



### Fiche Bio 2007-01

## Optimisation de l'administration du probiotique alimentaire *Pediococcus acidilactici* MA 18/5 M (Bactocell).

M.Castex, L.Chim

Contact : Mathieu.Castex@ifremer.fr



### Rappels et introduction

Les probiotiques sont des microorganismes vivants, bactéries ou levures, qui, ingérés en quantité convenable, peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte et sa croissance (Gatesoupe 1999). Ces microorganismes, présents ou non dans la microflore intestinale naturelle de l'hôte, peuvent agir à différents niveaux : équilibre hôte/pathogène, immunité, ou encore nutrition.

Les récents travaux portant sur l'évaluation du probiotique bactérien *Pediococcus acidilactici* MA18/5M en cages flottantes (Fiche Bio 2006-01) ont mis en évidence une amélioration statistiquement significative de la survie et de l'indice de conversion des animaux nourris 70 jours avec le probiotique. Les suivis hebdomadaires et journaliers ont par ailleurs permis de confirmer à l'échelle pilote des résultats préliminaires réalisés en station expérimentale (Castex *et al.* 2006), montrant d'une part un effet sur la mise en réserve hépatique à partir de la quatrième semaine d'élevage, et d'autre part une limitation quantitative de la flore bactérienne intestinale et plus spécifiquement des vibrios. Parallèlement une diminution de la détection de *V.nigripulchritudo* dans l'hémolymphe a aussi été observée chez les animaux traités.

L'analyse des résultats a montré que l'effet « antagoniste » du probiotique sur la microflore intestinale est observé systématiquement après un repas et est maximal 2h après ce dernier. Cet effet s'estompe ensuite avant de disparaître 3 à 5 heures après traitement (Castex *et al.* 2007). Le suivi en parallèle du *Pediococcus* dans le tractus digestif montre une présence maximale de la souche ( $10^5$  CFU/g) dans les deux heures qui suivent le repas pour diminuer progressivement par la suite. Cette diminution, vraisemblablement fonction du transit intestinal, indique le caractère transitoire de la présence de la souche, comme cela a aussi été rapporté chez d'autres espèces aquacoles (Gatesoupe 2002 ; Aubin 2005). Ainsi nous concluons que l'effet observé sur la microflore intestinale est fonction de la concentration en probiotique retrouvée dans le tube digestif de l'animal. **Nous avons établi la concentration minimale « fonctionnelle » du *Pediococcus* à  $10^4$  CFU/g de tube digestif (CmF).**

Une des perspectives émises suite aux études de laboratoire et *in situ* dans les cages flottantes fut **d'étudier l'effet de la fréquence des repas sur la concentration intestinale en probiotique au cours de la journée**, avec pour

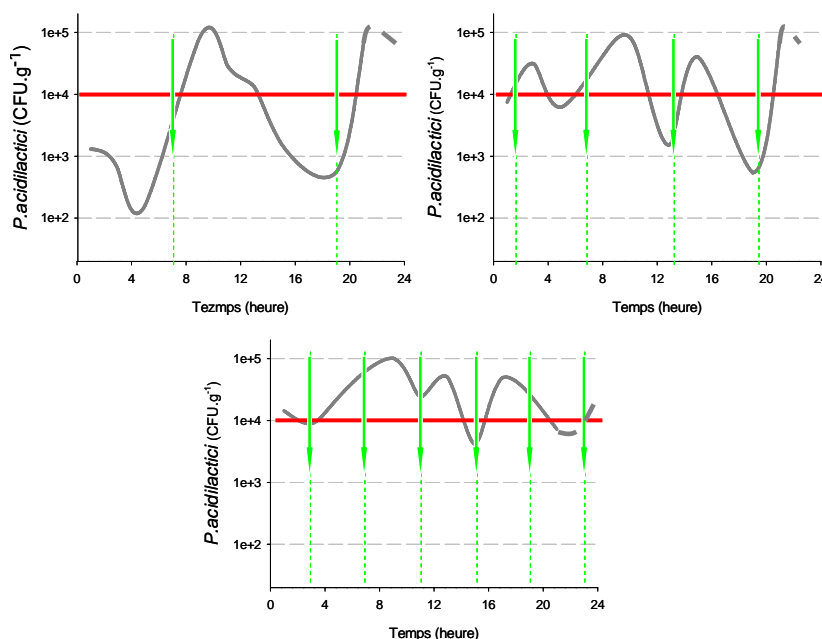
but d'optimiser la posologie du traitement et d'en bonifier ses effets sur le plan zootechnique. Cette fiche biotechnique présente la première partie de cette étude. Elle confirme qu'en jouant sur la fréquence d'administration la teneur « fonctionnelle » en probiotique dans le tractus intestinal peut être maintenue.

### Matériel et méthodes

Des crevettes de poids moyen de  $18 \pm 1,2$  g étaient réparties et maintenues dans 6 bacs de 1600 litres. Ces animaux étaient nourris à la ration 6% de la biomasse (ration optimale aux températures enregistrées au cours de l'expérimentation (Chim *et al.* non publié) administrée en 2 repas (fréquence 1), 4 repas (fréquence 2) ou 6 repas (fréquence 3) sur une durée de 24 heures. L'aliment distribué ayant été préalablement enrobé en probiotique à la concentration de  $10^7$  CFU/g comme décrit précédemment (Castex 2005). Pour chaque traitement, 6 crevettes étaient prélevées toutes les deux heures sur 24 heures, et la concentration en *P.acidilactici* a été déterminée dans le tube digestif après dilution et numération sur milieu MRS, spécifique des bactéries lactiques. Tous les animaux étaient maintenus à jeun 24h avant le début des prélèvements pour garantir la consommation de la totalité de l'aliment distribué.

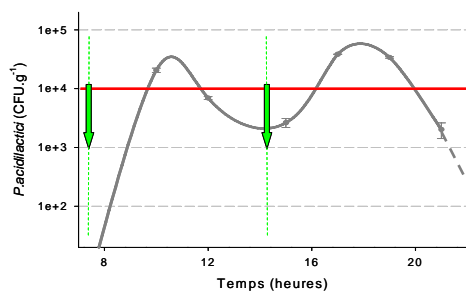
### Résultats

Les graphes 1(A), 1(B) et 1(C) présentent les concentrations de probiotique retrouvées dans l'intestin aux différentes fréquences de repas testées.



Graphe 1 Concentration en probiotique *P.acidilactici* dans le tube digestif d'animaux soumis à différentes fréquences d'alimentation. (A) 2 repas par jour, (B) 4 repas par jour et (C) 6 repas par jour. Les flèches vertes indiquent le moment des repas. Le trait rouge indique la concentration minimale fonctionnelle.

Les résultats obtenus pour la **fréquence 1** (Graphe 1(A)) sont en accord avec ceux des précédentes expérimentations (Graphe 2). Les profils d'évolution de la concentration en probiotique dans cette étude et celle effectuée en cages flottantes sont similaires. La concentration minimale fonctionnelle est atteinte voire dépassée durant 10 heures au cours de cette étude en bac, contre 8h dans le cas de l'étude entreprise en cages flottantes (tableau 1). Cette différence peut s'expliquer par un phénomène de drainage du bol digestif plus important en cage du fait d'un complément alimentaire apporté par la productivité naturelle. Elle s'explique également par le temps qui sépare le repas du soir de celui du matin qui était de 16 heures et de 12 heures respectivement pour l'essai réalisé en cages flottantes et celui réalisé ici en bacs.



Graphe 2. Concentration en *P.acidilactici* dans le tube digestif d'animaux élevés en cages flottantes et recevant 2 repas avec probiotique matin (7h) et soir (15h). Les flèches vertes indiquent l'heure des repas. Le trait rouge indique la concentration minimale fonctionnelle.

	Fréquence			bassin (2 repas/jour)
	2 repas	4 repas	6 repas	
Durée de présence (% sur 24h) [P.acidilactici] > CmF	42	77	92	33

Tableau 1. Durée (en % sur 24h) de la présence du probiotique dans le tube digestif des animaux à une concentration supérieure ou égale à la CmF (telle que définie précédemment) en fonction de la fréquence d'alimentation.

L'augmentation de la fréquence d'administration du probiotique allonge très nettement sa présence dans le tube digestif au seuil de la CmF. Celle-ci passe de 42% à la fréquence 1 à 77% (+35%) et 92% (+50%) par jour respectivement pour les fréquences 2 et 3. Le passage de la fréquence 2 à la fréquence 3 améliore marginalement (+15%) la durée de présence du probiotique au seuil de la CmF. Ainsi, l'administration de 4 repas par 24 heures correspondant à une présence du probiotique pendant 77% du temps apparaît être un compromis acceptable.

## Discussion

Ces résultats viennent donc confirmer l'hypothèse émise suite à nos précédents travaux selon laquelle le niveau fonctionnel de probiotique dans le tractus digestif de l'animal est fonction de sa fréquence d'administration. A la dose de probiotique appliquée au cours de cette expérience, l'administration en 4 repas garantit sa présence au seuil de la CmF sur plus de 75% de la journée. Cela représente une amélioration de 35% du protocole d'administration utilisé dans les précédentes manip en laboratoire ou *in situ* à Sea Farm.

**Ayant montré une relation positive entre l'effet « antagoniste » du probiotique et sa concentration dans le tractus intestinal, nous pouvons espérer, par un ajustement de la fréquence d'administration, améliorer significativement les effets de *Pediococcus* sur les élevages en bassin.**

Précisons que ces résultats ont été obtenus en période chaude, durant laquelle la température moyenne était de 28°C. La température du milieu d'élevage influence grandement la vitesse du transit intestinal (Wabete *et al.* 2005) ainsi que sa microflore chez les animaux aquatiques (Harris 1993). Elle a donc vraisemblablement une influence sur l'efficacité des probiotiques (Wache *et al.* 2006) et **les résultats obtenus doivent donc être vérifiés pour des températures d'élevage plus fraîches.**

La multiplication du nombre de repas peut constituer une contrainte majeure à l'application optimale du probiotique en élevage industriel. Conscient de cette difficulté nous travaillons actuellement à la mise au point d'une nouvelle voie d'administration du Bactocell qui combinera des doses plus élevées et un support distinct de l'aliment granulé.

## Références

- Aubin J., Gatesoupe F.J., Labbé L., Lebrun L. (2005). Trial of probiotics to prevent the vertebral column compression syndrome in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Research* 36 758-767.
- Castex M. (2005). Evaluation du probiotique bactérien, *Pediococcus acidilactici* (Bactocell®) en élevage de la crevette *Litopenaeus stylirostris* en Nouvelle-Calédonie : aspects microbiologiques, immunitaires, nutritionnels et zootechniques. Rapport pour l'obtention du diplôme d'ingénieur agronome de l'Institut National Agronomique Paris – Grignon. 97 pp.
- Castex M., Chim L., Wabete N., Lemaire P., Usache V. (2006). Feeding evaluation of probiotic bacteria *Pediococcus acidilactici* (Bactocell®) in sub adult shrimp *Litopenaeus stylirostris*: microbial, nutritional and zootechnical aspects. In book of abstract WAS annual meeting, 9-13 may 2006. Florence, Italia. Oral presentation.
- Castex M., Chim L., Wabete N., Pham D., Lemaire P., Brun P. (2006). Résultats zootechniques des élevages en cages flottantes installées dans des bassins de Seafarm soumis au syndrome d'été. Effets du probiotique *Pediococcus acidilactici* MA 18/5 M (Bactocell). IFREMER/Département aquaculture en Calédonie, Fiche Bio 2006-01.
- Castex M., Chim L., Lemaire P., Wabete N., Pham D., Brun P., Mariojouis C. (2007). Probiotic *P.acidilactici* application in shrimp *Litopenaeus stylirostris* culture subject to vibriosis in New Caledonia: Use of floating cages in grow out earthen ponds to distinguish probiotic from other rearing effects. In progress.
- Gatesoupe F.J. (1999). The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture* 180 : 147-165.
- Gatesoupe, F.J. (2002). Probiotic and formaldehyde treatments of *Artemia* nauplii as food for larval pollack, *Pollachius pollachius*. *Aquaculture* 21: 347-360.
- Harris J.M. (1993). The Presence, Nature, and Role of Gut Microflora in Aquatic Invertebrates: A Synthesis. *Microb Ecol* 25:195-231.
- Wache Y., Auffray F., Gatesoupe F.J., Zambonino J., Gayet V., Labbé L., Quentel C. (2006). Cross effect of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fry. *Aquaculture* 258: 470-478.
- Wabete N. (2005). Etude écophysiological du métabolisme respiratoire et nutritionnelle chez la crevette pénéide *Litopenaeus stylirostris*. Application à la crevetticulture en Nouvelle Calédonie. Thèse présentée à l'Université Bordeaux1. Ecole doctorale Sciences du vivant, Géosciences et Sciences de l'Environnement. 173 pp.