

Journée d'automne de l'AFZ 21/09/2011
Les nouveaux additifs alimentaires en élevage :
pour une production animale mieux acceptée

Les probiotiques pour les porcs

Michel Etienne

***ex-INRA (... SREP, SRP, UMRVP, SENAH)
35590 Saint-Gilles***

Journée AFZ 21/09/2011

Taux de pertes de porcs (Bretagne)

- 19% des porcelets nés totaux avant le sevrage
ou
13% des porcelets nés vivants avant le sevrage
- 2.2% pendant le post-sevrage
- 3.6% après le post-sevrage (morts + saisies)

Journée AFZ 21/09/2011

Stades de la vie des porcs au cours desquels les probiotiques peuvent jouer un rôle

- porc nouveau-né
- au moment du sevrage
- aux autres périodes de leur vie
 - croissance-finition
 - truies reproductrices

Journée AFZ 21/09/2011

Porc nouveau-né

- **intestin stérile à la naissance**
colonisé par microbes de la mère et de l'environnement
(bactéries lactiques, entérobactéries, streptocoques, bifidobactéries)
- **immunodéficient à la naissance**
 - dépend de l'apport des facteurs immunitaires du colostrum et du lait
 - le système immunitaire reste relativement immature jusqu'au sevrage
- **diarrhées néonatales fréquentes (48h après naissance)**
(*Escherichia coli* K88 entérotoxique, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., virus, ...)

Journée AFZ 21/09/2011

Au sevrage

- séparation de la mère
- changement d'aliment
 - disparition des anticorps et des facteurs non immunologiques (facteurs de croissance, lactoferrines, transferrines...) contenus dans le lait
 - aliment liquide très digestible → aliment sec moins digestible (résidus)
 - perturbation et diversification du microbiote intestinal
 - chute de la consommation (déficit nutritionnel)
 - atrophie de la muqueuse intestinale
- changement de milieu (pathogènes)
- mélange avec d'autres porcelets (pathogènes)
- Diarrhées post-sevrage fréquentes (4-10 j après)

Journée AFZ 21/09/2011

Qu'est-ce qu'un probiotique ?

- Supplément alimentaire microbien qui affecte positivement l'hôte animal en améliorant son **équilibre microbien intestinal** (Fuller 1989)
- Microorganismes vivants dont l'administration en quantité adéquate confère un **bénéfice sanitaire** à l'hôte (Barth et al. 2009)
- **Espèces ou mélanges d'espèces de bactéries** productrices d'acide lactique (LAB), de levures, ou de leurs produits finaux, qui ne sont pas spécifiques d'espèces, ou même n'ont pas forcément été isolés originellement à partir d'animaux (Wieman, 2003)
- Cultures de **bactéries** ou de **levures vivantes**, ou **inactivées**, ou **produits terminaux** de fermentations de levures ou de bactéries (Callaway et al., 2008)

Journée AFZ 21/09/2011

Traitement des truies et porcelets allaités*

Probiotique	diarrhée	performances	sevr(durée)nb	Référence
<i>Bacillus cereus</i> (Paciflor)	↘ *	GMQ*-EA *↗	25(5-70) 30	Alexopoulos et al. 2001
<i>Bacillus cereus</i> (CenBiot)	↘ *	GMQ = GMQ*↗ (PS)	21(10-60)7+?	Zani et al., 1995
<i>Enterococcus faecium</i>	↘ chlamyd 60 vs 85%	-	28(14-70)11?	Pollmann et al. 2005
<i>E. faecium</i>	↘ + mort	GMQ-CMJ =	28(15-56)13	Taras et al. 2006
<i>E. faecium</i>	-	GMQ =	28(14-28)16	Böhmer et al. 2006
<i>E. faecium</i>	↘ *	-	24(0-24)54-60	Zeyner et al. 2006
<i>Pediococcus acidilactici</i>	0 diarrhée	GMQ =	21(0-42)7	Lessard et al. 2009
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0 diarrhée	GMQ =	21(0-42)7	Lessard et al. 2009

* Les mères sont traitées pendant une grande partie de la gestation
GMQ: gain moyen quotidien; EA: efficacité alimentaire; CMJ: consommation moyenne/jour

Traitement des porcelets sevrés

Probiotique	sevr-durée	diarrhée	performances	Référence
<i>B. licheniformis</i> <i>B. subtilis</i>	26j-5s	↘	↗*GMQ-EA CMJ=	Alexopoulos et al. 2004
<i>B. subtilis</i>	17j-5s (18)	↘ *	GMQ-EA-CMJ = challenge <i>E. coli</i>	Bhandari et al. 2008
<i>B. subtilis</i>	35/40j-4s (18)		GMQ*-EA*↗ CMJ=	Guo et al. 2006
<i>B. licheniformis</i>	25j-53j (64)	↘ *	GMQ-EA-CMJ↗* mauvais état sanitaire	Kyriakis et al. 1999
<i>Bacillus toyoi</i> (Toyocérine)	25j-53j (64)	↘ *	GMQ-EA↗* CMJ= mauvais état sanitaire	Kyriakis et al. 1999
<i>E. coli</i>	35j-2s	↘ *	contact ETEC	Melin et Wallgren 2002
<i>L. fermentum</i>	37j-26j	↘	GMQ *↗	Conway, 1995
<i>L. Fermentum</i>	21j-10j	= (↘* à J10)	GMQ-EA ↗* challenge <i>E.coli</i> K88	Wang et al. 2009

Journée AFZ 21/09/2011

Traitement des porcelets sevrés

Probiotique	sevr-durée	diarrhée	performances	Référence
<i>L. rhamnosus</i>	18j-23j	↘ *	challenge E. coli	Zhang et al. 2010
Lactobacilles	28j-2s (18)	↘*	GMQ ↗*en s2 CMJ ↗*	Huang et al. 2004
<i>L. amylovorus</i> + <i>E. faecium</i>	35j-5s (15)		GMQ= EA ↗* CMJ ↘*	Ross et al. 2010
<i>P. acidilactici</i>	?		GMQ ↗	Di Giancamillo et al. 2008
<i>L. murinus</i> + <i>L. salivarius</i> + 2 <i>L. murinus</i> + <i>P. pentosaceus</i>	(5)	↘*	GMQ ↗*	Casey et al. 2007
<i>A. oryzae</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>L. acidophilus</i> + <i>S. cerevisiae</i>	≈ 6kg-4s (72)		GMQ-CMJ-EA ↗*	Choi et al. 2011

Journée AFZ 21/09/2011

Traitement des porcelets sevrés

Probiotique	sevr-durée	diarrhée	performances	Référence
<i>Bacillus cereus</i>	28j-6s (12)	=	GMQ-CMJ ↗ (* les 3 premières sem.)	Kirchgessner et al. 1993
<i>B. cereus toyoi</i>	?	=	challenge E.coli	De Cupere et al. 1992
<i>E. faecium</i>	20j-23j (52)	=	GMQ-EA-CMJ = pas de diarrhée	Broom et al., 2010
Lactobacilles	?	=	GMQ-EA =	Amezcuca et al. 2007
<i>Lactobacillus spp.</i>	?	=	challenge E.coli	De Cupere et al. 1992
<i>L. plantarum</i>	20/28j-2s	=	=	Yoshida et al. 2009
<i>L. reuteri</i>	30j-21j	=	GMQ-CMJ ↗ *	Chang et al. 2001
<i>Megasphaera elsdenii</i> + <i>L. plantarum</i>	20/28j-2s	=	=	Yoshida et al. 2009
<i>Streptococcus faecium</i>	?	=	challenge E.coli	De Cupere et al. 1992
<i>L. sobrius</i>	21j-2s (24)	↗ nb j	GMQ ↗* challenge ETEC	Konstantinov et al. 2008

Traitement des porcs en croissance-finition

Probiotique	période	nb/lot	effets	Référence
<i>B. Licheniformis</i> + <i>B. subtilis</i> (BioPlus 2B)	26-61 j et 26-120 j	54	GMQ - EA ↗ * CMJ =	Alexopoulos et al. 2004
2 <i>B. licheniformis</i> + <i>B. subtilis</i>	23-104 kg	168 en 3 exp	EA ↗ * GMQ- CMJ =	Davis et al. 2008
<i>B. subtilis</i> + <i>C. butyricum</i>	47 kg-10 s	2x24 (fact 2x2)	GMQ - EA ↗ * CMJ = CUDE-CUDN ↗ *	Meng et al. 2010
<i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i>	39 kg - 2s /+ 2s	16	GMQ-CMJ ↗ * EA = pendant 2 s après challenge à <i>S. typhimurium</i>	Gebru et al., 2010

Journée AFZ 21/09/2011

Traitement après sevrage (Alexopoulos et al., 2004)

Traitement *	Témoin 0 (C)	0.4 g 26-61 (BW)	0.4 g 26-61 0.2 g 61-120 (BL)	0.4 g 26-120 (BM)	0.4 g 26-61 0.6 g 62-120 (BH)
GMQ g/j	669 a	677 b	684 c	693 d	693 d
CMJ kg/j	1.876	1.843	1.838	1.840	1.843
IC	2.80 a	2.72 b	2.68 b	2.65 b	2.66 b

*g probiotique/kg d'aliment entre 26-61-120 j d'âge

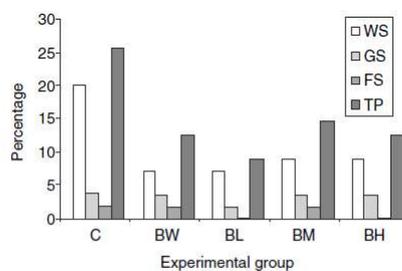


Fig. 1. Morbidity rates in general (%) in the different experimental groups (weaner stage; GS, growing stage; FS, finishing stage; TP, total period).

Journée AFZ 21/09/2011

Variabilité des résultats (Davis et al., 2008)

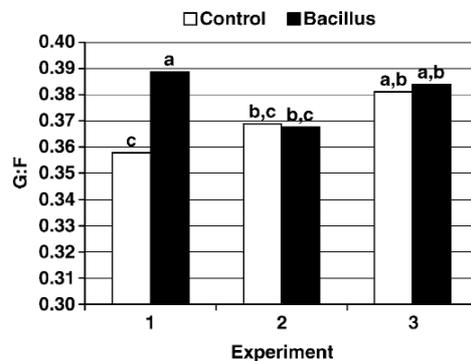


Figure 1. Gain:feed of pigs fed a control or *Bacillus*-supplemented diet during the growing-finishing period of Exp. 1, 2, and 3 of the university research study. Values represent the mean of each treatment for each of the 3 experiments, with a total of 8 pens/treatment in Exp. 1 and 2, and 12 pens/treatment in Exp. 3 (experiment \times treatment interaction, $P = 0.03$). ^{a-c}Means lacking a common letter differ ($P < 0.05$; SE = 0.006 for Exp. 1, 2, and 3).

Journée AFZ 21/09/2011

Microbiote intestinal

Probiotique	Entérobactéries	Microbiote	Référence
<i>Bacillus cereus</i>	↘ <i>E. coli</i> fèces	↗ <i>B. cereus</i> fèces	Gedek et al. 1993
<i>Bacillus cereus toyoi</i>	↘ <i>E. coli</i> fèces		Scharek et al. 2007
<i>Enterococcus faecium</i>	= (digesta, iléon, nodules lymph.)	= (digesta, iléon, nodules lymph.)	Broom et al. 2006
<i>Enterococcus faecium</i>	= (fèces)	= (fèces)	Böhmer et al., 2006
Lactobacilles (aliment fermenté)	↘		Canibe et al. 2003
Lactobacilles	↘ <i>E. coli</i> & aérobies contenus et muqueuse intest.	↗ lactobacilles & anaérobies contenus et muqueuse intest	Huang et al., 2004
<i>L. delbrueckii</i>		↗ lactobacilles indigènes caeaux	Ohashi et al., 2007
<i>L. plantarum</i>		↗ lactobacilles indigènes fécaux	Takahashi et al. 2007
<i>L. rhamnosus</i>	↘ + nette que avec antibiotiq.		Adami et Cavazzoni 1999
<i>L. rhamnosus</i> après challenge <i>E.coli</i>	↗ moindre dans les fèces	↘ moindre lactob. & bifidobactéries	Zhang et al. 2010

Journée AFZ 21/09/2011

Effets sur le microbiote intestinal (Takahashi et al., 2007)

- Lactobacilles x 100 alors que *L. plantarum* (probiotique ajouté) n'en représente que 1%
 - ↗ de la diversité (identification de populations mineures de lactobacilles non trouvées auparavant
Sécrétion de molécules favorisant la croissance des lactobacilles par *L. plantarum* ?
 - ↗ de la diversité bénéfique pour l'hôte:
↗ des fonctions → système moins vulnérable à la pénétration des pathogènes
- la complexité est nécessaire pour maintenir la stabilité du système**

Journée AFZ 21/09/2011

Effets d'un challenge par *E. coli* K88 sur le microbiote intestinal (Zhang et al., 2010)

Bactéries	jours post-sevr	Témoin	Challenge (C)	C + <i>L. rhamnosus</i>
Coliformes	J 3	7,51	7,29	7,63
	J 9	7,54	8,96	8,18
	J 13	7,70	8,40	8,00
Lactobacilles	J 3	8,39	8,28	9,07
	J 9	9,00	8,72	9,43
	J 13	8,90	7,36	9,30
Bifidobactéries	J 3	8,39	8,55	8,63
	J 9	8,12	8,04	8,30
	J 13	8,95	7,40	8,70

6 porcs/lot sevrés à 18j (5,3 kg)

Inoculation de 10^{11} ufc/j de *L. rhamnosus* entre j1 et j7 des lots C+L

Inoculation de 10^{10} ufc *E. coli* K88 à 1 et 8j après sevrage des lots C et C+L

Résultats exprimés en nombre de bactéries viables /g de fèces (\log_{10} ufc/g)

Journée AFZ 21/09/2011

Fonction immunitaire

Probiotique	Effets	Référence
<i>E. faecium</i>	pas de stimulation immunitaire	Scharek et al. 2005
<i>E. faecium</i>	↘ IgG sériques	Broom et al. 2006
<i>E. faecium</i>	↘ IgG sériques ↘ T CD8 ⁺ intra-épith du jéjunum effet secondaire à un moindre challenge immunologique des porcs supplémentés ?	Scharek et al. 2005
<i>E. faecium</i> + <i>L. amylovorus</i>	↗ éosinophiles chez les témoins pas d'infection parasitaire chez les supplémentés ?	Ross et al. 2010
2 <i>L. murinus</i> + <i>L. pentosus</i> + <i>L. Salivarius</i> + <i>P. pentosaceus</i>	↗ proportion de cellules T CD4 ⁺ et CD8 ⁺ périph. ↗ expression du mRNA de IL8 iléale	Walsh et al.,2008
<i>Pediococcus acidilactici</i>	+ de T CD8 ⁺ intraépithéliales des témoins entérite chez les témoins, pas chez les supplémentés?	Di Giancamillo et al. 2008
Probiotique	effets	Référence
<i>B. cereus toyoi</i> (porcelet)	↗ T CD8 ⁺ et T γδ de l'épithélium intestinal ↗ lymphocytes CD25 ⁺ et T γδ de lamina propria modulation transitoire au moment du sevrage	Sharek et al. 2007
<i>B. cereus toyoi</i> (truie gestation)	s'oppose à la réduction de l'immunité pendant la phase peripartum	Schierack et al. 2009

Fonction immunitaire : effets d'un challenge bactérien

Probiotique	Effets	Référence
Challenge <i>E. coli</i>		
<i>L. fermentum</i>	stimule la différenciation T CD4 ⁺ périphériques induit l'expression des cytokines dans l'iléon (↗ TNFα et IFNγ)	Wang et al. 2009
<i>L. rhamnosus</i>	↗ défense anticorps intestin (sIgA) Régule production de cytokines inflammatoires systémiques (↘ IL-6 & IL-1β; ↗ TNFα)	Zhang et al. 2010
<i>P. acidilactici</i> <i>S. cerevisiae</i>	↘ translocation de <i>E. coli</i> dans les ganglions mésentériques; ↘ IgA iléales avec <i>P. acidilactici</i>	Lessard et al. 2009
Challenge <i>S. typhimurium</i>		
<i>E. coli</i> Nissle	↘ translocation de <i>Salmonella</i> dans les ganglions mésentériques et circulation périph. pas d'IL-10 plasma ↘ TNFα iléon/plasma	Splichalova et al. 2010
<i>E. faecium</i>	↗ réponse humorale (IgM-IgA) mais ↗ colonisation des organes par <i>Salmonella</i> et de son excrétion fécale	Szabo et al. 2009

Journée AFZ 21/09/2011

Translocation bactérienne dans les ganglions mésentériques après infection ETEC : effets de probiotiques (Lessard et al., 2009)

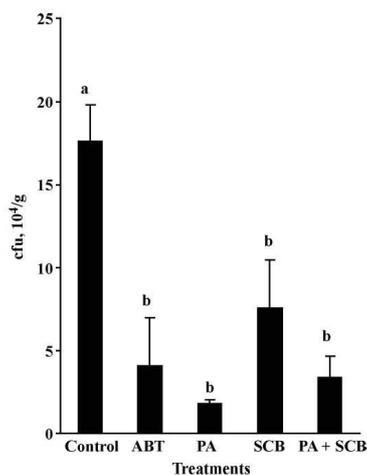


Figure 1. Translocation of facultative anaerobic bacteria to the mesenteric lymphatic nodes following *Escherichia coli* challenge in pigs fed a basal diet as control or a basal diet enriched with either an antibiotic (ABT) or *Pediosoccus acidilactici* (PA) or *Saccharomyces cerevisiae boulardii* (SCB) or both PA and SCB (PA+SCB). *Bars (\pm SE) with different letters differ at $P < 0.05$. Five litters per treatment (3 pigs per litter) were used.

Journée AFZ 21/09/2011

Fonction immunitaire : vaccination

Probiotique	Effets	Référence
<i>B. cereus toyoi</i>	vaccination Mycoplasme et Influenza H3N2 affecte réponse immunitaire spécifique (↗ CD4 ⁺ /CD8 ⁺ ; ↗ IL-4 et IFN- γ par cellules mononucléées sang périphérique stimulées) ↗ anticorps contre antigènes de vaccination ↗ réponse post-vaccination aux antigènes viraux	Schierack et al. 2007
<i>L. acidophilus</i>	vaccination rotavirus humain (HRV) atténué ↗ réponse T CD8 ⁺ productrices des IFN- γ spécifiques de HRV dans l'iléon et la rate ↗ réponse cellules sécrétant IgG IgA dans iléon ↗ IgM, IgA, IgG sériques effet immunostimulant sur les réponses HRV spécifiques des cellules T et B intestinales et systémiques, induites par le vaccin.	Zhang et al. 2008

Journée AFZ 21/09/2011

Fonction immunitaire : inflammation

Probiotique	Effets	Référence
<i>in vivo</i>		
<i>E. coli</i> Nissle	absence d'IL-10 plasma et de TNF- α plasma et iléon chez les porcs supplémentés et soumis à un challenge <i>S. typhimurium</i> , conformément à leur état clinique (contraire des porcs sans probiotique)	Splichalova et al., 2010
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Régulation de production des cytokines inflammatoires systémiques (\downarrow IL-6 & IL-1 β ; \uparrow TNF α) lors d'une infection par <i>E. coli</i>	Zhang et al. 2010
<i>in vitro</i>		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	\downarrow expression de cytokines pro-inflammatoires \downarrow IL-1 α dans cellules de jéjunum de porc en culture exposées à <i>E. coli</i>	Kühle et al. 2005
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	\downarrow expression cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 α , IL-6, IL-8..) de cellules épithéliales intestinales de porc en culture exposées à <i>E. coli</i>	Zanello et al. 2011

Journée AFZ 21/09/2011

Morphologie de l'intestin

Probiotique	Effets	Référence
<i>Bifidobacterium breve</i> + <i>B. animalis</i> + <i>L. acidophilus</i>	nb fibrocytes et fibroblastes de lamina propria (estomac & intestin) \uparrow nb/activité cell. endocrines de l'est. & IG \uparrow prolif. cell. cryptes des glandes intestinales	Babinska et al. 2005
<i>B. subtilis</i> + <i>A. oryzae</i> + <i>S. cerevisiae</i>	\uparrow hauteur des villi de l'iléon & du jéjunum	Choi et al. 2011
<i>L. lactis</i> exprimant EGF	\uparrow hauteur villi (duod/jéjun) \uparrow longueur intestin \uparrow prolifération cellules intestinales	Kang et al. 2011
<i>P. Acidilactici</i>	+ d'entérocytes en prolifération \uparrow hauteur des villi et profondeur des cryptes	Di Giancamillo et al. 2008
<i>Lactobacilles in vitro</i>	\uparrow activité métabolique d'épithélium d'intestin grêle en culture (mitochondries)	Niss et al. 2009
<i>L. plantarum</i> & + <i>M. elsdenii</i>	\uparrow récup. de l'atrophie des villosités (sevr. préc.) \uparrow hauteur villi \uparrow épais. muqueuse colon	Yoshida et al. 2009
<i>E. faecium</i>	pas d'effet sur la hauteur des villi et la profondeur des cryptes avant et après sevrage	Scharek et al. 2005

Effets sur la morphologie de l'intestin (Kang et al. 2011)

Item	EGF-LL	EV-LL	rEGF	Control
Duodenal villus height, μm	715.4 \pm 108.5 ^b	627.3 \pm 75.10 ^a	628.8 \pm 74.03 ^a	569.9 \pm 57.91 ^a
Jenunal villus height, μm	575.8 \pm 47.44 ^b	597.0 \pm 65.82 ^b	602.5 \pm 85.05 ^b	512.0 \pm 53.60 ^a
Intestinal length, m	10.3 \pm 0.36 ^b	9.1 \pm 0.31 ^{ab}	9.4 \pm 0.42 ^{ab}	9.0 \pm 0.16 ^a

EGF-LL : Lactobacillus lactis exprimant EGF

EV-LL : Lactobacillus lactis n'exprimant pas EGF

rEGF : EGF recombinant humain

Journée AFZ 21/09/2011

Digestion

Probiotique	Effet	Référence
<i>A. Oryzae</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>A. oryzae</i> + <i>S. cerevisiae</i>	CUD _{fécal} MS \uparrow * EB \uparrow * N=	Choi et al. 2011
<i>B. subtilis</i> + <i>C. butyricum</i>	CUD _{fécal} MS \uparrow * N \uparrow *	Meng et al. 2010
<i>E. faecium</i>	CUD _{iléal et fécal} MS, MO, N, Lip, fibres =	Böhmer et al. 2005
<i>L. acidophilus</i> + <i>E. faecium</i> + <i>S. cerevisiae</i> + enz. dig. (Lacto-Sacc)	CUD _{iléal} nutriments et AAE \uparrow	Kovacs-Zomborsky et al. 1994
<i>L. plantarum</i> + <i>L. acidophilus</i> + <i>L. casei</i> + <i>Streptococcus faecium</i>	sur porcelet allaité \uparrow * plus importante de dipeptidase et lactase entre avant et après sevrage	Collington et al. 1990
<i>L. lactis</i>	gène <i>Staphylococcus hyius lip</i> (exprime lipase bact.) cloné sur <i>L. lactis</i> CUD lipides * > chez porc avec ligature canal cholédoque	Drouault et al. 2002

Journée AFZ 21/09/2011

Conclusion (1)

- **Résultats positifs des probiotiques chez le porc**
 - ✓ sur porcelets avant et après le sevrage
 - ✓ réduction de durée/gravité des diarrhées
 - ✓ amélioration des performances de croissance
- **Lors d'une infection (*E. coli* K88, *S. typhimurium*)**
 - ✓ amélioration de la protection immunitaire intestinale et systémique
 - ✓ modulation de la réaction inflammatoire
- **Amélioration de la réponse vaccinale**
- **Mécanismes d'action**
 - ✓ suppression ou élimination d'entéro-pathogènes
 - produits ayant une activité antimicrobienne (bactériocines, SCFA, H₂O₂...)
 - compétition pour les ressources nécessaires à leur survie
 - ✓ agrégation des bactéries probiotiques et pathogènes
 - ✓ inhibition de l'activité métabolique des entéro-pathogènes
 - ✓ stimulation des mécanismes de défense non spécifiques et immunitaires

Journée AFZ 21/09/2011

Conclusion (2)

- **Effets moins nets chez les porcs en croissance-finition**
- **Variabilité des résultats**
 - ✓ entre essais et intra-essais
 - ✓ variations individuelles
 - ✓ diversité des mécanismes d'action
 - ✓ conditions expérimentales (nature de la souche, dose, période, durée...)
 - ✓ conditions d'élevage (état sanitaire)
 - ✓ effectifs de porcs pas toujours suffisants (diarrhées (définition), performances...)
 - ✓ nécessité de tests *in vivo* après sélection *in vitro* de probiotiques
 - ✓ prébiotiques
- **Une bibliographie biaisée fournit des résultats partiels et partiels - tout publier et analyser pour**
 - ✓ déterminer les conditions d'efficacité
 - ✓ comprendre les mécanismes d'action

intégrer les probiotiques dans une approche intégrée

Journée AFZ 21/09/2011