à l'obtention de 20 publications dont 5 revues. Parmi les 15 publications restantes, seules 7 présentaient au moins une variable qualifiée de pertinente (**) ou très pertinente (***) à partir desquelles a été effectuée l'analyse (cf. tableau 39).

Tableau 39 : Analyse des publications relatives aux troubles digestifs chez les petits ruminants (à lire sur 2 pages).

Approche préventif / curatif	Référence publication	Espèce animale	Maladie fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau de pertinence de la variable	Famille du produit	Substance (s) du produit ou souche(s)	Conditions de l'essai
Préventif	Obeid et Abbas 2015	caprins	Troubles digestifs	Arrêt des diarrhées	***	Extrait plante	Extrait alcoolique de <i>Datura innoxia</i>	Infection expérimentale par E.Coli O157:H7 après traitement par les produits. Comparaison à un témoin et à un lot recevant un antibiotique (ciprofloxacine)
Curatif	Meshram et al., 2009	caprins	Troubles digestifs	Récupération des symptômes cliniques	** (pas d'indication sur les diarrhées)	Extrait plante	<i>Holarrhena antidysenterica</i> , <i>Aegle marmelos</i> , <i>Punica granatum</i> , <i>Berberis aristata</i>	Infection constatée E. coli + S. enteridis puis traitement par les produits (2 doses)
Préventif	Chiofallo et al., 2004	caprins	Troubles digestifs	Score fécal	***	Probiotique	<i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Lactobacillus salivarius</i> + <i>Lactobacillus reuteri</i>	Chevreaux témoins vs chevreaux supplémentés / score fécal
Préventif	Apas et al., 2015	caprins	Troubles digestifs	Infiltration cellulaire IG Inflammation épithéliale IG	** **	Probiotique	<i>Lactobacillus reuteri</i> + <i>Lactobacillus alimentarius</i> + <i>Enterococcus faecium</i> + <i>Bifidus bifidum</i>	Chevre témoin vs chèvre supplémentée / Morpho intestinale après abattage
Préventif	Kritas et al., 2006	ovins	Troubles digestifs	Mortalité	***	Probiotique	<i>Bacillus licheniformis</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	Brebis Tem vs supplémentées / Infection constatée E coli K99 chez agneau en relation avec mortalité
Curatif	Lema et al., 2001	ovins	Troubles digestifs	Diarrhée	***	Probiotique	<i>Lactobacillus acidophilus</i> et <i>Streptococcus faecium</i> , ensemble ou séparément	Infection expérimentale par E.Coli O157:H7 puis traitement par les produits
				Diarrhée	***			

Base de la comparaison n°1	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n°2	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique
Produit vs Témoin	Amélioration mais uniquement qualitatif	Uniquement qualitatif	Produit vs antibiotique	Amélioration mais uniquement qualitatif	Uniquement qualitatif	Prévient la maladie Contribue à diminuer le recours aux antibiotiques	2
Produit vs Témoin	S ⁺	Amélioration (totale pour dose double et partielle pour dose simple) après 4 j	Produit vs antibiotique	NS (équivalence antibiotique et extrait de plante)		Traitement alternatif aux antibiotiques pour la maladie	2
Produit vs Témoin	NS					Ne prévient pas la maladie	4
Produit vs Témoin	Impossible à interpréter (1 photo)	Impossible à interpréter (1 photo)				Pas de conclusion possible (données non interprétables)	4
Produit vs Témoin	NS					Ne prévient pas la maladie	3
Produit vs Témoin	NS diarrhée pour tous S ⁺ comptage pour <i>S. faecium</i> et l'association des deux	- -2 log(CFU)/g feces -1.2 log(CFU)/g feces				Traite la maladie	3
	NS diarrhée S ⁺ comptage	- -3.4 log(CFU)/g feces				Traite la maladie	3

6.6.2 Conclusions par famille

6.6.2.1 Chez les ovins

a. Huiles essentielles et extraits de plantes

Il n'existe aucune publication sur les huiles essentielles ou les extraits de plantes en comparaison avec les antibiotiques pour prévenir ou traiter les diarrhées chez les ovins.

Il n'existe par ailleurs aucune publication concernant l'effet des huiles essentielles ou des extraits de plantes en prévention ou en traitement des diarrhées chez les ovins.

b. Probiotiques

Tableau 40 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – troubles digestifs des ovins

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publis	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publis	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	1
<p>Attention ! pour les comparaisons avec AB^q : S et NS ne conduisent pas aux mêmes conclusions que pour les comparaisons au témoin et S a été divisé en S⁺ et S⁻ en fonction du positionnement du produit P à tester par rapport à l'AB^q ou par rapport au témoin</p>			<p>Attention ! Une publication qui étudierait à la fois l'effet par rapport au témoin négatif et l'effet par rapport à un antibiotique est à compter 2 fois : 1 fois dans chaque tableau.</p>		
Tableau de synthèse Curatif / AB ^q			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publis	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publis	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	1

Il n'existe aucune publication sur les probiotiques en comparaison des antibiotiques pour prévenir ou traiter les diarrhées chez les ovins.

Il n'existe qu'une seule publication ayant étudié l'effet de divers probiotiques sur le traitement des diarrhées induites par *E. coli* O157:H7 et l'excrétion fécale de l'agent pathogène chez les ovins (Lema *et al.*, 2001). En dépit d'une réduction de son excrétion dans les fèces de tous les groupes traités par les probiotiques, l'absence de signe de diarrhée dans ces groupes (y compris chez les ovins infectés non supplémentés par les probiotiques), rend impossible toute conclusion sur l'efficacité des probiotiques pour traiter les diarrhées chez les ovins.

Une seule publication rapporte l'effet d'un mélange de probiotiques sur la prévention des diarrhées chez l'agneau allaité par des mères supplémentées par ces probiotiques (Kritas *et al.*, 2006) sans effet sur la mortalité des agneaux. Il est donc impossible de conclure sur l'efficacité des probiotiques pour prévenir les diarrhées chez les ovins (*cf.* tableau 40).

6.6.2.2 Chez les caprins.

a. Huiles et extraits de plantes

Il n'existe aucune publication sur les huiles essentielles en comparaison avec les antibiotiques pour prévenir ou traiter les diarrhées chez les caprins.

Il n'existe par ailleurs aucune publication concernant l'effet des huiles essentielles en prévention ou en traitement des diarrhées chez les caprins.

Tableau 41 : Synthèse pour les publications relatives aux extraits de plantes – troubles digestifs des caprins

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	1	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	1	0
<p>Attention ! pour les comparaisons avec AB^q : S et NS ne conduisent pas aux mêmes conclusions que pour les comparaisons au témoin et S a été divisé en S⁺ et S⁻ en fonction du positionnement du produit P à tester par rapport à l'AB^q ou par rapport au témoin</p>			<p>Attention ! Une publication qui étudierait à la fois l'effet par rapport au témoin négatif et l'effet par rapport à un antibiotique est à compter 2 fois : 1 fois dans chaque tableau.</p>		
Tableau de synthèse Curatif / AB ^q			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	1	0	S ⁺ (P > Tém)	1	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

Concernant les extraits de plantes (*cf.* tableau 41), deux publications traitent des effets d'extraits de plantes en comparaison avec les antibiotiques pour prévenir ou traiter les diarrhées. En traitement des diarrhées (Meshram *et al.*, 2009), la comparaison est biaisée du fait de la présence simultanée d'un antibiotique et de l'extrait de plantes dans le groupe comparatif à l'extrait de plantes. Cette combinaison induit une disparition des manifestations de diarrhée équivalente de celle de l'extrait de plantes seul. L'usage en prévention d'un extrait alcoolique de *Datura innoxia*, mène à un résultat significativement non différent de celui de l'antibiotique testé, vis-à-vis des diarrhées (Obeid et Abbas 2015). Il est donc possible de conclure que certains extraits végétaux permettent de réduire l'usage ou de se substituer à l'utilisation d'antibiotiques mais avec un niveau de confiance faible du fait du petit nombre de publications associées.

Il n'existe qu'une publication concernant l'effet d'un extrait de plantes (Extrait alcoolique de *Datura innoxia*, Obeid et Abbas, 2015) en prévention des diarrhées chez les caprins. Bien que son score méthodologique soit élevé (1-2), les données concernant le score de diarrhées sont trop qualitatives pour pouvoir conclure. En traitement des diarrhées, un traitement contenant diverses plantes et extraits végétaux traite la maladie (Meshram *et al.*, 2009), mais cette conclusion est associée à un niveau de confiance faible du fait de l'insuffisance de publications de score (1-2).

b. Probiotiques

Tableau 42 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – troubles digestifs des caprins

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	2

Chez les caprins, aucune publication ne fait référence au traitement par les probiotiques de diarrhées établies, ni à une comparaison avec les antibiotiques pour prévenir ou traiter les diarrhées

Deux publications rapportent l'effet des probiotiques en prévention des diarrhées chez les caprins (Apas *et al.*, 2015 ; Chiofallo *et al.*, 2009). Ces publications montrent que les combinaisons de probiotiques utilisées ne permettent pas de prévenir l'installation de diarrhées, mais ces conclusions sont associées à un score méthodologique des publications de 3-4 (*cf.* tableau 42).

6.6.3 Conclusions par produit

Le peu de publications retenues, la diversité des substances concernées et le score méthodologique des publications de niveau 3 ne permettent pas d'envisager une conclusion spécifique pour l'un ou l'autre de ces produits de la famille des extraits de plantes.

6.7 Troubles digestifs du pré-ruminant

6.7.1 Grille d'analyse des publications

La recherche bibliographique dans les moteurs de recherche choisis dans le GT a utilisé les mots clés et opérateurs booléens suivants : (« diarrhoea » or « enteritis » and « calf » or « calves ») and (« alternatives to antibiotics » or « probiotic » or « plant » or « essential oil » or « organic acid »).

Relativement peu de publications ont pu être trouvées qui portaient strictement sur des assertions d'alternatives aux traitements antibiotiques des veaux dans des approches curative ou préventive des diarrhées. Néanmoins, une recherche de proche en proche, grâce notamment à des propositions de similitudes faites par les moteurs de recherche scientifique eux-mêmes, a permis d'en trouver quelques-unes supplémentaires ; de plus, des études portant sur des lactoreplaceurs avec ou sans produit incluaient dans leur protocole la recherche de signes de diarrhée et ont été intégrées à cette analyse.

Un autre écueil de l'analyse a porté sur la nature des produits étudiés et comparés (ou non) à des traitements reposant sur le recours aux antibiotiques (seuls ou en association). Certains des produits n'entraient pas dans les classes prédéfinies pour notre travail. D'autres composés (en mélange) entraient dans plusieurs classes ou étaient à la « frontière » entre deux classes de produits. Il a néanmoins été retenu certaines de ces publications, lorsqu'une conclusion semblait possible, en raison du nombre relativement réduit de publications disponibles au total (13 publications retenues au final, cf. tableau 43).

Tableau 43 : Analyse des publications relatives aux troubles digestifs chez les pré-ruminants (à lire sur 2 pages).

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce animale	Maladie Fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau de pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit	Conditions de l'essai
Préventif Adjuvant	Timmerman et al, 2005	veaux laitiers	santé (dont troubles digestifs) et croissance des veaux	score de diarrhée (sévérité, durée, incidence) score de santé incluant pb digestifs et respiratoires	*** **	Probiotique	Probiotiques "multispécies HUMAIN" et "spécifique veau"	Infection spontanée 4 essais consécutifs avec différents probiotiques : - essai n°1 : probiotiques "multispécies HUMAIN" vs témoin non traité, 288 veaux vs 72 veaux - essai n°2 : probiotiques "spécifique veau" vs témoin non traité, 31 veaux par lot - essai n°3 : probiotiques "multispécies HUMAIN" vs probiotiques "spécifique veau", vs témoin non traité, 24 veaux par lot - essai n°4 : probiotiques "multispécies HUMAIN" vs probiotiques "spécifique veau", vs témoin non traité, 22 veaux par lot Tous lots de veaux traités aux Ab au début de l'essai , colistine + oxytétrine ou colistine + néomycine (durée variable selon l'essai !) Probiotique "spécifique veau" : souches isolées de digestas et fèces de veaux Probiotiques "multispécies HUMAIN" : <i>Lactobacillus acidophilus</i> W55, <i>L. salivarius</i> W57, <i>L. paracasei</i> spp. <i>paracasei</i> W56, <i>L. plantarum</i> W59, <i>Lactococcus lactis</i> W58 et <i>Enterococcus faecium</i> W54
Préventif	Abe et al, 1995	veaux et porcelets	santé (dont troubles digestifs) et croissance des veaux et porcelets	mortalité score fécal fréquence de diarrhée	*** *** **	Probiotique	<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> ou <i>Lactobacillus acidophilus</i> ou un mélange de <i>B. thermophilum</i> + <i>E. faecium</i> +	essai 1: 3 lots de 15 veaux (témoin / <i>Bifidobacterium</i> / <i>Lactobacillus</i>), tous avec colistine, bacitracine et chlortétracycline essai 2 : 2 lots de 19 veaux au total (témoin non traité, y c sans antibiotique / probiotique en mélange)
Préventif	Cruywagen et al, 1986	veaux laitiers	troubles digestifs pré-sevrage	score fécal	***	Probiotique	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Infection spontanée, conditions de terrain Deux lots de 20 veaux
Préventif	Donovan et al, 2002	veaux laitiers	santé (dont troubles digestifs) et croissance des veaux	score fécal	***	Association probiotique + prébiotique (FOS)	mélange "de fructo-oligosaccharides et de microbes"	Infection spontanée, conditions de terrain 2 lots de 23 vs 22 veaux, l'un recevant des antibiotiques (oxytétracycline + néomycine), l'autre le produit.
Préventif	Brewer et al, 2014	veaux laitiers pré-sevrage	salmonellose	diarrhée (score 0 à 3) diarrhée (% d'animaux atteints) excrétion de salmonelles % d'excréteurs colonisation intestinale par les salmonelles	*** *** ** ** **	Prébiotique	produits de fermentation de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Infection expérimentale 2 lots de 20 veaux chacun extraits de fermentation de <i>S cerevisiae</i> distribués 5 semaines autour du challenge avec <i>S. Typhimurium</i>
Préventif	Heinrichs et al, 2009	veaux laitiers	Troubles digestifs	Diarrhée (score)	***	Prébiotique	non précisé (produit commercial)	Identité du produit non précisée, mais contient les produits de fermentation de <i>Lactobacillus gasserii</i> OLL2716 et de <i>Propionibacterium freudenreichii</i> ET-3 Infection spontanée, conditions de terrain contrôlées. 3 lots de 25 veaux chacun, l'un recevant des antibiotiques (oxytétracycline + néomycine), le 2 ^{ème} recevant le produit, le dernier = témoin non traité.
Préventif	Quigley et al, 1997	veaux laitiers	Troubles digestifs Croissance	score fécal (sévérité et durée)	***	Prébiotique	Galactosyl lactose	Infection spontanée, conditions de terrain 3 lots de 32 veaux chacun recevant : des antibiotiques (oxytétracycline+néomycine) pour l'un, du galactosyl-lactose pour le 2ème, le 3ème lot constituant le témoin non traité.

Base de la comparaison n°1	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n°2	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique
Produit "multispèces HUMAIN" vs témoin non traité Produit "spécifique veau" vs témoin non traité	S NS	Diminution incidence diarrhée sévère avec les deux probiotiques Avantage du probiotique "veau" pour incidence et durée de la diarrhée	Produit "multispèces HUMAIN" vs produit "spécifique veau" vs témoin non traité	S S (essai 4) NS (essai 3)	Plus forte amplitude avec le mélange veau	Adjuvant dans la prévention de la maladie	4
Produits vs témoin non traité	NS					Prévient la maladie pour le mélange	4
	NS mais tendance						
	S						
Produit vs témoin non traité	NS					Ne prévient pas la maladie	4
Produit vs antibiotique	NS	Effet non différent avec antibiotique / produit				Contribue à diminuer le recours aux antibiotiques	4
Produit vs témoin non traité	S	Moyenne				Prévient la maladie	3
	Non précisé	Différences observables					
	S	Moyenne					
	Non précisé	Différences observables					
	S	Moindre colonisation de l'iléon					
Produit vs témoin non traité	NS mais tendance		Produit vs antibiotique	NS	Pas de différence entre lots antibiotique / produit / témoin	Ne prévient pas la maladie	3
Produit vs témoin non traité	S		Produit vs antibiotique	NS	Effet non différent avec antibiotique / produit	Prévient la maladie Contribue à diminuer le recours aux antibiotiques	3

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce animale	Maladie Fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau de pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit	Conditions de l'essai	Base de la comparaison n°1	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n°2	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique	
Préventif	Soltan 2009	veaux laitiers	non précisé (santé)	incidence et durée diarrhée	***	Huiles essentielles	huiles essentielles d'eucalyptus et de menthe + cristaux de menthol	Infection spontanée, conditions de terrain 4 lots de 25 veaux chacun (témoin + produit à 3 doses croissantes)	Produits vs témoin non traité	S	Pour doses élevées du produit				Prévient la maladie (à des doses élevées)	3	
Curatif	Bampidis et al, 2006	veaux nouveaux	colibacillose (digestif)	mortalité	***	Extrait de plante	Feuilles d'origan desséchées	Infection spontanée, conditions de terrain 2 lots - 30 veaux alloués (14 + 16), recevant pour le 1er, un antibiotique (néomycine) et pour le 2 ^{ème} , le produit Durée du traitement non précisée	Produit vs antibiotique	NS	Effet non différent avec antibiotique / produit				Traitement alternatif aux antibiotiques	3	
				nombre de jours de diarrhée	***												
				score de diarrhée	***												
Préventif	Santos et al, 2015	veaux laitiers	Diarrhée	Score fécal	***	Huiles essentielles	Mélange d'huiles essentielles non précisé	Infection spontanée, 3 lots de 30 veaux : produit / témoin non traité / starter + produit durée traitement non précisée	Produit vs témoin avec placebo vs starter + produit	NS					Ne prévient pas la maladie	3	
Préventif	Quigley et al, 2006	veaux laitiers	Santé, troubles digestifs, croissance	mortalité	***	sérum bovin		Infection spontanée 3 lots de 37, 39 et 40 veaux. Lot témoin recevant une quantité constante de lactoreplaceur ; 2 ^{ème} lot recevant une quantité croissante de lactoreplaceur ; 3 ^{ème} lot recevant du sérum bovin	Produit vs 2 témoins avec lactoreplaceur selon 2 modalités différentes	NS	Animaux avec meilleurs GMQ ont aussi plus de diarrhée				Ne prévient pas la maladie	3	
				score fécal (durée)	***												
Préventif	Quigley and Wolfe, 2003	veaux laitiers	Troubles digestifs et croissance des veaux	diarrhée (durée)	***	plasma animal bovin ou porcin		Infection spontanée, conditions de terrain 3 lots de 40 veaux chacun : lot témoin non traité, lot recevant du sérum porcin ; lot recevant du sérum bovin	Produits vs témoin non traité	S						Prévient la maladie	4
				scores de diarrhée	***					NS							
Préventif	Keohoe and Carlson, 2015	veaux	"croissance et santé"	scores fécaux	***	mélange de divers produits (inuline, plasma, levures, acide ascorbique)		Infection spontanée, conditions de terrain Animaux nourris avec lactoreplaceurs 3 lots de 36 veaux : lot témoin non traité ; lot recevant le mélange de produits ; lot recevant des antibiotiques (néomycine-tétracycline)	Produit vs témoin non traité	S	élevée	Produit vs antibiotiques	NS	Effet non différent avec antibiotique / produit	Prévient la maladie Contribue à diminuer le recours aux antibiotiques	3	

6.7.2 Conclusions par famille

6.7.2.1 Huiles essentielles et extraits de plantes

Pour les huiles essentielles, deux publications de niveau 3 ont été analysées, l'une (Soltan, 2009) évoquant un effet significatif (mais seulement pour des doses élevées de produit administré) et l'autre (Santos *et al.*, 2015) l'absence d'effet. S'agissant des extraits de plantes, une seule publication (Bampidis *et al.*, 2006) a été retenue, qui présente le mérite de comparer l'origan à un traitement antibiotique, sur un modèle de colibacillose. La publication est évaluée de niveau 3 et montre l'absence de différence entre le lot « néomycine » et le lot « origan » (cf. tableau 44).

Tableau 44 : Synthèse pour les publications relatives aux huiles essentielles et aux extraits de plantes – troubles digestifs veau

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	1	S ⁺ (P > Tém)	0	1
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	1

Le peu de publications retenues, leur score méthodologique et leurs résultats divergents ne permettent pas de conclure, ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique sur les diarrhées des veaux, pour la famille des huiles essentielles et des extraits de plantes, prise dans sa globalité.

6.7.2.2 Probiotiques

Trois publications (Abe *et al.*, 1995 ; Cruywagen *et al.*, 1996 ; Timmerman *et al.*, 2005), toutes évaluées de niveau 4, traitent la question de la prévention des diarrhées chez des veaux laitiers avec, soit un lactobacille, soit une association lactobacille/bifidobactérie, soit enfin des mélanges multi-espèces bactériennes. Là encore, les protocoles mis en œuvre sont très différents (témoin traité ou pas avec des antibiotiques, ...) d'une étude à l'autre, rendant la comparaison des résultats difficile. La publication de Timmermann *et al.* (2005) présente des résultats S et NS selon les probiotiques utilisés. A ce stade des conclusions par famille, les experts ont opté pour la compter 2 fois dans les tableaux de synthèse (S et NS). Ce faisant, deux études font mention d'un effet significatif, et deux ne relèvent pas d'effet significatif (*cf.* tableau 45).

Tableau 45 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – troubles digestifs veau

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	2
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	2

Le score méthodologique des publications retenues et leurs résultats divergents ne permettent pas de conclure, ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique sur les diarrhées des veaux, pour la famille des probiotiques, prise dans sa globalité.

6.7.2.3 Prébiotiques

Dans cette catégorie ont été retenues 3 publications (Brewer *et al.*, 2014 ; Heinrichs *et al.*, 2009 ; Donovan *et al.*, 2002). Les deux premières ont été évaluées comme étant de score méthodologique 3 et la dernière de score 4. Toutes les 3 abordent uniquement l'aspect « prévention », avec des critères pertinents. Les démarches scientifiques sont assez différentes, avec des critères variés, et les résultats également.

Une publication relève un effet significatif protecteur d'administration de produits de fermentation de *Saccharomyces cerevisiae* vis-à-vis d'une contamination par salmonelle. La deuxième qui étudie des prébiotiques non précisés ne révèle aucun effet, tandis que la dernière (niveau 4) ne montre pas de différence entre un lot avec antibiotiques et un lot avec prébiotiques (signifiant soit une non infériorité des prébiotiques par rapport aux antibiotiques, soit un manque de puissance de l'essai, qui ne peut être exclu du fait du score méthodologique de 4) (tableau 46).

Tableau 46 : Synthèse pour les publications relatives aux prébiotiques – troubles digestifs du veau

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	2	S ⁺ (P > Tém)	0	1
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	1

Le score méthodologique des publications retenues et leurs résultats divergents ne permettent pas de conclure, ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique sur les diarrhées des veaux, pour la famille des prébiotiques, prise dans sa globalité.

6.7.3 Conclusions par produit

En ce qui concerne les familles de produits présentées ci-dessus, le faible nombre de publications retenues, la diversité des substances concernées et le score méthodologique des publications, toutes de niveau 3-4, ne permettent pas d'envisager une conclusion spécifique pour l'un ou l'autre des produits pour ces familles.

D'autres produits ont été testés dans certaines publications :

6.7.3.1 Immunoglobulines γ de l'œuf

Une seule publication, de Diraviyam *et al.* (2014), traite au travers d'une méta-analyse (score méthodologique de 2), de l'effet des IgY de l'œuf sur les diarrhées de veaux.

Cette étude a conclu à l'intérêt et donc à un effet potentiel sur l'incidence de la maladie, tant en prévention qu'en traitement (*cf.* tableau 47).

Tableau 47 : Synthèse pour les publications relatives aux IgY – troubles digestifs du veau

Tableau de synthèse Prévention / témoin			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S	1		S	1	
NS			NS		

L'application de la règle de décision de la figure 3 amène à la conclusion suivante : « *Les données scientifiques disponibles permettent d'envisager que les immunoglobulines γ de l'œuf préviennent et traitent les troubles digestifs des veaux, mais avec un niveau de confiance faible. Compte tenu du très petit nombre de publications identifiées, cette conclusion reste en outre dépendante des conditions expérimentales* ».

6.7.3.2 Autres produits

On citera ici les trois publications d'une même équipe rapportant des essais de prévention de diarrhées des veaux laitiers à l'aide d'ajout à la ration de **galactosyl lactose** (Quigley *et al.*, 1997), de **sérum bovin déshydraté** (Quigley *et al.*, 2003) ou de **plasma (bovin ou porcin)** toujours déshydraté" (Quigley *et al.*, 2006). Ces publications menées par la même équipe, avec des protocoles expérimentaux pourtant différents, donnent toutes les trois des résultats encourageants (effet équivalent à un traitement antibiotique, diminution de la durée des diarrhées...). Elles sont évaluées de score méthodologique 3 pour l'une et quatre pour les deux dernières.

Le faible nombre de publications retenues, la diversité des substances concernées et le score méthodologique des publications, toutes de niveau 3-4, ne permettent pas d'envisager une conclusion spécifique pour l'un ou l'autre de ces produits.

6.8 Maladies systémiques des poissons

6.8.1 Grille d'analyse des publications

L'analyse bibliographique initiale a été réalisée à l'aide du moteur de recherche Web of Science (dernière consultation en décembre 2016), en testant diverses combinaisons de mots clés (présence dans le titre ou le résumé des articles). L'essai de plusieurs combinaisons peu restrictives renvoyant à des centaines de références a conduit à retenir finalement la combinaison suivante, en vue d'un premier tri « manuel » sur critère de pertinence :

((fish AND product AND (antibiotic* OR antimicrobial*) AND bacter* AND (disease* OR infect*))

produit = « probiotic* » ou (« plant extract* » OR phyto*gen*) ou (« essential oil* ») ou (« organic acid »).

Les références obtenues étaient au nombre de 72 pour les probiotiques, 19 pour les huiles essentielles, 15 pour les extraits de plantes et 7 pour les acides organiques. De nombreux « faux-positifs », traitant par exemple de crustacés (le terme « fish » étant ambigu en anglais) ont été éliminés. A cette étape, plus aucune étude sur les acides organiques n'a été conservée.

D'autres études, souvent publiées dans des revues à très faible facteur d'impact et rapportant seulement des résultats d'inhibition *in vitro* de bactéries pathogènes des poissons n'ont également pas été retenues, car jugées trop préliminaires. Il a été décidé de recentrer le recensement d'articles par l'intégration d'un critère de présence d'une infection expérimentale ou spontanée. Par ailleurs, l'examen des listes de références de 3 revues de synthèse a permis d'identifier quelques études supplémentaires non trouvées par le moteur de recherche.

Du corpus d'une cinquantaine de publications retenues à cette étape, plusieurs articles ont ensuite été exclus, après consultation du GT, car jugés peu pertinents, au regard des espèces de poissons étudiées et du contexte aquacole français et européen. Toutefois, quelques études, jugées intéressantes bien que portant sur des espèces modèles (poisson zèbre) ou exotiques, ont été conservées.

Finalement, 35 articles ont été retenus pour une analyse approfondie. Parmi ceux-ci, 29 concernent des probiotiques, 4 des huiles essentielles/extraits végétaux et 2 les deux familles de produits (*cf.* tableau 48).

En termes de produits étudiés, les articles retenus couvrent une très grande diversité, puisqu'un même produit, au sens strict, n'est jamais testé dans plusieurs études. Concernant les probiotiques, certaines espèces bactériennes ou levures sont testées dans plusieurs études, mais avec des souches différentes. On observe également une grande diversité d'espèces de poissons et de bactéries pathogènes utilisées lors des infections expérimentales. Au total, les études retenues portent sur 14 espèces de poissons parmi lesquelles la truite Arc-en-Ciel (production majoritaire en France) est la plus fréquente, avec 15 études. Les bactéries pathogènes principalement étudiées sont des *Aeromonas* (15 études avec *A. salmonicida*, *A. hydrophila* ou *A. bestiarum*), des *Vibrio* (11 études), ou plus rarement *Yersinia ruckeri* et *Edwardsiella tarda* (4 études chacun), ou encore *Flavobacterium spp* (3 études).

Tableau 48 : Analyse des publications relatives aux maladies des poissons (à lire sur 2 pages).

Approche curatif/préventif	Référence publication	Espèce poisson	Pathogène/ maladie	Variables mesurées	Niveau de pertinence de la variable	Famille du produit	Substances du produit (ou souches)	Conditions de l'essai
Prévention (métaphylaxie)	Boutin et al., 2012	Ombre de fontaine (Salvelinus fontinalis)	Flavobacterium columnare/ columarirose	Mortalité	***	Probiotique	9 bactéries isolées du mucus d'ombles sont d'abord testées <i>in vitro</i> : Actinobactéries (6 souches), proteobactéries (3 souches); Parmi ces souches, 7 présentant une activité <i>in vitro</i> sont mélangées et testées lors d'une infection spontanée	Infection spontanée après un stress lié à un transport des poissons. Probiotique utilisé en métaphylaxie, après apparition des premiers symptômes (mais avant toute mortalité) Probiotique administré dans l'eau
Prévention	Caruffo et al., 2016	Poisson zèbre (larves)	Vibrio anguillarum/ Vibriose (septicémie hémorragique)	Mortalité	***	Probiotique	Levures : 15 souches isolées principalement de salmonidés ; 7 espèces et 2 phyla représentés. <i>Candida deformans</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> , <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Yarrowia lipolytica</i> , <i>Metschnikowia viticola</i> , <i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Candida sp</i>	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment Etude menée sur stade larvaire. Suggère que l'effet probiotique de protection est obtenu par colonisation de l'intestin.
Prévention	Nikoskelainen et al., 2001	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	Aeromonas salmonicida/ furunculose	Mortalité	***	Probiotique	<i>Lactobacillus rhamonosus</i>	Infection expérimentale par cohabitation Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Sharifuz-zaman et Austin, 2009a	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	Vibrio anguillarum	Mortalité Paramètres hématologiques/ immunologiques	*** *	Probiotique	<i>Kocuria</i>	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Sharifuz-zaman et Austin, 2009b	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	Vibrio anguillarum Vibrio ordalii	Mortalité Paramètres hématologiques/ immunologiques	*** *	Probiotique	<i>Kocuria</i> SM1	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Aly et al., 2008	Tilapia du Nil (Oreochromis niloticus)	Aeromonas hydrophyla Pseudomonas fluorescens Streptococcus iniae	Mortalité (taux de protection) Activité bactéricide du sérum Hématocrite NBT assay (burst respiratoire) Adherence neutrophiles (AN)	*** * * * *	Probiotique	<i>Bacillus subtilis</i> , seul ou en mélange avec <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Balcazar et al., 2007	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	Aeromonas salmonicida/ furunculose	Mortalité Paramètres de réponse immunitaire	*** *	Probiotique	<i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Lactobacillus sakei</i>	Infection expérimentale par cohabitation Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Burbank et al., 2011	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	Flavobacterium psychrophilum/ flavobactériose (maladie des eaux froides)	Mortalité	***	Probiotique	10 souches testées, 2 identifiées car efficaces : <i>Enterobacter sp</i>	Infection expérimentale 4 conditions d'essai (probiotiques administrés avant/après challenge, doses infectieuses, différents temps...) Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Capkin and Altinok, 2009	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	Yersinia ruckeri/ Yersiniose	Mortalité Globules blancs, hémoglobine	*** *	Probiotique	<i>Enterobacter cloacae</i> + <i>Bacillus mojavensis</i> (en mélange)	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Chabrilion et al., 2006	Daurade (Sparus aurata)	Listonella anguillarum (= Vibrio anguillarum)	Mortalité Adhésion de L. anguillarum aux mucus (peau, branchies, intestin)	*** *	Probiotique	3 vibronaceae sont d'abord testées <i>in vitro</i> . Une seule souche est retenue pour être testée en infection expérimentale	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Chen et al., 2016	Turbot (Scophthalmus maximus)	Vibrio anguillarum	Mortalité Nombreux paramètres sériques Activités enzymatiques dans hépatopancréas, intestin, estomac	*** * *	Probiotique	<i>Bacillus spp.</i> M001	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Gram et al., 1999	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	Vibrio anguillarum	Mortalité	***	Probiotique	<i>Pseudomonas fluorescens</i> AH2	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'eau pendant les 5 jours précédant l'infection par <i>V. anguillarum</i> , ou durant l'infection (1h), ou les deux.
Prévention	Korkea-Aho et al., 2011	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	Flavobacterium psychrophilum/ flavobactériose (maladie des eaux froides)	Mortalité Paramètres hématologiques/imm unologiques Numérations bactériennes (rein,rate) + lésions	*** * **	Probiotique	<i>Pseudomonas</i> M174	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Gupta et al., 2014	Carpe commune (Cyprinus carpio)	Aeromonas hydrophila	Mortalité Paramètres immunité innée	*** *	Probiotique	<i>Bacillus coagulans</i> (Bc) <i>Bacillus licheniformis</i> (Bl) <i>Paenibacillus polymyxa</i> (Pp)	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment

Base de la comparaison n°1	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n°2	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique
Témoin	S ⁺	Mortalité réduite de 54 à 86% (Vs témoin) selon famille de poisson.				Prévient la maladie	2
Témoin	S ⁺ (pour 13 souches probiotiques sur 15)	Survie 40-80% Vs 40% (témoin), selon souche probiotique				Prévient la maladie	2
Témoin	S ⁺	Mortalité 19% et 46% selon dose Vs 53% (témoin)				Prévient la maladie	2
Témoin	S ⁺ (variable selon durée d'administration)	Mortalité 22-62% selon durée d'administration Vs 70-90% (témoin)				Prévient la maladie	3
Témoin	S ⁺	Mortalité 15-20% Vs 74-80% (témoin)				Prévient la maladie	2
Témoin	S ⁺	Taux relatif de protection : 20-50% selon cas				Prévient la maladie	3
Témoin	S ⁺	Survie 97,8-100% Vs 65,6% (témoin)				Prévient la maladie	3
Témoin	S pour certaines conditions avec le probiotique administré pré-challenge	Mortalité réduite d'environ 45% au mieux				Prévient la maladie dans certaines conditions	3
Témoin	S ⁺	Taux de survie 89-99% Vs 35% (témoin)				Prévient la maladie	3
Témoin	S ⁺	Mortalité à 20 jours : 10% Vs 56% (témoin)				Prévient la maladie	3
Témoin	S ⁺	Mortalité : 33% Vs 89,3% (témoin)				Prévient la maladie	3
Témoin	S ⁺	Mortalité 32-44 % selon mode du traitement Vs 50% (témoin)				Prévient la maladie pour une partie de la population	3
Témoin	S ⁺	Faible : Mortalité 41% Vs 57 % (témoin)				Prévient la maladie pour une faible partie de la population	3
Témoin	S ⁺	Survie 37% (Bc), 40% (Bi), 50% (Pp) Vs 20% témoin				Prévient la maladie pour une partie de la population	3

Approche curatif/préventif	Référence publication	Espèce poisson	Pathogène/ maladie	Variables mesurées	Niveau de pertinence de la variable	Famille du produit	Substances du produit (ou souches)	Conditions de l'essai
Prévention	Newaj-Fyzul et al., 2007	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	Aeromonas sp.	Mortalité Paramètres hématologiques/ immunologiques	*** *	Probiotique	<i>Bacillus subtilis</i>	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Pieters et al., 2008	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	Aeromonas bestiarum (infection cutanée)	Mortalité Paramètres hématologiques/ immunologiques	*** *	Probiotique	<i>Aeromonas sobria</i> (As) <i>Brochothrix thermosphacta</i> (Bt)	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Raida et al., 2003	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	<i>Yersinia ruckeri</i> / Yersiniose	Mortalité Paramètres hématologiques/immunologiques Numérations bactériennes (rein,rate) + lésions	*** * **	S	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus licheniformis</i> en mélange	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Sorroza et al., 2012	Bar (Dicentrarchus labrax)	<i>Vibrio anguillarum</i>	Mortalité	***	Probiotique	<i>Vagococcus fluvialis</i>	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Vendrell et al., 2008	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	<i>Lactococcus garviae</i>	Mortalité	***	Probiotique	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Infection expérimentale par cohabitation Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Brunt et al., 2007	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	<i>Aeromonas salmonicida</i> / furunculose <i>Lactococcus garviae</i> <i>Streptococcus iniae</i> <i>Vibrio anguillarum</i> <i>Vibrio ordalii</i> <i>Yersinia ruckeri</i>	Mortalité Paramètres immunité innée	*** *	Probiotique	<i>Bacillus sp</i> <i>Aeromona sobria</i> (isolées du tube digestif de truites)	Infection expérimentale par injection du pathogène ou par cohabitation. Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Harikrishnan et al., 2010	Carpe commune (Cyprinus carpio)	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Mortalité Paramètres hématologiques/ immunologiques	*** *	Probiotique	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (L) <i>Lactobacillus sporogenes</i> (S)	Infection expérimentale par injection du pathogène Probiotique administré dans l'aliment post-infection (6)
Prévention	Irianto et Austin, 2002	Truite Arc-en-Ciel (Oncorhynchus mykiss)	<i>Aeromonas salmonicida</i> / furunculose	Mortalité Paramètres hématologiques/ immunologiques	*** *	Probiotique	<i>Aeromonas hydrophyla</i> <i>Vibrio fluvialis</i> <i>Carnobacterium sp</i> 1 bactérie Gram+ non identifiée	Infection expérimentale par injection intra-péritonéale (IP) du pathogène ou par cohabitation Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Garcia de la banda et al., 2010	Sole (Solea senegalensis)	<i>Photobacterium damsela</i> / photobacteriose (maladie des eaux froides)	Mortalité	***	Probiotique	<i>Shewanella</i> (2 souches)	Infection expérimentale par injection du pathogène Probiotique administré dans l'aliment (mort ou vivant), ou dans l'eau, pendant 1 mois avant challenge
Prévention	Austin et al., 1995	Saumon Atlantique	<i>Aeromonas salmonicida</i> / furunculose <i>Vibrio anguillarum</i> <i>Vibrio ordalii</i> <i>Yersinia ruckeri</i>	Mortalité	***	Probiotique	<i>Vibrio alginolyticus</i>	Infection expérimentale par cohabitation Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Chang et Liu, 2002	Anguille européenne (Anguilla anguilla)	<i>Edwardsiella tarda</i> / Edwardsiellose	Mortalité	***	Probiotique	<i>Enterococcus faecium</i> (EF)SF68 <i>Bacillus toyoi</i> (Bt)	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Schaeck et al., 2016	Bar (Dicentrarchus labrax) Larves	<i>Vibrio harvey</i> / vibriose	Mortalité	***	Probiotique	<i>Bacillus sp</i> LT3 <i>Vibrio lentus</i> <i>Vibrio proteolyticus</i>	Infection expérimentale. Modèle gnotobiotique (germ-free larvae Vs probiotic-treated) Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Cerezuela et al., 2012	Daurade (Sparus aurata)	<i>Photobacterium damsela</i> / photobacteriose	Mortalité Paramètres d'immunité innée	*** *	Probiotique	<i>Bacillus subtilis</i> (+/- inuline)	Infection expérimentale Probiotique administré dans l'aliment
Prévention	Harikrishnan et al., 2011	Oplegnathus fasciatus (rock bream)	<i>Edwardsiella tarda</i> / Edwardsiellose	Mortalité Paramètres hématologiques/ immunologiques	*** *	Probiotique	<i>Lactobacillus sakei</i>	Infection expérimentale par injection du pathogène Probiotique administré dans l'aliment post-infection (7)
Prévention	Taoka et al., 2006	Tilapia du Nil (Oreochromis niloticus)	<i>Edwardsiella tarda</i> / Edwardsiellose	Mortalité Paramètres hématologiques/ immunologiques	*** *	Probiotique	Mélange de souches bactériennes et levures : <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Clostridium butyricum</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Infection expérimentale par injection du pathogène Probiotique administré dans l'aliment

Base de la comparaison n°1	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n°2	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique
Témoins	S ⁺	Survie 65-100% selon dose/conditions Vs 5-15% (témoin)				Prévient la maladie	3
Témoins	S ⁺	Survie 76% (As) et 88%(Bt) Vs 22% (témoin)				Prévient la maladie	3
Témoins	S ⁺	Mortalité 58% Vs 83%, 91% (témoin)				Prévient la maladie pour une partie de la population	3
Témoins	S ⁺	mortalité 17% Vs 30 % (témoin)				Prévient la maladie pour une partie de la population	3
Témoins	S ⁺ pour les 2 souches probiotiques	46 % et 54% (T) Vs 78 % (témoin)				Prévient la maladie pour une partie de la population	3
Témoins	S ⁺	Groupes traités : mortalité 0 à 13% selon pathogène Vs 80 à 100 % (témoins)				Prévient la maladie	3
Témoins	S ⁺	mortalité 35% (L) et 45% (S) Vs 85% (témoin)				Prévient la maladie	3
Témoins	S ⁺ (mais d'ampleur différente selon les souches)	IP : mortalité 0% Vs 48% (témoin) Cohabitation : mortalité 0% à 80% selon souche Vs 90 % (témoin)				Prévient la maladie	3
Témoins	S ⁺	Mortalité : 65-75% Vs 100% (témoin)				Prévient la maladie pour une partie de la population	4
Témoins	S ⁺ (mais d'ampleur différente) sauf pour Yersiniose (NS)	mortalité 18% Vs 100% (témoin) mortalité 74% Vs 90% (témoin) mortalité 74% Vs 100% (témoin) 100% mortalité traité et témoin				Prévient la maladie, plus nettement pour A. salmonicida que pour Vibrio. Ne prévient pas la maladie pour Yersinia	3
Témoins	S ⁺ pour 1 souche (Ef SF68) NS pour l'autre	Survie 73% Vs 45% (témoin) pour la souche efficace				Prévient la maladie pour Ef SF68 Ne prévient pas la maladie pour Bt	2
Témoins	S ⁺ pour V. lentus NS pour les autres	Mortalité 2-7% Vs 60-65% (témoin) pour V. lentus				Prévient la maladie pour V. lentus Ne prévient pas la maladie pour les autres	3
Témoins	NS, ou S ⁻ (adverse : mortalité augmentée)	Mortalité 100% (inuline + probiotique) Vs 50% (témoin)				Ne prévient pas la maladie	2
Témoins	NS					Ne prévient pas la maladie	3
Témoins	NS					Ne prévient pas la maladie	4

Approche curatif/préventif	Référence publication	Espèce poisson	Pathogène/maladie	Variables mesurées	Niveau de pertinence de la variable	Famille du produit	Substances du produit (ou souches)	Conditions de l'essai
Curatif	Sutli et al., 2015	Poisson chat (Rhamdia quelen)	Aeromonas hydrophila	Mortalité	***	Huiles essentielles (HE)	HE <i>Hesperozygis ringens</i> (H) et 2 basilics (<i>americanum</i> A et <i>gratissum</i> G)	Infection expérimentale par injection intramusculaire du pathogène Traitement curatif par bains 1h/j pendant 5 j
Prévention	Rattanachai-kunsopon et Phumkha-chorn, 2009	Tilapia du Nil (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Lactococcus garviae	Mortalité	***	Huiles essentielles (HE)	HE de clou de girofle (sélectionnée après essais <i>in vitro</i> en concurrence avec cannelle, gingembre, basilic sacré)	Infection expérimentale par injection du pathogène. HE administrée dans l'aliment dès l'infection.
Prévention	Faikoh et al., 2014	Poisson zèbre (<i>Danio rerio</i>)	Aeromonas hydrophila Vibrio vulnificus Streptococcus agalactiae	Mortalité Expression de cytokines inflammatoires	*** *	Extrait de plante	Cinnamaldéhyde (extrait de canelle), encapsulé en liposomes	Infection expérimentale par injection des pathogènes Traitement par bains thérapeutiques
Prévention	Menanteau-Ledouble et al., 2015	Truite Arc-en-Ciel (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Aeromonas salmonicida/ Furonculose	Mortalité	***	Huiles essentielles (HE)	HE d'Origan + anis + citrus Encapsulé	Infections expérimentales Injection IP des pathogènes, ou immersion, ou cohabitation Huile essentielle dans l'aliment (0,2g/kg aliment)
Prévention	Harikrishnan et al., 2010	Carpe commune (<i>Cyprinus carpio</i>)	Aeromonas hydrophila	Mortalité Paramètres hématologiques/immunologiques	*** *	Extrait de plantes	Extrait de 3 plantes : <i>Azadirachta indica</i> (margousier) + <i>Oscimum sanctum</i> (basilic sacré) + <i>Curcuma longa</i> (safran indien)	Infection expérimentale par injection du pathogène Probiotique administré dans l'aliment post-infection (6j)
Prévention	Harikrishnan et al., 2011	Brème de mer (<i>Oplegnathus fasciatus</i>)	<i>Edwardsiella tarda</i>	Mortalité Paramètres hématologiques/immunologiques	*** *	Extrait de plante	Extrait de <i>Scutellaria baicalensis</i>	Infection expérimentale par injection du pathogène Probiotique administré dans l'aliment post-infection (7j)
Prévention	Sutli et al., 2015	Poisson chat (Rhamdia quelen)	Aeromonas hydrophila	Mortalité	***	Huiles essentielles (HE)	HE <i>Hesperozygis ringens</i> (H) et 2 basilics (<i>americanum</i> A et <i>gratissum</i> G)	Infection expérimentale par injection intramusculaire du pathogène Traitement par bains préventifs 1h/j pendant 5 j

Base de la comparaison n°1	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n°2	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score méthodologique
Témoïn	S ⁺	Survie 40% dans groupe contrôle, 70 et 66% avec H à 40 et 20 mg/l et 75% avec A à 20 mg/l	Antibiotique : gentamicine	NS	Survie 80% avec Gentamicine, 70 et 66% avec H à 40 et 20 mg/l et 75% avec A à 20 mg/l = effet équivalent	Traite la maladie pour une partie de la population. Effet proche de la gentamicine pour 2 huiles essentielles → alternative aux antibiotiques	2
Témoïn	S ⁺	D'après courbes mortalité à 10j : 0 avec 3% HE ; 10% avec 2% HE ; 15% avec 1% HE ; 30% avec 0,5%HE (50% sans traitement car infection avec dose DL50)	Antibiotique : Oxytetracycline	NS	D'après courbes mortalité à 10j : 0 avec OTC et 3% HE ; 10% avec 2% HE ; 15% avec 1% HE ; 30% avec 0,5%HE (50% sans traitement car infection avec dose DL50)	Prévient la maladie Effet proche de l'oxytétracycline à certaines doses → contribue à diminuer le recours aux antibiotiques	3
Témoïn	S ⁺	Survie avec Vibrio 58%, avec Aeromonas 36%, avec Streptococcus 31% Vs 0% (témoïn)				Prévient la maladie pour une partie de la population	3
Témoïn	S ⁺	Variable selon mode infection (réduction de moitié (18% Vs 37%) qd les 3 modes sont considérés ensemble)				Prévient la maladie pour une partie de la population	3
Témoïn	S ⁺	Mortalité réduite de 85% à 50% par l'extrait des 3 plantes				Prévient la maladie pour une partie de la population	3
Témoïn	NS					Ne prévient pas la maladie	3
Témoïn	NS					Ne prévient pas la maladie	2

6.8.2 Conclusions par famille

6.8.2.1 Huiles essentielles et extraits de plantes

Deux publications montrent un **effet curatif** favorable. L'une, de score méthodologique de 2, montre pour 2 huiles essentielles une efficacité équivalente à celle de la gentamicine, pour le traitement par bain thérapeutique d'une infection expérimentale à *Aeromonas hydrophila* chez des poissons-chats (Sutili *et al.*, 2015). L'autre publication (de score 3) ne comporte pas de comparaison à un antibiotique, mais montre un effet favorable significatif (contre témoin non traité) d'un extrait de cannelle appliqué en bains thérapeutiques pour le traitement d'infections avec 3 bactéries pathogènes (Faikoh *et al.*, 2014). Les taux de mortalité restent cependant très élevés (40 à 70%) (cf. tableau 49).

Tableau 49 : Synthèse pour les publications relatives aux HE-extraits de plantes en approche curative – maladies des poissons

Tableau de synthèse Curatif / AB ^q			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	1	0	S ⁺ (P > Tém)	0	1
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

En conclusion, certaines huiles essentielles et extraits de plantes pourraient constituer une approche intéressante en tant qu'alternatives aux antibiotiques pour traiter (en curatif) des infections bactériennes des poissons. Cependant, compte tenu du très petit nombre de publications, ce résultat positif nécessite d'être confirmé et des études supplémentaires devront être menées pour démontrer que certains de ces produits pourraient être efficaces comme alternatives aux antibiotiques pour traiter certaines maladies des poissons.

Un **effet préventif** est rapporté dans 5 publications. L'une d'entre elles (score méthodologique de 3) montre qu'ajoutée à l'aliment, l'huile essentielle de clou de girofle a un effet équivalent à la tétracycline pour prévenir la lactococcose chez des Tilapia (Rattanachaikunsopon *et al.*, 2009). Deux publications (score de 3) montrent des effets favorables significatifs d'un produit commercial composé d'huiles essentielles de citrus, anis et origan sur la mortalité de truites infectées par *Aeromonas salmonicida* (agent de la furunculose) (Menanteau-Ledouble *et al.*, 2015) et d'un extrait « tri-herbal » (neem, safran et basilic sacré) sur la mortalité de carpes infectées par *Aeromonas hydrophila* (Harikrishnan *et al.*, 2010). Cependant dans les 2 cas, l'effet protecteur observé n'est que très partiel et la mortalité reste élevée. Par ailleurs, 2 autres publications (scores méthodologiques de 2 & 3) ne montrent aucun effet préventif significatif, pour des huiles essentielles par ailleurs efficaces en approche curative (Sutili *et al.*, 2015) et pour un extrait de plantes (Harikrishnan *et al.*, 2011) (cf. tableau 50).

Tableau 50 : Synthèse pour les publications relatives aux HE-extraits de plantes en approche préventive – maladies des poissons

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publis	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publis	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	1	S ⁺ (P > Tém)	0	2
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	1	1

Le score méthodologique des publications retenues et leurs résultats divergents ne permettent pas de conclure, ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique en approche préventive, sur les maladies des poissons, pour la famille des huiles essentielles et extraits de plantes, prise dans sa globalité.

6.8.2.2. Probiotiques

Vingt-neuf publications ont été retenues pour l'analyse du potentiel des probiotiques, pour servir d'alternative aux antibiotiques ou pour limiter le recours à ceux-ci chez les poissons (tableau 51).

Les probiotiques testés dans ces publications sont très divers. Ce sont le plus souvent des bactéries, bien que des levures soient parfois utilisées. Les mélanges de souches sont courants, notamment dans les préparations commerciales. Les bactéries les plus couramment utilisées sont des genres *Bacillus* ou *Lactobacillus*, mais beaucoup d'autres sont testées. Certaines souches testées, isolées de poissons (tube digestif, mucus) au cours de l'étude, sont parfois mal caractérisées en termes d'espèce, voire de genre.

Les candidats probiotiques sont souvent d'abord testés *in vitro* pour leur antagonisme vis-à-vis des bactéries pathogènes. Sur ce critère, seuls quelques-uns sont ensuite retenus pour des essais *in vivo* (infections expérimentales). L'effet recherché lors de ces infections est celui d'une réduction de la mortalité induite. La modalité d'infection la plus courante est l'immersion dans une suspension du pathogène, mais certaines études décrivent des infections par cohabitation (contact avec des poissons préalablement infectés), ou par injection péritonéale. Dans la plupart des cas, les poissons reçoivent le probiotique dans leur aliment (ou plus rarement dans l'eau), à des doses diverses et durant une période plus ou moins longue précédant l'infection expérimentale (quelques jours à quelques semaines). L'effet recherché est donc un effet de prévention de la maladie chez les poissons soumis à l'infection expérimentale. La mortalité est suivie en parallèle dans des groupes ayant reçu ou pas (témoin non traité) le probiotique testé. Parmi les études retenues, trois font toutefois exception, puisque l'administration du probiotique est postérieure à l'infection. Dans deux d'entre elles (Harikrishnan *et al.*, 2010, 2011), le probiotique est administré quelques jours après une infection expérimentale, mais avant l'apparition de signes cliniques. Comme pour les autres études, le traitement est donc considéré comme préventif. La troisième étude dans ce cas (Boutin *et al.*, 2012) décrit, dans le cadre d'une infection spontanée (maladie déclenchée suite à un stress de transport), une utilisation « métaphylactique » d'un probiotique, c'est-à-dire à l'apparition des premiers signes cliniques sur quelques poissons, mais avant toute mortalité.

Dans l'ensemble des publications analysées, quel que soit le mode d'administration du probiotique testé, ses effets ne sont jamais comparés à ceux d'un antibiotique.

Une majorité des publications analysées (27 sur 29, dont 6 avec un score méthodologique de 2) indiquent un effet favorable significatif de réduction de la mortalité pour au moins un des probiotiques testés, pour au moins une bactérie pathogène et dans au moins une des conditions testées. Il faut noter qu'une publication (Cerezuela *et al.*, 2012 ; score = 2) montre un effet

défavorable significatif (augmentation de la mortalité par rapport au témoin non traité) d'un probiotique (une souche de *Bacillus subtilis*) lorsqu'il est associé à de l'inuline.

Les effets favorables décrits, même lorsqu'ils sont significatifs d'un point de vue statistique, sont d'amplitude très variable. Certaines publications indiquent des efficacités préventives importantes, les mortalités étant abaissées de façon très forte par rapport au témoin non traité, parfois jusqu'à des niveaux négligeables (Schaeck *et al.*, 2016), voire nuls (Brunt *et al.*, 2007). Toutefois, la majorité des publications montre plutôt des effets moyens ou faibles, qui posent même parfois la question d'une réelle signification biologique ou d'un intérêt par rapport aux objectifs à atteindre en élevage. C'est le cas lorsque, même avec le probiotique, la mortalité reste à un niveau qui justifierait, en élevage commercial, un recours thérapeutique aux antibiotiques.

Tableau 51 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – maladies des poissons

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	6	21
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	1	2

En considérant l'ensemble des publications analysées, il est possible de conclure que certains probiotiques ont un effet préventif leur permettant de réduire la mortalité des poissons liée aux maladies bactériennes. Cette famille de produit peut donc être considérée comme prometteuse dans un objectif de réduction du recours aux antibiotiques chez les poissons.

6.8.3 Conclusions par produit

En ce qui concerne les **huiles essentielles et extraits de plantes**, le faible nombre de publications retenues, la diversité des substances testées et le score méthodologique des publications, majoritairement de niveau 3-4 ne permettent pas d'envisager une conclusion spécifique pour l'un ou l'autre des produits pour cette famille.

En ce qui concerne les **probiotiques**, la conclusion favorable vis-à-vis de la famille de produits ne peut s'appliquer, à l'heure actuelle, à aucun probiotique en particulier, faute de confirmations suffisantes. Il faut en effet souligner que chacun des résultats favorables mis en évidence dans les publications, l'a été pour un probiotique donné, administré selon un schéma précis à une espèce de poisson particulière et en prévention d'une maladie spécifique provoquée par une souche bactérienne présentant des caractéristiques propres. Il est possible que certains probiotiques puissent, par exemple par stimulation de l'immunité non spécifique, prévenir de façon efficace plusieurs maladies chez plusieurs espèces de poissons. Dans ce cas, une solution probiotique de type « one fit-all » (protégeant toute espèce contre toute maladie) serait envisageable et très avantageuse, non seulement d'un point de vue industriel et commercial, mais aussi en termes d'utilisation.

Mais il est aussi possible que le spectre d'efficacité des probiotiques soit assez étroit, au regard des espèces protégées et des maladies considérées ; les diverses études disponibles allant plutôt dans le sens de cette hypothèse. Dans ce cas, pour réduire efficacement l'utilisation globale d'antibiotiques chez les poissons d'élevage, il serait pragmatique d'établir des priorités quant aux recherches et au développement de probiotiques efficaces, et de les focaliser sur les productions majeures. Ainsi, en France, l'effort pourrait porter plus particulièrement sur des probiotiques

efficaces chez la truite Arc-en-Ciel, dont le traitement des maladies bactériennes en élevage est majoritairement responsable de l'utilisation des antibiotiques en aquaculture.

L'identification de probiotiques prometteurs, stade auquel s'arrêtent la plupart des études, n'est évidemment pas suffisante. Afin de valider leur efficacité, il serait nécessaire non seulement de répéter des études ponctuelles de type « infections expérimentales », mais aussi de réaliser des études à plus long terme en conditions d'élevage. En effet, les infections expérimentales permettent de répondre à la question « quelle réduction de la mortalité lors d'une maladie ? », mais elles ne renseignent pas sur la capacité des probiotiques à prévenir les épisodes infectieux à l'échelle des populations de poissons, et par conséquent à réduire la fréquence des traitements antibiotiques lors de cycles d'élevage complets.

6.9 Rhodococcose du poulain

6.9.1 Grille d'analyse des publications

Tableau 52 : Analyse des publications relatives à la rhodococcose chez le poulain (à lire sur 2 pages)

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce animale	Maladie fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau de la pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit ou souche(s)	Conditions de l'essai
Préventif	Hooper-Mc Grevy et al., 2001	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Ratio poids poumons/ corps	***	Plasma hyperimmum	Plasma commercial	Infection expérimentale R. equi 25 x 10 ⁸ par poulain
				Numération bactéries pulmonaires	***			
Préventif	Caston et al., 2006	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Score radio-graphique	***	Plasma hyperimmum	Plasma commercial	Infection expérimentale R. equi 10 ⁸ par poulain Titre AC ant-VapA ≥ 1/10 000
				Score respiratoire (moment apparition score 22)	**			
				Ratio poids poumons/ corps	***			
				Mortalité	***			
				Score effort respiratoire (valeur max et âge associé)	**			
Préventif	Sanz et al., 2016	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Score pulmonaire échographique (ponctuel et cumulé)	***	Plasma hyperimmum	Plasma commercial	Infection expérimentale R. equi 6 x 10 ³ par poulain Titre AC ant-VapA ≥ 1/10 000
				Paramètres hématologiques	**			
				Nombre de cas	***			
Préventif	Erganis et al., 2014	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Score lésionnel poumons et autres organes	***	Plasma hyperimmum poulain + vaccin jument	Plasma non commercial	Infection expérimentale R. equi 10 ⁵ par poulain Plasma produit sur 9 juments arabes donneuses
				Paramètres hématologiques	**			
				Numération bactéries pulmonaires	**			
				Paramètres cliniques physiques (y compris auscultation)	**			
Préventif	Madigan et al., 1991	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Pourcentage de cas cliniques confirmés	***	Plasma hyperimmum	Plasma non commercial	Infection spontanée conditions de terrain Plasma produit sur 8 donneurs (Exp1) et 7 donneurs (Exp2)
Préventif	Martens et al., 1989	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Taux de mortalité	***	Plasma hyperimmum	Plasma non commercial	Challenge expérimental R. equi 3,75 x 10 ⁷ par poulain Plasma produit sur 2 hongres Quarter Horse
				Paramètres cliniques physiques et hématologiques	**			
Préventif	Becu et al., 1997	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Prévalence mortalité	***	Plasma hyperimmum	Plasma non commercial	Infection spontanée conditions de terrain Plasma produit sur 90 chevaux adultes
				Prévalence morbidité	***			
Préventif	Perkins et al., 2002	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Taux de mortalité	***	Plasma hyperimmum	Plasma commercial	Infection expérimentale R. equi 2,5 x 10 ⁸ par poulain
				Score radio-graphique	***			
				Degré de sévérité de la maladie (combinaison paramètres cliniques et lésionnels)	***			
				Paramètres hématologiques	**			

Base de la comparaison n° 1	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n° 2	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score de qualité intrinsèque
Produit vs Témoin avec placebo	S ⁺	Moyenne				Prévient la maladie	2
	S ⁺	Faible					
Produit vs Témoin avec placebo	S ⁺ score radiographique	Moyenne à élevée				Prévient la maladie	2
	S ⁺ score respiratoire	Faible					
	NS ratio poids poumons/corps						
	NS mortalité						
Produit vs Témoin non traité	S ⁺	Elevée				Prévient la maladie	2
	S ⁺						
	NS nombre de cas						
Produits (mères vaccinées et poulains traités HIP) vs Témoins (mères non vaccinées et poulains non traités)	S ⁺	Elevée				Prévient la maladie	3
	S ⁺						
	S ⁺						
	NS paramètres cliniques physiques						
Produit vs Témoin non traité	S ⁺	Elevée				Prévient la maladie	3
Produit vs Témoin avec placebo	S ⁺	Elevée				Prévient la maladie	3
	NS paramètres cliniques physiques						
Comparaison de la situation des élevages dans le temps	S ⁺	Faible				Prévient la maladie	4
	NS prévalence morbidité						
Produit vs Plasma équin normal (non recommandé pour prévenir la rhodococcose, Giguère et al, 2011)	NS					Ne prévient pas la maladie	2
	NS						
	NS						
	NS						

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce animale	Maladie fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau de la pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit ou souche(s)	Conditions de l'essai
Préventif	Giguere et al., 2002	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Pourcentage de cas cliniques confirmés	***	Plasma hyperimmum	Plasma commercial	Infection spontanée conditions de terrain
				Age lors de l'apparition des signes cliniques	**			
				Durée du traitement antibiotique	**			
Préventif	Higuchi et al., 1999	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Pourcentage de cas de pneumonie à R equi	***	Plasma hyperimmum	Plasma non commercial	Infection spontanée conditions de terrain Plasma produit sur 2 juments Pur Sang
Préventif	Hurley et Begg, 1995	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Nombre de cas de pneumonie à R equi	***	plasma hyperimmum	Plasma non commercial	Infection spontanée conditions de terrain Plasma produit sur 5 double-poneys
				Durée du traitement antibiotique	**			
Curatif	Chaffin et al., 1991	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Pourcentage de survivants	***	plasma hyperimmum	Plasma non commercial	Infection expérimentale R. equi 3,9 x 10 ⁸ par poulain par nébulisation Plasma produit sur 1 hongre Quarter horse
				Durée de survie	***			
				Score radiographique pulmonaire	***			
				Paramètres hématologiques	**			
				Bactériologie pulmonaire	**			
Curatif	Cohen et al., 2015	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Taux de mortalité	***	semi-métal trivalent	Maltolate de gallium	Infection spontanée, conditions de terrain
				Pourcentage de guérison (disparition des lésions pulmonaires à l'échographie)	***			
				Pourcentage de guérison (selon la taille des lésions)	***			
Préventif	Chaffin et al., 2011	cheval (poulain)	Rhodococcose (R. equi) Tractus respiratoire	Incidence cumulée des cas pneumonie à R equi	***	semi-métal trivalent	Maltolate de gallium	Infection spontanée, conditions de terrain
				Taux de survie chez les malades	***			
				Paramètres cliniques physiques (y compris auscultation)	**			
				Age lors de l'apparition des signes cliniques	**			
				Age au moment de la mort	**			
				Administration d'une antibiothérapie	**			
				Durée de l'antibiothérapie	**			

Base de la comparaison n° 1	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n° 2	Nature de l'effet	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score de qualité intrinsèque
Produit vs Témoin non traité	NS					Ne prévient pas la maladie	2
	NS						
	NS						
Produit vs Témoin non traité	NS					Ne prévient pas la maladie	3
Produit vs Témoin non traité	NS					Ne prévient pas la maladie	3
	NS						
Produit vs Témoin avec placebo	NS					Ne traite pas la maladie	3
	NS						
	NS						
	NS						
	NS						
Produit vs antibiotique	NS	Effet non différent avec antibiotique / produit				Traitement alternatif aux antibiotiques	1
	NS						
	NS						
Produit vs Témoin avec placebo	NS					Ne prévient pas la maladie	2
	NS						
	NS						
	NS						
	NS						
	NS						
	NS						

La recherche bibliographique a été réalisée en croisant les différents mots-clés suivants : Equine - horse - equid ; Foal ; Alternative(s) antibiotic(s) / Antimicrobial ; Essential oil ; Organic acid (propionic, butyric, sorbic, acetic, lactic, citric, formic, acetic, lactic, caprylic acid) ; Probiotic ; Prebiotic ; Plant – plant extract ; Plasma ; Hyperimmune plasma ; Bacteria ; *Rhodococcus equi* ; *Rhodococcus equi* infection ; Pneumonia ; Prevention ; Treatment ; Immunomodulation ; Immunity.

Trente-trois publications relatives à *Rhodococcus equi* ont été recensées et vingt publications retenues pour analyse. Treize publications ont été rejetées d'emblée :

- douze correspondaient à des études *in vitro* dont neuf ont testé sur la bactérie l'effet d'extraits de plantes ou d'huiles essentielles et trois, l'effet de peptides antimicrobiens d'origine équine,
- une publication relate la recherche du potentiel bactéricide d'un peptide antimicrobien d'origine équine sur le modèle souris.

Sur les vingt publications retenues et analysées, douze concernaient des plasmas hyperimmuns (PHI) et huit des produits divers : maltolate de gallium (2), streptolysine O (2), parapoxvirus ovis inactivé (1), association *Propionibacterium acnes* et parapoxvirus ovis inactivé (1), *Propionibacterium acnes* seul (1) et oligodéoxynucléotide cytosine-phosphate guanine synthétique (1). Quatre de ces huit publications ont été écartées après analyse :

- trois rapportaient des études *in vivo* sur l'espèce cible mais qui ne comportaient pas d'infection des poulains, qu'elle soit expérimentale ou spontanée ;
- l'une des études relatives à la streptolysine O a été écartée car, dans un contexte d'infection expérimentale, le seul effet examiné a été la présence ou l'absence de la régulation de certains gènes, ce qui ne constituait pas un critère pertinent pour évaluer l'effet préventif ou curatif de cette enzyme.

Aucune des publications relatives au PHI n'a été écartée après analyse.

Le tableau 52 reprend les données relatives au plasma hyperimmun et au maltolate de gallium.

6.9.2 Conclusions par famille

6.9.2.1 Plasmas hyperimmuns

Douze publications concernant des plasmas hyperimmuns (PHI) et leur efficacité à prévenir ou à traiter la rhodococcose pulmonaire du poulain ont été retenues et analysées. Onze publications portent sur l'étude de l'effet préventif sur la maladie et une seule sur l'effet thérapeutique (tableau 53).

Parmi les onze publications, cinq traitent de l'effet de PHI commerciaux dont quatre PHI commerciaux dont la concentration en anticorps anti-VapA était connue.

Les six autres concernent des plasmas non commerciaux produits sur 2 à 90 chevaux donneurs en utilisant des préparations antigéniques et des protocoles d'immunisation différents. Par ailleurs, les méthodes sérologiques (fixation du complément, immunodiffusion en gélose, ELISA) mises en œuvre pour évaluer le titre en anticorps anti-*R equi* de ces plasmas non commerciaux et les modalités d'expression des résultats sérologiques étaient différentes.

D'autres différences sont à souligner entre les onze publications :

- selon les études, l'effet préventif du plasma hyperimmun a été évalué dans le cadre d'une infection expérimentale (6 publications) ou d'une infection spontanée (essais terrain) (5 publications) ;
- selon les études, l'âge de la première administration de plasma ($\leq 2j$, 3-4j, $\leq 10j$, 10-39j, 14j, 18-23j, 25-26j, 30-60j), le nombre d'administrations (1, 2 ou 6), le volume injecté à chaque administration (50 mL, 150 mL, 300 mL, 600 mL, 1 L ...) ou au total (400 mL, 1 L, 2 L) et la voie d'administration (IV et/ou SC) étaient variables.

Tableau 53 : Synthèse pour les publications relatives aux plasmas hyperimmuns – rhodococcose

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	3	4
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	2	2
<p>Attention ! pour les comparaisons avec AB^q : S et NS ne conduisent pas aux mêmes conclusions que pour les comparaisons au témoin et S a été divisé en S⁺ et S⁻ en fonction du positionnement du produit P à tester par rapport à l'AB^q ou par rapport au témoin</p>			<p>Attention ! Une publication qui étudierait à la fois l'effet par rapport au témoin négatif et l'effet par rapport à un antibiotique est à compter 2 fois : 1 fois dans chaque tableau.</p>		
Tableau de synthèse Curatif / AB ^q			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	1

Les différences observées, nombreuses et variées, rendent particulièrement délicate toute comparaison des résultats de ces onze publications.

Cependant, considérés dans leur ensemble, ces résultats suggèrent que l'administration de plasmas hyperimmuns à des poulains pourrait être un moyen de prévenir la rhodococcose pulmonaire. La seule publication ayant étudié l'effet thérapeutique d'un plasma hyperimmun non commercial n'a pas montré de résultats significatifs.

Il s'agit d'une famille de produits prometteuse dont l'efficacité doit être confirmée au moyen d'essais ciblant des produits précis.

6.9.3 Conclusions par produit

La revue des publications relatives aux plasmas hyperimmuns a permis d'identifier plusieurs publications portant sur le même produit. De même, plusieurs publications portent sur un produit particulier : le maltolate de gallium.

Ces éléments ont conduit les experts à envisager une conclusion par produit selon la méthode présentée au chapitre 5.6.

6.9.3.1 Plasma hyperimmun

Deux publications ont étudié la capacité d'un plasma hyperimmun commercial n° 1 (USA) à prévenir la rhodococcose pulmonaire du poulain. Ce plasma présente un titre en anticorps anti-VapA d'au moins 1/10 000. L'effet préventif a été recherché dans le cadre d'infections expérimentales. Dans ces études, l'effet préventif du plasma hyperimmun s'est traduit soit par une amélioration du score lésionnel échographique (Sanz *et al.*, 2016), soit par une amélioration du score clinique respiratoire et du score lésionnel radiographique, sans qu'une différence avec les animaux témoins non traités ait été observée en ce qui concerne le taux de mortalité (Caston *et al.*, 2006) (*cf.* tableau 54).

Tableau 54 : Synthèse pour les publications relatives au plasma hyperimmun commercial n° 1 – rhodococcose

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publis	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publis	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	2	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

Les résultats des deux publications disponibles de score 1-2 sont convergents. La règle de décision de la figure 3 permet de formuler la conclusion suivante : « *les données scientifiques disponibles tendent à montrer avec un niveau de confiance élevé que le plasma hyperimmun commercial n° 1 prévient la rhodococcose pulmonaire du poulain* ».

Un deuxième plasma hyperimmun commercial n° 2 (USA) présente un titre en anticorps anti-VapA d'au moins 1/10 000. Deux études ont recherché l'effet préventif de ce plasma sur la rhodococcose pulmonaire du poulain : le schéma expérimental et/ou les variables mesurées étaient différents de ceux des deux publications relatives au plasma hyperimmun n°1. La première étude (Perkins *et al.*, 2002) a eu recours à un protocole d'infections expérimentales mais plus tardives (poulains âgés de 21 jours) et la seconde (Giguere *et al.*, 2002) s'est fondée sur des observations dans le cadre d'infections spontanées en élevage. Les critères retenus par Perkins *et al.* (2002) pour l'évaluation des résultats étaient comparables à ceux utilisés dans les études portant sur le plasma hyperimmun n°1 et incluaient des indicateurs lésionnels radiographique et nécropsique. En

revanche, les poulains ont été infectés tardivement (21 jours). Dans la seconde publication (Giguere *et al.*, 2002), les critères utilisés pour diagnostiquer la rhodococcose étaient la présence de signes cliniques de bronchopneumonie, dont une auscultation thoracique évocatrice, associés à des critères hémato-biochimiques et à une confirmation par culture de la bactérie à partir d'un liquide de lavage trachéo-bronchique. Les résultats des deux publications, de score 1-2, sont convergents (tableau 55).

Tableau 55 : Synthèse pour les publications relatives au plasma hyperimmun commercial n° 2 – rhodococcose

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	2	0

La règle de décision de la figure 3 permet d'apporter la conclusion suivante : « les données scientifiques disponibles tendent à montrer avec un niveau de confiance élevé que le plasma hyperimmun commercial n° 2 ne prévient pas la rhodococcose pulmonaire du poulain ».

6.9.3.2 Maltolate de gallium

Deux publications relatives au maltolate de gallium ont été analysées et retenues, permettant d'envisager une conclusion par produit. La première étude a recherché un effet préventif de ce produit sur la rhodococcose pulmonaire du poulain mais n'a pas montré de résultats significatifs. L'autre étude a recherché un effet curatif. Seule cette dernière a comparé l'effet du produit testé à celui du traitement antibiotique de choix pour cette maladie (macrolide et rifampicine) (Tableau 56).

Tableau 56 : Synthèse pour les publications relatives au maltolate de gallium – rhodococcose

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	1	0
<p>Attention ! pour les comparaisons avec AB^q : S et NS ne conduisent pas aux mêmes conclusions que pour les comparaisons au témoin et S a été divisé en S⁺ et S⁻ en fonction du positionnement du produit P à tester par rapport à l'AB^q ou par rapport au témoin</p>			<p>Attention ! Une publication qui étudierait à la fois l'effet par rapport au témoin négatif et l'effet par rapport à un antibiotique est à compter 2 fois : 1 fois dans chaque tableau.</p>		
Tableau de synthèse Curatif / AB ^q			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	1	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

- Concernant l'essai comparant le maltolate de gallium (en traitement) avec un antibiotique, il n'existe qu'une seule publication de score méthodologique 1-2. La règle de décision de la figure 3 conduit à apporter la conclusion suivante :
« Les données scientifiques disponibles permettent d'envisager que le maltolate de gallium puisse être une alternative au traitement antibiotique pour la rhodococcose, mais avec un niveau de confiance faible. Compte tenu du très petit nombre de publications identifiées (une seule), cette conclusion reste en outre dépendante des conditions expérimentales ».
- Concernant l'essai testant le maltolate de gallium (en prévention) sans comparaison avec un antibiotique, nous sommes en présence d'une seule publication de score méthodologique 1-2 (montrant une absence d'effet). L'application de la règle de décision de la figure 3 nous amène à pouvoir conclure, mais avec un niveau de confiance faible. S'agissant d'essai en comparaison avec un témoin non traité, la conclusion finale pour ce produit sera la suivante :
« Les données scientifiques disponibles permettent d'envisager que le maltolate de gallium ne prévient pas la rhodococcose chez le poulain, avec un niveau de confiance faible ».

6.10 Troubles digestifs chez le cheval

6.10.1 Grille d'analyse des publications

Le recherche bibliographique a été réalisée en croisant les mots clés suivants : Equine - horse - equid ; Foal ; Alternative(s) antibiotic(s) / Antimicrobial ; Essential oil ; Organic acid (propionic, butyric, sorbic, acetic, lactic, citric, formic, acetic, lactic, caprylic acid) ; Probiotic ; Prebiotic ; Plant – plant extract ; Bacteria ; Diarrhoea ; Salmonellosis – Salmonella ; Clostridiosis – Clostridium ; Endotoxemia ; Enterotoxemia ; Colics ; Surgery ; Postoperative complications ; Prevention ; Treatment ; Immunomodulation ; Immunity.

158 des publications recensées correspondaient à des études *in vitro* dont l'objectif était de tester l'effet d'extraits de plantes ou d'huiles essentielles sur des bactéries entéropathogènes du cheval : *Salmonella typhimurium* (128 publications), *Clostridium perfringens* (21 publications) et *Clostridium difficile* (9 publications).

Une publication relate l'étude *in vitro* de l'effet de la smectite di-tri-octahédrique sur la croissance et le pouvoir toxigène de *Clostridium perfringens* et *Clostridium difficile* et une autre l'effet de probiotiques isolés de fèces équinnes sur *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* et *Salmonella Typhimurium*.

L'ensemble des publications rapportant des études *in vitro* a été écarté.

En ce qui concerne les syndromes diarrhéiques du poulain, cinq publications rapportant des études *in vivo* ont été recensées et retenues (cf. tableau 57)

En ce qui concerne les syndromes diarrhéiques du cheval adulte, sept publications portaient sur des études *in vivo* mais une de ces publications a été rejetée : il s'agissait d'une courte communication relative à une étude *in vivo* dont le protocole et les résultats étaient trop peu détaillés pour permettre une évaluation. Au total, six publications ont donc été retenues : une concernait la smectite di-tri-octahédrique et cinq portaient sur des probiotiques (tableau 58).

Tableau 57 : Analyse des publications relatives à la diarrhée du poulain

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce	Maladie fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit	Conditions de l'essai	Base de la comparaison n° 1	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n° 2	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score de qualité intrinsèque
Préventif	Tanabe et al., 2014	cheval (poulain)	diarrhée néonatale/ tractus digestif	Pourcentage de poulains diarrhéiques	***	Probiotiques	<i>Lactobacillus ruminis</i> , <i>L. equi</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. johnsonii</i> , <i>Bifidobacterium boum</i>	Infection spontanée, conditions de terrain	Produit vs témoin non traité	S	Moyenne				Prévient la maladie	2
				Durée de la diarrhée	***											
Préventif	Yuyama et al., 2004	cheval (poulain)	diarrhée néonatale/ tractus digestif	Incidence diarrhée	***	Probiotiques	<i>Lactobacillus salivarius</i> YIT 0479, <i>L. reuteri</i> YIT 0480, <i>L. crispatus</i> YIT 0481, <i>L. johnsonii</i> YIT 0482, <i>L. equi</i> YIT 0483	Infection spontanée, conditions de terrain Dose 5g contenant 1 à 4 x 10 ¹⁰ UFC de chaque espèce de probiotique	Produit vs témoin non traité	S	Moyenne				Prévient la maladie	2
				Incidence traitement antibiotique	**					NS incidence traitement antibiotique						
Préventif	John et al., 2015	cheval (poulain)	diarrhée néonatale/ tractus digestif	Incidence des cas de diarrhée	***	Probiotiques	<i>Bacillus cereus var toyoi</i>	Infection spontanée, conditions de terrain Dose faible 5.0 x 10 ⁸ CFU et dose forte 2.0 x 10 ⁹ CFU	Produit vs témoin avec placebo	NS					Ne prévient pas la maladie	2
				Durée de la diarrhée	***											
				Score fécal	***											
				Culture flore pathogène	**											
				Paramètres hématologiques et biochimiques	**											
Préventif	Schoster et al., 2015	cheval (poulain)	diarrhée néonatale/ tractus digestif	Incidence de la diarrhée	***	Probiotiques	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> SP1, <i>L. rhamnosus</i> LRH19, <i>L. plantarum</i> LPAL, <i>L. plantarum</i> BG112 et <i>Bifidobacterium animalis lactis</i>	Infection spontanée, conditions de terrain 10 ⁹ UFC de chaque espèce de <i>Lactobacillus</i> et 10 ¹⁰ UFC de <i>Bifidobacterium</i> par dose	Produit vs témoin avec placebo	NS					Ne prévient pas la maladie	2
				Durée de la diarrhée	***					NS						
				Incidence des fèces ramollies	**					NS						
				Incidence de l'excrétion de <i>C. perfringens</i>	**					NS						
				Nécessité traitement vétérinaire	**					S (effet néfaste du probiotique)						
Préventif	Weese et Rousseau, 2005	cheval (poulain)	diarrhée néonatale/ tractus digestif	consistance des fèces	***	Probiotiques	<i>Lactobacillus pentosus</i> WE7	Infection spontanée, conditions de terrain Dose 10 ¹¹ UFC	Produit vs témoin avec placebo	S (effet néfaste du probiotique)					Ne prévient pas la maladie	2
				durée de la diarrhée	***					NS						
				paramètres cliniques physiques et intervention vétérinaire avec traitement	**					S (effet néfaste du probiotique)						

Tableau 58 : Analyse des publications relatives aux diarrhées chez le cheval adulte

Approche préventif/curatif	Référence publication	Espèce	Maladie/ fonction ciblée	Variable(s) mesurée(s)	Niveau pertinence de la variable	Famille du produit	Substance(s) du produit	Conditions de l'essai	Base de la comparaison n° 1	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Base de la comparaison n° 2	Nature de l'effet (S/NS)	Amplitude de l'effet si S	Conclusion	Score de qualité intrinsèque
Préventif	Parraga et al., 1997	cheval adulte	salmonellose post-chirurgicale/ tractus digestif	Prévalence de l'excrétion de Salmonella	***	Probiotiques	Probiotique A = association de 10 ⁷ CFU/g <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>L casei</i> , <i>L acidophilus</i> , <i>Streptococcus faecium</i> Probiotique B = association de 2,75 10 ⁸ <i>L acidophilus</i> , <i>S faecium</i> , <i>Bifidobacterium thermophilum</i> ,	Infection spontanée, conditions de terrain	Produit vs témoin avec placebo	NS					Ne prévient pas la maladie	2
				Prévalence de diarrhée post-opératoire	***											
				Durée de l'antibiothérapie	**											
				Durée de l'hospitalisation	**											
Préventif	Ward et al., 2004	cheval adulte	salmonellose/ tractus digestif	Incidence des cas d'excrétion fécale de <i>Salmonella</i>	***	Probiotiques	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>L casei</i> , <i>L acidophilus</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	Infection spontanée, conditions de terrain	Produit vs témoin avec placebo	NS					Ne prévient pas la maladie	2
				Statut de sortie (vivant, mort, euthanasie)	***											
				Durée de l'hospitalisation	**											
Préventif/ curatif	Kim et al., 2001	cheval adulte	salmonellose hospitalière/ tractus digestif	Fréquence diarrhée	***	Probiotiques	5x10 ⁷ UFC de <i>Lactobacillus lactis</i> et <i>Enterococcus faecium</i> , 10 ⁸ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , vitamine A 10 000 UI et vitamine E 25 UI	Infection spontanée, conditions de terrain	Produit vs témoin avec placebo	NS					Ne prévient pas et Ne traite pas la maladie	2
				Prévalence de l'excrétion de <i>Salmonella</i>	***											
				Fréquence leucopénie	**											
Curatif	Boyle et al., 2013	cheval adulte	entérococolite secondaire antibiothérapie/ tractus digestif	Durée de la diarrhée aqueuse	***	Probiotiques	<i>Saccharomyces boulardii</i> dose 10 ¹⁰ cellules - 25g	Infection spontanée, conditions de terrain	Produit vs témoin avec placebo	NS					Ne traite pas la maladie	3
				Taux de survie à la sortie	***											
				Délai de retour à des fèces normales	***											
				Durée de la leucopénie	**											
				Durée de l'hospitalisation	**											
Curatif, adjuvant	Desrochers et al., 2005	cheval adulte	diarrhée entérococolite aiguë/ tractus digestif	Durée de la diarrhée	***	Probiotiques	<i>Saccharomyces boulardii</i> doses : 10 ¹⁰ cellules (25g) ou 2 x 10 ¹⁰ cellules (50g)	Infection spontanée, conditions de terrain	Produit + antibiotiques vs témoin avec placebo + antibiotiques	S	Moyenne				Traite en tant qu'adjuvant	2
				Durée de l'émission de diarrhée aqueuse	***					S	Moyenne					
				Durée de l'émission de fèces ramollies	**					NS	durée fèces ramollies					
				Durée de l'émission de fèces formées	**					S	Elevée					
Préventif	Hassel et al., 2009	cheval adulte	diarrhée endotoxémie ou entérotaxémie / tractus digestif	Incidence de la diarrhée	***	Argile minérale naturelle	Di-Tri-Octahedral (DTO) smectite	Infection spontanée, conditions de terrain	Produit vs témoin avec placebo	S	Moyenne				Traite et Prévient la maladie	3
				Score fécal	***					S	Elevée					
				Paramètres cliniques physiques	**					NS (sauf aspect muqueuses S)						
				Culture flore pathogène	**					NS						
				Paramètres hématologiques	**					NS						

6.10.2 Conclusions par famille

6.10.2.1 Probiotiques – diarrhée du cheval adulte

Cinq publications relatives à des approches préventives ou curatives du syndrome diarrhéique du cheval adulte par un probiotique ou un mélange de probiotiques ont été analysées. Les études correspondantes ont porté sur des probiotiques ou des mélanges de probiotiques différents administrés à des doses et selon des protocoles différents. Aucune d'entre elles ne comparait l'effet du produit testé à celui d'un (ou d') antibiotique(s). Deux études ont recherché exclusivement un effet préventif, une : un effet curatif et une : un effet préventif et un effet curatif. Enfin dans la cinquième publication, l'intérêt du probiotique en tant que traitement adjuvant aux antibiotiques a été étudié (tableau 59).

Tableau 59 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – diarrhée du cheval adulte

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	3	0
<p>Attention ! pour les comparaisons avec AB^q : S et NS ne conduisent pas aux mêmes conclusions que pour les comparaisons au témoin et S a été divisé en S⁺ et S⁻ en fonction du positionnement du produit P à tester par rapport à l'AB^q ou par rapport au témoin</p>			<p>Attention ! Une publication qui étudierait à la fois l'effet par rapport au témoin négatif et l'effet par rapport à un antibiotique est à compter 2 fois : 1 fois dans chaque tableau.</p>		
Tableau de synthèse Curatif / AB ^q			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	1	1
			Tableau de synthèse Curatif adjuvant AB ^q /produit+AB ^q		
			Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
			S ⁺ (P > Tém)	1	0
			NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	0	0

Bien que les différences soulignées entre les études ne permettent ni une compilation, ni une comparaison de leurs résultats, les résultats obtenus, considérés dans leur ensemble, ne semblent

pas désigner la famille des probiotiques comme prometteuse pour la prévention ou le traitement des syndromes diarrhéiques du cheval adulte.

6.10.2.2 Probiotiques – diarrhée du poulain

Cinq publications ont été retenues et analysées. Les études correspondantes ont recherché l'effet préventif de probiotiques ou de mélanges de probiotiques différents, administrés à des doses et selon des protocoles différents. Aucune des études n'a comparé l'effet de la préparation testée à celui d'un (ou d') antibiotique(s).

Trois publications portaient sur des mélanges de probiotiques composés de 4 ou 5 espèces/souches de lactobacilles, associées, pour deux publications, à une bactérie du genre *Bifidobacterium sp.* Dans les deux autres publications, une seule espèce bactérienne a été testée.

Si deux publications relatives à des mélanges de probiotiques ont montré un effet préventif des préparations étudiées, dans les trois autres, le produit testé ne permettait pas de prévenir la maladie, voire (deux publications) présentait un effet néfaste (aggravation des signes cliniques nécessitant une intervention vétérinaire par comparaison avec les animaux témoins non traités) (tableau 60).

Tableau 60 : Synthèse pour les publications relatives aux probiotiques – diarrhée du poulain

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	2	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	3	0

Ces résultats, considérés dans leur ensemble et très divergents, ne permettent pas de conclure, ni positivement, ni négativement, quant à un effet générique, de la famille des probiotiques en ce qui concerne la prévention des syndromes diarrhéiques du poulain.

6.10.3 Conclusions par produit

En ce qui concerne l'intérêt des probiotiques dans la prévention des syndromes diarrhéiques chez le cheval, seules deux publications, de score méthodologique 1-2, ont étudié des préparations probiotiques commerciales de composition identique (dose de 30g avec 10⁷ de CFU/g de *L. plantarum*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *Enterococcus faecium*) (tableau 61).

Tableau 61 : Synthèse pour les publications relatives à des préparations commerciales de probiotiques de composition identique – diarrhée du cheval adulte

Tableau synthèse Prévention / AB ^q			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
S ⁺ (P > AB ^q) et NS (P ≈ AB ^q)	0	0	S ⁺ (P > Tém)	0	0
S ⁻ (P < AB ^q)	0	0	NS (P ≈ Tém) et S ⁻ (P < Tém)	2	0

L'application de la règle de décision de la figure 3 conduit les experts à pouvoir conclure avec un niveau de confiance élevé. La formulation de la conclusion est la suivante :

*« Les données scientifiques disponibles permettent d'envisager que les préparations commerciales de probiotiques composées de 10^7 UFC/g de *L. plantarum*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *Enterococcus faecium* ne préviennent pas les syndromes diarrhéiques du cheval adulte, avec un niveau de confiance élevé »*

7. Intérêt des études épidémiologiques

La recherche bibliographique n'a pas permis de mettre en évidence d'études épidémiologiques construites dans l'objectif de démontrer l'efficacité d'une alternative aux antibiotiques. Cependant, le GT considère que l'approche développée dans ces études est complémentaire des travaux expérimentaux et que le concept de ces études pourrait, à l'avenir, être utilisé pour apporter une réponse scientifique sur l'efficacité de substances pouvant être utilisées afin de diminuer le recours aux antibiotiques. Ces études s'inscrivent dans une démarche d'évaluation sur un plus long terme et à plus large échelle que les essais expérimentaux qui, par essence, sont ponctuels et mettent en œuvre des effectifs limités. Les études épidémiologiques, si elles sont bien construites, permettraient d'investiguer les produits testés dans leur capacité à permettre de diminuer le recours aux antibiotiques sur le long terme et à l'échelle d'une population.

Il est donc important de préciser l'intérêt et les limites de ces études.

7.1 Principaux schémas d'étude utilisés en épidémiologie

7.1.1 Etudes épidémiologiques observationnelles

Le principe des études de cohorte consiste à suivre au cours du temps des sujets initialement indemnes, en recueillant des informations sur la survenue de l'évènement d'intérêt (maladie, guérison) ainsi que sur l'exposition au(x) facteur(s) d'intérêt (traitement par exemple, dans le cas des études de pharmaco-épidémiologie, mais aussi facteurs de confusion potentiels). L'indicateur d'association calculé est le risque relatif (RR) ; il correspond au rapport de la probabilité de survenue de la maladie dans le groupe exposé sur la probabilité de survenue dans le groupe non exposé.

L'étude cas-témoins consiste à comparer, de manière rétrospective, l'exposition à différents facteurs entre deux groupes de sujets : l'un présentant l'évènement de santé d'intérêt (cas), et l'autre en étant indemne (témoins). La mesure d'association calculée est l'*odds-ratio* (OR) : il désigne le rapport de la cote d'exposition²⁴ (traitement dans le cas d'études de pharmaco-épidémiologie) observée chez les cas sur la cote d'exposition chez les témoins.

Les études transversales reposent sur le recueil simultané, à un instant donné, d'informations sur l'évènement de santé (prévalence de la maladie, ou niveau d'exposition aux antibiotiques) et sur les facteurs d'exposition (traitement). L'indicateur d'association le plus classiquement utilisé dans ce cadre est l'*odds-ratio*, mais il est également possible de calculer le rapport des prévalences de la maladie entre deux groupes d'individus présentant des niveaux d'exposition différents.

7.1.2 Etudes épidémiologiques interventionnelles (expérimentales ou quasi-expérimentales)

Les études d'intervention visent à quantifier l'impact d'une action donnée, qui peut être de nature plus ou moins complexe (vaccination, traitement, plan de biosécurité, campagne d'information, ...). On pourrait dire que les études d'épidémiologie interventionnelles dites « expérimentales » diffèrent des essais thérapeutiques par les conditions dans lesquelles elles sont réalisées (en condition de terrain) et les effectifs déployés (échelle populationnelle) (Désenclos and Dabis, 2012). L'attribution par tirage au sort de l'intervention (randomisation) permet la constitution

²⁴ En épidémiologie, la cote d'un évènement est définie comme le rapport de la probabilité de survenue de cet évènement sur celle de survenue de l'évènement complémentaire. La cote d'exposition désigne donc le rapport entre la probabilité d'être exposé au facteur étudié sur celle de ne pas être exposé ; on l'obtient au final en divisant le nombre d'individus exposés par le nombre d'individus non exposés.

artificielle de groupes de sujets équivalents, c'est-à-dire en théorie ne différant que par l'intervention dont on souhaite étudier l'effet.

Il est courant que la randomisation ne soit pas faisable en pratique, ou ne soit pas acceptable (notamment pour des raisons éthiques) (Désenclos and Dabis, 2012). Le recours à une évaluation quasi-expérimentale, c'est-à-dire reposant sur l'attribution de l'intervention contrôlée par le chercheur mais sans tirage au sort, est une alternative fréquemment utilisée. Dans ce cas de figure, on peut avoir recours à un schéma avec groupe de comparaison non aléatoire, sans groupe de comparaison (schéma type « avant/après »), ou même à un schéma d'évaluation dite « implicite » (sans groupe de comparaison, et avec mesure de l'état de santé uniquement après l'intervention).

Les études d'intervention visent à quantifier l'impact d'une action donnée, qui peut être de nature plus ou moins complexe (vaccination, traitement dans le cas d'études de pharmaco-épidémiologie, mais aussi, plan de biosécurité, campagne d'information, ...). Outre les variables concernant l'effet de l'intervention, le recueil d'informations devra inclure les éventuelles variables intermédiaires et facteurs pouvant agir comme modificateurs de l'effet ou facteur de confusion.

7.2 Critères d'évaluation de la qualité intrinsèque des études épidémiologiques

7.2.1 Analyse des biais dans les études d'épidémiologie

La question des biais est inhérente à la pratique de l'épidémiologie, et la qualité des études repose sur la prise en compte de ces biais lors de la construction du protocole, l'analyse statistique et l'interprétation des résultats (Auzerie *et al.*, 2009). La présence de biais peut modifier le sens et la force des associations statistiques, en diminuant l'intensité de certaines associations, mais peut aussi conduire à faire apparaître des associations fallacieuses.

- Les biais de sélection interviennent lors de la conception de l'étude, et correspondent à un défaut de représentativité de l'échantillon étudié vis-à-vis de la population cible.
- Les biais de mesure (ou biais de classement, d'information) interviennent lorsqu'une erreur systématique de classement apparaît dans le recueil des données concernant les facteurs d'exposition ou le problème de santé étudiés.
- Les biais de confusion sont liés à la présence d'un tiers facteur qui est lui-même lié à la fois au facteur d'exposition d'intérêt et à la maladie. Les études de pharmaco-épidémiologie sont sujettes à un type particulier de biais de confusion : le biais d'indication, qui survient lorsque le médicament dont on souhaite étudier l'effet est prescrit préférentiellement à des patients ayant un risque plus élevé (ou plus faible) de présenter l'évènement (maladie) considérée (Strom *et al.*, 2012). Des méthodes spécifiques, dont les approches par score de propensity, ont été développées pour pallier cette difficulté (Désenclos *et al.*, 2012).

7.2.2 Critères d'évaluation de la qualité d'une étude épidémiologique

La lecture des études observationnelles peut s'appuyer sur des lignes directrices STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology), récemment adaptées à l'épidémiologie vétérinaire (O'Connor *et al.*, 2016) et disponibles en français²⁵. Le document STROBE-VET rassemble une liste de vérification portant sur 22 items, et incluant 52 recommandations.

Différentes grilles de lecture et outils d'évaluation sont par ailleurs disponibles pour l'analyse des études épidémiologiques observationnelles et/ou interventionnelles (Rychetnik *et al.*, 2002 ;

²⁵ <https://strobevvet-statement.org/la-declaration-veterinaire-strobe/>

Sanderson *et al.*, 2007) ; conçus pour les études d'épidémiologie humaine, ces outils sont cependant tout à fait pertinents pour l'évaluation des études d'épidémiologie vétérinaire.

Ces grilles et outils s'appuient sur une trame commune de critères à vérifier, qui se déclinent de manière un peu différente selon le type d'étude considérée. Par exemple, pour les essais contrôlés randomisés : assignation au hasard des patients dans les groupes, suivi, ... ; pour les études observationnelles, mesure adéquate de l'exposition, contrôle adapté des facteurs de confusion.

Une grille d'évaluation simplifiée est par exemple disponible en ligne pour les études de cohorte et transversales, ainsi que pour les études cas-témoins (voir annexe 3).

7.3 Niveaux de preuve

7.3.1 Etudes observationnelles

Dans une étude observationnelle, la mise en évidence d'une association statistiquement significative entre un facteur d'exposition et une maladie ne permet pas, en elle-même, de conclure à l'existence d'une relation causale. La démonstration de la relation causale entre l'exposition et la maladie repose en épidémiologie sur un ensemble de critères, dont les plus connus sont les neuf critères de causalité de Bradford-Hill : force de l'association, relation temporelle entre l'exposition et la survenue de la maladie, relation dose-effet, spécificité de la relation, concordance, plausibilité biologique, réduction du risque avec le contrôle de l'exposition, cohérence, analogie (Last, 2001 ; Strom, 2012). Ces critères ont été revisités et une version simplifiée regroupe ces critères en trois catégories (Howick *et al.*, 2009 ; Lapeyre-Mestre *et al.*, 2013) : preuves directes (provenant d'études épidémiologiques démontrant une association statistique ne pouvant pas être liée à un facteur de confusion), mécanistiques (éléments de preuves apportés par d'autres types d'études, *in vitro* par exemple), et parallèles (convergence des résultats avec ceux d'autres études). Dans tous les cas, l'interprétation en termes causaux des résultats des études observationnelles reste délicate en raison de la difficulté à s'affranchir des différents biais et facteurs de confusion ; il est admis que ce type d'études présente un niveau de preuve moindre que celui des études d'intervention.

Le schéma des études de cohorte est le seul permettant de garantir l'antériorité de l'exposition (notamment au produit testé dans le cas des études pharmaco-épidémiologiques) par rapport à la survenue de la maladie : il est donc le plus direct à interpréter en termes d'inférence causale (Czernichow *et al.*, 2001). Les études de cohorte nécessitent souvent l'inclusion d'un nombre important de sujets et une durée d'observation parfois longue ; pour cette raison, elles restent peu fréquentes en épidémiologie animale.

Les études cas-témoins sont très bien adaptées, voire irremplaçables, pour étudier des phénomènes de santé rares (faible incidence) ou présentant une longue phase d'induction (durée d'incubation, ou d'apparition des effets du médicament). Les effectifs requis et la durée de réalisation étant inférieurs à ceux des études de cohorte, elles sont très utilisées en épidémiologie. Deux limites en réduisent cependant l'inférence causale : la difficulté à affirmer la séquence temporelle entre exposition au facteur d'intérêt et apparition de la maladie, et la présence potentiellement importante de biais de mémoire.

Les enquêtes transversales ont pour avantage la simplicité, la rapidité de réalisation, et le coût restreint ; il s'agit des enquêtes les plus fréquemment réalisées en santé animale. Elles présentent toutefois d'importantes limites qui restreignent l'interprétation de leurs résultats en termes de causalité : l'impossibilité d'affirmer l'antériorité de l'exposition sur la survenue de la maladie, et la difficulté à distinguer les facteurs influençant la durée de l'affection de ceux influençant la survenue de la maladie. Pour ces raisons, il est communément admis que les enquêtes transversales (même bien construites) présentent un niveau de preuve moindre que celui des études de cohorte ou cas-témoins.

7.3.2 Etudes interventionnelles

Les études interventionnelles sont considérées comme les plus à même d'apporter des éléments de preuve sur l'efficacité des interventions médicales, le niveau de preuve étant d'autant plus grand que l'essai est randomisé et inclut un groupe de comparaison (Désenclos and Dabis 2012).

La randomisation est la seule méthode qui permette de maîtriser *a priori* les facteurs qui diffèrent selon les groupes comparés, et ainsi, contrôler les biais de sélection et les facteurs de confusion. C'est donc le schéma d'étude le plus intéressant en termes d'inférence causale (Fourrier *et al.*, 2000). En l'absence de randomisation, diverses méthodes sont utilisées pour pallier les différences entre les groupes comparés : appariement des individus, choix d'un groupe témoin dans lequel les biais de sélection ou mesure soient comparables au groupe d'intervention, standardisation ou ajustement sur les facteurs de confusion, approche par scores de propension.

En l'absence de groupe de comparaison, l'effet de l'intervention (évalué avant/après) ne pourra pas être attribué causalement à l'intervention, car la part attribuable à l'évolution spontanée entre les deux temps de mesure reste inconnue. De même, en l'absence de mesure de l'état de santé avant l'intervention, on ne pourra jamais conclure par ce seul schéma d'étude que la différence observée entre les deux groupes est directement attribuable à l'intervention.

7.4 Recommandations sur l'intérêt de ces études pour prouver l'efficacité de substances en tant qu'alternatives aux antibiotiques

Les études d'épidémiologie permettent d'étudier l'effet de pratiques (et notamment l'administration d'une substance dans le cadre des études de pharmaco-épidémiologie) dans des conditions les plus proches possible de l'environnement habituel (Fourrier *et al.*, 2000). Les résultats produits par ce type d'étude sont donc généralement plus facilement transférables et applicables en condition d'élevage que ceux des essais expérimentaux classiques. La complémentarité entre essais expérimentaux (présentant peu de biais, une bonne validité interne, et donc un niveau de preuve élevé, mais souvent peu représentatifs de la population générale) et études épidémiologiques (dont la validité²⁶ interne est plus réduite mais la validité externe élevée) dans l'analyse de l'efficacité des interventions médicales au sens large est aujourd'hui largement reconnue (Booth *et al.*, 2014).

Par ailleurs, dans le cas particulier de l'effet des substances alternatives aux antibiotiques, les études épidémiologiques permettraient d'étudier des aspects difficiles à prendre en compte dans le cadre des essais expérimentaux :

- évaluation de possibles effets à long terme (par exemple diminution de la probabilité d'utilisation ou de la fréquence de traitement sur une population de troupeaux/bandes et sur plusieurs cycles de production cumulés) ;
- quantification d'un effet sur la probabilité de recours ultérieur aux antibiotiques et le niveau d'exposition d'une population d'animaux aux antibiotiques, toutes indications confondues (et non pas pour sur une seule maladie/syndrome comme c'est souvent le cas dans les essais expérimentaux) ;
- évaluation de l'effet d'une alternative pour des maladies pour lesquelles on ne dispose pas de modèle expérimental dont, pour ce qui concerne les maladies traitées dans le cadre du GT, la colibacillose systémique des volailles et les entérocrites du cheval adulte (en particulier celles dues à *Clostridium perfringens* type A). Dans le cas de cette dernière maladie, les études épidémiologiques pourraient constituer un moyen d'investigation intéressant dès lors qu'elles s'appuient sur un protocole adapté à la faible incidence (cas

²⁶ La validité d'une étude épidémiologique se rapporte au domaine d'inférence possible des résultats. On distingue classiquement la validité interne, qui renvoie à l'idée que les différences observées sont bien imputables aux hypothèses testées (et donc à l'absence de biais dans l'étude et au fait que les résultats soient bien valides pour la population étudiée), de la validité externe qui renvoie quant à elle aux possibilités de transférabilité et de généralisation des résultats à la population générale. (Last, 2001)

sporadiques, survenant le plus souvent suite à une chirurgie ou des coliques et recensés dans des cliniques vétérinaires spécialisées) ;

- contribution au « faisceau de preuves », et tout particulièrement en l'absence d'essais expérimentaux de bonne qualité sur les alternatives aux traitements antibiotiques. L'intégration des études épidémiologiques à la méthode construite dans le cadre du GT (scoring des études épidémiologiques) n'a pas été traitée, en l'absence d'études pertinentes.

Bien qu'importante au regard de la nécessité de mobiliser l'ensemble des connaissances scientifiques produites, la mise en commun de résultats d'études hétérogènes (expérimentales vs observationnelles) en vue de formuler des recommandations s'avère délicate. Une méthodologie d'évaluation transversale aux différents types d'étude est aujourd'hui disponible à travers le système GRADE (Guyatt *et al.*, 2008), mais l'intégration de résultats hétérogènes requiert une attention particulière et des méthodes – notamment de méta-analyses – adaptées (Reeves *et al.*, 2013 ; Verde & Ohmann, 2015).

A ce jour, peu d'études épidémiologiques ont analysé l'effet des substances alternatives aux antibiotiques sur les usages d'antibiotiques ou le risque de survenue de maladie. Parmi les articles publiés, on peut citer une étude transversale sur les facteurs – dont l'administration de flore de compétition - associés au niveau d'utilisation des antimicrobiens en élevage de dinde (Chauvin *et al.*, 2005), ou un travail sur les facteurs – dont les substances alternatives – associés à la prévalence d'*E. coli* résistant aux antibiotiques (*E. coli* producteurs de BLSE et AmpC) (Gonggrijp *et al.*, 2016). Alors que se développent des travaux d'épidémiologie d'intervention visant à la réduction des usages d'antibiotiques en élevage, les publications disponibles à ce jour n'incluaient pas les substances alternatives aux traitements antibiotiques dans les plans d'action testés (Dorado-García *et al.*, 2015; Postma *et al.*, 2016).

Dans ce cadre, il serait souhaitable d'inclure autant que possible l'exposition à des familles de produits alternatifs aux antibiotiques dans la liste des facteurs étudiés dans les études observationnelles (cohortes, cas-témoins), visant à identifier les facteurs influençant la probabilité de survenue d'une maladie en élevage, ou le niveau d'exposition des animaux aux antibiotiques.

Le recueil précis des informations relatives à l'exposition aux alternatives utilisées en élevage (substance utilisée, dose, durée, modalités d'administration, ...) serait alors nécessaire afin de caractériser au mieux l'exposition réelle à ces alternatives et de limiter les biais de confusion. Il est probable que cette tâche soit compliquée par la diversité des produits recensés sur le terrain et l'imprécision de l'information disponible pour ce qui concerne certains d'entre eux (voir phase 1 des travaux du GT). L'interprétation des résultats peut également s'avérer délicate, des phénomènes de causalité inverse étant fréquemment observés dans les études observationnelles s'intéressant aux pratiques préventives (c'est le cas lorsque ces dernières étant souvent adoptées par des éleveurs dont les troupeaux présentent des troubles de santé, l'exposition au traitement alternatif étant alors une conséquence du trouble étudié).

De même, la présence d'alternatives pourrait être prise en compte dans les études d'intervention, qui constituent l'approche épidémiologique de référence pour apporter des éléments de preuve sur l'efficacité des interventions de santé.

La difficulté à évaluer séparément l'effet des différentes composantes d'une intervention complexe constitue cependant une limite potentielle au niveau de preuve apporté par ce type d'études, et une attention particulière est à porter sur ce point lors de l'élaboration du protocole. Enfin, l'ampleur relativement faible des effets attendus des différentes familles de produits sur la prévention et le traitement des maladies et le recours aux antibiotiques (comme suggéré par la littérature disponible) sera aussi à prendre en compte dans la construction de futures études épidémiologiques.

8. AUTRES APPROCHES

Des familles de produits, autres que les catégories considérées comme prioritaires pour le traitement de la saisine, sont apparues au cours du recensement des produits cités par la presse professionnelle, avec un nombre de citations moins élevé. Certaines d'entre elles ont pu être identifiées lors de la recherche bibliographique par maladie/espèce animale, dans différents articles scientifiques.

Les autres familles de produits peuvent se répartir dans les catégories suivantes :

- Substances ou produits émergents, faisant l'objet de recherches préliminaires ;
- Substances ou produits ayant fait l'objet d'essais sur animaux depuis 2014, date de fin du recensement dans la presse professionnelle. Les publications relatives à ces essais sur animaux peuvent être évaluées au moyen de la présente méthode, dont la finalité est bien de pouvoir être utilisée par d'autres scientifiques que les membres du GT de l'Anses.

Un point bibliographique synthétique a été réalisé par le GT sur la plupart de ces familles de produits.

Il faut noter qu'en l'absence d'une évaluation de la bibliographie scientifique similaire aux familles de produits évaluées, le GT ne peut porter aucune conclusion sur ces familles mais encourage d'engager des recherches permettant une analyse scientifique de leur efficacité.

8.1 Peptides antimicrobiens

Les peptides antimicrobiens (PAMs) sont de petits peptides cationiques ou anioniques présents dans le règne animal et végétal, capables de défendre l'hôte face aux agressions des microorganismes pathogènes. On peut les isoler à partir de très nombreuses espèces animales, végétales, bactériennes et fongiques (Michel, 2010). Ils sont produits en grandes quantités sur les sites des infections et des inflammations et leurs effets sont multiples : antibactériens, antiviraux, antiprotozoaires et antiseptiques. Ils interagissent en outre directement avec les cellules hôtes pour moduler l'inflammation et les défenses innées (Hancock et Diamond, 2000).

Ils sont classés en fonction de leur conformation structurale : secondaire et tertiaire, présence ou non de ponts disulfures. Parmi les peptides cationiques, les plus étudiés à l'heure actuelle, on distingue les peptides linéaires formant des hélices, les peptides contenant un pourcentage élevé en un seul acide aminé, les peptides riches en cystéine avec un ou plusieurs ponts disulfures (Hancock et Diamond, 2000).

On connaît encore mal la relation entre structure et activité antimicrobienne, chaque PAM ayant un spectre d'activité distinct (Michel, 2010).

Ils peuvent agir sur la membrane cellulaire, en s'attachant à cette dernière en induisant leur rupture par formation de pores, ou au niveau intracellulaire, en perturbant la transcription de l'ADN, la traduction de l'ARN et en inhibant les synthèses protéiques (Powers *et al.*, 2003 ; Brogden, 2005).

Il existe une résistance naturelle de certaines espèces bactériennes aux PAMs notamment en fonction de la composition naturelle de la membrane externe (ex. *Serratia*).

La résistance acquise aux PAMs reste encore à approfondir mais peut résulter d'un changement dans la structure ou la perméabilité membranaire, comme par exemple une modification de la charge nette, de la fluidité membranaire, des protéines membranaires, dans la production d'enzymes protéolytiques, dans la surexpression de pompe à efflux ou encore pour les PAMs à action intracellulaire par la modification de la cible. (Mahlpuu *et al.*, 2016 ; Wang *et al.*, 2016 ; Anderson *et al.*, 2016)

Comparés aux antibiotiques classiques, ils ont un spectre d'action plus large, un effet plus rapide et une toxicité hautement sélective.

Du fait de ces propriétés, ce sont des candidats intéressants comme alternatives aux antibiotiques. Seuls ou en synergie avec d'autres peptides, voire avec des antibiotiques, les PAMs agiraient aussi bien sur les souches sensibles que résistantes, ce qui a été montré sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) ou des *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistants (Zhang *et al.*, 2005), mais aussi sur de nombreuses autres bactéries. Certains semblent très actifs *in vitro* sur les Gram négatifs (Ebbensgaard *et al.*, 2015), y compris sur des souches très résistantes.

Leur développement n'est pas encore très avancé car il faut les produire en quantité importante sans que le coût ne soit trop prohibitif et leur toxicité doit être évaluée. En médecine humaine, le développement pharmaceutique de certaines molécules est déjà très avancé.

En médecine vétérinaire, de nombreuses applications commencent à être envisagées.

Chez le cheval, le comportement de *Rhodococcus equi* vis-à-vis des PAMs fait l'objet de plusieurs travaux. De nombreux essais sont menés *in vitro*. *In vivo*, l'effet bactéricide du PAM eCATH1 a été démontré chez la souris, chez laquelle son effet semble comparable à celui de la rifampicine (Schlusselhuber *et al.*, 2013). Les peptides DEFA1 et eCATH1 présentent les mêmes propriétés, eCATH1, ayant de surcroît un effet synergique avec la rifampicine (Schlusselhuber *et al.*, 2012).

Les rares applications thérapeutiques publiées concernent la plectasine, un PAM isolé d'un champignon, actif sur de nombreuses espèces bactériennes, dont un recombinant a pu être produit, le rendant disponible en grande quantité.

La plectasine a été testée sur une infection expérimentale péritonéale et pulmonaire par *Streptococcus pneumoniae* (Mygind *et al.*, 2005). Son efficacité semble comparable à celle de la vancomycine et de la pénicilline. Chez le porc, utilisée en comparaison avec la colistine dans un effectif en post-sevrage affecté par une colibacillose de sévérité modérée, elle a permis d'obtenir des résultats comparables à ceux de la colistine, à la fois sur la croissance et l'incidence de la diarrhée (Jin Wan *et al.*, 2016).

La méthode d'évaluation proposée par le GT pourrait être appliquée aux publications relatives à ces peptides antimicrobiens. A titre d'exemple, cette méthode appliquée à la publication de Jin Wan permettrait de donner un score méthodologique de 1. Bien entendu, cette appréciation ne s'applique qu'à cette publication et ne peut pas être extrapolée, en l'absence d'autres travaux portant sur le même produit.

8.2 Algues

Parmi les organismes marins, les macroalgues et les microalgues (diatomées) ont été particulièrement étudiées quant à leur capacité à synthétiser divers composés secondaires à activité biologique (revue de Hu *et al.*, 2015). Parmi ces composés, la recherche s'est focalisée sur les composés actifs contre les agents microbiens et en particulier les bactéries pathogènes (Gonzalez del Val, 2001). Les molécules ou groupes fonctionnels de ces algues à activité antibactérienne comprennent notamment des phlorotannins, des acides gras, des polysaccharides, des peptides, des terpènes, des polysaccharides, des alcools, des aldéhydes etc... Les mécanismes d'action de ces molécules ont été caractérisés (revue de Mayer *et al.*, 2013) et ne feront pas l'objet de développement ici. Il est donc possible d'envisager l'utilisation d'algues, de produits constitutifs des algues, ou de produits synthétisés par les algues comme potentielle alternative aux antibiotiques.

Les macroalgues sont généralement classifiées en 3 groupes d'après leur pigmentation (Abu-Ghannam *et al.*, 2013). Les algues du genre Phaeophyceae (algues brunes) sont de couleur brune en liaison avec la présence de pigments caroténoïdes (fucoxanthine). Les Chlorophyceae (algues vertes) contiennent des pigments de type chlorophylle (a and b), tandis que les principaux pigments des Rhodophyceae (algues rouges) sont la phycoérythrine et la phycocyanine. Ces algues synthétisent une grande diversité de polysaccharides (20 à 70% de la matière sèche) qui diffèrent selon le type d'algue considéré (revue de O Sullivan *et al.*, 2010). Les polysaccharides des algues brunes sont des alginates, de la laminarine, des fucanes et de la cellulose, ceux des

algues rouges des galactanes (carraghénanes et agars), et ceux des algues vertes, des arabinanes et des rhamnanes (principalement de type ulvane).

Ces polysaccharides présentent des propriétés antibactériennes en relation avec les capacités à se lier avec des récepteurs de la paroi bactérienne, conduisant à une modification de la perméabilité cellulaire des bactéries, ou induisant une incapacité pour les bactéries à se fixer sur leurs récepteurs intestinaux (Shannon and Abu-Ghannam, 2016). Ainsi, des extraits aqueux riches en polysaccharides sulfatés provenant d'ulve (*Ulva armoricana*) inhibent fortement la croissance *in vitro* de différents espèces bactériennes (Gram+ et Gram-) isolées d'animaux d'élevage, les plus sensibles étant *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Staphylococcus aureus*, et *Streptococcus suis* (Berry *et al.*, 2016). Ces extraits ont également un effet stimulant sur les médiateurs de l'immunité, en particulier ceux des cellules intestinales.

De nombreux essais ont testé l'utilisation d'algues ou de produits issus d'algues en tant qu'améliorateur de l'écosystème digestif ou permettant d'accroître le statut immunitaire de l'animal.

- Chez l'animal de laboratoire (rongeur), la production de mucines aptes à protéger l'intestin est stimulée en présence d'ulvanes *ex vivo*, sur colon perfusé de rat (Barcello *et al.*, 2000). Néanmoins, cet effet n'est pas démontré *in vivo*. *In vivo*, l'apport d'oligosaccharides ou de polysaccharides issus d'algues permet d'accroître les effectifs des Bifidobactéries et des Lactobacilles (bactéries considérées comme favorables) dans le caecum, le colon ou dans les fèces chez le rat (Hu *et al.* ; 2006 ; Wang *et al.*, 2006) mais ces effets n'ont pas été étudiés lors d'infections digestives, ou en comparaison avec des antibiotiques.
- Chez l'animal d'élevage.
 - Chez les porcins. Les données issues de la revue de O'Sullivan *et al* (2010) montrent que, chez le porcelet autour du sevrage, l'apport de différents composés issus d'algues (laminarine, fucoidanes, alginates) permet une modification des équilibres microbiens dans l'intestin avec un accroissement du rapport Lactobacilles/*E coli*, considéré par les auteurs comme bénéfique pour l'animal, mais toutes les études citées ont été effectuées sur des porcelets en bonne santé.
Chez le porcelet allaité, l'apport d'aliment complémentaire à base d'*Ulva* spp. et d'argiles a permis une réduction de 50% des diarrhées et du nombre de traitements médicamenteux entre 5 et 20 j d'âge (Cano-Lopez *et al.*, 2014). Chez ce même type d'animal, la supplémentation maternelle par des extraits d'algues accroît l'immunité humorale et la réponse immunitaire chez le porcelet après un challenge LPS (i.e. avec des lipopolysaccharides bactériens, Leonard *et al.*, 2012). Par contre ces effets sur le système immunitaire n'ont pas été observés chez des porcelets sevrés recevant différentes algues, seules ou en association (Reilly *et al.*, 2008) ou après challenge par *E. coli* K88 chez des porcelets sevrés, et préalablement allaités par leur mère supplémentée avec des extraits de *Laminaria* spp (Heim *et al.*, 2014).
Aucune comparaison des effets de différents composés issus d'algues avec un traitement antibiotique ne semble à ce jour avoir été publiée.
- Chez les ruminants. Chez les bovins à l'engraissement (feedlots), l'apport d'*Ascophyllum nodosum* permet de réduire la prévalence de l'excrétion fécale d'*E. coli* O157 :H7 et de *Salmonella* spp observée lors de l'allotement des bovins, ainsi que l'excrétion fécale d'*E. coli* O157 :H7 chez des bovins volontairement infectés par cet agent pathogène. (Braden *et al.*, 2004 ; Bach *et al.*, 2008).

La méthode d'évaluation proposée par le GT pourrait être appliquée aux publications relatives à ces algues.

8.3 Phages

La phagothérapie consiste à utiliser des virus appelés bactériophages (ou phages) pour traiter des maladies infectieuses d'origine bactérienne. Cette pratique ancienne a été mise en place dès 1919

par Félix d'Herelle à l'Institut Pasteur de Paris pour traiter des enfants atteints de dysenterie sévère (Dublanquet, 2009). Elle fut ensuite utilisée pour le traitement de cas de peste en Egypte en 1925 et de choléra en Inde en 1926. La thérapie phagique sera en plein essor jusqu'en 1940 et sera finalement abandonnée par les pays occidentaux au profit des antibiotiques.

Le recours à la phagothérapie est resté courant dans les pays d'Europe de l'Est, avec la création de 2 instituts, l'institut Eliava en Géorgie et l'institut Hirsfeld en Pologne. Aujourd'hui, la Géorgie est l'un des rares pays dans lequel la phagothérapie est encore proposée.

Cependant, la phagothérapie connaît un regain d'intérêt du fait de l'émergence de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques et de la difficulté de concevoir de nouvelles molécules à activité anti-bactérienne.

Découverts en 1915 par l'Anglais Frederick Twort, les bactériophages sont des virus qui s'attaquent exclusivement aux bactéries. Ils sont trouvés dans tous les environnements comportant des bactéries (eau, sol, organismes animaux, végétaux, ...) et représentent le plus grand réservoir de biodiversité non caractérisée. Ils sont considérés comme les « entités biologiques » les plus abondantes de la biosphère, avec un nombre estimé à plus de 10^{30} (Chibani-Chennoufi *et al.*, 2004). Ils jouent notamment un rôle important dans la régulation des communautés bactériennes au sein des écosystèmes et des études montrent que les phages peuvent réduire une population bactérienne de près de 50% en 48 heures (Gilmore, 2012).

On estime que pour chaque bactérie, il est possible de trouver 10 bactériophages différents (Chan et Abedon, 2012). Les phages sont caractérisés par leur grande spécificité et leur grande diversité. Ils sont constitués d'une capsid (enveloppe de nature protéique) qui renferme l'information génétique qui peut se présenter sous forme d'ADN (forme la plus fréquente) ou d'ARN, simple ou double brin (Ackermann, 2007). Selon les phages, deux types de cycles sont observés : le cycle lysogénique (ou tempéré) au cours duquel l'ADN viral s'intègre dans le génome de la bactérie et le cycle lytique aboutissant à la lyse bactérienne. Dans le cas du cycle lytique, on parle de phages virulents et ce sont uniquement ces derniers, qui tuent les bactéries à la fin de leur cycle, qui sont d'intérêt en phagothérapie (Wittebole *et al.*, 2014).

Le nombre d'études et de publications portant sur la thérapie phagique comme alternative à l'utilisation des antibiotiques dans les domaines de la santé humaine et de la santé animale est de plus en plus important. Ainsi, un essai clinique intitulé Phagoburn a démarré en juillet 2015 (<http://www.phagoburn.eu>). Cet essai vise à évaluer la tolérance et l'efficacité de traitements à base de cocktails de bactériophages contre les infections cutanées provoquées par les bactéries *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* chez les patients brûlés.

En médecine vétérinaire, plusieurs études indiquent aussi que la phagothérapie pourrait constituer une alternative efficace pour prévenir ou guérir la colibacillose aviaire (Oliveira *et al.*, 2010 ; Huff *et al.*, 2013 ; Zhang *et al.*, 2013 ; El-Gohary *et al.*, 2014), notamment dans le cas de souches multi-résistantes aux antibiotiques. Un produit présenté comme un cocktail de bactériophages destiné à l'élevage aviaire est d'ailleurs déjà commercialisé en Chine. Plusieurs études suggèrent aussi que les phages pourraient être des alternatives pour lutter contre des infections bactériennes chez d'autres espèces animales telles que le porc (Zhang *et al.*, 2015 ; Lee *et al.*, 2016), les chevaux (Furusawa *et al.*, 2016), les bovins (Porter *et al.*, 2016) mais aussi en aquaculture (Richards, 2014 ; Laanto *et al.*, 2015 ; Stalin et Srinivasan, 2016).

L'utilisation thérapeutique des bactériophages présente des avantages mais montre aussi des limites. La phagothérapie, contrairement à l'antibiothérapie, est extrêmement bien ciblée. Chaque bactériophage est en effet capable d'infecter une souche bactérienne donnée et n'a donc en théorie aucune action sur la flore commensale, ce qui limite le risque d'effets secondaires. Cependant, des recherches sont encore nécessaires afin de mieux comprendre le mode d'action des bactériophages, les mécanismes de résistance aux phages même si cette résistance semble plus rare comparée à celle observée avec les antibiotiques, mais aussi de bien définir leur mode d'administration.

Il est également important de s'assurer de l'absence de phages « tempérés » (phages dont le génome peut s'intégrer dans l'ADN de la bactérie), lors de la production de bactériophages à usage thérapeutique car ces phages sont de potentiels vecteurs de gènes pouvant coder par

exemple des toxines ou des gènes de résistance à des antibiotiques (Subirats *et al.*, 2016 ; Anand *et al.*, 2016), même si une autre étude récente semble indiquer le contraire (Enault *et al.*, 2016).

Un autre inconvénient est que les bactériophages ne pénètrent pas dans les cellules autres que les bactéries. Ils ne peuvent donc pas être utilisés pour traiter les infections provoquées par les bactéries intracellulaires.

Enfin, si les bactériophages entrent dans le cadre de la législation européenne, il n'existe pas de statut réglementaire spécifique ni d'allègement de dossier par rapport à un autre médicament vétérinaire.

8.4 Enzymes : cas du lysozyme.

Le lysozyme, appelé également muramidase, est une enzyme impliquée dans la défense contre les infections bactériennes. Elle est présente dans de nombreuses sécrétions des vertébrés (larmes, salive, mucus, lait maternel, ...) et dans les lysosomes des phagocytes. On trouve également le lysozyme en grande quantité dans le blanc d'œuf, d'où il est souvent extrait. Son activité antibactérienne est due à sa capacité à hydrolyser le peptidoglycane des parois bactériennes, en particulier celui des bactéries à Gram positif.

Quelques références bibliographiques font état d'essais d'exploration chez les animaux. Cependant, ces essais ont surtout été effectués dans une perspective d'alternatives aux AFC (Oliver and Wells, 2015). Mais des essais sur animaux infectés expérimentalement ne semblent pas fournir jusqu'à présent de résultats probants vis-à-vis d'un objectif de moindre recours aux antibiotiques (Nyachoti *et al.*, 2012).

9. EVALUATION DE L'INNOCUITÉ DES PRODUITS

9.1 Méthode d'évaluation

Le principe retenu dans la recherche bibliographique concernant l'innocuité des différents produits, molécules, plantes, extraits de plantes et microorganismes a été de prendre comme référence en priorité les synthèses issues d'un organisme scientifique de référence, l'Efsa, sans reprendre l'analyse de ces synthèses au niveau de chaque publication référencée. Par ailleurs, en l'absence de données pour certains produits, molécules, plantes, extraits de plantes et microorganismes dans ces documents de synthèse, l'analyse a été effectuée au cas par cas sur la base de publications scientifiques individuelles (<https://scholar.google.fr/>) ou sur la base d'éléments scientifiques disponibles sur des sites internet référencés (dont le Règlement LMR²⁷).

La recherche bibliographique a concerné l'innocuité des différents produits, molécules, plantes, extraits de plantes et microorganismes pour les espèces animales cibles, l'homme utilisateur (i.e. manipulateur des produits, substances et microorganismes), l'homme consommateur de denrées alimentaires d'origine animale contenant de possibles résidus de ces produits, substances et microorganismes et l'environnement.

Innocuité pour les espèces animales cibles

Toutes les espèces animales vertébrées et invertébrées ont été considérées. Les microorganismes ayant le statut QPS (« qualified presumption of safety » = présomption d'innocuité reconnue) ont été considérés comme ayant une innocuité pour les espèces cibles ; dans le cas contraire, il a été notamment indiqué si le microorganisme était considéré comme « non pathogène » ou « potentiellement pathogène chez l'espèce X ». Pour les substances, lorsque l'information a été trouvée, il a été indiqué qu'elles ont été considérées comme ayant une innocuité pour les espèces cibles « à la concentration maximale de X » ; dans le cas contraire, il a été indiqué les doses toxiques après exposition unique (DL₅₀, ...) ou répétée (NOAEL, NOEL, ...), lorsque celles-ci ont été trouvées, ou les signes cliniques ou lésions décrits lors d'intoxications chez les animaux. Pour certains microorganismes, substances et produits, il a été indiqué, lorsque cela était le cas, la mention « pas de données » avec la recherche bibliographique choisie qui n'est pas exhaustive.

Innocuité pour l'homme utilisateur

Les microorganismes ayant le statut QPS, ainsi que les souches de microorganismes soumises à expertise auprès de l'Efsa, ont été considérés comme ayant une innocuité pour l'utilisateur ; dans le cas contraire, il a été notamment indiqué si le microorganisme était considéré comme « non pathogène », « peu pathogène », « potentiellement pathogène » ou « opportuniste chez l'Homme ». Pour les autres substances et produits, lorsque l'information a été trouvée, il a été indiqué qu'ils ont été considérés comme « potentiellement toxiques » avec, le cas échéant, indication des doses toxiques et des signes cliniques décrits ; lorsque les informations ont été trouvées, il a été clairement indiqué si la substance ou le produit était irritant (cutané, oculaire et/ou respiratoire) ou sensibilisant (cutané et/ou respiratoire). Pour certains microorganismes, substances et produits, il a été indiqué, lorsque cela était le cas, la mention « pas de données » avec la recherche bibliographique choisie qui n'est pas exhaustive.

²⁷ LMR : limites maximales de résidus

Innocuité pour l'homme consommateur de denrées alimentaire d'origine animale

Les microorganismes ayant le statut QPS, ainsi que les souches de microorganismes soumises à expertise auprès de l'Efsa, ont été considérés comme ayant une innocuité pour le consommateur ; dans le cas contraire, il a été notamment indiqué si le microorganisme était considéré comme « non pathogène », « peu pathogène », « potentiellement pathogène » en tant que contaminant d'aliments dont la nature a été indiquée. Pour les autres substances et produits, lorsque l'information a été trouvée, il a été indiqué qu'elles ont été considérées comme ayant une innocuité pour les espèces cibles « à la concentration maximale de X » ou que « aucune LMR n'était requise selon le règlement (UE) N° 37/2010 de la Commission du 22 décembre 2009 relatif aux substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale » ; dans le cas contraire, lorsque l'information a été trouvée, il a été indiqué qu'ils ont été considérés comme « potentiellement toxiques » avec, le cas échéant, indication des signes cliniques décrits. Pour certains microorganismes, substances et produits, il a été indiqué, lorsque cela était le cas, la mention « pas de données » avec la recherche bibliographique choisie qui n'est pas exhaustive.

Innocuité pour l'environnement

Les microorganismes ayant le statut QPS, ainsi que les souches de microorganismes soumises à expertise auprès de l'Efsa, ont été considérés comme ayant une innocuité pour l'environnement. Pour les plantes, les extraits de plantes et les huiles essentielles, il a été considéré que l'innocuité pour l'environnement était « sans objet » car il est possible de considérer que ces produits, issus de plantes présentes dans l'environnement, ne contribuent pas à un enrichissement de l'environnement en ces plantes après administration à l'animal. Pour les substances, lorsque l'information a été trouvée, il a été indiqué qu'elles ont été considérées comme ayant une innocuité pour l'environnement « à la concentration maximale de X ». Pour certains microorganismes, substances et produits, il a été indiqué, lorsque cela était le cas, la mention « pas de données » avec la recherche bibliographique choisie qui n'est pas exhaustive.

9.2 Résultats

Le tableau recensant plus de 220 microorganismes, substances ou produits différents ainsi que les données disponibles quant à leur innocuité pour l'homme, l'animal et l'environnement, figure en annexe 4.

9.3 Conclusions sur l'innocuité des familles de produits

9.3.1 Probiotiques

Concernant les huit **levures** utilisées comme probiotiques dans les essais, trois d'entre elles sont considérées comme ayant une innocuité, à la fois pour les animaux, le consommateur et l'environnement, puisqu'ayant le statut QPS : *Saccharomyces cerevisiae*, *S. cerevisiae boulardii* et *Debaryomyces hansenii*. Deux d'entre elles, *Candida deformans* et *Cryptococcus laurentii*, peuvent être considérées comme peu pathogènes chez les animaux et l'Homme. Deux d'entre elles, *Yarrowia lipolytica* et *Rhodotorula mucilaginosa* (Deligios *et al.*, 2015) sont potentiellement pathogènes chez l'Homme. Enfin, aucune donnée d'innocuité n'est disponible pour les deux dernières levures, et *Metschnikowia viticola*.

Concernant les nombreuses **bactéries** utilisées comme probiotiques dans les essais, elles peuvent être classées en quatre catégories. La première catégorie regroupe la majorité d'entre elles qui sont considérées comme ayant une innocuité, à la fois pour les animaux, le consommateur et l'environnement, puisqu'ayant le statut QPS (e.g. *Lactobacillus pentosus*) ou ayant fait l'objet d'une évaluation et/ou d'une autorisation de l'EFSA (e.g. *Enterococcus faecium*). Dans cette catégorie, certaines bactéries sont néanmoins considérées comme toxiques

pour l'utilisateur, pour des raisons d'irritation cutanée ou oculaire ou de sensibilisation cutanée ou respiratoire (e.g. *Pediococcus acidilactici*).

La deuxième catégorie regroupe des bactéries et des souches de bactéries qui sont considérées comme ayant une innocuité, à la fois pour les animaux, le consommateur et l'utilisateur, leur absence de pathogénicité ayant été démontrée chez les animaux et l'Homme. Dans cette catégorie, aucune donnée n'est généralement disponible quant à leur innocuité pour l'environnement. Il est à noter que pour certaines espèces de bactéries, seules certaines souches ne présentent pas de pathogénicité, d'autres souches pouvant être pathogènes, par exemple *Clostridium butyricum* (Cassir *et al.*, 2016).

La troisième catégorie regroupe 7 bactéries potentiellement pathogènes chez les animaux et/ou chez le consommateur et l'utilisateur (*Propionibacterium acnes*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio lentus*). Dans cette catégorie, aucune donnée n'est, là encore, disponible quant à leur innocuité pour l'environnement. La quatrième et dernière catégorie regroupe des bactéries dont l'innocuité n'est que peu ou pas connue par manque de données (*Paenibacillus polymyxa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Shewanella spp.*), ainsi que la streptolysine O exotoxine hémolytique. Un virus, le *parapoxvirus ovis* inactivé, peut être rattaché à cette dernière catégorie.

9.3.2 Anticorps

Concernant les anticorps contenus dans les plasmas et sérums de porcs, bovins, caprins, et équins ou dans le jaune d'œuf, ils sont considérés comme ayant une innocuité, à la fois pour les animaux, le consommateur et l'environnement, si ces produits ne sont pas contaminés par des micro-organismes (par exemple virus de la fièvre aphteuse). Un contrôle de la qualité microbiologique (au sens large) de ces produits est donc nécessaire.

9.3.3 Plantes, huiles essentielles et substances extraites des plantes

De nombreuses **plantes et huiles essentielles** sont utilisées dans les essais.

Concernant leur innocuité pour les animaux, il convient de distinguer trois catégories de plantes et d'huiles essentielles :

- celles qui ne sont pas rapportées comme étant toxiques (e.g. *Ocimum americanum*) ;
- celles pour lesquelles des données de toxicité existent chez l'animal, le plus souvent de laboratoire (e.g. *Nigella sativa*). Lorsque des données de toxicité chez l'animal existent, les doses toxiques après exposition unique ou répétée sont généralement élevées, indicatrices ainsi d'un danger faible. Les plantes les plus toxiques sont *Quercus sp.* chez les animaux de production et les équidés, *Allium cepa* n'est cité pour sa haute toxicité que chez le chien et le chat et *Linum usitatissimum* et *Datura spp.* chez les différents animaux de production ;
- celles pour lesquelles aucune donnée n'est disponible (e.g. *Quillaja japonica*).

Concernant leur innocuité pour l'utilisateur, il n'y a pratiquement pas de données, les seules données disponibles se référant à un utilisateur après un contact mains-bouche avec une plante, une partie de la plante ou une huile essentielle.

Concernant leur innocuité pour le consommateur, il convient de distinguer parmi les plantes et huiles essentielles :

- celles qui ne sont pas rapportées comme étant toxiques (e.g. *Melissa officinalis*), aucune LMR n'étant requise au niveau européen (parfois sous certaines conditions) ;
- celles pour lesquelles aucune donnée n'est disponible (e.g. *Syzygium aromaticum*).

Concernant leur innocuité pour l'environnement, elle est sans objet, sauf dans le cas d'une plante non autochtone qui pourrait par exemple se révéler invasive.

Concernant les **substances chimiquement définies extraites de plantes ou de parties de plantes** (e.g. thymol, carvacrol), elles ont toutes fait l'objet d'une évaluation de la part de l'EFSA.

Elles sont considérées comme ayant une innocuité, à la fois pour les animaux, le consommateur et l'environnement ; cette innocuité, pour nombre d'entre elles, est assujettie à une dose maximale (e.g. thymol à la dose maximale de 5 mg/kg aliment) qui peut varier en fonction des espèces animales. Par ailleurs, ces substances présentent toutes une toxicité potentielle pour l'utilisateur, étant généralement irritantes cutanées, oculaires et/ou respiratoires et sensibilisantes cutanées.

9.3.4 Prébiotiques

Concernant les prébiotiques (MOS, galactosyl lactose, galacto-oligo saccharides, inuline), aucune conclusion en matière d'innocuité ne peut être réalisée, en l'absence de la connaissance de la nature exacte du prébiotique. Néanmoins, l'innocuité pour les animaux, le consommateur et l'environnement des prébiotiques de ces familles est généralement bonne.

9.3.5 Acides

Concernant les acides (e.g. acide citrique), ils ont tous fait l'objet d'une évaluation de la part de l'EFSA. Ils sont considérés comme ayant une innocuité, à la fois pour les animaux, le consommateur et l'environnement ; cette innocuité, pour nombre d'entre eux, est assujettie à une dose maximale (e.g. acide citrique à la dose maximale de 30 000 mg/kg aliment ou 10 000 mg/L eau) qui peut varier en fonction des espèces animales. Par ailleurs, ces acides présentent tous une toxicité potentielle pour l'utilisateur, étant généralement irritants ou corrosifs cutanés, oculaires et/ou respiratoires et sensibilisants cutanés.

9.3.6 Enzymes

Concernant les enzymes (β -glucanases, β -xylanases, amylases), toutes ont fait l'objet d'une évaluation de la part de l'EFSA. Elles sont considérées comme ayant une innocuité, à la fois pour les animaux, le consommateur et l'environnement. Par ailleurs, ces enzymes présentent toutes une toxicité potentielle pour l'utilisateur puisque sensibilisantes cutanées et respiratoires.

9.3.7 Divers

La bentonite, qui a fait l'objet d'une évaluation de la part de l'EFSA, est considérée comme ayant une innocuité, à la fois pour les animaux, le consommateur et l'environnement à la concentration maximale de 2% dans les aliments des animaux ; elle est par ailleurs irritante oculaire et respiratoire.

Par manque de données, il est difficile de conclure avec certitude sur l'innocuité du maltolate de gallium, même si le gallium est très faiblement toxique, ainsi que sur les acides solubles bio-organiques (SBO).

9.3.8 Risques de résistance

Face à la restriction de l'usage des antibiotiques dans l'arsenal thérapeutique, notamment vétérinaire, l'intérêt pour des solutions alternatives ou complémentaires est croissant. L'objectif de développer des solutions alternatives ou complémentaires aux antibiotiques est avant tout de réduire la pression qui contribue à la sélection et la dissémination des résistances aux antibiotiques chez l'animal, l'homme et l'environnement. Dès lors, il est important qu'une alternative thérapeutique présente non seulement un bénéfice santé pour l'animal malade, mais que les risques associés à son usage soient également évalués, notamment au regard de leur capacité à promouvoir la résistance aux antibiotiques.

Un des exemples récents soulignant ce point est celui de l'oxyde de zinc. Il s'agit effectivement d'une approche préventive dite alternative aux antibiotiques pour les troubles digestifs chez le porcelet, mais le zinc ainsi que d'autres métaux lourds, ont la capacité de co-sélectionner des gènes de résistance et donc potentiellement de favoriser la dissémination de la résistance. (Argudin and Butaye, 2016 ; Anses, 2013 ; EMA, 2017 [référé modifiant le rapport bénéfice/risque qui devient négatif]).

Pour le moment, ces aspects sont peu étudiés mais quelques publications scientifiques récentes montrent que le risque n'est pas négligeable :

- concernant les acides organiques, des publications sur l'usage d'acides organiques notamment en tant que biocides, révèlent qu'ils ont la capacité de sélectionner des souches de bactéries moins sensibles aux antibiotiques (Rajkovic *et al.*, 2009 ; Capita *et al.*, 2014).
- concernant les probiotiques (Wong *et al.*, 2015 ; Imperial and Ibana, 2016) et les bactériophages (Brown-Jaque *et al.*, 2015 ; Anand *et al.*, 2016 ; Lekunberri *et al.*, 2017a/b), des études mettent en évidence leur capacité à disséminer la résistance aux antibiotiques.

Ces risques peuvent sembler négligeables au niveau d'un individu traité ou pour un usage anecdotique, mais peuvent représenter un risque à mesure que leur usage augmente notamment dans un environnement dans lequel les résistances sont déjà existantes. Si ce type de produits entre dans l'usage courant en tant qu'alternatives aux antibiotiques, il sera nécessaire d'assurer une surveillance de la résistance des flores environnementales, *a minima* face à des situations à risque.

9.4 Efficacité et innocuité : mise en perspective

Le tableau 62 regroupe, pour chaque affection et chaque espèce animale, les familles de produits et les produits qui semblaient intéressants, voire prometteurs pour ces affections, accompagnés d'un résumé de leur efficacité et de leur innocuité.

Tableau 62 : croisement efficacité x innocuité pour les produits ou familles de produits prometteurs

Affections	Catégorie de produits	Nature des produits	Efficacité : contribution à la diminution du recours aux antibiotiques	Innocuité
Diarrhée du porcelet au sevrage	Probiotiques	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	Traitement préventif (niveau de confiance élevé)	Pour l'espèce cible, le consommateur et l'environnement
	Plasma	Plasma porcin	Traitement préventif (niveau de confiance élevé)	Pour l'espèce cible, le consommateur et l'environnement <u>si absence de contamination du produit par des micro-organismes</u>
	Caséine	-	Traitement préventif (niveau de confiance élevé)	Pour l'espèce cible, le consommateur et l'environnement
Colibacillose systémique des volailles	Probiotiques	<i>Clostridium butyricum</i>	Traitement préventif (niveau de confiance faible)	Non pour certaines souches considérées comme pathogènes
Troubles digestifs du lapin	Probiotiques	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus toyonensis</i>	Traitement préventif (niveau de confiance faible)	Pour l'espèce cible, le consommateur et l'environnement SAUF <i>Bacillus toyonensis</i>
Diarrhée du veau	Immunoglobulines g de l'œuf	-	Traitement préventif et curatif (niveau de confiance faible)	Pour l'espèce cible, le consommateur et l'environnement <u>si absence de contamination du produit par des micro-organismes</u>
Maladies systémiques de poissons	Huiles essentielles	<i>Hesperozygis ringens</i> , <i>Ocimum americanum</i>	Traitement curatif (niveau de confiance faible)	Pour l'espèce cible
	Extraits de plantes	Extrait de canelle (cinnamaldéhyde), clou de girofle	Traitement curatif (niveau de confiance faible)	Pour l'espèce cible, le consommateur et l'environnement mais dose maximale tolérée à vérifier chez le poisson Irritant cutané, oculaire et respiratoire et sensibilisant cutané pour l'utilisateur
	Probiotiques	Principalement genre <i>Bacillus</i> et <i>Lactobacillus</i>	Traitement préventif (niveau de confiance faible)	Pour l'espèce cible, le consommateur et l'environnement
Rhodococcose du poulain	Plasma hyperimmun	Plasma hyperimmun de chevaux	Traitement préventif (niveau de confiance faible)	Pour l'espèce cible, le consommateur et l'environnement <u>si absence de contamination du produit par des micro-organismes</u>
	Maltolate de gallium	-	Traitement curatif (niveau de confiance faible)	Peu de données mais a priori oui (propriétés antitumorales du gallium notamment)
Mammites	Extraits de plantes et huiles essentielles	<i>Linum usitatissimum</i> , <i>Atractylodes macrocephalae</i> <i>koidz</i> , <i>Ocimum sanctum</i> , <i>Eucalyptus globus</i> + <i>Glycyrrhiza glabra</i> + <i>Curcuma longa</i> + <i>Cedrus deodora</i> + <i>Paearia foetida</i>	Traitement curatif des mammites subcliniques (niveau de preuve faible)	Pas de données sauf <i>Ocimum</i> , <i>Linum</i> et <i>Curcuma</i> (innocuité pour les espèces cibles) et <i>Eucalyptus</i> (innocuité pour les espèces cibles et le consommateur)
Métrites	Extraits de plantes	Ail, <i>Nigella sativa</i>	Traitement curatif (niveau de confiance faible)	Pas de données par voie locale
Troubles digestifs du chevreau	Extraits de plantes	<i>Datura innoxia</i>	Traitement préventif (niveau de confiance faible)	Non pour les espèces cibles, pas de données pour le consommateur et l'environnement

Concernant les produits potentiellement contributeurs à la diminution du recours aux antibiotiques, il s'agit très majoritairement de produits utilisés en approche préventive davantage que curative ; le niveau de confiance attribué à l'efficacité de ces produits est généralement faible, eu égard à la méthodologie adoptée par le GT. Ces produits prometteurs en matière d'efficacité possèdent majoritairement une innocuité, à la fois pour l'espèce cible, le consommateur et l'environnement, à l'exception :

- de *Bacillus toyonensis* pour, d'une part un risque de dissémination de gènes codant pour la résistance à la tétracycline et au chloramphénicol, d'autre part un pouvoir toxigène potentiel,
- de *Clostridium butyricum* pour lequel certaines souches sont identifiées comme pathogènes (Deligios, 2015)
- des huiles essentielles de *Hesperozygis ringens* et *Ocimum americanum* pour lesquelles des données d'innocuité pour le consommateur et l'environnement doivent être produites,
- de *Datura inoxia* qui présente un risque pour l'espèce cible à certaines doses et pour lequel des données d'innocuité pour le consommateur et l'environnement doivent être produites,
- et du maltolate de gallium pour lequel très peu de données d'innocuité sont disponibles.

L'innocuité pour l'utilisateur de ces produits prometteurs en matière d'efficacité est, à l'inverse, très souvent méconnue, à l'exception :

- de *Bacillus toyonensis* qui possède une toxicité potentielle pour l'utilisateur pour les mêmes raisons que celles évoquées ci-dessus,
- de certaines souches de probiotiques pour lesquelles l'innocuité pour l'utilisateur est connue,
- du cinnamaldéhyde, contenu dans l'extrait de cannelle et du clou de girofle, qui sont connus pour être irritants cutanés, oculaires et respiratoires et sensibilisants cutanés.

Globalement, les produits identifiés par le GT comme potentiellement contributeurs à la diminution du recours aux antibiotiques possèdent donc une innocuité le plus souvent connue et avérée pour l'espèce cible, le consommateur et l'environnement, même si, pour quelques produits, il convient de rester prudent dans l'attente de données complémentaires sur l'innocuité pour ces trois cibles, ainsi que sur celle pour l'utilisateur.

10. PERSPECTIVES EN MATIÈRE DE POSITIONNEMENT RÉGLEMENTAIRE DES PRODUITS

Comme indiqué au chapitre 3.3, de nombreuses allégations rencontrées lors du recensement conduisent à classer les produits concernés dans la catégorie des médicaments vétérinaires, soit parce ces produits exercent véritablement une fonction médicamenteuse, soit parce que leur présentation les assimile à des médicaments vétérinaires, alors que leur fonction en est éloignée et qu'une présentation alternative de ces produits pourrait être envisagée.

10.1 Aliment à objectif nutritionnel particulier

Pour les produits ne relevant pas du statut juridique du médicament, la question se pose de savoir si leur utilisation dans l'alimentation des animaux peut leur conférer le statut d'**aliment diététique**, c'est-à-dire, selon l'article 9 du règlement (CE) n° 767/2009 précité, celui d'un aliment dont la composition spécifique répond à l'objectif nutritionnel particulier auquel il est destiné. Selon l'article 3, paragraphe 2, point n) du même règlement, un objectif nutritionnel particulier est « *un objectif qui consiste à satisfaire les besoins nutritionnels spécifiques d'animaux dont le processus d'assimilation, le processus d'absorption ou le métabolisme est ou risque d'être perturbé temporairement ou de manière irréversible et qui, de ce fait, peuvent tirer des bénéfices de l'ingestion d'aliments pour animaux appropriés à leur état.* »

On peut admettre que, dans un certain nombre de cas répertoriés par le GT, on est en présence d'animaux dont le processus d'absorption ou le métabolisme est, ou risque d'être perturbé temporairement ou de manière irréversible. A la lecture des éléments de preuve examinés par le GT, il peut se faire que certains produits étudiés incorporés aux aliments des animaux soient destinés à satisfaire les besoins nutritionnels spécifiques de ces animaux. Si les éléments de preuve sont suffisamment robustes, il serait possible de soumettre à la Commission une demande d'inscription de ces objectifs nutritionnels particuliers, dont les caractéristiques nutritionnelles essentielles incluraient l'utilisation de certains des produits examinés.

10.2 Additifs pour l'alimentation animale

Comme souligné au point 3.3., un certain nombre des produits examinés par le GT sont des additifs autorisés. Ils le sont pour des fonctions autres que celles visant à diminuer le recours aux antibiotiques. Or, pour qu'ils puissent revendiquer de telles propriétés, il faudrait qu'ils puissent relever d'une catégorie existante (ou à créer) et/ou d'un groupe fonctionnel existant ou nouveau autre que celle(s) ou celui (ceux) pour lequel (lesquels) ils sont actuellement autorisés²⁸.

Selon l'article 5, paragraphe 3 du règlement (CE) n° 1831/2003 précité, l'additif pour l'alimentation animale doit :

- a) avoir un effet positif sur les caractéristiques des aliments pour animaux ;
- b) avoir un effet positif sur les caractéristiques des produits d'origine animale ;
- c) avoir un effet positif sur la couleur des poissons ou oiseaux d'ornement ;
- d) répondre aux besoins nutritionnels des animaux ;
- e) avoir un effet positif sur les conséquences environnementales de la production animale ;
- f) avoir un effet positif sur la production, le rendement ou le bien-être des animaux, notamment en influençant la flore gastro-intestinale ou la digestibilité des aliments pour animaux, ou
- g) avoir un effet coccidiostatique ou histomonostatique.

²⁸ Un additif donné peut être autorisé au titre d'une ou de plusieurs catégories et d'un ou plusieurs groupes fonctionnels.

Un même additif peut avoir un ou plusieurs effets.

L'article 6, paragraphe 1 du même règlement, énumère les 5 catégories actuelles d'additifs, chacune comprenant plusieurs groupes fonctionnels. Ce sont les :

- a) additifs technologiques : toutes les substances ajoutées aux aliments pour animaux à des fins technologiques
- b) additifs sensoriels : toutes les substances qui, ajoutées à l'alimentation animale, améliorent ou modifient les propriétés organoleptiques des aliments pour animaux ou les caractéristiques visuelles des denrées alimentaires issues d'animaux ;
- c) additifs nutritionnels ;
- d) additifs zootechniques : tous les additifs utilisés pour influencer favorablement les performances des animaux en bonne santé ou l'environnement ;
- e) coccidiostatiques et histomonostatiques.

La catégorie « d) *additifs zootechniques* » pourrait-elle accueillir tout ou partie des produits examinés par le GT ? Rien n'est moins sûr pour au moins deux raisons. La première tient à la définition même de ces additifs zootechniques. Comme dit plus haut, les additifs sont des produits utilisés pour influencer favorablement les performances des animaux en bonne santé. Or, nombre de ces produits sont testés sur des animaux malades, ce qui leur confère d'emblée le statut de médicament vétérinaire. Pour les produits utilisés en prévention, ceux-ci ne visent toutefois pas, en premier lieu, à influencer favorablement les performances des animaux. Cette amélioration des performances est plutôt, dans les cas étudiés, une conséquence secondaire de l'efficacité des produits qui permettent d'abord de prévenir une maladie bactérienne.

Par ailleurs, il conviendrait de s'interroger sur le groupe fonctionnel adéquat. Les groupes fonctionnels actuels sont au nombre de 4. Ce sont les :

- a) améliorateurs de digestibilité : substances qui, utilisées dans l'alimentation animale, renforcent la digestibilité du régime alimentaire, par leur action sur certaines matières premières pour aliments des animaux ;
- b) stabilisateurs de la flore intestinale : micro-organismes ou autres substances chimiquement définies qui, utilisés dans l'alimentation animale, ont un effet bénéfique sur la flore intestinale ;
- c) substances qui ont un effet positif sur l'environnement ;
- d) autres additifs zootechniques.

Si les groupes a et c sont inappropriés, le positionnement de certains produits dans le groupe b pourrait être imaginé, en ce qu'ils visent une stabilisation du microbiote intestinal, en vue de réduire le risque de maladie bactérienne. Cependant, le classement de certains produits dans ce groupe fonctionnel d'additifs ne permettrait pas pour autant de revendiquer une capacité à « réduire le recours aux antibiotiques » car, dans l'état actuel de la réglementation additifs et de son interprétation, une telle allégation n'est pas prévue par le Règlement additifs et ne pourrait donc pas être utilisée. Enfin, le groupe fonctionnel d, un peu énigmatique, des « *autres additifs zootechniques* » pourrait être le groupe d'accueil adéquat de ces produits si le statut d'additifs zootechniques leur était reconnu et moyennant une dénomination moins « circulaire ».

La catégorie « e) *coccidiostatiques et histomonostatiques* » pourrait être également une catégorie d'accueil de certains produits, à condition de lui donner une définition plus large. Il faut toutefois observer que cette catégorie revêtait à l'origine un caractère dérogatoire comme évoqué déjà plus haut. Le 7^{ème} considérant de la directive 70/524/CEE du Conseil du 23 novembre 1970 exposait que « *dans un premier stade, certaines substances purement médicamenteuses, telles que les coccidiostatiques, doivent être considérées du point de vue de l'alimentation des animaux comme des additifs, étant donné que la plupart des États-membres les ont utilisées jusqu'à présent dans le cadre d'une prophylaxie collective, principalement en aviculture ; qu'elles feront cependant l'objet d'un nouvel examen si une directive est élaborée pour les aliments médicamenteux.* » Bien qu'une telle directive ait vu le jour quelques années plus tard²⁹, le statut d'additif n'a pas été remis

²⁹ Directive 90/167/CEE du Conseil du 26 mars 1990 établissant les conditions de préparation, de mise sur le marché et d'utilisation des aliments médicamenteux pour animaux dans la Communauté.

en cause pour ces substances. D'ailleurs, le considérant 27) du règlement (CE) n° 1831/2003 énonce, de façon laconique, que « *Certaines substances ayant un effet coccidiostatique et histomonostatique devraient être considérées comme des additifs pour l'alimentation animale aux fins du présent règlement.* ».

Si la solution « additifs » était retenue pour certains produits, les modalités les plus appropriées seraient, soit de créer une nouvelle catégorie d'additifs pour ces produits³⁰, soit d'élargir la définition des additifs zootechniques et d'ouvrir un nouveau groupe fonctionnel. La définition de cette nouvelle catégorie ou de ce nouveau groupe fonctionnel resterait à définir, en tenant compte de la revendication attendue par les opérateurs : « diminue (ou contribue à diminuer) le recours aux antibiotiques ». Ces évolutions ne pourraient se faire qu'au plan européen.

10.3 Allégation matière première

En dehors des solutions réglementaires envisagées ci-dessus, il reste la possibilité pour certains produits d'être considérés comme des matières premières pour aliments des animaux, pour lesquelles des allégations peuvent être revendiquées.

Tous ces produits ne peuvent pas répondre à la définition de matière première donnée par l'article 3, paragraphe 2, point g) du règlement (CE) n° 767/2009 précité : « *on entend par « matières premières pour aliments des animaux » les produits d'origine végétale ou animale dont l'objectif principal est de satisfaire les besoins nutritionnels des animaux, à l'état naturel, frais ou conservés, et les dérivés de leur transformation industrielle, ainsi que les substances organiques ou inorganiques, comprenant ou non des additifs pour l'alimentation animale, qui sont destinés à être utilisés pour l'alimentation des animaux par voie orale, soit directement en l'état, soit après transformation, ou pour la préparation d'aliments composés pour animaux ou en tant que supports des prémélanges* ». Ceci nécessite un examen au cas par cas.

Il faut d'emblée noter que cet article, dans son paragraphe 3, interdit l'usage d'allégations selon lesquelles l'aliment possède des propriétés de prévention, de traitement ou de guérison d'une maladie, à l'exception des coccidiostatiques et des histomonostatiques autorisés en vertu du règlement (CE) n° 1831/2003.

Dans la mesure où ces produits pourraient répondre à la définition de matière première, une possibilité serait d'utiliser l'allégation « Réduction du risque d'apparition de telle ou telle maladie » à l'instar de ce qui est prévu pour les denrées alimentaires par le règlement (CE) n° 1924/2006³¹. Cette allégation est une allégation de santé définie par l'article 2, paragraphe 2, point 5) de ce règlement comme « *toute allégation qui affirme, suggère ou implique l'existence d'une relation entre, d'une part, une catégorie de denrées alimentaires, une denrée alimentaire ou l'un de ses composants et, d'autre part, la santé* ». Le même article, au paragraphe 2, point 6) définit l'allégation relative à la réduction d'un risque de maladie comme « *toute allégation de santé qui affirme, suggère ou implique que la consommation d'une catégorie de denrées alimentaires, d'une denrée alimentaire ou de l'un de ses composants réduit sensiblement un facteur de risque de développement d'une maladie humaine.* »

On peut objecter que cette catégorie d'allégation n'est pas explicitement prévue par l'article 13 du règlement (CE) n° 767/2009 ci-dessus évoqué, mais les dispositions de cet article n'interdisent pas l'usage d'un tel libellé qui paraît approprié pour tous les produits utilisés dans des situations d'élevage où surviennent des maladies, notamment celles d'origine multifactorielle.

Il convient de noter que les allégations relevant de l'article 13 du règlement (CE) n° 767/2009 précité ne sont pas soumises à une autorisation préalable comme le sont les allégations nutritionnelles et de santé portant sur les denrées alimentaires. Elles sont laissées à l'initiative du

³⁰ L'article 6, paragraphe 3 du règlement (CE) n° 1831/2003 dispose que « *Si nécessaire, la Commission établit, à la lumière des évolutions scientifiques ou des progrès technologiques, des catégories d'additifs pour l'alimentation animale et des groupes fonctionnels supplémentaires.* »

³¹ Règlement (CE) n° 1924/2006 du Parlement européen et du Conseil du 20 décembre 2006 concernant les allégations nutritionnelles et de santé portant sur les denrées alimentaires, modifié en dernier lieu par le règlement (UE) n° 1047/2012 de la Commission du 8 novembre 2012.

responsable de l'étiquetage de l'aliment pour animaux sous sa responsabilité. Il n'y a qu'un contrôle *a posteriori* par les autorités compétentes leur permettant de vérifier, à l'aide du dossier de preuves scientifiques, constitué dès la première mise sur le marché du produit, que l'allégation est objective et compréhensible par l'utilisateur de l'aliment pour animaux. Il s'agit donc d'un dossier *a posteriori*, contrairement aux dossiers d'additifs pour aliments pour animaux ou d'ONP.

10.4 Conclusion

Au plan réglementaire, ces produits et substances permettant de diminuer le recours aux antibiotiques, peuvent relever de divers statuts juridiques selon leur présentation et/ou revendication.

Le Groupe de Travail ne se positionne pas sur la nécessité ou non d'un positionnement réglementaire unique de ces produits. Du recensement effectué à l'étape 1 de ce travail et de l'analyse des publications scientifiques, effectuée au cours de la seconde étape, les experts concluent à une pluralité de statuts possibles, à condition que certaines évolutions soient conduites dans les Règlements européens régissant l'alimentation animale.

- Certains produits, de par leur présentation ou leur fonction, relèvent du statut juridique des médicaments vétérinaires.
- Pour autant, si des produits sont assimilés à des médicaments vétérinaires par présentation, notamment au travers du libellé des revendications des opérateurs, leur fonction peut en être éloignée et une présentation alternative pourrait être envisagée les concernant :
 - o soit au travers de la réglementation des additifs pour aliments des animaux, en proposant une nouvelle catégorie d'additif ou en faisant évoluer la définition des additifs zootechniques, avec un groupe fonctionnel approprié ;
 - o soit, pour certains produits, au travers de la réglementation sur les objectifs nutritionnels particuliers (évolution de certains objectifs existant ou création d'un (de) nouvel (aux) objectif(s)) ;
 - o soit par le biais des allégations portées sur des matières premières (pour les produits pouvant être considérés comme des matières premières pour aliment des animaux).

Ces différentes possibilités impliquent de réfléchir à la définition de nouvelles catégories ou allégations, et notamment aux conditions d'intégration d'expressions comme « diminue (ou contribue à diminuer) le recours aux antibiotiques », dans les différentes réglementations soumises à évolution au plan européen.

11. CONCLUSIONS DU GROUPE DE TRAVAIL

11.1 Cadre et limites des travaux du GT

1. Durant les travaux du GT, le concept d'alternatives aux antibiotiques a englobé 2 approches complémentaires:

- ✓ dans le cadre d'une approche curative des maladies bactériennes animales, les alternatives aux antibiotiques ont inclus toutes substances ou produits pouvant se substituer totalement ou partiellement aux antibiotiques utilisés en traitement curatif, en démontrant une efficacité équivalente (non inférieure) voire supérieure aux traitements antibiotiques de référence ;
- ✓ dans le cadre d'une approche préventive des maladies bactériennes, les alternatives aux antibiotiques ont inclus toutes substances ou produits qui permettaient de réduire la fréquence d'apparition de certaines maladies animales, pouvant ainsi induire un moindre recours à l'utilisation des antibiotiques.

Ces 2 approches sont justifiées par 2 aspects :

- du point de vue scientifique, les études rapportées dans la littérature procèdent de démarches différentes (approche préventive vs curative), et donc le plus souvent de protocoles différents ;
- du point de vue du fonctionnement de l'élevage, les produits et substances induisant un moindre recours aux antibiotiques (prévention) sont complémentaires des autres mesures de maîtrise des maladies (conduite d'élevage, biosécurité, vaccination, nutrition, ...), et font donc plus référence à des démarches d'anticipation.

2. L'approche utilisée dans ce GT s'est déroulée en 2 phases. La phase 1 a consisté à recenser à partir de la presse professionnelle spécifique de chacune des espèces animales, les produits et substances proposés. Cette recherche a été basée sur l'identification de toute formulation ou allégation faisant penser que les produits considérés constituaient une alternative aux antibiotiques, sur la base d'une approche préventive ou curative de maladies bactériennes, sur le renforcement, la stabilisation ou l'amélioration de l'état de santé pris au sens large.

La phase 2 a consisté à étudier, sur la base des données scientifiques publiées, l'efficacité et l'innocuité des produits identifiés lors de la phase 1. Cette analyse des publications scientifiques relatives aux produits recensés a fait abstraction de leur statut réglementaire, compte tenu de la pluralité des statuts possibles, pour ne s'intéresser qu'aux données d'efficacité et d'innocuité, sans aucun lien avec les différentes lignes directrices des dossiers d'autorisation existant aujourd'hui (additifs ou médicaments notamment).

Compte tenu des limites des données bibliographiques *in vivo*, et notamment en l'absence de faisabilité d'une approche de type méta-analyse (*cf. infra*), le GT a été amené avant tout à proposer une démarche méthodologique pour caractériser le niveau de preuve apporté par l'ensemble des publications scientifiques, relatives aux produits alléguant des propriétés d'alternatives aux antibiotiques. Cette méthode a ensuite été appliquée aux combinaisons d'un produit, d'une espèce animale et d'une maladie les plus citées dans la phase 1.

Cette méthode présente cependant un caractère de généralité suffisamment élevé (qualification méthodologique des publications, pertinence des variables analysées, proposition de compilation semi quantitative des résultats) pour pouvoir être utilisée pour d'autres combinaisons d'un produit, d'une espèce et d'une maladie, ou dès lors que de nouvelles données scientifiques seront accessibles sur cette thématique, ou même par d'autres groupes de travail sur d'autres thématiques, moyennant d'éventuelles adaptations.

3. Cette approche a cependant été limitée dans le cas des travaux de ce GT du fait de l'identification de trois biais de publications pouvant influencer les conclusions :

- Biais de « publication sélective » : les essais présentant un effet positif d'un produit ont une plus forte probabilité d'être publiés que ceux ne montrant pas d'efficacité (Cucherat, 2002). Ceci influence probablement les conclusions, établies dans une large mesure sur la base du nombre d'essais montrant des effets positifs significatifs d'un produit, mis en balance avec les essais n'en montrant pas (ni par comparaison à un antibiotique, ni à un témoin non traité). Dans la mesure où la méthode d'élaboration des conclusions (*cf infra*) est fortement liée au nombre d'essais significatifs par rapport à ceux ne rapportant pas de différence significative entre produits et antibiotiques, cela peut influencer les conclusions et leur niveau de confiance.
- Biais de « prime à l'originalité » : certains essais peuvent ne pas avoir été acceptés pour publication de par leur caractère peu original (Cucherat, 2002), dans la mesure où la comparaison du produit étudié avec les antibiotiques ou son efficacité contre témoin non traité ont déjà fait l'objet de publications.
- Biais de privatisation des résultats : lié au fait que la recherche sur ces produits est souvent réalisée à partir de financements privés et les résultats sont le plus souvent non publiés pour des raisons de confidentialité et de stratégie d'entreprise.

4. De ce fait, les approches par méta-analyses, qui constituent la méthode de référence pour caractériser des efficacités moyennes et l'hétérogénéité de réponse des produits étudiés, n'ont pas été retenues. De plus, même dans le cas où un nombre suffisant d'essais existe pour une famille de produits donnée (exemple des probiotiques ou des huiles essentielles), les molécules ou les souches étudiées sont très hétérogènes, avec des mécanismes d'action différents, ce qui limite les possibilités de regroupement des publications à des fins d'analyse quantitative. Enfin, dans le secteur de l'alimentation et de la santé animale, il est peu probable qu'un grand nombre de publications traitant d'une même combinaison d'un produit, d'une espèce animale et d'une maladie existe. L'approche semi-quantitative retenue dans ce GT constitue en ce sens une méthode pertinente d'analyse associant l'élaboration d'une grille d'analyse des publications du point de vue de leur méthodologie, la définition de variables pertinentes pour caractériser l'évolution de la maladie en présence d'une substance potentiellement alternative aux antibiotiques, et l'élaboration de règles de décision en présence de publications dont les résultats peuvent être hétérogènes.

5. La grille de score méthodologique des publications a permis d'établir un niveau de preuve de l'efficacité revendiquée pour les produits alternatifs pour chaque essai publié, sur la base d'un arbre de décision. Compte tenu des objectifs du GT (comparaisons d'efficacité des produits aux antibiotiques), un des points sensibles de cette méthode consiste en la pénalisation (- 1 point) des essais dès lors qu'un antibiotique n'est pas présent en comparaison du produit étudié (cette option conduit également à ne pas considérer de la même façon la comparaison produit / témoin non traité, selon que celle-ci s'opère au sein d'un essai avec témoin antibiotique, ou non). Un second point sensible consiste en la pénalisation des essais dès lors que le modèle expérimental d'infection est mono-agent (infection expérimentale par un agent unique) pour simuler une maladie dont l'étiologie est multifactorielle (infection spontanée plus ou moins associée à des conditions sanitaires d'élevage dégradées) : cette pénalisation donne un poids plus important aux publications relatives à des infections spontanées par rapport à celles relatives à des infections expérimentales. Un troisième point sensible de la grille d'analyse réside dans la présentation explicite ou non du modèle statistique, notamment de la randomisation des unités expérimentales aux différents traitements dans les essais. Ces choix ont pu pénaliser certaines publications dont le score méthodologique serait ainsi passé de 2 à 3, ce qui influence le degré de confiance des conclusions associées aux produits.

6. Parmi l'ensemble des variables mesurées dans les publications, un nombre limité a été retenu par les experts, sur la base de leur pertinence biologique, pour caractériser l'évolution de l'état de santé de l'animal ayant reçu les produits alternatifs aux antibiotiques. Ces variables ont été considérées de façon unitaire, sans tenir compte du caractère multidimensionnel que peut revêtir l'évolution de l'état de santé d'un animal suite aux traitements (amélioration simultanée de plusieurs indicateurs).

7. La principale limite de la méthode concerne l'élaboration de règles de décision en présence de publications dont les résultats sont hétérogènes pour un même type de produit (e.g. les lactobacilles) ou au sein d'une même famille (e.g. les probiotiques). Rappelons que le choix méthodologique du GT était initialement de conclure de façon générique pour des familles de produits, quant à leur intérêt pour diminuer le recours aux antibiotiques. Néanmoins, compte tenu de la diversité des espèces, des maladies et des produits, le GT a dû revenir à un niveau d'analyse moins global, c'est-à-dire par produit, lorsqu'il était réalisable. La règle de décision forcément simple pour être générique, se base néanmoins logiquement sur la combinaison de l'hétérogénéité des résultats en terme statistique (présence de résultats S et de NS, et le nombre de publications associées à ces résultats) et du score méthodologique de ces publications. Le choix consensuel des experts a consisté à privilégier les publications présentant un score méthodologique élevé (scores 1, 2), et ce, indépendamment du nombre de publications de scores 3, 4, ce qui peut induire un biais dans les conclusions.

8. Une difficulté supplémentaire des travaux du GT a consisté à tenter de relier les approches de recensement des données issues de la presse professionnelle (phase 1) et celles issues de la bibliographie (phase 2). En effet, on trouve dans la presse professionnelle un certain nombre de produits résultant de l'association, soit de produits d'une même famille (ex : mélange d'huiles essentielles ou de micro-organismes), soit de produits de familles différentes (association de levures et d'acides organiques). Dans les publications scientifiques, les produits étudiés sont le plus souvent des produits simples, avec pour objectif de montrer une efficacité associée à des modes d'actions. Ces publications ne peuvent donc pas révéler les synergies ou antagonismes potentiels entre produits, tels qu'ils peuvent exister dans les produits complexes présents sur le marché. Les conclusions issues des publications peuvent donc ne pas entièrement refléter une efficacité de l'association de produits, constatée sur le terrain. Il faut par ailleurs souligner le décalage entre l'abondance des produits relevés dans le recensement initial de la presse professionnelle et le peu de publications scientifiques disponibles pour ces produits. On notera par ailleurs que les associations de produits n'ont pas pu non plus être évaluées quant à leur innocuité en tant que mélange (potentiel antagonisme).

9. Les travaux du GT n'ont porté que sur les essais effectués *in vivo*. En effet, s'il existe un très grand nombre de publications *in vitro* portant sur le potentiel de certains produits pour se substituer aux antibiotiques, ces études ne constituent dans la très grande majorité des cas que des études préliminaires visant à identifier des activités antibactériennes ou à caractériser des mécanismes moléculaires (criblage).

11.2 Résultats

1. Dans la phase 1 des travaux, l'analyse de la littérature professionnelle a révélé que les principales citations concernaient l'appareil digestif et ce, quelles que soient les espèces animales (à l'exception des poissons), avec toutefois une difficulté récurrente à discerner chez les volailles et les porcs, l'objectif des études, entre alternatives aux antibiotiques facteurs de croissance et prévention/traitement d'une maladie bactérienne. L'amélioration ou la stabilisation de l'état de santé général de l'animal est la seconde allégation citée. Les principales espèces animales ciblées sont, dans l'ordre de citation décroissant, les porcs, les ruminants, les volailles, et les lapins. Le cas des poissons est particulier puisque la consultation de la presse professionnelle n'a fait apparaître que peu d'allégations concernant les produits alternatifs aux antibiotiques, ces allégations portant essentiellement sur l'état de santé général.

Les principaux produits ou familles de produits identifiés sont les extraits de plantes et huiles essentielles, les acides organiques, les probiotiques.

2. Le GT s'est appuyé sur ces éléments principaux du recensement pour conduire la phase 2 d'analyse de la bibliographie scientifique. Cependant pour certaines espèces, quand la littérature scientifique s'y prêtait, d'autres alternatives ont été envisagées et intégrées dans l'analyse. Ainsi, par exemple, les prébiotiques ont été étudiés dans le cadre des diarrhées chez le lapin et le porcelet ; de même le plasma pour différentes espèces animales.

Par ailleurs, d'autres maladies ont été ajoutées lorsque, selon le rapport sur « Évaluation des risques d'émergence d'antibiorésistance liées aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale » (Anses, 2014), elles induisaient une forte utilisation d'antibiotiques. Ainsi, les métrites chez la vache et les mammites cliniques et sub-cliniques de la vache laitière ont été intégrées dans l'analyse.

Enfin, l'espèce Cheval a été incluse dans le travail d'analyse de la phase 2 pour la rhodococcose du poulain et les diarrhées du cheval adulte, compte tenu de l'importance de ces maladies au regard de l'utilisation d'antibiotiques. Dans ce cadre spécifique, des produits particuliers ont été intégrés dans l'analyse en fonction de la disponibilité des références bibliographiques.

3. Le recensement bibliographique montre que la disponibilité des informations n'est pas identique entre les produits étudiés. Ainsi, toutes espèces animales et toutes maladies confondues, l'information collectée a principalement concerné les probiotiques, les huiles essentielles et les extraits de plantes, les données sur les prébiotiques et les acides organiques étant moins nombreuses. Il convient à ce titre de noter que les publications sur les acides organiques sont souvent anciennes, et n'ont donc pas été toutes recensées lors de la recherche bibliographique qui s'est limitée, sauf exception, à 10 ans. Par ailleurs, à l'exception de quelques maladies spécifiques, l'information bibliographique est nettement plus abondante pour les produits destinés à une approche préventive que ceux destinés à une approche curative, dans le cadre des maladies considérées dans ce rapport. Ceci ne constitue pas une preuve d'inefficacité de ces produits en cas de traitement curatif. Il est cependant nécessaire, pour en savoir plus, de conduire des essais dans cet objectif précis.

4. L'information la plus abondante dans la bibliographie concerne le traitement curatif ou préventif des troubles digestifs chez le jeune animal au sevrage, ou chez l'adulte. Pour les 4 principales familles de produits, le GT a compilé des données afin de dégager d'éventuelles tendances permettant, soit de caractériser l'efficacité de ces produits, soit d'identifier les familles de produits qui semblaient les plus prometteuses pour ces affections (*cf.* tab 65, annexe 5). Pour chacune des familles de produits considérés, il n'existe qu'un nombre faible de publications comparant directement ces produits à un antibiotique, la majorité des essais s'effectuant dans le cadre de la prévention de troubles digestifs et non pas dans un cadre curatif. Par contre, il existe un corpus de données un peu plus important concernant l'utilisation de ces 4 familles dans une approche curative ou préventive des désordres digestifs, sans comparaison à un antibiotique. Si les études répertoriées ne mettent pas en œuvre de comparaison avec un antibiotique, les conclusions obtenues mettent néanmoins en évidence que certaines familles peuvent constituer des approches intéressantes pour maîtriser de manière préventive ou curative ces désordres :

- Les huiles et extraits de plantes présentent une certaine hétérogénéité vis-à-vis de leur effet sur les désordres digestifs chez les lapins et les porcelets, même si plusieurs publications de score méthodologique élevé vont dans le sens d'une réduction des troubles digestifs chez ces espèces. L'hétérogénéité des produits considérés ne permet pas d'aller plus loin dans l'analyse de produits spécifiques.
- Le faible nombre de publications concernant les acides organiques ne permet pas de conclure sur l'efficacité de ces produits sur les troubles digestifs. Ceci tient largement à la fenêtre temporelle de sélection des publications, ces produits ayant été étudiés dans un passé plus lointain.
- Les prébiotiques sont une famille de produits ayant montré dans certains cas chez le lapin, une efficacité pour prévenir les désordres digestifs, efficacité qui dans un nombre de cas très limité est similaire à celle des antibiotiques, dans les conditions expérimentales décrites.
- Les probiotiques apparaissent comme une famille de produits prometteuse, puisqu'une majorité des publications analysées suggère des capacités à prévenir dans une certaine mesure les désordres digestifs dans de nombreuses espèces et donc à contribuer à la diminution du recours aux antibiotiques, en particulier chez le porcelet au sevrage. Néanmoins, pour chaque espèce animale ou groupe d'espèces, l'hétérogénéité des agents

responsables des désordres digestifs, des situations sanitaires (notamment en cas de maladie multifactorielle) d'une part et la diversité des souches de probiotiques utilisées d'autre part, empêchent une généralisation de ces conclusions, qui n'ont de validité que dans les conditions expérimentales des essais (espèce x agent pathogène x souche(s), dose du probiotique, chronologie de l'administration ...).

5. Concernant d'autres combinaisons d'espèces animales et de maladies, la recherche bibliographique sur les maladies systémiques des poissons a fourni un assez grand nombre d'essais relatifs aux probiotiques, ainsi que des essais sur huiles essentielles et extraits de plantes.

Une majorité des publications analysées indique un effet favorable significatif des probiotiques sur la mortalité. Cependant, les effets favorables décrits, même lorsqu'ils sont significatifs d'un point de vue statistique, sont d'amplitude très variable.

En considérant l'ensemble des publications analysées, il est néanmoins possible de conclure que certains probiotiques ont un effet préventif leur permettant de réduire les mortalités des poissons liées aux maladies bactériennes. Cette famille de produits peut donc être considérée comme prometteuse dans un objectif de réduction du recours aux antibiotiques chez les poissons.

Concernant les huiles essentielles et extraits de plantes, bien que des publications rapportent quelques résultats favorables, leur nombre réduit rend impossible ou très fragile toute conclusion sur un potentiel d'efficacité curative ou préventive de ces familles de produits chez les poissons.

6. Quant à l'analyse bibliographique relative à la rhodococcose chez le poulain, celle-ci a fourni un assez grand nombre de publications portant sur les plasmas hyperimmuns. Si les différences observées, nombreuses et variées, rendent particulièrement délicate toute comparaison des résultats de ces publications, on peut cependant considérer que, dans leur ensemble, elles suggèrent que l'administration de plasmas hyperimmuns à des poulains pourrait être un moyen de prévenir la rhodococcose pulmonaire.

Il s'agit d'une famille de produits prometteuse dont l'efficacité doit être confirmée au moyen d'essais ciblant des produits précis.

7. Pour les autres combinaisons d'espèces animales et de maladies, telles que les métrites chez la vache et les mammites cliniques et sub-cliniques chez les vaches laitières, il n'a pas été possible de tirer de conclusions sur les familles de produits analysées, essentiellement du fait d'un nombre extrêmement réduit de publications disponibles pour les familles de produits étudiées. Ce constat d'absence de référence scientifique devrait encourager la recherche dans ces domaines, afin de pouvoir identifier les produits prometteurs et caractériser leurs effets.

8. L'effet favorable des probiotiques qui commence à ressortir de cette analyse est associé à un usage des produits en approche préventive. Se pose alors la question de leur chronologie d'administration en conditions d'élevage. Une administration en continu est-elle envisageable dans des conditions économiques acceptables ? Ou devrait-elle être limitée à certains stades plus fragiles, ou en conditions d'élevage dégradées ? L'utilisation de probiotiques en métaphylaxie (donc en remplacement d'un traitement antibiotique classique) pourrait être intéressante pour induire une « protection » des animaux encore indemnes, dans un lot dans lequel une maladie s'est déjà déclarée. Ceci supposerait d'obtenir une efficacité de l'effet probiotique protecteur sur un temps court. Il s'agit là d'un domaine à explorer.

9. Autres approches : le GT n'avait pas d'objectif d'exhaustivité, quant à l'application de la méthode sur toutes les familles de produits recensées. Au-delà des familles retenues pour tester et finaliser cette méthode, d'autres familles de produits ont pu être identifiées, avec un moindre niveau de citations dans la presse professionnelle, ou dont le développement est en cours. Peu de publications, permettant d'évaluer réellement leur efficacité, sont aujourd'hui disponibles. Elles ont néanmoins fait l'objet d'un chapitre dans le présent rapport, permettant à l'avenir d'envisager pour elles une évaluation similaire, au moyen de la méthode élaborée par le GT. Il faut noter qu'en

l'absence d'une telle évaluation similaire, le GT ne peut porter aucune conclusion sur ces familles mais il encourage à engager des recherches permettant une analyse scientifique de leur efficacité.

10. Approches épidémiologiques : à ce jour, peu d'études épidémiologiques ont investigué l'effet des substances alternatives aux antibiotiques sur les usages d'antibiotiques ou le risque de survenue de maladie. Le GT a cependant consacré un chapitre à ces études dans la mesure où elles présentent une complémentarité intéressante avec les essais expérimentaux.

11. Approche toxicologique : parmi l'ensemble des produits alternatifs considérés, un grand nombre présente une innocuité avérée après évaluation pour l'animal, le consommateur et l'environnement. C'est le cas de nombreuses levures et bactéries bénéficiant du statut QPS³², des anticorps présents dans les plasmas (après vérification de l'absence de contamination par des micro-organismes), de certaines substances chimiquement définies extraites de plantes ou de parties de plantes, des enzymes, des acides organiques ou des prébiotiques déjà évalués favorablement. Cependant, leur caractère irritant cutané, respiratoire ou oculaire nécessite des précautions pour les utilisateurs.

Certains de ces produits utilisés dans les essais (probiotiques, notamment bactéries) n'ont pas été évalués pour leur innocuité concernant parfois l'animal, l'Homme ou plus souvent l'environnement. Ainsi, certaines bactéries utilisées peuvent présenter un caractère potentiellement pathogène pour l'Homme, ou sont caractérisées par l'absence de données concernant leur innocuité. Une évaluation de ces produits reste donc nécessaire avant toute utilisation en pratique.

Les plantes et extraits de plantes (autres que les substances chimiquement définies, extraites de plantes) sont caractérisés par une hétérogénéité forte concernant la présence ou l'absence d'information relative à leur innocuité pour l'animal, le consommateur, l'utilisateur ou l'environnement. Il s'agit donc pour ces produits de conduire des analyses au cas par cas.

Un dernier risque concernant l'utilisation de ces produits est à mentionner : il concerne leur capacité (ou non) à promouvoir la résistance aux antibiotiques. Pour l'instant, ces aspects sont peu étudiés mais quelques publications scientifiques montrent que le risque n'est pas nul, pour ce qui concerne par exemple des acides organiques (utilisés comme biocides), des probiotiques ou des bactériophages. Il conviendrait de mettre en place une surveillance post-autorisation de l'usage et d'être en mesure d'assurer une surveillance de la résistance des flores environnementales.

12. Le positionnement réglementaire des produits recensés au cours de cette étude, se trouve aujourd'hui essentiellement lié aux allégations et revendications développées sur l'ensemble des documents relatifs à ces produits. Il apparaît, en première analyse :

- que de nombreuses allégations rencontrées lors du recensement conduisent à classer le produit dans la catégorie des médicaments vétérinaires (notamment l'allégation générique « alternative aux antibiotiques ») ;
- que plusieurs produits utilisés sont d'ores et déjà autorisés comme additifs en alimentation animale, mais pour des usages qui n'ont pas forcément de rapport avec celui relevé par les experts au cours du recensement ;
- que les allégations comme « contribue à diminuer le recours aux antibiotiques » n'ont pas fait l'objet d'une classification réglementaire particulière jusqu'à présent, conduisant à explorer le besoin et la pertinence de créer de nouvelles dispositions réglementaires au plan européen pour ces produits, très attendus pour les productions animales.

11.3 Recommandations

1. Comme indiqué *supra*, dans un grand nombre de cas, le GT n'a pas pu se prononcer sur l'efficacité de produits en tant qu'alternatives aux antibiotiques, faute d'éléments bibliographiques suffisants. Cela ne signifie pas forcément que ces produits sont inefficaces,

³² QPS : « "Qualified Presumption of Safety" = présomption d'innocuité reconnue

mais souligne la nécessité d'encourager les recherches dans ce domaine, afin de pouvoir identifier les produits prometteurs et caractériser leurs effets.

Par ailleurs, la bibliographie n'a pas permis d'étudier les éventuels effets d'association d'alternatives sur la réduction d'utilisation des antibiotiques en élevage, même si le recensement de la phase 1 a identifié de nombreuses citations d'associations. Il conviendrait de conduire des recherches étudiant des combinaisons de ces alternatives dans le futur.

Enfin, si la recherche doit encore se développer pour identifier des produits prometteurs et apporter une preuve de leur efficacité, leurs modalités d'utilisation doivent également être étudiées afin de définir, notamment en approche préventive, les modalités de distribution les plus appropriées.

2. L'efficacité d'un produit en tant qu'alternative aux antibiotiques ne doit pas se limiter à la seule démonstration expérimentale telle que décrite dans la littérature. Au-delà de l'éventuelle démonstration issue des travaux du GT (prise en compte d'un score méthodologique, pertinence de variables, compilation des publications), l'efficacité de ces produits doit être également validée dans leur capacité à diminuer la probabilité d'utilisation d'antibiotiques ou la fréquence de traitement sur plusieurs cycles de production d'un élevage. C'est à ce titre que des approches épidémiologiques (et en particulier les approches interventionnelles) devraient être associées à ces approches expérimentales *sensu stricto*, permettant ainsi d'étudier des aspects difficiles à prendre en compte dans le cadre des essais expérimentaux, qui sont pourtant déterminants pour juger d'un moindre recours aux antibiotiques à long terme.

Ce sont aussi ces études épidémiologiques complémentaires qui permettraient d'analyser, dans l'optique d'une réduction des antibiotiques en élevage, l'effet de ces alternatives de manière conjointe à celui d'autres mesures de prévention. En effet, le GT souligne que ces familles de produits ne sont qu'un levier pour diminuer l'utilisation des antibiotiques en élevage et qu'une approche systémique de cette question, incluant les différents paramètres d'élevage, est indispensable.

3. Au vu de la bibliographie disponible, la perspective apportée par les différentes familles de produits semble être souvent caractérisée par un effet de plus faible ampleur que celle des antibiotiques. S'il ne s'agit pas uniquement d'une question de dose d'emploi, cette situation constitue un défi important pour la recherche expérimentale, qui doit adapter ses protocoles à la mise en évidence d'« effets de faible intensité ». Le GT recommande que les recherches sur ces nouveaux protocoles (conditions sanitaires dégradées, nouvelles variables à mesurer, associations d'études expérimentales et d'enquêtes épidémiologiques, études d'associations de produits, etc ...) soient fortement encouragées.

L'ensemble de ces recommandations de recherche s'inscrit pleinement dans les objectifs du Plan Ecoantibio 2, dont l'action 2 est « *d'acquérir des références sur les traitements alternatifs permettant de limiter la prescription d'antibiotiques* ».

Par ailleurs, du fait de réponses le plus souvent de plus faible ampleur pour ces substances que pour les antibiotiques, ces produits ne pourront probablement pas représenter seuls une alternative au sens strict des antibiotiques, en termes d'efficacité. Le GT souligne donc, comme au point précédent, l'importance de considérer ces substances comme s'inscrivant dans une démarche plus intégrée, les alliant à d'autres mesures de maîtrise des maladies (conduite d'élevage, biosécurité, vaccination, nutrition ...)

4. Au plan réglementaire, ces produits et substances permettant de diminuer le recours aux antibiotiques, peuvent relever de divers statuts juridiques selon leur présentation et/ou revendication. Certains produits, de par leur présentation ou leur fonction, relèvent du statut juridique des médicaments vétérinaires. Pour autant, si des produits sont assimilés à des médicaments vétérinaires par présentation, notamment au travers du libellé des revendications des opérateurs, leur fonction peut en être éloignée et une présentation alternative pourrait être envisagée les concernant :
 - soit au travers de la réglementation des additifs pour aliments des animaux, en proposant une nouvelle catégorie d'additif ou en faisant évoluer la définition des

- additifs zootechniques, avec un groupe fonctionnel approprié, ce qui demanderait une modification de la réglementation européenne ;
- soit, pour certains produits, au travers de la réglementation sur les objectifs nutritionnels particuliers (évolution de certains objectifs existant ou création d'un (de) nouvel (aux) objectif(s)) ;
 - soit par le biais des allégations portées sur des matières premières (pour les produits pouvant être considérés comme des matières premières pour aliment des animaux).

Ces différentes possibilités impliquent de réfléchir à l'évolution de la réglementation en alimentation animale au niveau européen, à la définition de nouvelles catégories d'additifs ou d'ONP ou d'allégations appropriées, ainsi qu'aux conditions d'intégration d'expressions comme « diminue (ou contribue à diminuer) le recours aux antibiotiques », dans les différentes réglementations susceptibles d'évoluer.

13. Bibliographie

Publications

- Abe F., Ishibashi N., Shimamura S. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *J Dairy Sci* 1995; 78: 2838-284.
- Abu-Ghannam N.; Rajauria, G. Antimicrobial activity of compounds isolated from algae. In *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals*; Dominguez, H., Ed.; Woodhead Publishing Ltd.: Sawston, UK, 2013: 287–306
- Ackermann, H.W. 5500 Phages examined in the electron microscope. *Arch.Virol* 2007; 152 (2): 227–243.
- Aly S., Ahlam Y., Abdel-Galil A., Ghareeb A., Mohamed M. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish & Shellfish Immunology* 2008; 25(1–2): 128-136
- Anand T., Bera B. C., Vaid R. K., Barua S., Riyesh T., Virmani N., Hussain M., Singh R. K., Tripathi B.N. Abundance of antibiotic resistance genes in environmental bacteriophages. *J Gen Virol*. 2016 Dec; 97(12): 3458-3466.
- Andersson D. I., Hughes D., Kubicek-Sutherland J. Z. Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Drug Resistance Updates* 2016 May; 26: 43-57
- Anses, 2013 : Avis et rapport de l'Anses relatifs à l'utilisation de l'oxyde de zinc dans l'alimentation des porcelets au sevrage pour diminuer le recours aux antibiotiques. Février 2013. <https://www.anses.fr/fr/system/files/ALAN2012sa0067Ra.pdf>
- Anses, 2014 : Avis et rapport de l'Anses relatifs aux risques d'émergence d'antibiorésistance liés aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale. Avril 2014. <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2011sa0071Ra.pdf>
- Apás A. L., Arena M. E., Colombo S., González S. N. - Probiotic administration modifies the milk fatty acid profile, intestinal morphology, and intestinal fatty acid profile of goats. *J. Dairy Sci.* 2015; 98: 47–54
- Argudín M. A., Butaye P. - Dissemination of metal resistance genes among animal methicillin-resistant coagulase-negative Staphylococci. *Res Vet Sci.* 2016 Apr; 105: 192-4.
- Attia Y. A., Hamed R. S. Abd El-Hamid A. E., Shahba H. A., Bovera F. Effect of inulin and mannan-oligosaccharides compared with zinc-bacitracin on growing performance, nutrient digestibility and hematological profiles of growing rabbits. *Animal Production Science* 2016; 55: 80-86.
- Austin B., Stuckey L. F., Robertson P. A. W., Effendi I. A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. *Journal of fish diseases* 1995 ; 18(1): 93–96
- Auzerie J., Brossel R., Charlemagne A., Comet D., Leutenegger E., Méchin H., Mistretta F., Sorba G. Études observationnelles en pharmaco-épidémiologie: retour d'expériences et propositions pour une approche pragmatique de la conception, de la conduite et de l'analyse des études. *La Lettre du Pharmacologue* 2009 ; 23(1): 20-28.
- Bach S.J., Wang Y., McAllister T.A. Effect of feeding sun-dried seaweed (*Ascophyllum nodosum*) on fecal shedding of *Escherichia coli* O157: H7 by feedlot cattle and on growth performance of lambs. *Anim. Feed Sci. Tech.* 2008; 142: 17–32
- Balcázar J., de Blas I., Ruiz-Zarzuola I., Vendrell D., Gironés O., Muzquiz J. - Enhancement of the immune response and protection induced by probiotic lactic acid bacteria against furunculosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) - *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 2007; 51(1): 185–193
- Bampidis V. A., Christodoulou V., Florou-Paneri P., Christaki E. Effect of dried oregano leaves versus neomycin in treating newborn calves with colibacillosis. *J Vet Med A* 2006; 53: 154–156
- Barcelo A., Claustre J., Moro F., Chayvialle J-A., Cuber J-C., Plaisancié P. Mucin secretion is modulated by luminal factors in the isolated vascularly perfused rat colon. *Gut* 2000; 46: 218-224
- Basch E., Ulbricht C., Hammerness P., Bevins A., Sollars D. Thyme (*Thymus vulgaris* L.), *Thymol. J Herbal Pharmacotherapy*, 2004; 4(1) :49-68

- Becu T., Polledo G., Gaskin J. M. Immunoprophylaxis of *Rhodococcus equi* pneumonia in foals. *Veterinary Microbiology* 1997; 56: 193-204
- Belhassen T., Simon E., Potel A., Auclair E., Bergaoui R. Effect of diet supplementation with live yeast (*saccharomyces cerevisiae*) on performance of rabbit does and their progenies. *World Rabbit Sci.* 2016; 24: 77-82.
- Berri M., Slugocki C., Olivier M., Helloin E., Jacques I., Salmon H., Demais H., Le Goff M., Nyvall Collen P. Marine-sulfated polysaccharides extract of *Ulva armoricana* green algae exhibits an antimicrobial activity and stimulates cytokine expression by intestinal epithelial cells *J Appl Phycol* 2016; 28: 2999–3008
- Betancourt L., Rodriguez F., Phandanouvong V., Ariza-Nieto C., Hume M., Nisbet D., Afanador-Téllez G., Van Kley A. M., Nalian A. Effect of *Origanum* chemotypes on broiler intestinal bacteria. *Poultry Science* 2014; 93(10): 2526–2535
- Bhatt V. D., Shah T. M., Nauriyal D. S., Kunjadia A. P., Joshi C. G. Evaluation of a topical herbal drug for its in-vivo immunomodulatory effect on cytokines production and antibacterial activity in bovine subclinical mastitis. *AYU* 2014; 35(2): 198-205
- Biagini D., Gasco L., Rosato R., Peiretti P. G., Gai F., Lazzaroni C., Montoneri C., Ginepro M. Compost-sourced substances (SBO) as feedstuff additives in rabbit production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2016; 214: 66-76.
- Booth, C. M., Tannock I. F. Randomised controlled trials and population-based observational research : partners in the evolution of medical evidence. *British Journal of Cancer* 2014; 110: 551-555.
- Bontempo V., Jiang X. R., Cheli F., Versoa L. L., Mantovanib G., Vitari F., Domeneghini C., Agazzi A. Administration of a novel plant extract product via drinking water to post-weaning piglets : effects on performance and gut health. *Animal* 2014; 8(5): 721–730
- Boutin S., Bernatchez L., Audet C., Derôme N. Antagonistic effect of indigenous skin bacteria of brook charr (*Salvelinus fontinalis*) against *Flavobacterium columnare* and *F. psychrophilum* - *Veterinary Microbiology*, 2011; 155: 355-361
- Bovera F., Nizza S., Marono S., Mallardo K., Piccolo G., Tudisco R., de Martino I., Nizza A. Effect of mannan oligosaccharides on rabbit performance, digestibility and rectal bacterial anaerobic populations during an episode of epizootic rabbit enteropathy. *World Rabbit Sci.*, 2010; 18: 9-16
- Bovera F., Iannaccone F., Mastellone V., Nizza S., Lestingi A., De Martino L., Lombardi P., Mallardo K., Ferrara M., Nizza A. Effect of spray application of *Lactobacillus plantarum* on in vivo performance, caecal fermentations and haematological traits of suckling rabbits. *Italian Journal of Animal Science* 2012a; 11: e27
- Bovera F., Lestingi A., Iannaccone F., Tateo A., Nizza A. Use of dietary mannanoligosaccharides during rabbit fattening period : Effects on growth performance, feed nutrient digestibility, carcass traits, and meat quality. *Journal of Animal Science* 2012b, 90: 3858-3866
- Boyle A. G., Magdesian K. G., Gallop R., Sigdel S., Durando M. M. *Saccharomyces boulardii* viability and efficacy in horses with antimicrobial-induced diarrhea. *Veterinary Record* 2013 172:128
- Braden K. W., Blanton J.R., Allen V.G., Pond K.R., Miller M.F. *Ascophyllum nodosum* supplementation: A preharvest intervention for reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in feedlot steers. *J. Food Prot.* 2004; 67: 1824–1828
- Brewer M. T., Anderson K. L., Yoon I., Scott M. F., Carlson S. A. Amelioration of salmonellosis in pre-weaned dairy calves fed *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products in feed and milk replacer. *Vet. Microbiol.* 2014; 172(1-2): 248-55
- Brogden K. A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria ? *Nat Rev Microbiol* 2005; 3(3): 238-50.
- Brown-Jaque M., Calero-Cáceres W., Muniesa M. Transfer of antibiotic-resistance genes via phage-related mobile elements. *Plasmid.* 2015 May; 79: 1-7.
- Bruhn O., Cauchard J., Schlüsselhuber M., Gelhaus C., Podschun R., Thaller G., Laugier C., Leippe M., Grötzinger J. Antimicrobial properties of the equine alpha-defensin DEFA1 against bacterial horse pathogens. *Vet Immunol Immunopathol* 2009; 130:102-106.
- Brunt J., Newaj-Fyzul A., Austin B. The development of probiotics for the control of multiple bacterial diseases of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of fish diseases* 2007, 30(10): 573–579
- Burbank D., Shah D., LaPatra S., Fornshell G., Cain K. Enhanced resistance to coldwater disease following feeding of probiotic bacterial strains to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 2011; 321(3-4): 185-190

- Cachaldora P., Nicodemus N., Garcia J., Carabaño R., De Blas J. C. Efficacy of Amylofeed® in growing rabbit diets. *World Rabbit Science* 2004; 12: 23-31.
- Cano López G., Morillo Alujas A., Biannic O., Gallissot M., Laurain J. Influence d'un aliment complémentaire à base d'algue sur le développement de l'intestin grêle chez les porcelets allaités. *Journées Recherche Porcine* 2014; 46: 83-84.
- Capita R., Riesco-Peláez F., Alonso-Hernando A., Alonso-Calleja C. Exposure of *Escherichia coli* ATCC 12806 to sublethal concentrations of food-grade biocides influences its ability to form biofilm, resistance to antimicrobials, and ultrastructure. *Appl Environ Microbiol.* 2014 Feb; 80(4): 1268-80.
- Capkin E. and Altinok I. Effects of dietary probiotic supplementations on prevention/treatment of yersiniosis disease. *Journal of Applied Microbiology* 2009; 106(4): 1147–1153
- Caston S. S., McClure S. R., Martens R. J., Chaffin M. K., Miles K. G., Griffith R. W., Cohen N. D. Effect of hyperimmune plasma on the severity of pneumonia caused by *Rhodococcus equi* in experimentally infected foals. *Veterinary Therapeutics* 2006; 7(4): 361-375
- Caruffo M., Navarrete N., Salgado O., Faúndez N., Gajardo M., Feijóo C., Reyes-Jara A., García K., Navarrete P. - Protective yeasts control *V. anguillarum* pathogenicity and modulate the innate immune response of challenged zebrafish (*Danio rerio*) larvae - *Front Cell Infect Microbiol.* 2016; 6: 127.
- Cassir N., Benamar S., La Scola B. *Clostridium butyricum*: from beneficial to a new emerging pathogen. *Clin Microbiol Infect.* 2016; 22(1): 37-45.
- Celia C., Cullere M., Gerencsér Z., Matics Z., Dalle Zotte A., Giaccone V., Szendrő Z. Effect of Digestarom® dietary supplementation on the reproductive performances of rabbit does : preliminary results. *Italian Journal of Animal Science* 2015; 14: 4138
- Cerezuela R., Guardiola F., Meseguer J., Esteban Á. Increases in immune parameters by inulin and *Bacillus subtilis* dietary administration to gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) did not correlate with disease resistance to *Photobacterium damsela* - *Fish & Shellfish Immunology* 2012; 32(6): 1032-1040
- Chabrellón M., Arijó S., Díaz-Rosales P., Balebona C., Moriñigo M. - Interference of *Listonella anguillarum* with potential probiotic microorganisms isolated from farmed gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Research* 2006; 37(1): 78–86
- Chaffin M. K., Cohen N. D., Martens R. J., O'Conor M., Bernstein L. R. Evaluation of the efficacy of gallium maltolate for chemoprophylaxis against pneumonia caused by *Rhodococcus equi* infection in foals. *AJVR* 2011; 72(7): 945-957
- Chaffin M. K., Martens R. J., Martens J. G. Therapeutic effects of immune plasma in foals with *Rhodococcus equi* pneumonia. *Equine Veterinary Journal* 1991: 23-29
- Chan B.K., Abedon S. T. Phage therapy pharmacology phage cocktails. In: Laskin, A.I., Sariaslani, S., Gadd, G.M. (Eds.), Elsevier Academic Press Inc., San Diego. *Advances in Applied Microbiology* 2012; 78:1-23.
- Chang C-I. and Liu W-Y. An evaluation of two probiotic bacterial strains, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing edwardsiellosis in cultured European eel, *Anguilla anguilla* L. *Journal of Fish Diseases* 2002; 25: 311–315.
- Charalampopoulos D., Rastall R. A. Prebiotics and Probiotics *Science and Technology* 2009; 1: 607
- Chauvin C., Bouvarel I., Beloeil P-A., Orand J-P., Guillemot D., Sanders P. A pharmaco-epidemiological analysis of factors associated with antimicrobial consumption level in turkey broiler flocks. *Veterinary research* 2005; 36(2): 199-211.
- Chen Y., Li J., Xiao P., Li G. Y., Yue S., Huang J., Zhu W. Y., Mo Z. L. Isolation and characterization of *Bacillus* spp. M001 for potential application in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) against *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture Nutrition* 2016; 22: 374-381.
- Chibani-Chennoufi S., Bruttin A., Dillmann M. L., Brüssow H. Phage-Host interaction: an ecological perspective. *J. Bacteriol.* 2004; 186(12): 3677–3686.
- Chiofalo V., Liotta L., Chiofalo B. Effects of the administration of *Lactobacilli* on body growth and on the metabolic profile in growing Maltese goat kids. *Reprod. Nutr. Dev.* 2004; 44: 449-457
- Cohen N., Bourquin J., Bordin A., Kuskie K., Brake C. Intramuscular administration of a synthetic CpG-oligodeoxynucleotide modulates functional responses of neutrophils of neonatal foals. *Plos One* 2014 9(10):8 pages

- Cohen N., Slovis N., Giguere S., Baker S., Chaffin M. K., Bernstein L. Gallium maltolate as an alternative to macrolides for treatment of presumed *Rhodococcus equi* pneumonia in foals. *J Vet Intern Med* 2015; 29: 932–939
- Cruywagen C. W., Jordan I., Venter L. Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplementation of milk replacer on preweaning performance of calves. *J Dairy Sci* 1986; 79: 483-486
- Cucherat M., Boissel J. P., Leizorovicz A. - Manuel pratique de méta-analyse des essais thérapeutiques. Lyon: Université Claude Bernard, 1997, ré-édition électronique 2002
- Cullere M., Zotte A. D., Celia C., Renteria-Monterrubbio A. L., Gerencser Z., Szendro Z., Kovacs M., Kachlek M. L., Matics Z. Effect of *Silybum marianum* herb on the productive performance, carcass traits and meat quality of growing rabbits. *Livest. Sci.* 2016 ; 194 :31-36.
- Czernichow P., Chaperon J., Le Coutour X. *Epidémiologie*, 2001, Masson (Ed).
- Deligios M., Fraumene C., Abbondio M., Mannazzu I., Tanca A., Addis M. F., Uzzau S. Draft genome sequence of *Rhodotorula mucilaginosa*, an emergent opportunistic pathogen. *Genome Announc.* 2015; 3(2)
- Désenclos J.-C. and Dabis F. Méthodes épidémiologiques de l'évaluation d'une intervention en santé publique. *Epidémiologie de terrain. Méthodes et applications.* 2012; John Libbey Eurotext: 667-686.
- Désenclos J.-C. and Thiébaud R. Causalité, incertitude et jugement. *Epidémiologie de terrain. Méthodes et applications.* 2012; John Libbey Eurotext: 465-472.
- Desrochers A. M., Dolente B. A., Roy M. F., Boston R., Carlisle S. Efficacy of *Saccharomyces boulardii* for treatment of horses with acute enterocolitis. *JAVMA* 2005; 227(6): 954-959
- Diraviyam T., Zhao B., Wang Y., Schade R., Michael A., Zhang X. Effect of chicken egg yolk antibodies (IgY) against diarrhea in domesticated animals: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014; 9(5) e97716
- Donovan D. C., Franklin S. T., Chase C. C., Hippen A. R. Growth and health of Holstein calves fed milk replacers supplemented with antibiotics or Enteroguard. *J Dairy Sci.* 2002; 85-4: 947-50.
- Dorado-García A., Graveland H., Bos M., Verstappen K., Van Cleef B., Kluytmans J., Wagenaar J., Heederik D. Effects of reducing antimicrobial use and applying a cleaning and disinfection program in veal calf farming: Experiences from an intervention study to control livestock-associated MRSA. *PlosOne* 2015; 10(8): e0135826.
- Dublanchet A. Des virus pour combattre les infections. Favre Ed. 2009. Premiers traitements : 108–9.
- Duperray J., Grand E., Weissman D., Laurent J. M., Launay C., Beltran J. Effects of feed rationing, fasting and a herbal supplement on mortality and performance of fattening rabbits in ERE conditions. V° Congreso Americano de Cunicultura 2014, Univ. Autonoma del Estado de México, Mexico. *World Rabbit Sci.* 2015; 23: 55-86.
- Ebbensgaard A., Mordhorst H., Overgaard M. T., Nielsen C. G., Aarestrup F. M., Hansen E. B. Comparative evaluation of the antimicrobial activity of different antimicrobial peptides against a range of pathogenic bacteria. *PLoS One* 2015; 11-10(12): 18 pp.
- Efsa 2013 - Scientific Opinion on Cylactin® (*Enterococcus faecium*) for calves, lambs and kids for rearing and for fattening. *EFSA Journal* 2013; 11(2): 3097 [14 pp.]
- Efsa 2014 - Scientific Opinion on the safety and efficacy of Oralin® (*Enterococcus faecium*) as a feed additive for calves for rearing, piglets, chickens for fattening, turkeys for fattening and dogs. *EFSA Journal* 2014; 12(6): 3727 [19 pp.]
- Efsa 2014 - Scientific Opinion on the safety and efficacy of *Pediococcus acidilactici* (NCIMB 30005) as a silage additive for all animal species. *EFSA Journal* 2014; 12(3): 3613 [11 pp.]
- Efsa 2016 - Safety and efficacy of Bactocell PA (*Pediococcus acidilactici* CNCM MA 18/5M) for pigs for fattening, minor porcine species, chickens for fattening and minor avian species. *EFSA Journal* 2016; 14(6): 4483 [2 pp.]
- El-Gohary F. A., Huff W. E., Huff G. R., Rath N. C., Zhou Z. Y., Donoghue A. M. Environmental augmentation with bacteriophage prevents colibacillosis in broiler chickens. *Poult Sci.* 2014; 93(11): 2788-92.
- Enault F., Briet A., Bouteille L., Roux S., Sullivan M. B., Petit M. A. Phages rarely encode antibiotic resistance genes: a cautionary tale for virome analyses. *ISME J.* 2017; 11(1):237-247.

- Erganis O., Sayin Z., Hadimli H., Sakmanoglu A., Pinarkara Y., Ozdemir O., Maden M. The effectiveness of anti-*R. equi* hyperimmune plasma against *R. equi* challenge in thoroughbred arabian foals of mares vaccinated with *R. equi* vaccine. *The Scientific World Journal* 2014; 10 pages
- Faikoh E., Hong Y., Hu S. Liposome-encapsulated cinnamaldehyde enhances zebrafish (*Danio rerio*) immunity and survival when challenged with *Vibrio vulnificus* and *Streptococcus agalactiae*. *Fish & Shellfish Immunology* 2014; 38(1): 15-24
- Fonseca A. P., Falcão L., Kocher A., Spring P. Effects of dietary mannan oligosaccharide in comparison to oxytetracyclin on performance of growing rabbits. In Proc.: 8th World Rabbit Congress, Becerril C., Pro A. (Eds.), 7-10 september 2004, Puebla, Mexico, Colegio de Postgraduados for WRSA: 829-833.
- Fourrier A., Molimard M., Moore N., Begaud B. Des essais cliniques aux études observationnelles. *La Lettre du Pharmacologue* 2000 ; 14(8): 169-171.
- Furusawa T., Iwano H., Hiyashimizu Y., Matsubara K., Higuchi H., Nagahata H., Niwa H., Katayama Y., Kinoshita Y., Hagiwara K., Iwasaki T., Tanji Y., Yokota H., Tamura Y. Phage therapy is effective in a mouse model of bacterial equine keratitis. *Appl Environ Microbiol.* 2016; 82(17): 5332-9.
- García de La Banda I., Lobo C., León-Rubio J., Tapia-Paniagua S., Balebona C., Moriñigo M., Moreno-Ventas X., Lucas L., Linares F., Arce F., Arijó S. - Influence of two closely related probiotics on juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) performance and protection against *Photobacterium damsela* subsp. *Piscicida*. *Aquaculture* 2010; 306(1-4): 281-288
- Gautam M. K. and Goel R. K. Toxicological Study of *Ocimum sanctum* Linn Leaves: Hematological, Biochemical, and Histopathological Studies. *J Toxicol.* 2014; (2014): 135654
- Gebru E., Lee J. S., Son J. C., Yang S. Y., Shin S. A., Kim B., Kim M. K., Park S. C. Effect of probiotic-, bacteriophage-, or organic acid-supplemented feeds or fermented soybean meal on the growth performance, acute-phase response, and bacterial shedding of grower pigs challenged with *Salmonella enterica* serotype *Typhimurium*. *J. Anim. Sci.* 2010; 88: 3880-3886
- Ghibaudo G., Santospirito D., Sala A., Flisi S., Taddei S., Cavirani S., Cabassi C. S. In vitro antimicrobial activity of a gel containing antimicrobial peptide AMP2041, chlorhexidine digluconate and Tris-EDTA on clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from canine otitis. *Vet Dermatol.* 2016; 27: 391-398.
- Gilmore B. F. Bacteriophages as anti-infective agents: recent developments and regulatory challenges. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2012; 10(5): 533-5.
- Gonggrijp M., Santman-Berends I.M.G.A., Heuvelink A. E., Buter G. J., van Schaik G., Hage J. J., Lam T.J.G.M. Prevalence and risk factors for extended-spectrum β -lactamase- and AmpC-producing *Escherichia coli* in dairy farms. *Journal of Dairy Science* 2016; 99(11): 9001-9013.
- Gonzalez del Val A., Platas G., Basilio A., Cabello A., Gorrochategui J., Suay I., Vicente F., Portillo E., Jimenez del Rio M., Reina G. G., Pelaez F. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). *Int. Microbiol.* 2001; 4: 35-40
- Gram L., Melchiorson J., Spanggaard B., Huber I., Nielsen T. Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999; 65(3): 969-973
- Greene W. A., Gano A. M., Smith K. L., Hogan J. S., Todhunter D. A. Comparison of probiotic and antibiotic intramammary therapy of cattle with elevated somatic cell counts. *J. Dairy Sci* 1991; 74: 2976-2981
- Groenewald M., Boekhout T., Neuvéglise C., Gaillardin C., van Dijck P.W.M., Wyss M. *Critical Reviews in Microbiology* 2014; 40(3): 187-206
- Giguere S., Gaskin J., Miller C., Bowman J. Evaluation of a commercially available hyperimmune plasma product for prevention of naturally acquired pneumonia caused by *Rhodococcus equi* in foals. *JAVMA*, 2002; 220(1): 59-63
- Gupta A., Gupta P., Dhawan A. - Dietary supplementation of probiotics affects growth, immune response and disease resistance of *Cyprinus carpio* fry. *Fish & Shellfish Immunology* 2014; 41(2): 113-119
- Guyatt G. H., Oxman A. D., Vist G. E., Kunz R., Falck-Ytter Y., Alonso-Coello P., Schünemann H. J. Rating quality of evidence and strength of recommendations: GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *British Medical Journal* 2008; 336(7650): 924
- Hancox L. R., Le Bon M., Richards P. J., Guillou D., Dodd C.E.R., Mellits K. H. Effect of a single dose of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* on the occurrence of porcine neonatal diarrhea. *Animal* 2015; 9(11): 1756-1759

- Hancock R. E., Diamond G. The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. *Trends Microbiol.* 2000; 8(9): 402-10.
- Hansen C. F., Phillips N. D., La T., Hernandez A., Mansfield J., Kim J. C., Mullan B. P., Hampson D. J., Pluske J. R.. Diets containing inulin but not lupins help to prevent swine dysentery in experimentally challenged pigs. *J. Anim. Sci.* 2010; 88: 3327–3336
- Harikrishnan R., Balasundaram C., Heo M. S. Potential use of probiotic- and triherbal extract-enriched diets to control *Aeromonas hydrophila* infection in carp. *Dis Aquat Org* 2010; 92: 41-49.
- Harikrishnan R., Kim M., Kim J., Balasundaram C., Heo M. Protective effect of herbal and probiotics enriched diet on haematological and immunity status of *Oplegnathus fasciatus* (Temminck & Schlegel) against *Edwardsiella tarda*. *Fish & Shellfish Immunology* 2011; 30(3): 886-893
- Hassel D. M., Smith P. A., Nieto J. E., Beldomenico P., Spier S. J. Di-tri-octahedral smectite for the prevention of post-operative diarrhea in equids with surgical disease of the large intestine: Results of a randomized clinical trial. *The Veterinary Journal* 2009; 182: 210–214
- Heim G., Sweeney T., O'Shea C. J., Doyle D. N., O'Doherty J. V. Effect of maternal supplementation with seaweed extracts on growth performance and aspects of gastrointestinal health of newly weaned piglets after challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *British Journal of Nutrition* 2014; 112(12): 1955-1965
- Heinrichs A. J., Jones C. M., Elizondo-Salazar J. A., Terrill S. J. Effects of a prebiotic supplement on health of neonatal dairy calves. *Livestock Science* 2009; 125: 149–154.
- Hermes R. G., Molist F., Perez J. F., Gomez de Segura A., Ywazaki M., Davin R., Nofrarias M., Korhonen T. K., Virkola R., Martin-Orue S. M. Casein glycomacropptide in the diet may reduce *Escherichia coli* attachment to the intestinal mucosa and increase the intestinal lactobacilli of early weaned piglets after an enterotoxigenic *E. coli* K88 challenge. *British Journal of Nutrition* 2013; 109: 1001–1012.
- Higuchi T., Arakawa T., Hashikura S., Inui T., Senba H., Takai S. Effect of prophylactic administration of hyperimmune plasma to prevent *Rhodococcus equi* infection on foals from endemically affected farms. *Zoonoses and Public Health* 1999; 46: 641–648
- Hooper-McGrevy K., Giguere, S., Wilkie B., Prescott J. Evaluation of equine immunoglobulin specific for *Rhodococcus equi* virulence-associated proteins A and C for use in protecting foals against *Rhodococcus equi*-induced pneumonia. *AJVR* 2001; 62(8):1307-1313
- Howick J., Glasziou P., Aronson J. The evolution of evidence hierarchies: what can Bradford Hill's guidelines for causation contribute ? *Journal of the Royal Society of Medicine* 2009; 102: 186-194
- Hu B., Gong Q. H., Wang Y., Ma Y. M., Li J. B., Yu W. G. Prebiotic effects of neoagaro-oligosaccharides prepared by enzymatic hydrolysis of agarose. *Anaerobe* 2006; 12: 260–266
- Hu Y., Chen J., Hu G., Yu J., Zhu X., Lin Y., Chen S., Yuan J. Statistical research on the bioactivity of new marine natural products discovered during the 28 years from 1985 to 2012. *Mar. Drugs* 2015; 13: 202–221
- Huff W. E., Huff G. R., Rath N. C., Donoghue A.M. Method of administration affects the ability of bacteriophage to prevent colibacillosis in 1-day-old broiler chickens. *Poult Sci.* 2013; 92(4): 930-4.
- Huff G. R., Huff, W. E., Rath N. C., Tellez G. Limited Treatment with β -1,3/1,6-Glucan improves production values of broiler chickens challenged with *Escherichia coli*. *Poultry Sciences* 2006; 85(4): 613–618,
- Hurley J. R. and Begg A. P. Failure of hyperimmune plasma to prevent pneumonia caused by *Rhodococcus equi* in foals. *Australian Veterinary Journal*, 1995; 72(11): 418-420
- Imperial I. C., Ibane J. A. Addressing the antibiotic resistance problem with probiotics : reducing the risk of its double-edged sword effect. *Front Microbiol.* 2016 Dec; 15(7): 1983
- Irianto A. and Austin B. Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of fish diseases* 2002; 25(6): 333–342
- Jin W., Yan L., Daiwen C., Bing Y., Guang C., Ping Z., Xiangbing M., Jie Y., Jun H. Recombinant plectasin elicits similar improvements in the performance and intestinal mucosa growth and activity in weaned pigs as an antibiotic. *Animal Feed Science and Technology* 2016; 211: 216-226.
- John J., Roediger K., Schroedl W., Aldaher N., Vervuert I. Development of intestinal microflora and occurrence of diarrhoea in suckling foals : effects of *Bacillus cereus* var. *toyoi* supplementation. *BMC Veterinary Research* 2015; 11: 34

- Jones S. L. and Spier S. J. Inflammatory diseases of the large intestine causing diarrhea. Infectious diseases. Salmonellosis. In : Equine Internal Medicine. Eds Reed SM and Bayly WM. WB Saunders Company, Philadelphia, 1998: 663-667
- Kaithwas G., Mukerjee A., Kumar P., Majumdar D. K. *Linum usitatissimum* (linseed/flaxseed) fixed oil : antimicrobial activity and efficacy in bovine mastitis. *Inflammopharmacology* 2011; 19(1): 45-52
- Kehoe S. I. and Carlson D. B. Influence of nonmedicated additives as alternatives to antibiotics on calf growth and health. *The Professional Animal Scientist* 2015; 31: 516–522
- Kiarie E., Scott M., Krause D. O., Khazanehei H., Khafipour E., Nyachoti C. M. Interactions of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product and in-feed antibiotic on gastrointestinal and immunological responses in piglets challenged with *Escherichia coli* K88. *J. Anim. Sci.* 2012; 90: 1–3
- Kiers J. L., Meijer J. C., Nout M.J.R., Rombouts F. M., Nabuurs M.J.A., van der Meulen J. Effect of fermented soya beans on diarrhoea and feed efficiency in weaned piglets. *Journal of Applied Microbiology* 2003; 95: 545-552
- Kim L. M., Morley P. S., Traub-Dargatz J. L., Salman M. D., Gentry-Weeks C. Factors associated with *Salmonella* shedding among equine colic patients at a veterinary teaching hospital. *JAVMA* 2001; 218(5): 740-748
- Klostermann K., Crispie F., Flynn J., Ross R. P., Hill C., Meaney W. Intramammary infusion of a live culture of *Lactococcus lactis* for treatment of bovine mastitis: comparison with antibiotic treatment in field trials. *Journal of Dairy Research* 2008; 75: 365–373
- Korkea-aho T. L., Heikkinen J., Thompson K. D., von Wright A., Austin B. *Pseudomonas* sp. M174 inhibits the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. *Journal of Applied Microbiology* 2011; 111(2): 266–277
- Krieg R., Vahjen W., Awad W., Sysel M., Kroeger S., Zocher E., Hulan H. W., Arndt G., Zentek J. Performance, digestive disorders and the intestinal microbiota in weaning rabbits are affected by a herbal feed additive. *World Rabbit Science* 2009; 17: 87-95
- Kritas S. K., Govaris A., Christodoulopoulos G., Burriel A. R. - Effect of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* supplementation of ewe's feed on sheep milk production and young lamb mortality. *Journal of Veterinary Medicine* 2006; 53 (4): 170–173
- Kritas S. K., Petridou E. I., Fortomaris P., Tzika E., Arsenos G. and Koptopoulos G. The effect of probiotics on microbiology, health and performance of fattening rabbits. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2008; 21(9): 1312 - 1317
- Laanto E., Bamford J. K., Ravantti J. J., Sundberg L. R. The use of phage FCL-2 as an alternative to chemotherapy against columnaris disease in aquaculture. *Front Microbiol.* 2015; 6: 829.
- Lapeyre-Mestre M., Sapède C., Moore N. Études pharmaco-épidémiologiques : quels niveaux de preuve et comment les atteindre ? *Thérapie* 2013; 68(4): 241-246.
- Last, J. A dictionary of epidemiology. 2001 Oxford University Press.
- Le Bon M., Davies H. E., Glynn C., Thompson C., Madden M., Wiseman J., Dodd C.E.R., Hurdidge L., Payne G., Le Treut Y., Craigon J., Töttemeyer S., Mellits K. H. Influence of probiotics on gut health in the weaned pig. *Livestock Science* 2010; 133: 179-181
- Lee C. Y., Kim S. J., Park B. C., Han J. H. Effects of dietary supplementation of bacteriophages against enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) K88 on clinical symptoms of post-weaning pigs challenged with the ETEC pathogen. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2016; 101 (1): 88–95
- Lekunberri I., Subirats J., Borrego C. M., Balcázar J. L. Exploring the contribution of bacteriophages to antibiotic resistance. *Environ Pollut.* 2017a; 220(Pt B): 981-984.
- Lekunberri I., Villagrasa M., Balcázar J. L., Borrego C. M. Contribution of bacteriophage and plasmid DNA to the mobilization of antibiotic resistance genes in a river receiving treated wastewater discharges. *Sci Total Environ.* 2017b; 1(601-602): 206-209.
- Lema M., Williams L., Rao D. R. Reduction of fecal shedding of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in lambs by feeding microbial feed supplement. *Small Ruminant Research* 2001; 39: 31-39
- Leonard S. G., Sweeney T., Bahar B., O'Doherty J. V. Effect of maternal seaweed extract supplementation on suckling piglet growth, humoral immunity, selected microflora, and immune response after an *ex-vivo* lipopolysaccharide challenge. *J. Anim. Sci.* 2012; 90: 505-514
- Leuschner R., Robinson T., Hugas M., Sandro Cocconcelli P., Richard-Forget F., Klein G., Licht T., Nguyen-The C., Querol A., Richardson M., Suarez J., Thrane U., Vlak J., von Wright A. Qualified presumption of

- safety (QPS) : a generic risk assessment approach for biological agents notified to the European Food Safety Authority (EFSA). *Trends in Food Science & Technol.* 2010; 21 (9): 425-435
- Li X., Lili Wang L., Zhen Y., Li S., Xu Y. Chicken egg yolk antibodies (IgY) as non-antibiotic production enhancers for use in swine production: a review. *J Anim Sci Biotechnol*, 2015; 6(1): 40.
- Liu P., Piao X. S., Thacker P. A., Zeng Z. K., Li P. F., Wang D., Kim S. W. Chito-oligosaccharide reduces diarrhea incidence and attenuates the immune response of weaned pigs challenged with *Escherichia coli* K88. *J. Animal Science* 2010; 88 (12): 3871-3879
- Madigan J. E., Hietala S., Muller N. Protection against naturally acquired *Rhodococcus equi* pneumonia in foals by administration of hyperimmune plasma. *J. Reprod. Fert.* 1991; 44:571-578
- Maertens L. and Struklec M. Technical note: preliminary results with a tannin extract on the performance and mortality of growing rabbits in an enteropathy infected environment. *World Rabbit Science* 2006; 14:189-192.
- Mahlapuu M., Håkansson J., Ringstad L., Björn C. Antimicrobial peptides: an emerging category of therapeutic agents. *Front Cell Infect Microbiol.* 2016; 6: 194.
- Maribo H, Danish Pig Production report, juillet 2009
- Martens R. J., Martens J. G., Fiske R. A. *Rhodococcus equi* foal pneumonia : protective effects of immune plasma in experimentally infected foals. *Equine vet J* 1989; 21(4):249-255
- Matusevičius P., Ašmenskaitė L., Žilinskienė A., Gugolek A., Lorek M. O., Hartman A. Effect of probiotic Bioplus 2B on performance of growing rabbit. *Veterinarija Ir Zootechnika*, 2006; 36 (58): 54-59.
- Mayer, A., Rodríguez, A. D., Tagliatalata-Scafati O., Fusetani N. Marine pharmacology in 2009–2011: Marine compounds with antibacterial, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antiprotozoal, antituberculosis and antiviral activities ; affecting the immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action. *Mar. Drugs* 2013; 11: 2510–2573
- Menanteau-Ledouble S, Krauss I, Santos G, Fibi S, Weber B, El-Matbouli M. Effect of a phytogenic feed additive on the susceptibility of *Onchorhynchus mykiss* to *Aeromonas salmonicida* . *Dis Aquat Org* 2015; 115:57-66.
- Meshram M., Ravikanth K., Maini S., Rekhe D. S. Treatment of clinical cases of bacterial enteritis in goat with new polyherbal antidiarrhoeal formulation. *Veterinary World* 2009; 2-4:143-145
- Michel A. S. A la découverte des peptides antimicrobiens. Doctorat d'Université, Faculté de Pharmacie. 2010. Nancy
- Mukherjee R., Dash P. K., Ram G. C. Immunotherapeutic potential of *Ocimum sanctum* (L) in bovine subclinical mastitis. *Res Vet Sci.* 2005; 79(1):37-43
- Murray M. J. Acute colitis. In: *Current therapy in equine medicine* 3. Ed. Robinson NE. WB Saunders Company, Philadelphia, 1992:244-250.
- Mygind P. H., Fischer R. L., Schnorr K. M., Hansen M. T., Sönksen C. P., Ludvigsen S., Raventós D., Buskov S., Christensen B., De Maria L., Taboureau O., Yaver D., Elvig-Jørgensen S. G., Sørensen M. V., Christensen B. E., Kjaerulff S., Frimodt-Møller N., Lehrer R. I., Zasloff M., Kristensen H. H. Plectasin is a peptide antibiotic with therapeutic potential from a saprophytic fungus. 2005; 13: 975-980.
- Newaj-Fyzul A., Adesiyun A. A., Mutani A., Ramsbhag A., Brunt J., Austin B. *Bacillus subtilis* AB1 controls *Aeromonas* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of Applied Microbiology* 2007; 103(5):1699–1706
- Nikoskelainen S., Ouwehand A., Salminen S., Bylund G. Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*. *Aquaculture* 2001; 198 (3–4): 229-236
- Nyachoti C. M., Kiarie E., Bhandari S. K., Zhang G., Krause D. O. Weaned pig responses to *Escherichia coli* K88 oral challenge when receiving a lysozyme supplement. *J Anim Sci.* 2012; 90:252
- Obeid A. H., Abbas D. A. H. Comparative study of antidiarrheal effect of proposed new formulae from *D. innoxia* hydroalcoholic leave extract against *E. coli* O:157 induced diarrhea in goats. *Kufa Journal for Veterinary Medical Sciences* 2015; 6 (1): 56-66.
- O'Connor A. M., Sargeant J. M., Dohoo I. R., Erb H. N., Cevallos M., Egger M., Ersbøll A. K., Martin S. W., Nielsen L. R., Pearl D. L., Pfeiffer D. U., Sanchez J., Torrence M. E., Vigre H., Waldner C., Ward M. P. Explanation and Elaboration Document for the STROBE-Vet Statement: Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology—Veterinary Extension. *Journal of veterinary internal medicine* 2016; 30(6): 1896-1928.

- Oliveira A., Sereno R., Azeredo J. In vivo efficiency evaluation of a phage cocktail in controlling severe colibacillosis in confined conditions and experimental poultry houses. *Vet Microbiol.* 2010; 146(3-4):303-8.
- Oliver W. T. and Wells J. E. Lysozyme as an alternative to growth promoting antibiotics in swine production. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 2015; 6:35
- O'Sullivan L., Murphy B., McLoughlin P., Duggan P., Lawlor P.G., Hughes H., Gardiner G. E. Prebiotics from marine macroalgae for human and animal health applications. *Mar. Drugs* 2010; 8: 2038-2064
- Owusu-Asiedu A.; Nyachoti C. M., Marquardt R. R. Response of early-weaned pigs to an enterotoxigenic *Escherichia coli* (K88) challenge when fed diets containing spray-dried porcine plasma or pea protein isolate plus egg yolk antibody, zinc oxide, fumaric acid, or antibiotic. *J. Anim. Sci.* 2003; 81:1790–1798
- Özbek H, Öztürk M, Öztürk A, Ceylan E, Yener Z. Determination of lethal doses of volatile and fixed oils of several plants. *Eastern J Med*, 2004; 9(1): 4-6
- Parraga M., Spier S., Thurmond M., Hirsh D. A clinical trial of probiotic administration for prevention of *Salmonella* shedding in the postoperative period in horses with colic. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 1997; 77(1):36-47
- Pascual J. J., Moya V. J., Martínez E., Calvo M. A., Adelantado C., Jiménez G., Blanch A., Castillo M. Effects of dietary inclusion of Toyocerin (*Bacillus cereus* var. *toyoi*) on performance, health and faecal nitrogen excretion in growing rabbits, In Proc.: 9th World Rabbit Congress, G. Xiccato A.T., S.D. Lukefahr (Ed.) 10-13 June 2008, Verona, Italy, Fond. Ini. Zooprofilattiche E Zoot. publ. Brescia Italy, 781-785.
- Peace R. M., Campbell J., Polo J., Crenshaw J., Russell L., Moeser A. Spray-dried porcine plasma influences intestinal barrier function, inflammation, and diarrhea in weaned pigs. *J. Nutr.*, 2011; 141: 1312-1317.
- Pérez-Bosque A., Polo J. and Torrallardona D. Spray dried plasma as an alternative to antibiotics in piglet feeds, mode of action and biosafety. *Porcine Health Management* 2016; 2:16-25.
- Perkins G., Yeager A., Erb H., Nydam D., Divers T., Bowman J. Survival of foals with experimentally induced *Rhodococcus equi* infection given either hyperimmune plasma containing *R. equi* antibody or normal equine plasma. *Veterinary Therapeutics*, 2001; 2(3):334-346
- Pieters N., Brunt J., Austin B., Lyndon A. R. Efficacy of in-feed probiotics against *Aeromonas bestiarum* and *Ichthyophthirius multifiliis* skin infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of Applied Microbiology* 2008; 105:723–732
- Pinedo P., Karreman H., Bothe H., Velez J., Risco C. Efficacy of a botanical preparation for the intramammary treatment of clinical mastitis on an organic dairy farm. *Can Vet J.* 2013; 54(5):479-84
- Pinheiro V., Mourão J. L., Jimenez G. Influence of Toyocerin (R) (*Bacillus cereus* var. *toyoi*) on breeding performance of primiparous rabbit does. *World Rabbit Sci.* 2007; 15: 179-187.
- Pinheiro V., Guedes C. M., Outor-Monteiro D., Mourao J. L. Effects of fibre level and dietary mannanoligosaccharides on digestibility, caecal volatile fatty acids and performances of growing rabbits. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2009; 148:288-300.
- Porter J, Anderson J, Carter L, Donjacour E, Paros M. In vitro evaluation of a novel bacteriophage cocktail as a preventative for bovine coliform mastitis. *J Dairy Sci.* 2016; 99(3):2053-62.
- Postma, M., Vanderhaeghen W., Sarrazin S., Maes D., Dewulf J. Reducing antimicrobial usage in pig production without jeopardizing production parameters. *Zoonoses and public health* 2016; 64(1): 63–74
- Powers, J. P. and R. E. Hancock. The relationship between peptide structure and antibacterial activity. *Peptides* 2003; 24(11): 1681-91.
- Quigley J. D., Drewry J. J., Murray L. M., Ivey S. J. Body weight gain, feed efficiency, and fecal scores of dairy calves in response to galactosyl-lactose or antibiotics in milk replacers. *J Dairy Sci.* 1997; 80-8:1751-4.
- Quigley J. D., Wolfe T. A. Effects of spray-dried animal plasma in calf milk replacer on health and growth of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 2003; 86: 586–592.
- Quigley J. D., Wolfe T. A., Elsasser T. H. Effects of additional milk replacer feeding on calf health, growth, and selected blood metabolites in calves. *J. Dairy Sci.* 2006; 89: 207–216.
- Raida M. K., Larsen J. L., Nielsen M. E., Buchmann K. - Enhanced resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *Yersinia ruckeri* challenge following oral administration of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* (BioPlus2B). *Journal of Fish Diseases* 2003; 26(8):495–498

- Rattanachaikunsopon P. and Phumkhachorn P. Protective effect of clove oil-supplemented fish diets on experimental *Lactococcus garvieae* infection in tilapia. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2009; 73(9): 2085-2089
- Rajkovic A, Smigic N, Uyttendaele M, Medic H, de Zutter L, Devlieghere F. Resistance of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Campylobacter jejuni* after exposure to repetitive cycles of mild bactericidal treatments. *Food Microbiol.* 2009 Dec; 26(8): 889-95.
- Ramaprasad E. V., Bharti D, Sasikala C, Ramana C. H. V. *Zooshikella marina* sp. nov. a cycloprodigiosin- and prodigiosin-producing marine bacterium isolated from beach sand. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2015; 65:4669-4673
- Reeves B. C., Higgins J., Ramsay C., Shea B., Tugwell P., Wells G. A. An introduction to methodological issues when including non-randomised studies in systematic reviews on the effects of interventions. *Research Synthesis Methods* 2013; 4(1), 1-11.
- Reilly P., O'Doherty J. V., Pierce K. M., Callan J. J., O'Sullivan J. T., Sweeney T. The effects of seaweed extract inclusion on gut morphology, selected intestinal microbiota, nutrient digestibility, volatile fatty acid concentrations and the immune status of the weaned pig. *Animal* 2008; 2(10): 1465–1473.
- Richards G. P. Bacteriophage remediation of bacterial pathogens in aquaculture: a review of the technology. *Bacteriophage* 2014; 4(4):e975540.
- Rong Y., Lu Z., Zhang H., Zhang L., Song D., Wang Y. Effects of casein glycomacropeptide supplementation on growth performance, intestinal morphology, intestinal barrier permeability and inflammatory responses in *Escherichia coli* K88 challenged piglets. *Animal Nutrition* 2015; 1: 54-59
- Rotolo L., Gai F., Peiretti P. G., Ortoffi M., Zoccarato I., Gasco L. Live yeast (*Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*) supplementation in fattening rabbit diet : effect on productive performance and meat quality. *Livestock Science* 2014; 162: 178-184.
- Rychetnik L., Frommer M., Hawe P., Shiell A. Criteria for evaluating evidence on public health interventions. *Journal of epidemiology and community health* 2002; 56(2): 119-127.
- Sanderson S., Tatt I. D., Higgins J. P. T. Tools for assessing quality and susceptibility to bias in observational studies in epidemiology: a systematic review and annotated bibliography. *International Journal of Epidemiology* 2007; 36(3): 666-676.
- Santos F. H., De Paula M. R., Lezier D., Silva J. T., Santos G., Bittar C. M. Essential oils for dairy calves: effects on performance, scours, rumen fermentation and intestinal fauna. *Animal* 2015; 9(6): 958–965.
- Sanz M. G., Loynachan A., Horohov D. W. *Rhodococcus equi* hyperimmune plasma decreases pneumonia severity after a randomised experimental challenge of neonatal foals. *Veterinary Record* 2016 ; 178:261
- Sarkar P., Kumar H., Rawat M., Varshney V. P., Goswami T. K., Yadav M. C., Srivastava S. K. Effect of administration of garlic extract and PGF2 α on hormonal changes and recovery in endometritis cows. *Asian-Aust. J. Anim. Sci* 2006; 19(7): 964 – 969
- Schaeck M. Duchateau L. Van den Broeck W. Van Trappen S. De Vos P. Coulombet C. Boon N. Haesebrouck F. Decostere A. *Vibrio lentus* protects gnotobiotic sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) larvae against challenge with *Vibrio harveyi*. *Veterinary Microbiology* 2016; 185: 41-48
- Schlusselhuber M, Jung S, Bruhn O, Goux D, Leippe M, Leclercq R, Laugier C, Grötzinger J, Cauchard J. *In vitro* potential of equine DEFA1 and eCATH1 as alternative antimicrobial drugs in rhodococcosis treatment. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56(4): 1749-1755.
- Schlusselhuber M., Torelli R., Martini C., Leippe M., Cattoir V., Leclercq R., Laugier C., Grötzinger J., Sanguinetti M., Cauchard J. The equine antimicrobial peptide eCATH1 is effective against the facultative intracellular pathogen *Rhodococcus equi* in mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 ; 57(10): 4615–4621.
- Schlusselhuber M., Guldbach K., Sevin C., Leippe M., Petry S., Grötzinger J., Giguère S., Cauchard J. *In vitro* effectiveness of the antimicrobial peptide eCATH1 against antibiotic-resistant bacterial pathogens of horses. *FEMS Microbiol Lett* 2014; 350 (2): 216-222.
- Schoster A., Staempfli H. R., Abrahams M., Jalali M., Weese J. S., Guardabassi L. Effect of a probiotic on prevention of diarrhea and *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* shedding in foals. *J Vet Intern Med* 2015; 29: 925–931
- Shannon E. and Abu-Ghannam N. Antibacterial derivatives of marine algae: an overview of pharmacological mechanisms and applications. *Mar. Drugs* 2016; 14: 81
- Sharifuzzaman S. M. and Austin B. Influence of probiotic feeding duration on disease resistance and immune parameters in rainbow trout. *Fish & Shellfish Immunology* 2009a; 27 (3): 440-445

- Sharifuzzaman S. M. and Austin B. - Kocuria SM1 controls vibriosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of Applied Microbiology* 2009b; 108: 2162–2170
- Skrivanova E., Molatova Z., Marounek M. Effects of caprylic acid and triacylglycerols of both caprylic and capric acid in rabbits experimentally infected with enteropathogenic *Escherichia coli* O103. *Veterinary Microbiology* 2008; 126: 372-376.
- Skrivanova E., Skrivanova V., Volek Z., Marounek M. Effect of triacylglycerols of medium-chain fatty acids on growth rate and mortality of rabbits weaned at 25 and 35 days of age. *Veterinarni Medicina* 2009; 54 (1): 19-24.
- Soltan M. A. Effect of essential oils supplementation on growth performance, nutrient digestibility, health condition of holstein male calves during pre- and post-weaning periods. *Pakistan Journal of Nutrition* 2009; 8 (5): 642-652.
- Sorroza L., Padilla D. Acosta F., Román L., Grasso V., Vega J., Real F. Characterization of the probiotic strain *Vagococcus fluvialis* in the protection of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) against vibriosis by *Vibrio anguillarum*. *Veterinary Microbiology* 2012; 155(2–4): 369-373
- Stalin N, Srinivasan P. Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* and its specific phage from shrimp pond in Palk Strait, South East coast of India. *Biologicals* 2016; 44(6): 526-533.
- Strom, B. L. and K. L. Melmon. The Use of pharmacoepidemiology to study beneficial drug effects. *Pharmacoepidemiology*. B. L. Strom, S. E. Kimmel and S. Hennessy, John Wiley & Sons 2012: 655-677.
- Subirats J, Sánchez-Melsió A, Borrego C. M., Balcázar J. L., Simonet P. Metagenomic analysis reveals that bacteriophages are reservoirs of antibiotic resistance genes. *Int J Antimicrob Agents* 2016; 48(2): 163-7.
- Sutili F. J., de Lima Silva L., Gressler L. T., Battisti E. K., Heinzmann B. M., de Vargas A. C., Baldissarotto B. Plant essential oils against *Aeromonas hydrophila* : *in vitro* activity and their use in experimentally infected fish. *Journal of Applied Microbiology* 2015; 119(1):47–54
- Tanabe S., Suzuki T., Wasano Y., Nakajima F., Kawasaki H., Tsuda T., Nagamine N., Tsurumachi T., Sugaya K., Akita H., Takagi M., Takagi K., Inoue Y., Asai Y., Morita H. Anti-inflammatory and intestinal barrier-protective activities of commensal *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* in Thoroughbreds : Role of probiotics in diarrhea prevention in neonatal Thoroughbreds. *Journal of Equine Science* 2014; 25(2): 37-43.
- Taoka Y., Maeda H., Jo J., Kim S., Park S., Yoshikawa T., Sakata T. Use of live and dead probiotic cells in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fisheries Science* 2006; 72(4): 755–766
- Tazzoli M., Xiccato G., Trocino A., Majolini D., El Abed N., García J., Eras M. A., Carabaño R . Dietary supplementation with mannanoligosaccharides and β glucans in growing rabbits. 1. growth performance, health status and carcass traits. In 10th World Rabbit Congress, September 3 - 6, 2012 - Sharm El- Sheikh – Egypt: 547 – 551. World Rabbit Science Association (WRSA).
- Timmerman H. M., Mulder L., Everts H., van Espen D. C., van der Wal E., Klaassen G., Rouwers S. M., Hartemink R., Rombouts F. M., Beynen A. C. Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *J. Dairy Sci.* 2005; 88: 2154–2165.
- Trevisi P., Colombo M., Priori D., Fontanesi L., Galimberti G., Calò G., Motta V., Latorre R., Fanelli F., Mezzullo M., Pagotto U., Gherpelli Y., D'Inca R., Bosi P. Comparison of three patterns of feed supplementation with live *Saccharomyces cerevisiae* yeast on postweaning diarrhea, health status, and blood metabolic profile of susceptible weaning pigs orally challenged with *Escherichia coli* F4ac1. *J. Anim. Sci.* 2015; 93:2225–2233
- Trckova M., Faldyna M., Alexa P., Sramkova Zajacova Z., Gopfert E., Kumprechtova D., Auclair E., D'Inca R.. The effects of live yeast *Saccharomyces cerevisiae* on post-weaning diarrhea, immune response and growth performance in weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 2014; 92 : 767-774.
- Trocino A., Xiccato G., Carraro I., Jimenez G. Effect of diet supplementation with Toyocerin® (*Bacillus cereus* var. *toyoi*) on performance and health of growing rabbits. *World Rabbit Science* 2005; 13: 17-28.
- Veldhuizen E. J., Schneider V. A., Agustindari H., van Dijk A., J, Bikker F., Haagsman H. Antimicrobial and immunomodulatory activities of PR-39 derived peptides. 2014; 9(4): e95939
- Vendrell D., Balcázar J., de Blas I., Ruiz-Zarzuola I., Gironés O., Múzquiz J. - Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from lactococcosis by probiotic bacteria. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 2008; 31(4): 337-345
- Verde, P. E., & Ohmann, C. Combining randomized and non-randomized evidence in clinical research: a review of methods and applications. *Research synthesis methods*, 2015; 6(1): 45-62.

- Wang S., Zeng X., Yang Q., and Qiao S. Antimicrobial peptides as potential alternatives to antibiotics in food animal industry. *Int J Mol Sci.* 2016 May; 17(5): 603.
- Wang Y., Han F., Hu B., Li J.B., Yu W.G. In vivo prebiotic properties of alginate oligosaccharides prepared through enzymatic hydrolysis of alginate. *Nut. Res.* 2006; 26: 597–603
- Ward M. P., Alinovi A., Couëtil L. L., Glickman T., Wu C. C. A randomized clinical trial using probiotics to prevent *Salmonella* fecal shedding in hospitalized horses. *J Equine Vet Sci* 2004; 24: 242-7.
- Weese J. S., Rousseau J. Evaluation of *Lactobacillus pentosus* WE7 for prevention of diarrhea in neonatal foals. *JAVMA* 2005; 226(12): 2031-2034
- Weese J. S., Staempfli H. R., Prescott J. F. A prospective study of the roles of *Clostridium difficile* and enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in equine diarrhoea. *Equine Vet J* 2001; 33: 403-439.
- Wittebole X., De Roock S., Opal S. M. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence* 2014 Jan; 5(1): 226-35.
- Wong A., Ngu D. Y., Dan L. A., Ooi A., Lim R. L. Detection of antibiotic resistance in probiotics of dietary supplements. *Nutr J.* 2015 Sep; 14: 14:95
- Xu W., Guan R., Lu Y., Su X., Xu Y., Du A., Hu S. Therapeutic effect of polysaccharide fraction of *Atractylodes macrocephalae* Koidz in bovine subclinical mastitis. *BMC Vet. Res.* 2015; 11: 165
- Yildiz A. and Balıkcı E. Antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant activity of *Nigella sativa* in clinically endometritic cows. *Journal of Applied Animal Research* 2016; 44(1): 431-435
- Yuyama T., Yusa S., Takai S., Tsubaki S., Kado Y., Morotomi M. Evaluation of a host-specific *Lactobacillus* probiotic in neonatal foals. *Journal of Applied Research in Veterinary Medicine* 2004; 18: 26–32.
- Zanello G., Meurens F., Serreau D., Chevaleyre C., Melo S., Berri M., D’Inca R., Auclair E., Salmon H. Effects of dietary yeast strains on immunoglobulin in colostrum and milk of sows. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2013; 152: 20–27
- Zhang L., Parente J., Harris S.M., Woods D.E., Hancock R. E. W., Falla T. J. Antimicrobial peptide therapeutics for cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(7): 2921-7.
- Zhang J., Li Z., Cao Z., Wang L., Li X., Li S., Xu Y. Bacteriophages as antimicrobial agents against major pathogens in swine: a review. *J Anim Sci Biotechnol.* 2015; 6(1): 39.
- Zhang C., Li W., Liu W., Zou L., Yan C., Lu K., Ren H. T4-like phage Bp7, a potential antimicrobial agent for controlling drug-resistant *Escherichia coli* in chickens. *Appl Environ Microbiol.* 2013 ; 79(18): 5559-65.
- Zhang L., Zhang L., Zhan X., Zeng X., Zhou L., Cao G., Chen A., Yang C. Effects of dietary supplementation of probiotic, *C. butyricum*, on growth performance, immune response, intestinal barrier function, and digestive enzyme activity in broiler chickens challenged with *E. coli* K88. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 2016; 7: 3
- Zhong X., Shi Y., Chen J., Xu J., Wang L., Beier R. C., Hou X., Liu F. Polyphenol extracts from *Punica granatum* and *Terminalia chebula* are anti-inflammatory and increase the survival rate of chickens challenged with *Escherichia coli*. *Biol. Pharm. Bull.* 2014; 10: 1575-1582
- Zhou T.X., Cho J.H., Kim I.H. Effects of supplementation of chito-oligosaccharide on the growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics and appearance of diarrhea in weanling pigs. *Livestock Science* 2012; 144: 263-268

Normes

NF X 50-110 (mai 2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine



00528-D

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT
COURRIER ARRIVE

2 2 MAI 2013

Direction générale de l'alimentation
Service de la prévention des risques sanitaires
de la production primaire

Le Directeur général de l'alimentation
DIRECTION GÉNÉRALE

Sous-direction de la santé et de la protection
animales

à

Bureau des intrants et de la santé publique en
élevage

Adresse : 251, rue de Vaugirard
75 732 PARIS CEDEX 15

Monsieur le Directeur général de l'Anses
27-31 avenue du Général Leclerc
94701 MAISONS-ALFORT Cedex

Dossier suivi par : Caroline Cornuau
bispe.sdspa.dgal@agriculture.gouv.fr
Tél. : 01 49 55 84 35
Fax : 01 49 55 43 98

A l'attention de

Madame Charlotte Dunoyer

Réf. interne : 130502_CC_Courrier Anses
dossiers mesure 19.odt

Madame Caroline Boudergue

Paris, le 17 MAI 2013

Objet : Votre courrier du 15 février 2013 relatif à la transmission de la réponse à la saisine 2012-SA-0067

Dans le cadre du plan Ecoantibio 2017 et plus particulièrement de la mesure 19 envisageant le développement d'alternatives aux antibiotiques permettant d'en diminuer l'utilisation, l'Agence nationale chargée de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a rendu un avis du 15 février 2013 portant sur l'utilisation de l'oxyde de zinc dans l'alimentation des porcelets au sevrage pour diminuer le recours aux antibiotiques. Dans votre courrier daté du 15 février 2013 ayant pour objet la transmission de cet avis et du rapport d'expertise associé, vous m'interrogez sur mes attentes quant à la réalisation des prochaines étapes prévues dans la fiche action n°19 du plan Ecoantibio 2017.

Je vous confirme que je souhaite que vous envisagiez ce travail de manière globale. Il ne vous sera pas ainsi demandé d'entrer dans les spécificités de chaque famille de produits. Le soin est laissé à chaque pétitionnaire de rassembler les éléments pertinents et disponibles pour l'évaluation bénéfique/risque de son produit.

Je vous précise que mon attente correspond à la cinquième partie du rapport d'expertise collective susmentionné, dans laquelle ont été étudiées les alternatives potentielles à l'utilisation des antibiotiques pour la prévention ou le traitement des diarrhées des porcelets en post sevrage.

Je souhaite ainsi que, dans un premier temps, vous puissiez réaliser un état des lieux des produits actuellement utilisés comme alternatives aux antibiotiques en vue de diminuer leur usage, en précisant l'espèce de destination et la pathologie concernée. Cette première partie pourrait être basée sur une enquête de terrain. Puis dans un second temps, vous pourriez vous intéresser au positionnement réglementaire des substances identifiées. Enfin, dans un troisième temps, et pour les substances n'ayant pas fait l'objet d'évaluations, vous évalueriez leur efficacité et leur innocuité pour

l'Homme (consommateur et manipulateur), l'animal et l'environnement, d'après examen de la bibliographie existante.

Les vaccins et autovaccins faisant l'objet d'études dans le cadre d'une saisine en cours vous ne les incluez pas dans votre champ de recherche.

Mes services se tiennent à votre disposition sur ce sujet.

Le Directeur Général Adjoint
Chef du Service de la Coordination
des Activités Sanitaires - C.V.O.

Jean-Luc ANGOT

Annexe 2 : Calculateur score méthodologique

Type de challenge (1 = naturel/conditions dégradées) vs 0 = challenge expérimental vs -1 = autres études)	Comp / Antibio (1 = oui vs 0 = non)	Puissance statistique (essai randomisé ET bon design statistique ET effectif élevé)				Conditions d'essai (Témoin inoculé ET Durée ET espèce adaptée)				Niveau
		Essai randomisé (1 = oui vs 0 = non)	Design statistique correct (1 = oui vs 0 = non)	Effectif suffisant (1 = oui vs 0 = non)	Puissance	1 = Témoin inoculé (et malade) vs 0	Durée (1 si OK)	Espèce cible adaptée (1 si OK)	Conditions	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Niveau1
1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	Niveau2
1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	Niveau2
1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	Niveau3
1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	Niveau2
1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	Niveau3
1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	Niveau3
1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	Niveau4
0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Niveau2
0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	Niveau3
0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	Niveau3
0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	Niveau4
0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	Niveau3
0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	Niveau4
0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	Niveau4
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	Niveau4

Tableau 63 : Calculateur pour les maladies multifactorielles

Présence d'un challenge expérimental (1 = oui vs -1 (autres études))	Comp / Antibio (1 = oui vs 0 = non)	Puissance statistique (essai randomisé ET bon design statistique ET effectif élevé)				Conditions d'essai (Témoin inoculé ET Durée ET espèce adaptée)				Niveau
		Essai randomisé (1 = oui vs 0 = non)	Design statistique correct (1 = oui vs 0 = non)	Effectif suffisant (1 = oui vs 0 = non)	Puissance	1 = Témoin inoculé (et malade) vs 0	Durée (1 si OK)	Espèce cible adaptée (1 si OK)	Conditions	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Niveau1
1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	Niveau2
1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	Niveau2
1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	Niveau3
1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	Niveau2
1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	Niveau3
1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	Niveau3
1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	Niveau4

Tableau 64 : Calculateur pour les maladies mono-agent

1 Annexe 3 : Evaluation de la qualité d'une étude épidémiologique

2 Différentes grilles de lecture et outils d'évaluation sont disponibles pour l'analyse des études
3 épidémiologiques.

4 Une grille d'évaluation est par exemple disponible en ligne sur le site du NIH pour les études de
5 cohorte et transversales³³, ainsi que pour les études cas-témoins³⁴.

6 **Exemple : grille d'évaluation pour les études cas-témoins**

7 (adaptée de [https://www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/in-develop/cardiovascular-risk-](https://www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/in-develop/cardiovascular-risk-reduction/tools/case-control)
8 [reduction/tools/case-control](https://www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/in-develop/cardiovascular-risk-reduction/tools/case-control))

9

		Oui	Non
1	Les objectifs de l'étude sont clairement décrits et sont pertinents		
2	La population d'étude est clairement définie		
3	La stratégie d'échantillonnage (taille de l'échantillon) est décrite et argumentée		
4	Les témoins sont sélectionnés dans la même population source que les cas		
5	Les critères d'inclusion et d'exclusion des sujets, de définition des cas et des témoins sont valides, pertinents, et cohérents pour l'ensemble des sujets inclus dans l'étude		
6	Les cas sont clairement définis et différenciés des témoins		
7	Si l'échantillon n'est pas exhaustif, les cas et témoins ont été choisis aléatoirement parmi ceux éligibles		
8	L'exposition au facteur étudié précède le développement de l'évènement qui définit le sujet comme un cas		
9	La mesure de l'exposition et du risque est clairement définie, valide, fiable, et cohérente (au cours du temps, et entre les participants)		
10	L'évaluation de l'exposition / du risque a été conduite sans connaître le statut des participants (cas / témoins)		
11	Les facteurs de confusion ont été mesurés, et pris en compte dans l'analyse statistique. L'éventuel appariement a été pris en compte dans l'analyse statistique.		

10

11

33 <https://www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/in-develop/cardiovascular-risk-reduction/tools/cohort>

34 <https://www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/in-develop/cardiovascular-risk-reduction/tools/case-control>

12 **Annexe 4 : Innocuité des molécules potentielles permettant de limiter le recours aux antibiotiques**

Molécule(s) ou microorganisme(s)	Innocuité pour les espèces cibles	Innocuité pour l'utilisateur	Innocuité pour le consommateur	Innocuité pour l'environnement	Référence
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Saccharomyces cerevisiae boulardii</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Candida deformans</i>	Considérée comme peu pathogène	Considérée comme peu pathogène	Considérée comme peu pathogène	Pas de données	
<i>Cryptococcus laurentii</i>	Considérée comme peu pathogène	Considérée comme peu pathogène (isolé dans un abcès pulmonaire)	Considérée comme peu pathogène	Pas de données	https://en.wikipedia.org/wiki/Pathogenic_fungus (consulté le 23/02/17)
<i>Metschnikowia viticola</i>	Pas de données	Pas de données	Pas de données	Pas de données	
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Peu de données mais considéré par certains comme pathogène émergent	Peu de données mais considéré par certains comme pathogène émergent	Peu de données mais considéré par certains comme pathogène émergent	Pas de données	Deligios M, Fraumene C, Abbondio M, Mannazzu I, Tanca A, Addis MF, Uzzau S. Draft Genome Sequence of <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> , an Emergent Opportunistic Pathogen. <i>Genome Announc.</i> 2015, 3(2)
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Pas de données	Potentiellement pathogène chez l'Homme (rares infections opportunistes)	Levure naturellement présente dans fromages, viandes, etc	Pas de données	Groenewald M, Boekhout T, Neuvéglise C, Gaillardin C, van Dijck PWM, Wyss M. <i>Critical Reviews in Microbiology</i> 2014;40(3):187-206
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Lactococcus lactis</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Lactobacillus casei</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Lactobacillus reuteri</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Lactobacillus sakei</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016

<i>Lactobacillus pentosus</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Lactobacillus ruminis</i>	Pas QPS mais proche phylogénétiquement de <i>L. salivarius</i> qui a le statut QPS				Charalampopoulos D, Rastall RA. Prebiotics and Probiotics Science and Technology, Volume 1, 2009, p 607
<i>Lactobacillus equi</i>	Pas QPS mais proche phylogénétiquement de <i>L. salivarius</i> qui a le statut QPS				
<i>Bifidobacterium animalis</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Bifidobacterium longum</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Bifidobacterium pseudolongum</i>	Oui (QPS – EFSA) pour <i>Bifidobacterium longum</i>		Oui (QPS – EFSA) pour <i>Bifidobacterium longum</i>	Oui (QPS – EFSA) pour <i>Bifidobacterium longum</i>	EFSA, 2016
<i>Bacillus licheniformis</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Bacillus coagulans</i> (= <i>lactobacillus sporogenes</i>)	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Bacillus mojavensis</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Bacillus pumilus</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Bacillus subtilis</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Bacillus toyonensis</i> (NCIMB 14858)	Non (risque de dissémination de gènes codant pour la résistance à la tétracycline et au chloramphénicol + pouvoir toxigène)				Règlement (UE) 2015/1399 de la Commission du 17 août 2015.
<i>Carnobacterium divergens</i>	Oui (QPS – EFSA)		Oui (QPS – EFSA)	Oui (QPS – EFSA)	EFSA, 2016
<i>Enterococcus faecium</i>	Oui pour certaines souches chez les veaux, porcelets, poulets, dindes, chiens et chats (100 fois la dose de 1.0×10^9 – 6.6×10^9 CFU/kg aliment par exemple pour Oralin®)	Oui pour certaines souches, sauf sensibilisant respiratoire	Oui pour certaines souches	Oui pour certaines souches	EFSA Journal 2013;11(2):3097 [14 pp.] et EFSA Journal 2014;12(6):3727 [19 pp.]

<i>Pediococcus acidilactici</i>	Oui pour les souches soumises à expertise chez tous les animaux de production	Irritant cutané et oculaire, sensibilisant cutané et respiratoire en fonction des souches	Oui pour les souches soumises à expertise (NCIMB 30005)	Oui pour les souches soumises à expertise	EFSA Journal 2014;12(3):3613 [11 pp.] et EFSA Journal 2016;14(6):4483 [2 pp.]
<i>Propionibacterium acnes</i>	A exclure des QPS	Pas de données	A exclure des QPS	A exclure des QPS	Leuschner GK <i>et al.</i> , Trends in Food Science & Technol. 2010 ;21 :425-435
<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	A priori oui car naturellement présent dans les intestins	A priori oui car naturellement présent dans les intestins	Oui car naturellement présent dans les intestins	Pas de données	https://en.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium (consulté le 23/02/17)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Non car pathogène chez les poissons, serpents et Mammifères	Non car opportuniste chez l'Homme (gastro-entérite)	Non car contaminant de nombreux aliments (coquillages, crustacés, etc)	Pas de données	http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/aeromonas-hydrophila-eng.php (consulté le 23/02/17)
<i>Aeromonas sobria</i>	Considérée comme non pathogène	Considérée comme non pathogène	Considérée comme non pathogène	Pas de données	https://academic.oup.com/cid/article/30/6/988/436336/Clinically-Relevant-Aeromonas-Species (consulté le 23/02/17)
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	Considérée comme non pathogène	Considérée comme non pathogène	Considérée comme non pathogène	Pas de données	http://www.arrowscientific.com.au/index.php?option=com_content&view=article&id=43:brochothrix-thermosphacta&catid=25&Itemid=40 (consulté le 23/02/17)
<i>Clostridium butyricum</i>	Considérée par certains comme pathogène émergent	Considérée par certains comme pathogène émergent	Considérée par certains comme pathogène émergent	Pas de données	Clostridium butyricum: from beneficial to a new emerging pathogen. Cassir N, Benamar S, La Scola B. Clin Microbiol Infect. 2016 Jan;22(1):37-45.
<i>Enterobacter cloacae</i>	Non car potentiellement pathogène chez l'animal	Non car potentiellement pathogène chez l'Homme	Non car potentiellement pathogène chez l'Homme (présence dans aliments d'origine animale)	Pas de données	www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/enterobacter-fra.php (consulté le 23/02/17)
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Non classé QPS pour <i>P. macerans</i> par l'Efsa par manque de données d'innocuité				EFSA, 2016

<i>Micrococcus diversus</i> et <i>Kocuria</i> spp.	Considéré comme non pathogène	Considérée comme non pathogène	Considérée comme non pathogène	Pas de données	http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/micrococcus-fra.php
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Non car pathogène	Non car opportuniste chez l'Homme	Non car contaminant d'aliments	Pas de données	http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/pseudomonas-spp-fra.php
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Non car peu de données	Non car peu de données	Non car contaminant d'aliments (fromages, etc)	Pas de données	http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/pseudomonas-spp-fra.php
<i>Shewanella</i> spp.	Non car peu de données mais peu pathogène	Non car peu de données mais peu pathogène	Non car contaminants d'aliments (poissons, ...)	Pas de données	doi : 10.4103/0974-2727.72150
<i>Vagococcus fluvialis</i>	Considérée comme potentiellement pathogène	Considérée comme potentiellement pathogène	Considérée comme potentiellement pathogène	Pas de données	doi : 10.1128/AEM.01852-06 ; Al ahmad <i>et al.</i> , 2008 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=ahmad+AND+vagococcus
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Non car potentiellement pathogène chez les poissons et crustacés	Non car potentiellement pathogène chez l'Homme avec résistances aux antibiotiques	Présence potentielle dans certains aliments, notamment les produits de la mer	Pas de données	doi : 10.1016/j.jannder.2007.04.010
<i>Vibrio fluvialis</i>	Non car potentiellement pathogène chez les crustacés	Non car potentiellement pathogène chez l'Homme		Pas de données	doi: 10.3389/fmicb.2014.00091
<i>Vibrio lentus</i>	Non car potentiellement pathogène chez les pieuvres	Considéré comme non pathogène		Pas de données	doi : 10.3389/fmicb.2013.00413
<i>Vibrio proteolyticus</i>	Considérée comme non pathogène mais identification de facteurs de virulence (cytotoxicité) et de gènes de résistance	Considérée comme non pathogène mais identification de facteurs de virulence (cytotoxicité) et de gènes de résistance	Considérée comme non pathogène mais identification de facteurs de virulence (cytotoxicité) et de gènes de résistance	Pas de données	https://en.wikipedia.org/wiki/Vibrio ; Ray <i>et al.</i> , 2016 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27460800
<i>Zooshikela</i> spp.	Considérée comme non pathogène	Considérée comme non pathogène	Considérée comme non pathogène	Pas de données	Ramaprasad E V, Bharti D, Sasikala C, Ramana CHV. <i>Int. J. Syst. Evol. Microbiol.</i> , 2015;65:4669-4673

<i>Streptolysine O exotoxine hémolytique</i> (Streptocoques A, C, G) : inactive en présence d'O ₂	Pas de données	Pas de données	Pas de données	Pas de données	
<i>Parapoxvirus ovis</i> inactivé	Pas de données	Pas de données	Pas de données	Pas de données	
Plasma/sérum de porc ou de bovins	Oui si absence de contamination du produit par micro-organismes (FA, DEP, ...)	Pas de données	Oui	Oui si absence de contamination du produit par micro-organismes (FA, DEP, ...)	EMA/EFSA, 2017 - Pérez-Bosque A <i>et al.</i> , Porcine Health Management 2016 ;2 :16-25
Plasma hyperimmun d'équidés	Oui si absence de contamination du produit par micro-organismes	Pas de données	Oui	Oui si absence de contamination du produit par micro-organismes	EMA/EFSA, 2017
Fraction immunomodulatrice de sérum caprin	Oui si absence de contamination du produit par micro-organismes	Pas de données	Oui	Oui si absence de contamination du produit par micro-organismes	EMA/EFSA, 2017
IgY de jaune d'œuf	Oui si absence de contamination du produit par micro-organismes	Pas de données	Oui	Oui si absence de contamination du produit par micro-organismes	EMA/EFSA, 2017 - Li X, Lili Wang L, Zhen Y, Li S, Xu Y. Chicken egg yolk antibodies (IgY) as non-antibiotic production enhancers for use in swine production: a review. J Anim Sci Biotechnol, 2015; 6(1):40.
<i>Nigella sativa</i>	DL50 (souris IP) = 0,542 mL/kg	Reporté comme potentiellement toxique (graine ; alcaloïdes isoquinoliniques)	Reporté comme potentiellement toxique (graine ; alcaloïdes isoquinoliniques)	Sans objet	EFSA, 2012 Özbek H, Öztürk M, Öztürk A, Ceylan E, Yener Z. Determination of Lethal Doses of Volatile and Fixed Oils of Several Plants. Eastern J Med, 2004 ;9(1) :4-6

<i>Quillaja saponaria</i>	NOAEL ≥ 2470 mg/kg/j (études de 90 j) chez le Rat	Reporté comme potentiellement toxique (écorce ; oxalate de Ca 11% + saponines triterpénoïdes)	Reporté comme potentiellement toxique (écorce ; oxalate de Ca 11% + saponines triterpénoïdes)	Sans objet	EFSA, 2012 EPA. Saponins of <i>Quillaja saponaria</i> . 2009.
<i>Quillaja japonica</i>	Pas de données	Pas de données	Pas de données	Sans objet	
<i>Thymus vulgaris</i>	DL50 = 2,84 g HE/kg <i>per os</i> chez le Rat	Pas de données	Aucune LMR requise pour <i>Thymi aetheroleum</i> et thymol (règlement « LMR/médicament vétérinaire »)	Sans objet	EFSA, 2012 Basch E, Ulbricht C, Hammerness P, Bevins A, Sollars D. Thyme (<i>Thymus vulgaris</i> L.), Thymol. <i>J Herbal Pharmacotherapy</i> , 2004 ;4(1) :49-68
<i>Gaultheria procumbens</i>	Signes digestifs bénins	Application HE pure parfois mortelle	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Pas de données	Pas de données	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012
<i>Angelica sinensis</i>	Phototoxicité potentielle	Pas de données	Aucune LMR requise pour <i>Angelicae radix aetheroleum</i> (règlement « LMR/médicament vétérinaire »)	Sans objet	EFSA, 2012
<i>Ocimum sanctum</i>	Non reporté comme toxique à 2000 mg/kg ou 800 mg/kg/j/28j	Pas de données	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012 Gautam MK Goel RK. Toxicological Study of <i>Ocimum sanctum</i> Linn Leaves: Hematological, Biochemical, and Histopathological Studies. <i>J Toxicol</i> . 2014;2014:135654
<i>Atractylodis macrocephalae koidz</i>	Pas de données	Pas de données	Pas de données	Sans objet	
<i>Azadirachta indica</i>	Non reporté comme toxique à 2 g racine/kg pendant 14 j <i>per os</i>	Pas de données	Diminution de la fertilité chez mâles et femelles et	Sans objet	EFSA, 2012

	Diminution de la fertilité chez mâles et femelles et avortements		avortements		Biswas K, Chattopadhyay I, Banerjee RK, Bandyopadhyay U. Biological activities and medicinal properties of neem (<i>Azadirachta indica</i>). <i>Current Science</i> , 2002 ;82(11) :1336-1345.
Tiges de <i>Guatteriaopsis friesiana</i> : 6,6a-dihydrodemethoxyguadiscine, guatteriopticine, demethoxyguadiscine, lirioidenine, corypalmine, et coreximine	Non reporté comme toxique	Non reporté comme toxique	Pas de données	Sans objet	
<i>Bursera aloexylon</i> (feuilles)	Pas de données	Pas de données	Pas de données	Sans objet	
<i>Morinda citrifolia</i> (pomme chien ou nono)	Hépatotoxicité rare chez l'Homme : animal ?	Oui	Pas de données	Sans objet	EFSA Journal, 2009;998
<i>Origanum vulgare</i> (origan), <i>Origanum majorana</i>	Oui chez le Chien et le Chat (gastro-entérite)	Rares allergies après ingestion	Pas de données	Sans objet	Centres anti-poisons
<i>Eucalyptus sp</i>	Oui à la dose maximale de 1,8 cineole de 5 mg/kg d'aliment complet	Irritant cutané, oculaire et respiratoire, sensibilisant cutané	Aucune LMR requise pour l'eucalyptol (règlement « LMR/médicament vétérinaire »)	Sans objet	EFSA, 2012 - EFSA Journal 2012;10(11):2967
<i>Curcuma longa</i>	Oui chez le Rat, le cochon d'Inde et le singe à 2,5 g/kg per os	Sensibilisant cutané	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012 Shankar TN, Shantha BNV, Ramesh HP, Murthy IAS, Murthy VS. Toxicity studies on turmeric (<i>Curcuma longa</i>): acute toxicity studies in rats, guineapigs and monkeys. <i>Indian Journal of Experimental Biology</i> 1980 ;18(1) :73-75.

<i>Salviae sp</i>	Non reporté comme toxique sauf <i>S. fruticosa</i> (diminution de la fertilité chez mâles et femelles)	Pas de données	Non reporté comme toxique sauf <i>S. fruticosa</i> (diminution potentielle de la fertilité chez mâles et femelles) Aucune LMR requise pour <i>Salviae folium</i> (règlement « LMR/médicament vétérinaire »)	Sans objet	EFSA, 2012
<i>Panax ginseng</i>	Signes digestifs bénins après ingestion	Pas de données	Pas de données	Sans objet	
<i>Allium cepa</i> (oignon)	Oui mais < 5 g/kgPV chez le Chat et 15-30 g/kgPV chez le Chien	Pas de données	Aucune LMR requise (règlement « LMR/médicament vétérinaire »)	Sans objet	Salgado BS <i>et al.</i> The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases 2011;17(1):4-11
<i>Allium sativum</i> (voie vaginale)	Pas de données (solution à 10% ; voie intra-utérine)	Pas de données	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012
<i>Allium sativum</i> (voie orale)	Toxicité moindre que <i>Allium cepa</i>	Pas de données	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012
<i>Cuminum cyminum</i> (Cf cinnamaldéhyde)					
<i>Foeniculum vulgare</i> = <i>Foeniculi aetheroleum</i> (Fenouil)	DL50 (souris IP) = 1,038 mL/kg	Pas de données	Non reporté comme toxique Aucune LMR requise (règlement « LMR/médicament vétérinaire »)	Sans objet	EFSA, 2012 Özbek H, Öztürk M, Öztürk A, Ceylan E, Yener Z. Determination of Lethal Doses of Volatile and Fixed Oils of Several Plants. Eastern J Med, 2004 ;9(1) :4-6.

<i>Gentiana</i> , <i>Gentianella</i> sp	Pas de données	Pas de données	Aucune LMR requise pour <i>Gentiana radix</i> (règlement « LMR/médicament vétérinaire »)	Sans objet	
<i>Melissa officinalis</i>	Pas de données	Pas de données	Aucune LMR requise (règlement « LMR/médicament vétérinaire »)	Sans objet	
<i>Mentha piperita</i>	Pas de données	Pas de données	Non reporté comme toxique Aucune LMR requise (règlement « LMR/médicament vétérinaire »)	Sans objet	EFSA, 2012
<i>Pimpinella</i> sp, <i>illicium</i> sp, (anis vert et étoilé)	DL50 (souris IP) = 0,847 mL/kg pour <i>Pimpinella anisum</i>	Pas de données	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012 Özbek H, Öztürk M, Öztürk A, Ceylan E, Yener Z. Determination of Lethal Doses of Volatile and Fixed Oils of Several Plants. Eastern J Med, 2004 ;9(1) :4-6.
<i>Quercus</i> sp (Ecorce de chêne)	Oui pour <i>Q. robur</i> et <i>Q. Sessiliflora</i> : 4 kg glands secs/bovin adulte	Pas de données	Hépatotoxicité si doses élevées pendant longtemps Aucune LMR requise pour <i>Quercus cortex</i> (règlement « LMR/médicament vétérinaire »)	Sans objet	EFSA, 2012
<i>Syzygium aromaticum</i> (Clou de girofle) - voir aussi eugenol	Pas de données	Pas de données	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012

<i>Silybum marianum</i>	Toxicité indirecte chez les ruminants (plante riche en nitrate de potassium)	Non reporté comme toxique	Aucune LMR requise pour médicaments homéopathiques (règlement « LMR/médicament vétérinaire »)	Sans objet	EFSA, 2012
<i>Linum usitatissimum</i> (HE)	Oui mais $\leq 0,5$ à 1kg/j pour un bovin, $\leq 0,1$ à $0,25\text{kg/j}$ pour un ovin, $\leq 5\%$ de la ration chez le porc et $\leq 0,1$ à $0,3\text{kg/j}$ pour un cheval	Pas de données	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012
<i>Hesperozygis ringens</i>	Non reporté comme toxique	Pas de données	Pas de données	Sans objet	
<i>Ocimum americanum</i>	Non reporté comme toxique	Pas de données	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012
<i>Ocimum gratissimum</i>	Non reporté comme toxique	Pas de données	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012
<i>Scutellaria baicalensis</i>	Lésions cardiaques chez le Rat ($120\text{ mg wogonine/kg}$ à long terme)	Pas de données	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012
<i>Citrus</i> (contient surtout furocoumarines dans HE)	Photosensibilisation (certaines espèces comme <i>Citrus bergamia</i>)	Photodermatite	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012
Ecorce de " <i>sucupira branca</i> " (<i>Pterodon emarginatus</i> Vogel)	Pas de données	Pas de données	Pas de données	Sans objet	
<i>Melaleuca alternifolia</i>	Toxique chez le Chien et le Chat par voie cutanée et orale ($0,1\text{-}85\text{ mL HE}$)	Pas de données	Pas de données	Sans objet	EFSA, 2012 Khan SA, McLean MK, Slater MR. Concentrated tea tree oil toxicosis in dogs and cats: 443 cases (2002–2012). JAVMA, 2014; 244(1):95-99.
<i>Punica granatum</i> L. (grenadier)	Non toxique chez le Rat par voie intranasale répétée à $1,2\text{ mg extrait/kg PV}$; génotoxicité de l'extrait hydroalcoolique de fruit	Pas de données	Tous organes toxiques sauf graine (Liste A Pharmacopée Française)	Sans objet	Vidal A <i>et al.</i> Studies on the toxicity of <i>Punica granatum</i> L. (<i>Punicaceae</i>) whole fruit extracts. Journal of Ethnopharmacology 89 (2003) 295–300.

<i>Terminalia chebula</i> (terminadier ou badamier)	Non toxique chez le Rat par voie orale réitérée (14 j) à 2000 mg extrait éthanolique/kg PV	Pas de données	Pas de données	Sans objet	Kim JH <i>et al.</i> Mutagenicity and oral toxicity studies of <i>Terminalia chebula</i> . <i>Phytother Res.</i> 2012 Jan;26(1):39-47.
<i>Aegle marmelos</i>	Rat : baisse des T3 (1 g extrait aqueux/kg PV/j/7j per os), baisse de la spermatogenèse et de la fertilité,	Pas de données	Par extrapolation, reprotoxique et perturbateur endocrinien potentiel	Sans objet	
<i>Berberis aristata</i>	Plante médicinale indienne aux vertus nombreuses	Plante médicinale indienne aux vertus nombreuses	Plante médicinale indienne aux vertus nombreuses	Sans objet	Sharma Komal <i>et al.</i> <i>Berberis aristata</i> : a review. <i>IJRAP</i> 2011, 2 (2) 383-388
<i>Datura Innoxia</i>	Anorexie, tremblements, sécheresse des muqueuses, mydriase, parfois cécité, dyspnée surtout chez les ruminants et le Cheval	Pas de données	Pas de données	Sans objet	
<i>Holarrhena antidysenterica</i>	Contient des alcaloïdes de nature stéroïdique	Pas de données	Pas de données	Sans objet	
<i>Calendula avertis</i>	Augmentation de l'urée et des transaminases sériques, toxicité maternelle pendant la phase fœtale à dose orale élevée et répétée chez rats	Pas de données	Non reporté comme toxique (toxicité maternelle potentielle pendant la phase fœtale ?) Aucune LMR requise pour <i>Calendula officinalis</i> (règlement « LMR/médicament vétérinaire »)	Sans objet	EFSA, 2012
Camphre	Oui à la dose maximale de 0,5 mg/kg aliment chez bovins, salmonidés et animaux de compagnie et de 0,3 mg/kg aliment chez porcs et volailles	Surtout irritant respiratoire	Oui aux doses maximales considérées comme « sûres » chez les espèces cibles	Oui aux doses maximales considérées comme « sûres » chez les espèces cibles	EFSA Journal 2016;14(6):4475
Limonène	Oui, à l'exception des rats mâles, à la dose	Irritant pour la peau et les yeux	Oui à la dose maximale de 25	Oui	EFSA Journal 2015;13(3):4053

	maximale de 25 mg/kg aliment	Irritant respiratoire Sensibilisant cutané	mg/kg aliment		
Anéthole	Oui, à l'exception des poissons, aux doses de 5-25 mg/kg aliment avec une faible marge de sécurité (2 à 6)	Sensibilisant cutané	Oui aux doses de 5-25 mg/kg aliment (sauf volailles par manque de données sur le métabolisme et les résidus)	Oui	EFSA Journal, 2011;9(12):2440
Carvacrol	Oui à la dose maximale de 5 mg/kg d'aliment avec parfois de faibles marges de sécurité (1 à 5 chez le Porc et les volailles)	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire	Oui à la dose maximale de 5 mg/kg d'aliment	Oui à la dose maximale de 5 mg/kg d'aliment	EFSA Journal 2012;10(2):2573
Thymol	Oui à la dose maximale de 5 mg/kg d'aliment avec parfois de faibles marges de sécurité (1 à 5 chez le Porc et les volailles)	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire	Oui à la dose maximale de 5 mg/kg d'aliment	Oui à la dose maximale de 5 mg/kg d'aliment	EFSA Journal 2012;10(2):2573
Vanilline	Oui à la dose maximale de 25 mg/kg d'aliment chez toutes les espèces	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire Sensibilisant cutané Toxique en cas d'ingestion	Oui à la dose maximale de 5 mg/kg d'aliment	Oui à la dose maximale de 25 mg/kg d'aliment	EFSA Journal 2012;10(7):2785

Linalool	Oui à la dose maximale de 25 mg/kg aliment chez salmonidés, veaux, bovins à l'engrais et animaux de compagnie (sauf Chat), 20 mg/kg aliment chez vaches laitières et porcs, 12 mg/kg aliment chez porcelets et 10 mg/kg aliment chez volailles	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire Sensibilisant cutané	Oui chez les Mammifères (manque de données chez les volailles et les poissons)	Oui aux doses maximales considérées comme « sûres » chez les espèces cibles	EFSA Journal 2012;10(11):2966
Terpinolène, alpha-terpinène et gamma-terpinène	Oui, à la dose maximale de 1,5 mg/kg aliment (Ruminants, Salmonidés et animaux non producteurs d'aliments) et de 1 mg/kg d'aliment (Porc et volailles)	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire Sensibilisant cutané	Oui, à la dose maximale de 1,5 mg/kg aliment (Ruminants, Salmonidés et animaux non producteurs d'aliments) et de 1 mg/kg d'aliment (Porc et volailles)	Oui	EFSA Journal 2015;13(3):4053
Terpinéol et 4-terpinéol	Oui à la dose maximale de 5 mg/kg d'aliment	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire Sensibilisant cutané	Oui aux doses maximales considérées comme « sûres » chez les espèces cibles	Oui pour le seul compartiment terrestre aux doses maximales considérées comme « sûres » chez les espèces cibles (absence de données dans le compartiment aquatique)	EFSA Journal 2012;10(11):2966
Alpha-pinène et bêta-pinène	Oui à la dose maximale de 5 mg/kg d'aliment	Pas de données spécifiques	Oui aux doses maximales considérées comme « sûres » chez les espèces cibles	Oui aux doses maximales considérées comme « sûres » chez les espèces cibles	EFSA Journal 2015;13(14):4069 ; EFSA Journal 2016;14(1):4339
Bêta-caryophyllène	Oui à la dose maximale de 5 mg/kg d'aliment	Pas de données spécifiques	Oui aux doses maximales considérées comme « sûres »	Oui aux doses maximales considérées comme « sûres » chez les espèces cibles	EFSA Journal 2015;13(14):4069 ; EFSA Journal 2016;14(1):4339

			chez les espèces cibles		
Eudesmol (cf Calendula officinalis)			Aucune LMR requise (règlement « LMR/médicament vétérinaire »)		
Eugenol	Oui, à l'exception des poissons, aux doses de 5-25 mg/kg aliment avec une faible marge de sécurité (2 à 6)	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire Sensibilisant cutané	Oui aux doses de 5-25 mg/kg aliment (sauf volailles par manque de données sur le métabolisme et les résidus)	Oui	EFSA Journal, 2011;9(12):2440
Cinnamaldéhyde	Oui à la dose maximale de 30 mg/kg aliment chez poulets de chair	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire Sensibilisant cutané	Oui à la dose maximale	Oui à la dose maximale	EFSA Journal 2015;13(2):4011
Tannins hydrolysables (<i>Castanea sativa</i> Mill)	Pas de données	Potentiellement irritant cutané	Hépatotoxicité (administration à dose élevée et pendant une longue période)	Sans objet	EFSA, 2012
Acide citrique	Oui à la dose maximale de 30 000 mg/kg aliment ou de 10 000 mg/L d'eau	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire	Oui aux doses maximales	Oui aux doses maximales	EFSA Journal 2015;13(2):4009
Acide fumarique	Oui à la dose maximale de 20 000 mg/kg aliment (Porc, volailles avec une marge de sécurité de 2) et à des doses supérieures chez les ruminants	Irritant pour les yeux et les muqueuses Irritant respiratoire	Oui aux doses maximales	Oui aux doses maximales	EFSA Journal 2013;11(2):3102
Acide malique	Oui à la dose maximale de 1600 mg/kg aliment (acide ou sels de Na ou de Ca) chez les ruminants, les veaux, les porcelets, les volailles et le Chien	Irritant pour les yeux, les muqueuses et la peau Irritant respiratoire	Oui à la dose maximale de 1600 mg/kg	Oui à la dose maximale de 1600 mg/kg	EFSA Journal 2014;12(2):3563

Acide (ortho)phosphorique	Oui à la dose de 100 à 5 000 mg/kg aliment	Caustique pour la peau et les yeux Dangereux pour l'appareil respiratoire	Oui	Oui	EFSA Journal 2013;11(1):3043
Acide sorbique	Oui à la dose maximale de 2500 mg/kg aliment chez toutes les espèces, sauf chez les jeunes bovins (6700 mg/kg alt)	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire	Oui aux doses maximales	Oui aux doses maximales	EFSA Journal 2015;13(9):4239
Acide ascorbique	Oui sans dose maximale chez aucune espèce animale	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire Sensibilisant cutané	Oui	Oui	EFSA Journal 2013;11(2):3103
Cinnamaldéhyde	Oui à la dose maximale de 30 mg/kg aliment chez poulets de chair	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire Sensibilisant cutané	Oui à la dose maximale	Oui à la dose maximale	EFSA Journal 2015;13(2):4011
Acide caprique [(AG à chaîne moyenne (C8, C10))]	Oui chez toutes les espèces aux doses proposées comme arômes alimentaires	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire Sensibilisant cutané	Oui aux doses proposées	Oui aux doses proposées	EFSA Journal 2013;11(4):3169
Acide caproïque	Oui à la dose maximale de 5 mg/kg aliment avec une marge de sécurité de 1 à 120	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire Sensibilisant cutané	Oui à la dose maximale de 5 mg/kg aliment	Oui à la dose maximale de 5 mg/kg aliment	EFSA Journal 2013;11(4):3169
Acide caprilique (= acide octanoïque)	Oui chez toutes les espèces aux doses proposées comme arômes alimentaires	Irritant pour la peau et les yeux Irritant respiratoire Sensibilisant cutané	Oui aux doses proposées	Oui aux doses proposées	EFSA Journal 2013;11(4):3169

Di-trioctahédral smectite = bentonite (qui est une smectite)	Oui à la concentration maximale de 2% dans l'aliment pour toutes les espèces animales	Légèrement irritant pour les yeux Irritant respiratoire potentiel	Oui à la concentration maximale de 2% dans l'aliment	Oui à la concentration maximale de 2% dans l'aliment	EFSA Journal 2010;10(7):2787
Acidid soluble bio-organic (SBO)	Pas de données	Pas de données	Pas de données	Sans objet	Pas de données
Bêta-glucanase	Oui (nombreux additifs commercialisés)	Sensibilisant cutané et respiratoire potentiel	Oui (nombreux additifs commercialisés)	Oui (nombreux additifs commercialisés)	Nombreux avis de l'Efsa, e.g. EFSA Journal 2014;12(6):3722
Bêta-xylanase	Oui (nombreux additifs commercialisés)	Sensibilisant cutané et respiratoire potentiel	Oui (nombreux additifs commercialisés)	Oui (nombreux additifs commercialisés)	Nombreux avis de l'Efsa, e.g. EFSA Journal 2014;12(6):3722
Amylase	Oui (nombreux additifs commercialisés)	Sensibilisant cutané et respiratoire potentiel	Oui (nombreux additifs commercialisés)	Oui (nombreux additifs commercialisés)	Nombreux avis de l'Efsa, e.g. EFSA Journal 2012;10(7):2777
MOS = manno-oligosaccharides	Evaluation au cas par cas en fonction de la nature de la molécule				
Galactosyl lactose	Evaluation au cas par cas en fonction de la nature de la molécule				
Galacto-oligo saccharides	Evaluation au cas par cas en fonction de la nature de la molécule				
Inuline = polysaccharides	Evaluation au cas par cas en fonction de la nature de la molécule				
Maltolate de gallium	Peu de données mais <i>a priori</i> oui car le gallium est utilisé pour ses propriétés antitumorales notamment			Domingo JL, Corbella J. A review of the health hazards from gallium exposure. In : Trace Elements in Medicine, 1991;8 (2):56-64	

Annexe 5 : Tableau récapitulatif de la répartition des publications

Tableau 65. Récapitulatif du nombre de publications retenues concernant les effets significatifs ou non des probiotiques, des prébiotiques, des acides organiques, et des extraits de plantes/huiles essentielles

HUILES ESSENTIELLES et EXTRAITS de PLANTES					
Tableau synthèse Prévention / AB			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
(Produit >= AB)	1PR	1V	Produit > témoin	2P+3L	1L+1V
Produit < AB			Produit <= Témoin	1P+1PR	2L+1V
Tableau de synthèse Curatif / AB			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
(Produit >= AB)	1PR		Produit > témoin	1PR	
Produit < AB			Produit <= Témoin	1P	
PROBIOTIQUES					
Tableau synthèse Prévention / AB			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
(Produit >= AB)	4P		Produit > témoin	9P+2C	1P+7L+2V
Produit < AB	1P		Produit <= Témoin	2P+6C	3P+1L+3PR+2V
Tableau de synthèse Curatif / AB			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
(Produit >= AB)			Produit > témoin		
Produit < AB			Produit <= Témoin	1C	1PR+1C
ACIDES ORGANIQUES					
Tableau synthèse Prévention / AB			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
(Produit >= AB)	1P		Produit > témoin	1P+1L	1P
Produit < AB			Produit <= Témoin	1L	1P
Tableau de synthèse Curatif / AB			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
(Produit >= AB)			Produit > témoin		
Produit < AB			Produit <= Témoin		
PREBIOTIQUES					
Tableau synthèse Prévention / AB			Tableau de synthèse Prévention / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
(Produit >= AB)	1P+1L	2L+2V	Produit > témoin	1P	1V
Produit < AB		1P	Produit <= Témoin		3L+1V
Tableau de synthèse Curatif / AB			Tableau de synthèse Curatif / témoin		
Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4	Nombre publiés	Scores 1-2	Scores 3-4
(Produit >= AB)			Produit > témoin		
Produit < AB			Produit <= Témoin		

Légende= C= cheval/poulain, L = Lapins, P=porcelet, PR=petits ruminants, V=veau préruminant (le chiffre correspond au nombre de publications)

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Liste des tableaux	8
Liste des figures	9
1. Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise	10
1.1 Contexte	10
1.2 Objet de la saisine	10
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation	11
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêt	11
2. Définition des « alternatives aux antibiotiques » et du champ de l'expertise	12
3. Recensement des « alternatives aux antibiotiques »	13
3.1 Méthode	13
3.2 Présentation et analyse des tableaux	15
3.3 Statut réglementaire des produits recensés	21
3.4 Conclusion	23
4. Introduction à l'évaluation des alternatives aux antibiotiques : méthodologie d'expertise	25
4.1 Choix de la méthode employée pour la phase 2 d'évaluation	25
4.2 Choix des produits/espèces/maladies à étudier	26
4.3 Recherche bibliographique	27
5. Méthode d'évaluation des publications relatives aux essais sur animaux	31
5.1 Score méthodologique des publications d'essais sur animaux	31
5.2 Pertinence des variables mesurées dans les publications	35
5.3 Grille d'analyse des publications	41
5.4 Conclusion par publication	41
5.5 Elaboration de conclusions générales par famille de produits, pour une espèce animale et une maladie	46
5.6 Conclusions générales par produit et niveau de confiance, pour une espèce animale et une maladie	48
5.7 Schéma méthodologique général	51
5.8 Limites de l'approche bibliographique	53
6 Application de la méthode – Résultats	54
6.1 Troubles digestifs chez le porcelet au sevrage	54
6.2 Colibacillose systémique en volaille	62
6.3 Troubles digestifs chez le lapin	67
6.4 Mammmites chez la vache laitière	76
6.5 Métrites de la vache	82
6.6 Troubles digestifs chez les petits ruminants	84
6.7 Troubles digestifs du pré-ruminant	89
6.8 Maladies systémiques des poissons	95
6.9 Rhodococcose du poulain	106
6.10 Troubles digestifs chez le cheval	115
7. Intérêt des études épidémiologiques	121
7.1 Principaux schémas d'étude utilisés en épidémiologie	121
7.2 Critères d'évaluation de la qualité intrinsèque des études épidémiologiques	122
7.3 Niveaux de preuve	123

7.4 Recommandations sur l'intérêt de ces études pour prouver l'efficacité de substances en tant qu'alternatives aux antibiotiques	124
8. Autres approches	126
8.1 Peptides antimicrobiens	126
8.2 Algues	127
8.3 Phages	128
8.4 Enzymes	130
9 Evaluation de l'innocuité des produits	131
9.1 Méthode d'évaluation	131
9.2 Résultats	132
9.3 Conclusions sur l'innocuité des familles de produits	132
9.4 Efficacité et innocuité : mise en perspective	135
10. Perspectives en matière de positionnement réglementaire des produits	138
10.1 Aliment à objectif nutritionnel particulier	138
10.2 Additifs pour l'alimentation animale	138
10.3 Allégation matière première	140
10.4 Conclusion	141
11 Conclusions du groupe de travail	142
11.1 Cadre et limites des travaux du GT	142
11.2 Résultats	144
11.3 Recommandations	147
12 Bibliographie	150
Annexe 1 : Lettre de saisine	163
Annexe 2 : Calculateur score méthodologique	164
Annexe 3 ; Evaluation de la qualité d'une étude épidémiologique	165
Annexe 4 : Innocuité des molécules potentielles permettant de limiter le recours aux antibiotiques	166
Annexe 5 : Tableau récapitulatif de la répartition des publications	182



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr / [@Anses_fr](https://twitter.com/Anses_fr)