

EFFET DE *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* CECT 5940 SUR LES PERFORMANCES ET LE MICROBIOTE DU POULET DE CHAIR.

A. Ortiz Garcia¹, A.C. Ion², A. Barna³, S. Lavinia⁴ et M. Lepoudere⁵

¹EVONIK NUTRITION & CARE GmbH, Via Augusta 59, 08006 Barcelone, Espagne

²EVONIK NUTRITION & CARE GmbH, Str. Mătăsari nr.55, 021426 Bucarest, Roumanie

³EVONIK NUTRITION & CARE GmbH, Városligeti fasor 44, 1068 Budapest, Hongrie

⁴UNIVERSITE DES SC. AGRICOLES, Calea Aradului nr.119, 300645 Timisoara, Roumanie

⁵EVONIK NUTRITION & CARE GmbH, 2 rue au Duc, 35000 Rennes, France

mathieu.lepoudere@evonik.com

RÉSUMÉ

Tout au long de leur cycle de production, les animaux sont régulièrement confrontés à des situations de stress : environnement, alimentation, agents pathogènes, etc., responsables de troubles digestifs et aboutissant à la baisse des performances et à des pertes économiques pour l'éleveur. Des solutions préventives autres que les antibiotiques sont aujourd'hui disponibles, telles que l'utilisation de probiotiques. L'objectif de cette étude était de mesurer l'effet de *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 sur les performances et le microbiote intestinal chez le poulet de chair challengé via l'aliment. 300 poulets mâles Ross 308 ont été répartis en 2 traitements de 25 répétitions chacun, soit 6 animaux/répétition. Les animaux ont reçu des régimes à base de blé (25% dès le démarrage, puis 30% à partir de 11 j), formulés sans ajout d'enzymes et présentés sous forme de farine. Les aliments des lots essais ont été supplémentés avec 0.05% du probiotique Ecobiol® (*B. amyloliquefaciens* CECT 5940) à 1.0×10^6 UFC/g d'aliment. A 35 jours, les poids des animaux des lots essais étaient légèrement plus élevés (+1.3%) que ceux des lots témoins mais sans différences significatives. Le probiotique a cependant permis d'améliorer les indices de consommation de manière significative à 20 (2%) et 35 jours (1.6%). Les dénombrements de groupes bactériens réalisés à 35 jours sur l'iléon n'ont pas montré de différences sur la taille des populations de lactobacillus entre les deux traitements. En revanche les lots avec probiotique présentaient des populations de coliformes et d'*E. coli* dans le caeca, inférieures à celles des lots témoins. En conclusion de cette étude, *B. amyloliquefaciens* CECT 5940 a permis d'améliorer l'efficacité alimentaire à 20 et 35 jours des poulets soumis à un challenge nutritionnel. Il a également contribué au rétablissement d'un microbiote plus favorable à l'animal en réduisant la taille des populations des bactéries potentiellement pathogènes.

ABSTRACT

Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 on performances and microbiota in broiler.

Throughout their production cycle, animals are regularly exposed to stressful conditions: environment, feed quality, pathogens, etc., responsible for digestive disorders and resulting in reduced performances and economic losses for the farmer. Preventive solutions other than antibiotics are now possible, such as the use of probiotics. Therefore, the objective of this study was to measure the effect of *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 on zootechnical performances and microbiota in challenged broilers. 300 males Ross 308 were allocated in two groups with 25 replicates each and 6 animals/replicate. Animals were fed with a wheat-based diets (25% in the starter and 30% from day 11), formulated without the addition of enzymes and presented as a mash feed. Feeds from the test group were supplemented with 0.05% of the probiotic Ecobiol® (*B. amyloliquefaciens* CECT 5940) at 1.0×10^6 UFC/g of feed. At 35 days, body weight was slightly higher (+1.3%) for the probiotic group but with no significant difference. However probiotics have significantly improved feed efficiency at 20 (2%) and 35 days (1.6%). Enumerations of bacterial groups carried out in the ileum at 35 days showed no differences between the two groups regarding the size of lactobacillus population. By contrast, population of coliforms and *E. coli* were lower in the caeca for birds fed with probiotic. As a conclusion, *B. amyloliquefaciens* CECT 5940 improved feed efficiency of birds submitted to a nutritional challenge at 20 and 35 days. Moreover it contributed to a better balanced microbiota by reducing the size of potentially pathogenic bacteria.

INTRODUCTION

Au cours de leurs différents stades de production, les animaux sont régulièrement confrontés à des situations de stress susceptibles d'entraîner une hétérogénéité entre les lots produits, une baisse des performances zootechniques, voire de la mortalité. Les facteurs responsables de ce stress sont multiples : qualité de l'alimentation, phases de transition alimentaire, conditions d'élevage, apparition d'agents pathogènes, etc., et sont la plupart du temps à l'origine d'un déséquilibre du microbiote, ou dysbiose, qui se traduit par l'apparition de désordres intestinaux.

A titre d'exemple, une trop forte variabilité de la qualité des matières premières peut entraîner une augmentation de la quantité de nutriments non digérés dans la lumière intestinale, favorisant ainsi la prolifération de *Clostridium perfringens*. L'augmentation de cette population entraîne une réaction inflammatoire ainsi qu'un stress oxydatif, et contribue à la colonisation de l'intestin par d'autres bactéries opportunistes telle qu'*Escherichia coli*. Ce déséquilibre du microbiote vient en fine perturber l'intégrité de la barrière intestinale et entraîne des diarrhées. En conséquence les taux de croissance des animaux diminuent et les coûts de médication augmentent, tous deux synonymes de pertes économiques pour l'éleveur. L'utilisation d'antibiotiques à titre préventif s'avère dans ce cas une solution efficace. Cependant les autorités appellent à un usage prudent et raisonné de ces produits en raison du phénomène d'antibiorésistance et de la menace qu'il représente pour la santé publique. Le développement et l'utilisation de solutions alternatives sont donc aujourd'hui devenus nécessaires.

La gamme des remplaçants potentiels est très large et les probiotiques constituent l'un des groupes les plus prometteurs. De nombreuses études, réalisées chez l'Homme mais aussi chez les animaux d'élevage dont les volailles, et en particulier chez le poulet de chair, ont ainsi pu montrer le rôle bénéfique des probiotiques dans le maintien d'une microflore digestive équilibrée. Cependant le lien entre le microbiote et l'état de santé de l'animal ne s'arrête pas au niveau intestinal. Les travaux de Corthesy et al., 2007, ont notamment permis de mettre en évidence la capacité des probiotiques à interagir avec le système immunitaire de l'hôte. Au cours des recherches, les probiotiques ont pu montrer leurs effets positifs sur l'efficacité alimentaire, le taux de mortalité, la modulation de la réponse immunitaire et la protection contre les bactéries pathogènes (Siragusa et al., 2012). Leur action sur le développement des populations microbiennes permet ainsi de réduire l'apparition des maladies entériques et d'améliorer les performances de croissance (Ducatelle et al., 2015).

Sur la base de ces connaissances, l'essai qui suit avait pour objectif de déterminer l'intérêt du probiotique *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 dans l'alimentation des poulets de chair en Europe.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et alimentation

Cette étude a été réalisée en coopération avec l'Université des Sciences Agricoles et de Médecine Vétérinaire du Banat (Timișoara, Roumanie).

300 poulets mâles Ross 308 de 1 jour et d'un poids vif moyen de 42g (+/- 3g) ont été répartis de façon aléatoire en deux groupes de 25 répétitions chacun soit 6 animaux par répétition. Les deux groupes ont été élevés dans un même bâtiment, équipé de 50 parquets de 0.8 m² et avec une litière à base de paille.

Les animaux ont reçu un programme alimentaire en 3 phases : démarrage (0-10 jours), croissance (11-20 jours) et finition (21-35 jours). Un aliment témoin base blé/maïs/soja a été formulé pour chaque phase selon les recommandations nutritionnelles AMINOChick 2012 d'Evonik (voir Tableau 1). Les aliments se caractérisaient par une incorporation de 25% de blé en démarrage et de 30% en croissance et finition, et par l'absence totale d'enzymes : xylanase, protéase et phytase. L'objectif était d'apporter une ration riche en polysaccharides non amylacés (PNA) mal tolérés par les volailles et de favoriser ainsi un déséquilibre du microbiote et une moindre absorption des nutriments. De plus les aliments ont été distribués sous la forme farine avec un accès ad libitum. Même si cette présentation peut conduire à d'excellents résultats, la forme farine a été préférée à la miette ou au pellet afin de pénaliser la croissance et l'indice de consommation via une ingestion potentiellement plus difficile et une séparation des ingrédients (hétérogénéité) plus importante.

Concernant la prophylaxie, aucun coccidiostatique n'a été ajouté et aucune vaccination n'a été réalisée lors de cet essai.

1.2. Traitements et mesures

Les animaux du traitement témoin ont reçu l'aliment témoin seul. Les animaux des lots essais ont reçu l'aliment témoin supplémenté avec le probiotique Ecobiol® *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 à 0.05% soit 1.0×10^6 UFC/g d'aliment.

A la fin de chaque phase les animaux ont été pesés individuellement et les consommations ont été enregistrées par parquet. Les mortalités ont été relevées quotidiennement. De plus, 25 poulets de chaque traitement ont été abattus à 35 jours, soit un animal/répétition/traitement. Les caeca (1 seul par animal) ont été recueillis, congelés à -20°C et envoyés dans un laboratoire de microbiologie pour

un dénombrement des populations bactériennes : *E. coli* et coliformes. De la même façon les contenus iléaux totaux de 15 poulets par traitement ont été prélevés pour un dénombrement des lactobacilles. Ces groupes bactériens ont été choisis comme marqueurs car généralement considérés comme représentants des bactéries bénéfiques ou pathogènes de l'appareil digestif.

Pour le traitement statistique, toutes les données ont fait l'objet d'un test paramétrique de comparaison de moyennes de Student à l'aide du logiciel Package R.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Au terme de l'essai aucune mortalité n'a été relevée. Les résultats sur les performances zootechniques présentés dans le Tableau 2 indiquent que les poids vifs à la fin de chaque phase étaient similaires entre les deux traitements. A 35 jours, les poulets des lots essais présentaient cependant des poids légèrement plus élevés que ceux des lots témoins (+1.3%). De plus, ces poids étaient inférieurs à la valeur recommandée par Aviagen (Objectifs de performance Ross 2014). Les consommations d'aliments étaient également similaires entre les deux traitements, et elles aussi inférieures aux valeurs Ross. Les résultats obtenus sur les poids et les consommations pourraient en partie s'expliquer par l'absence d'enzymes dans les formulations et par la présentation de l'aliment sous la forme farine, ces deux paramètres pouvant affecter l'ingéré et la valorisation des nutriments.

Concernant les indices de consommation (IC), aucune différence significative n'a pu être observée entre les deux traitements de 0 à 10 jours d'âge. Les lots essais présentaient cependant un IC numériquement inférieur aux lots témoins (-1%). Sur les périodes 0-20 et 0-35 jours, les IC étaient significativement différents entre les deux lots, avec des améliorations respectives de 2% et 1.6%. De plus, contrairement aux valeurs obtenues sur les poids vifs et les consommations, les IC 0-35 jours des deux traitements étaient proches des objectifs d'Aviagen et l'IC pour les lots essais présentait une amélioration de 0.03 g/g par rapport à la valeur de référence. Selon Otutumi et al., 2012, si tous les

besoins en nutriments sont couverts et que les animaux ne sont pas exposés à des pathogènes ou à un stress physiologique suite à une gestion sous-optimale de leurs conditions d'élevage, l'influence favorable des probiotiques peut ne pas être statistiquement significative. Ceci permettrait d'expliquer que seules des différences numériques sur les poids vifs aient pu être observées. Cependant, malgré ces « bonnes » conditions d'élevage, l'apport d'Ecobiol® a eu un effet significatif sur l'efficacité alimentaire.

Lors du dénombrement bactérien aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les deux traitements (Voir tableau 3). Les coliformes et *E. coli* présentaient cependant des populations moins importantes dans le caeca chez les lots avec *B. amyloliquefaciens*, avec 68% de moins de coliformes et 78% de moins d'*E. coli*. Les tailles des populations de lactobacilles dans l'iléon entre les lots témoins et les lots essais étaient similaires. Ces résultats ont permis de démontrer la capacité de *B. amyloliquefaciens* à agir sur l'écosystème microbien digestif de l'animal et à améliorer l'efficacité alimentaire. Pour une transposition de ces résultats sur le terrain dans des conditions « normales » d'élevage, un troisième lot d'animaux avec un aliment conventionnel avec enzymes, serait nécessaire. Des études plus précises du microbiome dans les différents segments digestifs permettraient également d'approfondir les premières observations faites sur le dénombrement microbien. De la même façon, un comptage des populations à 10 et 20 jours apporterait plus d'informations sur l'effet du probiotique tout au long de la croissance de l'animal.

CONCLUSION

La supplémentation avec *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 chez des poulets soumis à un challenge nutritionnel, a permis d'améliorer de manière significative les indices de consommation à 20 et à 35 jours d'âge. Le probiotique a également contribué à rétablir l'équilibre du microbiote en réduisant la taille des populations de bactéries potentiellement pathogènes, *E. coli* et coliformes, dans le caeca.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aviagen, Ross 308 broilers: Performances objectives, 2014
- Corthesy B., H. R. Gaskins, A. Mercenier, 2007. Cross-talk between probiotic bacteria and the host immune system. *Journal of Nutrition*. 137: 781S-790S
- Ducatelle, R. et al. 2015. A review on prebiotics and probiotics for the control of dysbiosis: present status and future perspectives. *Animal: an international journal of animal bioscience* 9: 43-48
- Otutumi, L.K. et al. 2012. Variations on the Efficacy of Probiotics in Poultry. In E. C. Rigobelo (Ed.), *Probiotic in Animals*. (pp. 203-230). Publisher: InTech.
- Siragusa G. R. 2012. Modern probiology – Direct fed microbials and the avian gut microbia. *Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium*. 23 120:133

Tableau 1. Compositions et profils analytiques des aliments du groupe témoin : Démarrage, Croissance, Finition

Phases	Démarrage 0-10	Croissance 11-20	Finition 21-35
Ingrédients			
Blé 11.57%, %	25.00	30.00	30.00
Maïs 6.71%, %	21.10	26.60	31.00
Tourteaux de soja 46%, %	43.74	33.96	29.62
Huile de tournesol, %	5.99	5.72	5.83
Carbonate de calcium, %	1.48	1.25	1.21
Phosphate monocalcique, %	1.52	1.31	1.19
Sel, %	0.26	0.24	0.24
Bicarbonate de sodium, %	0.01	0.04	0.04
DL-Méthionine	0.24	0.19	0.17
L-Lysine HCl, %	0.12	0.15	0.15
L-Thréonine, %	0.04	0.04	0.05
Premix ¹ , %	0.50	0.50	0.50
Total. %	100	100	100
Valeurs nutritionnelles			
Matière sèche, %	88.1	87.8	87.8
EMAn volaille, kcal/kg	3025	3100	3150
Protéine brute, %	24.7	21.2	19.4
Cellulose brute, %	3.50	3.11	2.94
Matières grasses, %	7.99	7.81	7.99
Lysine DIS ² , %	1.29	1.10	1.00
Méthionine DIS, %	0.61	0.52	0.49
Méthionine+Cystine DIS, %	0.93	0.81	0.76
Thréonine DIS, %	0.82	0.70	0.65
Valine DIS, %	1.02	0.87	0.80
Isoleucine DIS, %	0.94	0.79	0.72
Arginine DIS, %	1.55	1.28	1.16

¹ : Mélange de vitamines et minéraux / ² : Digestibilité Iléale Standardisée

Tableau 2. Résultats des performances zootechniques à 10, 20 et 35 jours - (P<0.05)

Traitements	Poids vifs (g)			Consommations (g)			Indices de consommation (g/g)		
	10 jours	20 jours	35 jours	0-10 jours	0-20 jours	0-35 jours	0-10 jours	0-20 jours	0-35 jours
Témoin	238	820	2086	216	1051	3134	1.094	1.344 ^b	1.533 ^b
Essai	239	831	2114	215	1043	3120	1.082	1.316 ^a	1.508 ^a
<i>Aviagen (2014)</i>	296	882	2283	294	1103	3510	0.995	1.250	1.537
SEM	1.803	7.036	18.910	1.682	6.061	23.56	0.011	0.007	0.008
Valeur P	0.628	0.303	0.312	0.622	0.340	0.672	0.425	0.0030	0.037

Tableau 3. Dénombrement des populations bactériennes dans l'iléon et le caeca à 35 jours (log₁₀ UFC/g)

Traitements	Iléon Lactobacilles	Caeca Coliformes	Caeca Escherichia. coli
Témoin	5.5x10 ⁸	4.3x10 ⁸	3.6x10 ⁸
Essai	5.9x10 ⁸	1.4x10 ⁸	0.8x10 ⁸