

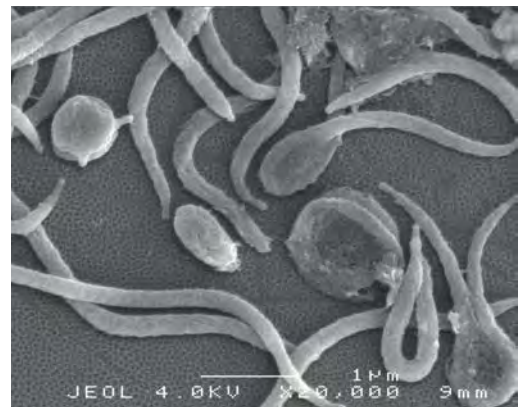
Bactéries inactivées

Les nouvelles stars de l'équilibre intestinal

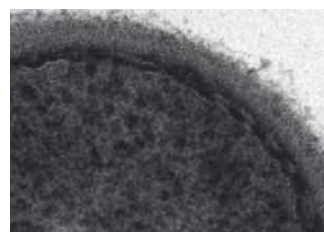
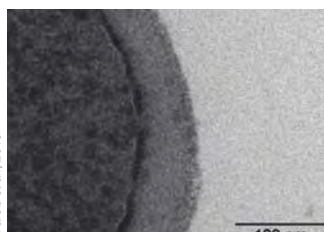
Avec des propriétés physiques et chimiques bienfaisantes pour maîtriser la flore intestinale, des bactéries rendues « inactives » peuvent apporter des effets bénéfiques pour la production porcine. Retour sur le process de diminution du risque de contamination pathogène par deux souches spécifiques. EP

Avec près de 7 300 espèces connues à ce jour et certainement plus de cinq millions présentes sur Terre, les bactéries, découvertes au XVII^e siècle, offrent aux scientifiques un terrain de jeux intarissable. Les chercheurs vont ainsi de découvertes en découvertes en observant leurs capacités. Si pour la majorité d'entre nous, bactérie rime souvent avec pathologie, en réalité, un grand nombre d'entre elles sont inoffensives ou même bénéfiques. C'est justement le cas des souches *Lb. rhamnosus* CNCM I-3698 (R) et *Lb. farciminis* CNCM I-3699 (F), une fois inactivées.

Depuis 1996, les souches R et F sont étudiées au laboratoire de recherche en microbiologie alimentaire de l'université de Caen (14) à travers un partenariat privé/public. Aujourd'hui repris par l'entreprise Danisco Animal Nutrition, groupe Dupont, cette collaboration a permis de mettre en évidence des propriétés étonnantes, favorables à l'équilibre microbien intestinal des animaux en réduisant le portage d'agents pathogènes dans le tube digestif. Pour le docteur Marion Bernardeau chercheur Danisco Animal Nutrition, groupe Dupont détachée à l'Université de Caen, « ces bactéries ont une action antimicrobienne occasionnée par



En présence des souches bactériennes R et F inactivées, *Brachyspira* se recroqueville et perd donc sa virulence⁽²⁾.



Formes « smooth » et « rough » de la souche F observées au microscope électronique à transmission.

des interactions physiques et chimiques ».

Des molécules antimicrobiennes

D'un point de vue chimique, comme la majorité des bactéries, de leur vivant, les souches R et F synthétisent des acides organiques. Mais leur spécificité repose dans la fabrication de molécules qui leur sont propres (PLA, PEA, peptides actifs...) et qui possèdent des propriétés antimicrobiennes rapportent les recherches.

Marion Bernardeau a, par exemple démontré, in vitro une plus forte inhibition du développement de certaines souches d'*E. coli*, de *Salmonelles* et de *Clostridium* en présence des métabolites du couple de bactéries R et F qu'en présence de ceux d'autres souches pourtant de la même famille⁽¹⁾. De plus, introduites dans un milieu déjà contaminé par des pathogènes, R et F réduisent significativement la virulence des micro-organismes grâce à la synthèse de certains métabo-

lites au pouvoir, cette fois-ci, agrégeant. Et une fois regroupés et collés les uns aux autres, les pathogènes deviennent moins virulents. « Grâce à des visualisations en microscopie, nous avons également observé une modification morphologique de cellules de *Brachyspira spiralée* en présence de R et F inactivées. Normalement présent sous une forme longiligne, ce micro-organisme trouve sa virulence dans sa capacité à se déplacer et à s'accrocher aux cellules de l'intestin par ses extrémités cellulaires. Mais en présence de R et F, ce pathogène se recroqueville⁽²⁾ (voir photographie ci-dessus). Il perdrait ainsi sa mobilité, son potentiel d'adhésion et donc sa virulence », détaille la spécialiste.

Concernant les effets physiques des souches R et F, deux aspects sont à retenir : ♦♦

♦♦ l'auto-agrégation et la co-agrégation. Le premier, l'agglomérat des souches R et F, joue un rôle de biofilm positif, une barrière protégeant ainsi la paroi intestinale des attaques de pathogènes. Le deuxième, la co-agrégation, reflète la capacité des souches bactériennes R et F à neutraliser les pathogènes en se fixant à leur surface. Ne pouvant plus adhérer aux cellules intestinales, ils seront naturellement éliminés par l'animal (voir graphique).

Mais cela ne s'arrête pas là... Pour améliorer encore ces deux effets physiques, il se trouve que la souche bactérienne F possède une spécificité supplémentaire : deux formes distinctes de cette souche existent dans la nature⁽³⁾ : « Rough » et « Smooth » (voir photos). Si la première est plutôt lisse et fa-

vorise l'auto-agrégation, la seconde, est quant à elle recouverte d'une capsule d'exopolymères. Ces deux formes permettent une plus grande complémentarité d'adhésion aux parois intestinales et aux agents pathogènes.

Si les résultats in vitro sont probants, ceux réalisés in vivo le sont tout autant. Lors d'une contamination par *Clostridium perfringens*, un essai mené sur des volailles a montré une réduction de près de 45 % des lésions par rapport au groupe infecté mais non traité. Un résultat équivalent à celui observé chez le groupe d'animaux traités aux antibiotiques, met en évidence l'étude. Concernant la contamination à *Campylobacter jejuni*, ce sont des larves d'insectes qui ont servi de modèle pour apprécier la réduction de la pathogénicité. Lorsque

les souches bactériennes F et R inactivées ont été administrées séparément aux larves contaminées, plus de 80 % d'entre elles ont survécu alors que ce taux atteint difficilement les 30 % en présence d'autres souches⁽⁴⁾.

Comment utiliser cette technologie ?

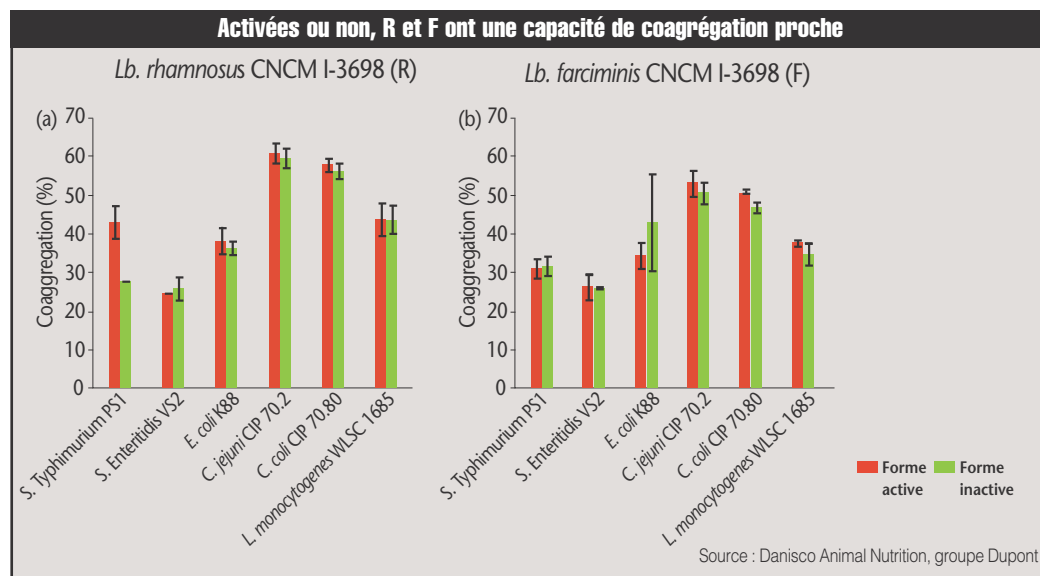
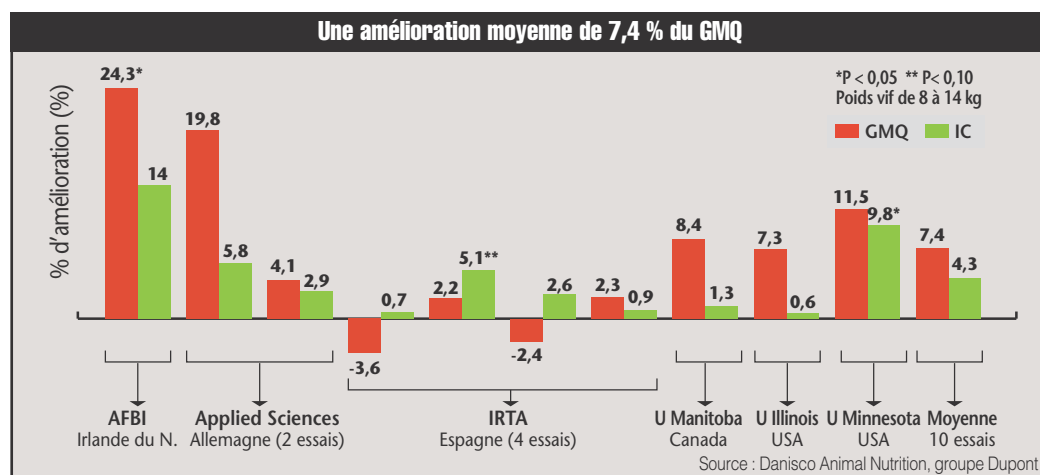
Partenaire privé dans ces recherches, Danisco Animal Nutrition, groupe Dupont, a mis à profit ces découvertes. Ainsi, le complément alimentaire Enviva® MPI (Milk Product Inactivated) a vu le jour en 2011. Son objectif : favoriser l'équilibre microbien intestinal des porcelets du sevrage à l'âge adulte. Pour Anne-Marie Debicki-Garnier, directeur technique des zones Europe, Moyen Orient et Afrique, « l'enjeu pour nous était de trouver une forme facilement utilisable

de ces souches R et F sans dégrader leurs fabuleuses capacités. Par chance, une fois fortement concentrées, les bactéries inactivées par un traitement thermique (ndlr : mortes) ne perdent pas leurs facultés : les structures bactériennes et les molécules antimicrobiennes préalablement synthétisées restent intactes ».

Une fois cela validé, c'est l'expertise du groupe qui est entrée en jeu. Basé à Epernon (28), le laboratoire a réussi à multiplier les deux souches R et F jusqu'à une concentration de 10^{10} , soit cent fois plus qu'une solution classique. Puis, c'est au Mans (72) que la fermentation d'un mélange de lait et d'ingrédients restés secrets est induite par ces deux souches. Une étape cruciale puisque les bactéries doivent, à ce moment-là, synthétiser les métabolites aux effets antimicrobiens. Un traitement thermique permet ensuite d'inactiver les cellules bactériennes et de stabiliser l'ensemble. Ce dernier est finalement déposé sur un support végétal permettant de conserver la stabilité d'assurer sa stabilisation, de faciliter son transport et son incorporation dans l'aliment. Parfaitement stable pendant plus de 18 mois, ce complément alimentaire⁽⁵⁾ résistera également au processus de granulation (jusqu'à 90 °C) et n'interférera pas avec les autres molécules présentes dans l'aliment (minéraux, traitements thérapeutiques, acides organiques, oligo-éléments...).

7,4 % d'amélioration de GMQ entre 8 et 14 kg

« Concernant la sécurité alimentaire humaine et la traçabilité, notre entreprise a confirmé l'innocuité de ce produit à travers de nombreuses études. Et mieux encore, il permet de maîtriser la prévalence de bactéries zoonotiques susceptibles de provoquer des intoxications alimentaires chez



les humains (ex: *Campylobacter*, *salmonelle*) », détaille Anne-Marie Debicki-Garnier.

Hommage à son pays de découverte et de fabrication, Danisco Animal Nutrition, groupe Dupont, l'inventeur de la fibre Nylon en 1935, a décidé de débiter la commercialisation du Enviva® MPI en France par le biais du distributeur exclusif Altilis Nutrition Animale. Pour Jean-Yves Le Nézet, ingénieur commercial de cette entreprise, « *ce complément alimentaire est une réelle réponse aux enjeux de la production porcine moderne. Il favorise l'équilibre microbien intestinal des porcelets lors des phases critiques, induisant une moindre utilisation des antibiotiques et des performances techniques améliorées* ». Et de poursuivre, « *la synthèse de dix essais réalisés à travers le monde montre en moyenne un GMQ de 7,4 % supérieur et un IC de 4,3 % inférieur pour des porcs entre 8 et 14 kg recevant ce complé-*



De gauche à droite, **Marion Bernardeau**, Senior Scientist en microbiologie, spécialisée en santé digestive animale chez Danisco Animal Nutrition, groupe Dupont. Elle est également professeur associée à l'université de Caen et est intégrée dans le groupe de travail Qalea. Cela lui permet d'avoir accès aux plates-formes techniques de l'université. **Anne-Marie Debicki-Garnier**, directeur technique des zones Europe, Moyen-Orient et Afrique chez Danisco Animal Nutrition, groupe Dupont. **Jean-Yves Le Nézet**, ingénieur commercial et responsable produit Enviva MPI, chez Altilis Nutrition Animale. Absente sur la photo : Amandine Cabot, ingénieur marketing technique chez Altilis N.A.

ment alimentaire (voir graphique). S'il est difficile d'évaluer un retour sur investissement en fonction des différents cas d'élevage rencontrés, dans le contexte des prix de la période où les dix essais ont été réalisés (2012), le bénéfice net calculé a été d'environ 20€ par tonne d'aliment. Un chiffre qui augmentera encore dans un élevage au contexte sanitaire

difficile. Néanmoins il répond principalement sur le terrain à une stratégie de prévention des risques rencontrés par les animaux pendant les périodes de stress ». De belles perspectives, qui pourront encore s'affiner grâce notamment aux recherches fraîchement débutées sur les génomes – déjà séquencés – des deux souches bactériennes star. ◆



Le centre de microscopie appliquée à la biologie de Caen est équipé d'un microscope électronique à transmission pour observer les coupes d'échantillons, d'un microscope électronique à balayage pour observer la surface de matériaux et depuis 2006, d'un microscope confocal à balayage laser.

- ⁽¹⁾: Bernardeau et al. (2008): 20th International Pig Veterinary Society Congress 22-26 June 2008, Durban, South Africa. Bernardeau et al. (2001): Probiotics and health: The intestinal microflora, Montréal International Symposium Proceedings, Roy, D. (Ed.), Edisem and La fondation des gouverneurs. Bernardeau et al. (2001), Milchwissenschaft.
- ⁽²⁾: Bernardeau, Gueguen, Smith, Corona-Barra et Vernoux 2009: Antagonistic activities of two Lactobacillus strains against Brachyspira, Vet Microbiol.
- ⁽³⁾: Tareb et al., 2015
- ⁽⁴⁾: Tareb et al. 2013, J. Med. Microbiol.
- ⁽⁵⁾: Le produit est un assemblage de matières premières (substrat végétal et bactéries inactivées), il est donc classifié comme un complément alimentaire.