



Influence de deux probiotiques sur l'immunité du porcelet



Il est reconnu que la période de sevrage est une période très critique pour les porcelets puisqu'ils sont soumis à plusieurs stress. Cette période est souvent marquée par un ralentissement de la croissance et une plus grande morbidité. Au Canada, afin d'améliorer les performances de croissance des porcelets et de prévenir les infections causées par des bactéries pathogènes durant cette période, les éleveurs ont encore recours aux aliments médicamenteux qui contiennent des antibiotiques. Cependant, cet usage des antimicrobiens est sévèrement critiqué à cause de l'acquisition possible d'une résistance à ces derniers par les microorganismes pathogènes. Ainsi, la fréquence croissante de la résistance aux agents antimicrobiens chez les bactéries constitue un phénomène inquiétant et lourd de conséquences en ce qui concerne le traitement et la prévention des maladies infectieuses tant chez l'animal que chez l'humain.

Les additifs et les ingrédients susceptibles de remplacer les antibiotiques comme facteurs de croissance sont nombreux mais pour plusieurs leur efficacité reste à démontrer. Parmi ces produits, les probiotiques suscitent beaucoup d'intérêt. Le terme « probiotique » est utilisé pour définir les **préparations de microorganismes qui sont ajoutées aux aliments pour améliorer la santé de l'hôte**. Les microorganismes les plus fréquemment utilisés dans les préparations de probiotiques sont principalement des bactéries lactiques. Des levures le sont aussi, la plus utilisée étant le *Saccharomyces cerevisiae*. Bien que plusieurs études suggèrent que les probiotiques améliorent les performances des porcelets après le sevrage, les mécanismes d'action sont toujours mal connus. Un certain nombre de mécanismes biologiques plausibles a été suggéré pour expliquer les effets bénéfiques sur la santé, cependant les données scientifiques disponibles ne sont pas toujours suffisantes pour les supporter. Parmi les mécanismes étudiés, les effets stimulants ou régulateurs des probiotiques sur la réponse

immunitaire ont fait l'objet de plusieurs travaux de recherche mais peu ont été réalisés chez le porcelet. Dans cette étude, a été évaluée l'influence de deux probiotiques, soit le *Pediococcus acidilactici* et la levure *Saccharomyces cerevisiae boulardii*, sur les performances et le développement de la réponse immunitaire.

Animaux et protocole expérimental

42 truies Yorkshire-Landrace fournies par la COOP Fédérée et réparties en 6 livraisons ont été utilisées. Après la synchronisation des chaleurs, les truies ont été saillies avec de la semence porcine éprouvée fournie par le Centre d'insémination porcine du Québec. Une semaine avant la mise bas, 5 truies ont été transférées dans l'une des 5 salles de maternité disponibles pour l'expérience (un traitement par salle). Après les mises-bas, les tailles de portées ont été ajustés à 10 porcelets ; selon les besoins, les porcelets des truies

Résumé

L'influence de 2 probiotiques, *Pediococcus acidilactici* et la levure *Saccharomyces cerevisiae boulardii*, sur la réponse immunitaire a été étudiée. Dès la naissance, des portées de porcelets ont reçu 5 traitements 1) témoin sans antibiotique ou 2) avec antibiotique (tiamuline), 3) *Pediococcus a.*, 4) *Saccharomyces c.* et 5) les 2 probiotiques. Parmi les sevrés, certains ont subi une infection avec *E. Coli*. Les résultats suggèrent que l'administration dès la naissance à des porcelets de *P. acidilactici* stimule l'établissement des lymphocytes T dans l'intestin alors que *S. cerevisiae* est sans effet marqué. Ils indiquent également que ces deux probiotiques, administrés seul ou ensemble, ont le potentiel d'inhiber le passage des bactéries vers les ganglions mésentériques après une épreuve d'infection avec *E. coli*.

Martin LESSARD⁽¹⁾
 Marie DUPUIS⁽¹⁾
 Nathalie GAGNON⁽¹⁾
 J. Jacques MATTE⁽¹⁾
 Éric NADEAU⁽²⁾
 John M. FAIRBROTHER⁽²⁾
 Jacques GOULET^(3,4)



Lymphocyte T : globule blanc responsable de l'immunité cellulaire.

Lymphocyte B : globule blanc capable de se transformer en cellule spécialisée dans la sécrétion d'anticorps.

Le dosage des populations lymphocytaires intestinales et anticorps est décrit dans l'article JRP ainsi que les analyses statistiques utilisées dans cette étude.

gestantes supplémentaires ont été utilisés. À la naissance des porcelets, les 5 traitements expérimentaux suivants ont été attribués aux portées : portée recevant 1) du *Pediococcus acidilactici* 2) du *Saccharomyces cerevisiae boulardii* 3) les 2 probiotiques 4) aucun probiotique (témoin) et 5) aucun probiotique mais dont l'aliment au sevrage contenait un antibiotique, la tiamuline. L'administration des probiotiques a commencé un jour après la naissance, pendant la lactation 3 fois par semaine. Au sevrage à 21 jours, les porcelets de chaque portée ont été transférés dans leur local respectif afin d'éviter les problèmes de contamination entre les traitements probiotiques qui ont été ajoutés à l'aliment de sevrage fourni par la COOP fédérée.

Trois porcelets par portées ont été euthanasiés 3 jours avant et 3 autres après le sevrage. Des échantillons de sang, d'intestin et de ganglions ont été prélevés pour caractériser les différentes populations de globules blancs. Les autres porcelets sevrés ont été gardés jusqu'à la fin de l'essai, à l'âge de 52 jours. Ces derniers ont reçu une première injection d'ovalbumine le jour du sevrage et une seconde à 32 jours. Des échantillons de sang ont été prélevés aux jours 21, 32, 42 et 52 afin de déterminer la concentration sérique en anticorps dirigés contre l'ovalbumine. Au jour 45, 3 porcelets par traitement ont été transférés au Laboratoire d'hygiène vétérinaire et alimentaire, situé

à St-Hyacinthe, pour réaliser une infection avec une souche pathogène de *E. coli*. Aux jours 49, 50 et 51, les animaux ont reçu par voie orale une dose de cette souche d'*E. Coli* entérotoxigène. Les animaux ont été euthanasiés au jour 52.

Influence des probiotiques

Sur la croissance des porcelets

L'administration des probiotiques, séparément ou ensemble, n'a pas affecté la croissance des porcelets pendant la lactation et après le sevrage comparativement aux gains de poids observés chez le groupe témoin (Tableau 1). Toutefois, dans la semaine avant le sevrage (J14 à J21), les résultats montrent que les porcelets qui ont reçu **les 2 probiotiques ont tendance à avoir des gains de poids supérieurs** à ceux traités avec un seul probiotique alors qu'il n'y a pas de différence avec ceux du groupe témoin.

Sur les populations lymphocytaires intestinales et du sang

Une interaction entre l'effet traitement et jours de prélèvements indique que les animaux traités avec *P. acidilactici* ont des **pourcentages de lymphocytes T plus élevés** que ceux ayant reçu les 2 probiotiques avant le sevrage alors que cette différence entre les traitements disparaît après le sevrage

(Tableau 2). Quant au pourcentage de lymphocytes B dans la muqueuse intestinale, il tend à être plus élevé chez les animaux prélevés au jour 24 par rapport à ceux prélevés au jour 18.

L'analyse des cellules isolées à partir des ganglions intestinaux (Tableau 3) a montré que **le nombre de lymphocytes T diminue significativement après le sevrage**. Une interaction traitement x jour indique également que **les pourcentages d'une sous-population de lymphocytes T tendent à être plus élevés chez les porcelets traités avec *P. acidilactici***, comparativement à ceux des groupes témoin et recevant les 2 probiotiques avant le sevrage, alors qu'après le sevrage les pourcentages de lymphocytes T sont comparables entre les différents traitements. Quant aux pourcentages de lymphocytes B, ceux-ci ne sont pas affectés par les traitements mais tendent à augmenter après le sevrage.

En ce qui concerne les globules blancs sanguins, aucun effet de traitements a été observé durant la période de sevrage. Cependant, suite à l'épreuve d'infection contre *E. Coli*, un effet jour démontre que les monocytes et les lymphocytes T et B sont affectés par l'infection à *E. coli*.

Sur la translocation bactérienne

Suite à l'épreuve d'infection effectuée avec une souche d'*E. coli*

Tableau 1 : Influence de l'administration de probiotiques sur la croissance des porcelets

Gain de poids (kg)	Témoin	Témoin + antibio	<i>P. acidilactici</i> (PA)	<i>S. cerevisiae</i> (SC)	PA + SC	Probabilité d'un effet (1)
J1 à J14	3,22 ± 0,13	---	3,13 ± 0,18	3,35 ± 0,18	3,31 ± 0,13	NS
J1 à J21	5,40 ± 0,22	---	5,17 ± 0,31	5,43 ± 0,32	5,77 ± 0,30	NS
J14 à J21	2,12 ± 0,10	---	1,99 ± 0,14	1,99 ± 0,14	2,39 ± 0,14	0,15
J21 à J27	2,10 ± 0,18	1,69 ± 0,17	1,99 ± 0,17	2,09 ± 0,18	1,69 ± 0,17	NS
J21 à J42	8,77 ± 0,58	8,78 ± 0,56	9,26 ± 0,56	8,84 ± 0,63	8,38 ± 0,56	NS

(1) NS = non significatif

L'administration des probiotiques n'a pas affecté la croissance des porcelets pendant la lactation et après le sevrage comparative-ment au témoin.



Tableau 2 : Populations de lymphocytes (pourcentage du nombre de cellules totales) dans l'intestin chez des porcelets ayant reçu un régime de base avec ou sans antibiotique (Tém ; Tém + antibio) ou enrichi en *P. acidilactici* (PA) et/ou en *S. cerevisiae* (SC)

Population	Jour (Jr)	Traitements (Tr) (1)					SEM	Probabilité d'un effet		
		Tém	Tém + antibio	PA	SC	PA + SC		Tr	Jr	Tr x Jr
Lymphocyte T (CD8 ⁺)	18	9,7	11,7	18,2	13,1	8,4	2,8	NS	0,04	0,06
	24	10,21	9,4	9,5	9,6	9,4	2,8			
Lymphocyte B	18	50,4	63,5	58,7	49,0	56,4	18,7	NS	0,01	NS
	24	76,6	68,6	75,8	76,2	74,2	3,4			

(1) nd = non détecté ; SEM : Erreur standard ; NS = non significatif (P > 0,10)

Tableau 3 : Populations de lymphocytes (pourcentage du nombre de cellules totales) dans les ganglions de l'intestin chez des porcelets ayant reçu un régime de base avec ou sans antibiotique (Tém ; Tém + antibio) ou enrichi en *P. acidilactici* (PA) et/ou en *S. cerevisiae* (SC)

Population	Jour (Jr)	Traitements (Tr) (1)					SEM	Probabilité d'un effet		
		Tém	Tém + antibio	PA	SC	PA + SC		Tr	Jr	Tr x Jr
Lymphocyte T (CD8 ⁺)	18	22,4	25,0	27,8	19,5	24,4	3,8	NS	0,01	NS
	24	18,1	21,4	18,1	19,6	18,7	2,4			
Lymphocyte T (CD8 ^{high})	18	4,1	6,4	7,9	4,0	5,5	1,6	NS	0,02	0,10
	24	3,4	4,7	2,5	4,0	4,4	1,4			
Lymphocyte B	18	22,1	24,7	25,6	27,0	22,3	7,4	NS	0,08	NS
	24	28,4	27,1	33,4	31,9	27,4	4,1			

(1) SEM : Erreur standard ; NS = non significatif (P > 0,10)

entérotoxinogène, le nombre de bactéries aérobies qui a traversé la barrière intestinale et migré dans les ganglions mésentériques est moins élevé chez les animaux alimentés avec un aliment médicamenté ou ayant reçu des probiotiques depuis la naissance comparativement aux porcs du groupe témoin qui n'ont pas reçu de probiotiques et d'antibiotique (Figure 1).

Sur la production d'anticorps contre ovalbumine

L'administration de probiotiques n'a pas eu d'effet significatif sur la production d'anticorps dirigée contre ovalbumine.

Seul l'effet jour a été significatif, indiquant une augmentation de la quantité d'anticorps spécifique

contre ovalbumine en réponse aux injections dans le temps.

Effet des probiotiques sur la croissance et l'immunité

Les objectifs de cette étude étaient de vérifier l'intérêt d'administrer dès la naissance deux probiotiques, un de type bactérien le *Pediococcus acidilactici* et une levure le *Saccharomyces cerevisiae boulardii*, pour la croissance et le développement de la réponse immunitaire. Dans cette étude, les deux probiotiques n'ont pas eu d'effet significatif sur la croissance des porcelets. Ce résultat contraste avec d'autres résultats rapportés dans la littérature qui suggèrent que l'utilisation de bactéries probiotiques tend à améliorer les performances des porcelets après le sevrage. Cependant, les effets sur la croissance ne sont pas toujours marqués puisque parmi plus d'une vingtaine d'études, seuls quelques travaux rapportent des effets signi-

Les deux probiotiques n'ont pas eu d'effet significatif sur la croissance des porcelets.

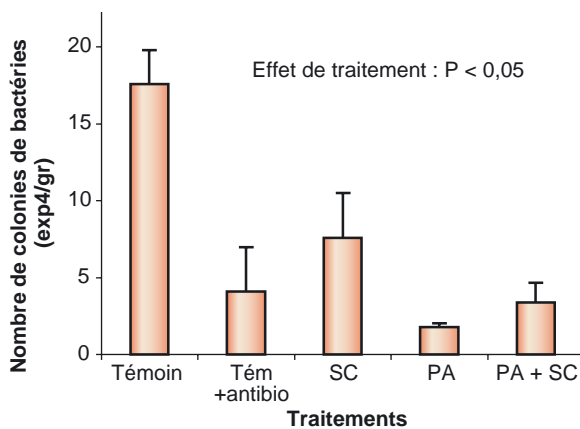


Figure 1 : Translocation bactérienne suite à une d'infection avec une souche d' E. coli entérotoxinogène chez des porcs ayant reçu un régime de base avec ou sans antibiotique (Témoin ; Témoin + antibio) ou enrichi en *P. acidilactici* (PA) et/ou en *S. cerevisiae* (SC)



Tableau 3 : Populations de lymphocytes (pourcentage du nombre de cellules totales) dans le sang périphérique chez des porcelets ayant reçu un régime de base avec ou sans antibiotique (Tém ; Tém + antibio) ou enrichi en *P. acidilactici* (PA) et/ou en *S. cerevisiae* (SC)

Population	Jour (Jr)	Traitements (Tr) (1)					SEM	Probabilité d'un effet		
		Tém	Tém + antibio	PA	SC	PA + SC		Tr	Jr	Tr x Jr
Lymphocyte T (CD8 ⁺)	18	55,7	60,6	50,0	49,8	47,8	3,6	NS	0,01	NS
	24	42,9	43,9	45,7	39,8	47,6	6,5			
	42	55,6	54,3	59,7	52,4	57,4	5,6	NS	0,01	NS
	52	46,8	49,1	53,6	53,6	49,9	5,1			
Lymphocyte B	18	16,2	31,3	22,5	16,5	27,4	7,8	NS	NS	NS
	24	27,2	28,3	27,8	32,4	24,7	4,6			
	42	29,4	22,3	21,4	25,6	24,4	3,4	NS	0,08	NS
	52	30,8	24,4	27,4	26,5	30,9	3,4			
Monocytes	18	12,5	20,0	18,0	12,7	14,5	4,7	NS	NS	NS
	24	17,3	17,2	17,2	16,7	23,9	3,2			
	42	14,2	10,6	12,2	11,3	13,8	2,2	NS	0,002	NS
	52	7,79	5,4	11,1	8,3	10,1	1,7			

(1) Pour évaluer l'effet « Jour » les comparaisons ont été faites entre les jours 18 et 24 et les jours 42 et 52 ; NS = non significatif ; SEM = erreur standard

ficatifs sur les performances de croissance. L'un des inconvénients avec l'utilisation des probiotiques est l'hétérogénéité des résultats engendrés, sachant que l'efficacité relative des souches peut être grandement affectée par le contexte sanitaire. En effet, il semble que **les bienfaits des probiotiques sur la santé sont supérieurs lorsque les animaux sont gardés dans des conditions sanitaires sous-optimales**. Des résultats similaires ont été rapportés chez des animaux ayant reçu un aliment médicamenté. Ainsi, il est fort possible que l'absence d'effet sur les performances des animaux soit due en partie aux **conditions sanitaires de très haut niveau** qui sont maintenues dans les installations expérimentales. D'autre part, l'hétérogénéité des résultats obtenus dans les divers travaux peut également s'expliquer par la grande variation de la réponse individuelle des animaux à ce type d'additifs alimentaires.

Il est connu que les bactéries commensales jouent un rôle important dans le développement des fonctions immunitaires de l'intestin. Cependant les mécanismes précis

par lesquels ces bactéries potentialisent et régulent les fonctions immunitaires de l'intestin durant la lactation et après le sevrage sont largement inconnus. L'un des objectifs de cette étude était d'évaluer l'influence de l'administration de probiotiques dès la naissance sur l'établissement dans l'intestin de cellules immunitaires qui débutent dès les premières semaines de vie et jouent un rôle important dans le développement et la régulation de réactions immunitaires innées et spécifiques. Les résultats obtenus suggèrent que l'administration de *P. acidilactici* pendant la lactation peut stimuler l'établissement de lymphocytes T (CD8⁺) dans l'intestin et les ganglions mésentériques avant le sevrage alors qu'après sevrage, cette population revient à des niveaux comparables à ceux observés chez les porcs des autres groupes. Quant au *S. cerevisiae*, il est sans effet sur l'implantation des différentes populations de leucocytes (globules blancs) dans l'intestin et les ganglions.

Suite à l'épreuve d'infection avec une souche d'*E. coli* entérotoxigène, les résultats suggèrent que

cette administration par voie orale stimule l'immunité intestinale et la production de facteurs qui peuvent provoquer la migration de certaines populations de cellules du sang périphérique vers les sites d'infection. À notre connaissance, il n'y a pas de données disponibles sur les changements de populations de globules blancs suite à une infection avec *E. coli*. Cependant, une telle diminution de différentes populations de globules blancs du sang a aussi été observée chez des porcs infectés avec le virus de la peste porcine classique dès les premiers jours.

Cette étude suggère que *P. acidilactici* et *S. cerevisiae boulardii* peuvent protéger l'hôte contre l'invasion bactérienne et pourraient potentiellement être une approche à considérer pour réduire l'utilisation d'antibiotiques.

Effet du sevrage sur l'immunité intestinale

Il est intéressant de noter que le sevrage a un effet marqué sur les pourcentages des différentes populations de cellules. Suite au

Les bactéries commensales jouent un rôle important dans le développement des fonctions immunitaires de l'intestin.



sevrage, il est donc probable qu'il y ait une **perte importante de cellules immunitaires au sein de la muqueuse intestinale**. Cette diminution des populations de cellules quelques jours après le sevrage peut être une conséquence de la baisse volontaire de la prise alimentaire qui alors prive l'intestin d'une quantité suffisante de digesta nécessaire au bon fonctionnement et au développement de l'intestin.

Cependant, ces résultats contrastent avec d'autres qui suggèrent que la privation de nourriture provoque non seulement une perte d'intégrité de la muqueuse intestinale (diminution de la hauteur des villosités intestinales et de la profondeur des cryptes), mais induit aussi chez des porcs alimentés par voie non digestive ou sevrés avec différents régimes une

augmentation du nombre de lymphocytes T dans l'intestin. D'autres travaux sont nécessaires pour caractériser avec précision les changements qui surviennent au sein des différentes populations de globules blancs après le sevrage. Au niveau des ganglions de l'intestin, des résultats similaires ont été observés et suggèrent que différentes populations de globules blancs sont affectées dans divers tissus en réponse au sevrage. Ces résultats corroborent ceux rapportés précédemment par d'autres auteurs qui indiquent également que d'importants changements surviennent dans les populations de globules blancs de différents tissus après le sevrage.

Conclusion

Les résultats suggèrent que l'administration de *P. acidilactici* pendant

la lactation stimule l'établissement de lymphocytes T dans l'intestin et les ganglions mésentériques alors que le sevrage induit une diminution des lymphocytes T et une augmentation de lymphocytes B dans ces deux tissus. Quant à la levure *S. cerevisiae*, elle n'affecte pas l'implantation des différentes populations de leucocytes dans l'intestin durant la période péri-sevrage.

Toutefois, ces deux probiotiques ont le potentiel de réduire le passage de bactéries vers les ganglions mésentériques après une épreuve d'infection avec *E. coli* entérotoxigénique. D'autre part, l'infection avec *E. coli* induit une diminution du nombre de monocytes et de lymphocytes T et une augmentation du nombre de lymphocytes B dans le sang. Les mécanismes d'action demeurent toutefois inconnus. ■

Ces deux probiotiques ont le potentiel de réduire le passage des bactéries vers les ganglions après une infection.

L'infection avec *E. coli* induit une diminution du nombre de monocytes et de lymphocytes T et une augmentation du nombre de lymphocytes B dans le sang.

Les auteurs tiennent à remercier l'Institut Rosell-Lallemand, la COOP fédérée et Agriculture et Agroalimentaire Canada pour avoir supporté financièrement le projet.

Résultats et références bibliographiques disponibles dans l'article complet des JRP 2005

Contacts :
lessardm@agr.gc.ca

(1) Agriculture et agroalimentaire Canada, Centre de R & D sur le bovin laitier et le porc, Lennoxville, Québec, Canada J1M 1Z3

(2) Université de Montréal, Faculté de Médecine Vétérinaire, St-Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 2M

(3) Université Laval, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Québec, Canada G1K 7P4

(4) Institut Rosell Lallemand Inc., Montréal, Québec, Canada H2P 2M5