

VIABILITÉ ET QUANTIFICATION D'UNE LEVURE PROBIOTIQUE DANS LE SYSTÈME DIGESTIF DU PORC

MELANIE LE BON¹, FERNANDO BRAVO DE LAGUNA², ERIC CHEVAUX², KENNETH H. MELLITS³

¹Nottingham Trent University, School of Animal, Rural and Environmental Sciences, Southwell, NG25 0QF, UK

²Lallemand SAS, Blagnac, 31702, France - echevaux@lallemand.com

³University of Nottingham/Lallemand Monogastric Centre of Excellence, Loughborough, LE12 5RD, UK



The University of Nottingham



VIABILITY AND COLONISATION OF A PROBIOTIC YEAST IN THE DIGESTIVE TRACT OF PIGLETS

Probiotics have been defined as « live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host» (WHO, 2001). This definition implies that viability is an important factor and that the probiotic needs to reach its target site alive and in significant number in order to confer beneficial properties. Therefore, we investigated the survival and the level of the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1079 (SB) along the gut of pigs and in faeces. For this purpose, 3 piglets from SB supplemented sows were orally dosed with SB for a week before sacrifice at 21 days of age. Faecal samples were collected as well as intestinal tract compartment content for yeast count and characterization. We have used advanced techniques to be able to identify and enumerate accurately SB from other yeasts according to morphology and biomolecular profile criteria. We have demonstrated that SB remains viable and in proportionally high number along the gut of pigs and in faeces, suggesting that both sites of main actions for probiotics (small intestine and hindgut) can benefit from the presence of live yeast cells at a biologically significant level.



INTRODUCTION

Le terme probiotique est défini comme des « micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, au-delà des effets nutritionnels traditionnels » (FAO/WHO, 2002). Cette définition implique que la viabilité est un facteur important et que pour conférer des effets bénéfiques, ces micro-organismes doivent atteindre leurs sites actifs vivants et en nombre suffisant. Cependant, les défenses naturelles du système digestif ainsi que son micro-environnement peuvent influencer négativement la survie des micro-organismes probiotiques. La détermination du nombre de probiotiques viables dans l'intestin est donc un préalable à l'étude de leurs modes d'action. Dans cette étude, nous avons étudié la survie et le dénombrement d'une levure probiotique *Saccharomyces cerevisiae* boulardii CNCM I-1079 chez le porc.



Gavage du porcelet

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Supplémentation et prélèvements

Les truies (n=3) et les porcelets (n=12 x3 lots) ont été supplémentés en levure *Saccharomyces cerevisiae* boulardii CNCM I-1079 (LEVUCCELL® SB, Lallemand SAS, France, ci-après noté SB) dans un élevage commercial (Mansfield, GB) (dosages et modes d'administration en Tableau 1). Les fèces de porc ont été collectées avec un écouvillon rectal stérile et le contenu gastro-intestinal de 3 porcelets sacrifiés (âgés de 3 semaines et traités pendant 1 semaine avec 3x10⁹ UFC/jour) ont été collectés pour la numération de SB le long du tube digestif.

Analyse microbiologique et identification

• Dénombrement de *S. cerevisiae* boulardii sur gélose Rose Bengale Chloramphenicol

• Confirmation génétique par RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)
- PCR avec des amorces spécifiques : amorce avant : CAAAATTCACCTATAATCTCA
amorce arrière : GTGGATTTTATTCACCA.

L'empreinte génétique par électrophorèse est sur la Figure 1.

Le protocole a été validé par le comité d'éthique de l'Université de Nottingham.

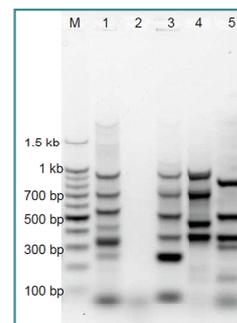


Figure 1.

RAPD de *S. cerevisiae* boulardii CNCM I-1079

(SB) et d'autres souches

S. cerevisiae et *S. boulardii*.

M: marqueur moléculaire,

1: *S. boulardii* I-3799

2: témoin négatif

3: *S. boulardii* I-1079,

4: *S. cerevisiae* BY4741

5: *S. boulardii* DBVPG6765

RESULTATS ET DISCUSSION

* UFC : Unité Formant Colonie

Caractéristiques de SB

- Identification moléculaire et différenciée de SB des autres levures *S. cerevisiae* (Figure 1),

- Malgré une phylogénie proche de *S. cerevisiae* et *S. boulardii*, la température optimale de croissance (37°C) et la résistance au stress acide (Van der Aa Kuhl, 2005) de SB restent des critères importants pour la survie dans le tube digestif,

- Pas d'adhésion aux parois intestinales (Bléhaut et al., 1989),

- Non naturellement présente dans les fèces ou intestin du porc, **Apport continu nécessaire pour atteindre un niveau stable**

Dénombrement de SB dans les fèces des porcs

- Niveau élevé (10⁴-10⁶ UFC/g) retrouvé à chaque stade physiologique

- Pour réduire la variabilité de l'ingéré individuel dans le cadre de cette étude :

- ↳ Bolus pour la truie
- ↳ Dosage oral pour le porcelet

Tableau 1 Mode d'administration, dosage et niveau dans les fèces de levures SB (ET : écart-type)

Critères	Truie (n=3)	Porcelet1 (n=6)	Porcelet2 (n=3x12)
Administration	Bolus	Dosage oral	Aliment (ad lib)
Dosage	4x10 ¹⁰ UFC/j	3x10 ⁹ UFC/j	2x10 ⁶ UFC/g
SB: UFC/g fèces (Valeur log ₁₀ ± ET)	1,02x10 ⁶ (6,01 ± 0,98)	7,48x10 ⁵ (5,87 ± 0,77)	8,56x10 ⁴ (4,93 ± 0,31)

¹ pré-sevrage (à 20 jours d'âge) après 5 jours de dosage oral ² moyenne sur 4 semaines post-sevrage de 3 lots de 12 porcelets

Dénombrement de SB le long du tractus gastro-intestinal

- Levure SB retrouvée vivante dans chaque compartiment du tube digestif

- Augmentation graduelle de la population le long de l'intestin :

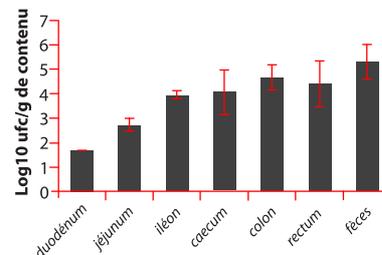
Intestin grêle : 10³-10⁴ UFC/g, soit une portion significative de la population microbienne dans ce site (10⁴-10⁵ UFC/g jejunum)

Intestin grêle : principal site d'action des probiotiques

Gros intestin : 10⁵-10⁶ UFC/g*, soit une part minoritaire mais non négligeable de la communauté microbienne dense et diversifiée à ce niveau (10¹¹-10¹² UFC/g)

Gros intestin : les probiotiques agissent sur la composition et l'activité microbienne (Hemarajata and Versalovic, 2013) Fèces : concentration en SB proche du niveau mesuré dans la partie distale du tube digestif (Figure 2)

Figure 2. Dénombrement de SB dans le TD du porcelet (n=3)



CONCLUSION

De nombreuses études révèlent que le mode d'action des probiotiques est spécifique à une espèce, et parfois même à une souche. Le but de cet article est d'affirmer que SB est une levure unique et spécifique avec une prédisposition naturelle à la survie dans le tube digestif. Nous avons développé et utilisé des techniques permettant d'identifier et d'énumérer avec précision SB dans le TD des porcs. Enfin, nous avons établi que SB reste viable et en nombre élevé tout au long de l'intestin des porcs. Ainsi, SB, administré dans l'aliment ou directement par voie orale, peut atteindre des concentrations importantes dans les fèces suggérant une action possible tout au long du tube digestif.

Références bibliographiques

- Bléhaut, H., Massot J., Elmer G.W. and Levy R.H., 1989. Disposition kinetics of *Saccharomyces boulardii* in man and rat. *Biopharm. Drug Dispos.* 10(4): 353-364.
- FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Guidelines for the evaluation of probiotics in food, London, Ontario, Canada, 30 April and 1May. 2002, pp 1-50.
- Hemarajata P., and Versalovic J., 2013. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therap Adv Gastroenterol* 6(1), 39-51.
- van der Aa Kuhl A., Skovgaard K., Jespersen L., 2005. In vitro screening of probiotic properties of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* and food-borne *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Int. J. Food. Microbiol.* 101,29-39.