



Évaluation des propriétés de certaines souches de bactéries lactiques pour des applications probiotiques en apiculture

L'utilisation de probiotiques dans le traitement des abeilles suscite un intérêt croissant. Toutefois, lorsque plusieurs souches bactériennes sont combinées, il est nécessaire de vérifier leur compatibilité afin de s'assurer qu'elles présentent un effet synergique plutôt qu'antagoniste.

Introduction

Les abeilles (mellifères et sauvages) sont réputées pour leur rôle de pollinisateurs dans les écosystèmes. Elles participent au maintien de la biodiversité et contribuent aux rendements de la production agricole. Cependant, un phénomène de déclin des populations d'abeilles est observé et est notamment lié à l'influence de facteurs de stress environnementaux sur l'émergence de diverses maladies. Face à ce constat, les chercheurs se sont intéressés au microbiome des abeilles mellifères et à l'utilisation de bactéries lactiques comme potentielle solution pour prévenir et traiter les maladies d'abeilles domestiques.

En effet, le microbiome des abeilles est très diversifié et abrite notamment des bactéries lactiques (LAB) tels que les *Lactobacillus*. Ces bactéries probiotiques, c'est-à-dire qui confèrent un bénéfice pour la santé lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate (Source : OMS), se développent dans le système digestif des abeilles et améliorent l'équilibre du microbiome. Plus précisément, les LAB jouent un rôle de défense contre les infections virales¹ et renforcent la résistance des abeilles aux maladies. De plus, elles sont capables de synthétiser des peptides antimicrobiens qui peuvent, entre autres, provoquer la lyse cellulaire² des agents pathogènes.

Depuis plusieurs années, les propriétés bénéfiques des probiotiques attirent l'attention des scientifiques et alimentent les réflexions sur le développement d'un traitement à base de probiotiques en tant que méthode potentielle pour atténuer les effets négatifs des agents pathogènes des abeilles. Cependant, l'efficacité d'un tel traitement dépend de(s) souche(s) utilisée(s) ainsi que de l'état sanitaire de la colonie ciblée.

Objectif de l'étude

Évaluer le potentiel de 3 souches bactériennes ainsi que d'un mélange composé de ces souches en tant que produit probiotique destiné aux abeilles mellifères.

Méthodologie

1. Choix et compatibilité des souches étudiées

Les trois souches bactériennes étudiées sont *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* et *Apilactobacillus kunkeei*. Afin de savoir si ces trois souches peuvent coexister, les scientifiques les ont placées dans une co-culture³, dispositif permettant d'étudier les interactions entre la croissance des différentes souches (aucun effet, effet synergique ou effet antagoniste).

^A Étude référencée : O'Toole, G.A. Microtiter dish biofilm formation assay. *J. Vis. Exp.* 2011, 47, e2437.

2. Capacités de survie dans différents milieux

Le traitement probiotique est destiné à être incorporé au sirop avant d'être administré à une colonie.

2.1. Pour déterminer la concentration maximale de sirop dans laquelle les souches étudiées peuvent survivre, le mélange à proportions égales des 3 souches a été placé dans du sirop de sucre et dans du sirop de glucose et fructose à différentes concentrations (de 45 % à 80 %) pendant 7 jours.

2.2. Pour vérifier la viabilité des souches dans le système digestif des abeilles, les 3 souches ainsi que leur mélange à proportions égales ont été placés dans un jus gastrique ainsi qu'un jus « intestinal », simulant les conditions présentes dans l'estomac et l'intestin des abeilles.

3. Capacités intrinsèques étudiées

3.1. La capacité des souches sélectionnées à former un biofilm afin d'assurer leur survie a été évaluée selon une méthode modifiée par O'Toole⁴. Le biofilm⁴ est une structure qui protège les bactéries des antibiotiques et du système immunitaire de l'hôte, augmentant leur résistance jusqu'à 1000 fois par rapport aux bactéries isolées.

3.2. L'activité antioxydante des 3 souches a également été analysée à l'aide de 3 méthodes différentes⁵. Plus l'activité antioxydante d'une bactérie est élevée, plus elle est capable de maîtriser les radicaux libres et de lutter contre le stress oxydatif généré par l'abeille face à certains stress (infection, pesticides, malnutrition...).

3.3. L'activité antimicrobienne des souches a également été étudiée à l'aide d'un test de diffusion sur r disque et d'une méthode sur microplaque. Ces deux méthodes permettent respectivement d'observer la capacité des souches étudiées à inhiber la croissance de certains organismes pathogènes.

Si vous souhaitez connaître la méthodologie de manière détaillée, nous vous invitons à la lire dans l'article en page 3.

¹ Lorsque les LAB sont combinées à du sirop de sucre et administrées à des colonies d'abeilles mellifères, elles produisent de l'acide acétique qui supprime les agents pathogènes en modifiant la réponse immunologique des abeilles.

² Destruction ou désintégration de la membrane d'une cellule biologique, entraînant sa mort par éclatement.

³ Modèle simple permettant d'étudier les interactions entre différentes espèces. Elle est essentielle pour concevoir un produit probiotique car les souches peuvent influencer leur croissance respective.

⁴ Communauté structurée de bactéries fixées à une surface (inerte ou vivante) et enrobée dans une matrice protectrice de polymères qu'elles sécrètent.

⁵ Méthodes (DDPH et ABTS) qui mesurent la capacité de piégeage de radicaux libres et la méthode (FRAP) mesurant le pouvoir réducteur d'un échantillon biologique.

Résultats et discussion

1. Choix et compatibilité des souches analysées

Après 6 heures de culture, une différence significative est observée entre la croissance individuelle des 3 souches et celle en co-culture (LAB mélange) : la croissance du mélange LAB est significativement plus élevée que les croissances individuelles de chaque bactérie. Cette différence persiste après 24 heures (Figure 1).

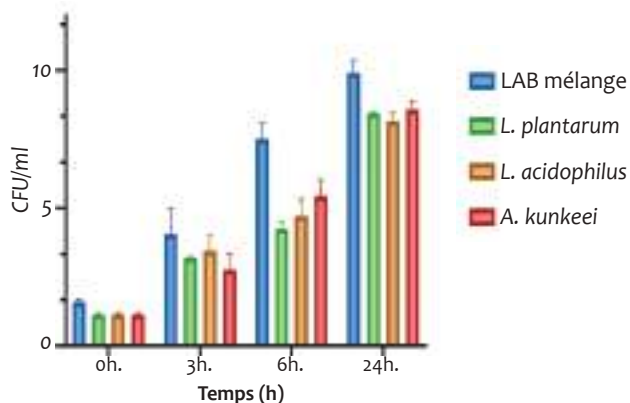


Figure 1 : Croissance des souches individuelles et du mélange en co-culture (LAB mélange). L'axe des ordonnées exprime la croissance selon les Unités Formant Colonie (CFU) par volume (mL) ce qui correspond au développement d'une colonie de bactéries qui se développe dans une boîte de Petri d'un volume connu.)

Pour expliquer ce phénomène, les auteurs avancent l'hypothèse selon laquelle des **sous-produits métaboliques d'une souche pourraient exercer une action synergique en servant de nutriments ou de stimulants de croissance pour les autres souches, augmentant la croissance bactérienne générale du mélange**. De plus, aucune zone d'inhibition de la croissance n'a été observée lors de la culture des souches en mélange (LAB mélange), signifiant qu'**aucune souche ne présente d'activité antagoniste**.

L'action synergique du mélange de bactéries et l'absence d'effet antagoniste sont des critères prometteurs, suggérant une capacité de coexistence des souches étudiées sans inhiber leur croissance respective, ce qui est crucial pour le développement d'un produit probiotique stable et efficace.

2. Capacité de survie du mélange LAB dans différents milieux

Pour rappel, les souches probiotiques doivent être résistantes à des concentrations élevées en glucides car elles seront administrées dans un mélange de sirop de sucre. De plus, elles doivent être capables de résister aux enzymes digestives, à l'acidité gastrique et aux sels biliaires pour survivre et maintenir leurs activités dans le tube digestif des abeilles mellifères.

2.1. Capacité de survie du mélange LAB selon la concentration de sirop

Les résultats indiquent que le mélange présente un taux de survie significativement plus élevé et prolongé lorsqu'il est exposé au sirop de sucre (Figure 2A, 45 % et 50 %) plutôt qu'au sirop de glucose et fructose (Figure 2B, 45 % et 50 %). Par ailleurs, la croissance des bactéries est inhibée lorsque la concentration en sucre ou en glucose et fructose est supérieure à 55 % (Figure 2, 60 % ou 70 %).

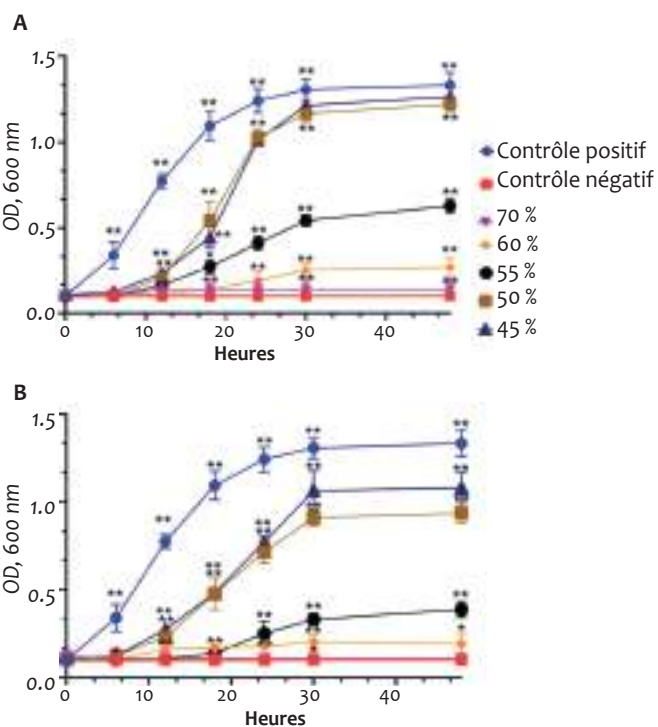


Figure 2 : Taux de croissance bactérien au cours du temps en fonction de la concentration en sirop. (A) Sirop de sucre et (B) Sirop de glucose et fructose

2.2. Capacité de survie des souches selon les conditions gastrointestinales simulées

En conditions gastriques et intestinales simulées, la croissance du mélange de souches cultivées avec du glucose et fructose (Figure 3, courbe rouge) diminue plus rapidement par rapport à celles des souches cultivées avec du sirop de sucre (Figure 3, courbe bleue). Cela suppose que les souches testées conservent une **plus grande résistance et viabilité en présence de sirop de sucre** dans des conditions gastriques et intestinales.

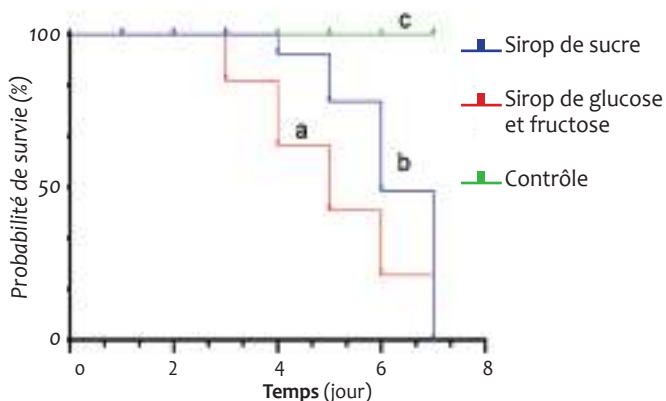


Figure 3 : Courbe de survie du mélange des souches selon le type de sirop utilisé, sur une période de 7 jours.

3. Capacités intrinsèques étudiées

3.1. Formation d'un biofilm

La **Figure 4** illustre l'effet des différents sirops (1, 2, 3) sur la formation de biofilm par chaque souche ou par le mélange des souches (LAB). Le mélange LAB en présence de sirop de sucre ou de sirop de glucose et fructose présente la plus forte capacité de production du biofilm, suivi de près par *L. plantarum*.

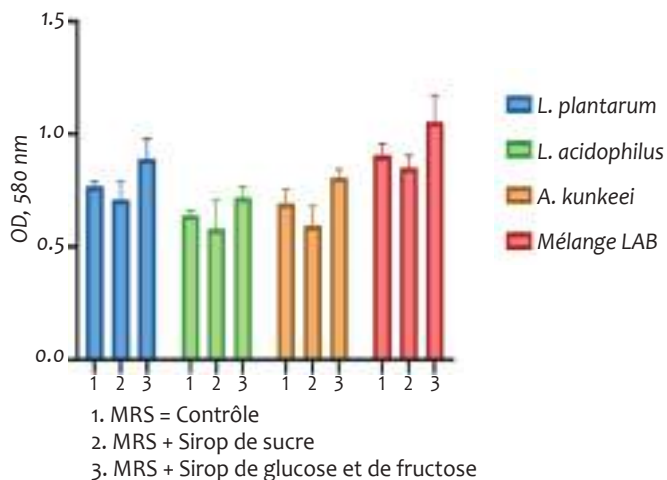


Figure 4 : Comparaison des capacités de formation de biofilm des souches étudiées. La mesure de la densité optique (DO) à 580 nm est une méthode spectroscopique utilisée en microbiologie pour estimer le développement d'un biofilm. © BMG Labtech

La capacité du mélange des souches à former un biofilm est un facteur essentiel permettant la colonisation et la persistance des souches dans l'intestin, facilitant également les interactions étroites entre les différentes souches.

3.2. Activité antioxydante

Les résultats indiquent que le mélange de souches présente l'activité antioxydante la plus élevée, toutes méthodes confondues. Individuellement, la souche *L. plantarum* présente l'activité la plus forte tandis qu'*A. kunkeei* présente l'activité la plus faible.

Ces résultats suggèrent ainsi que les souches de bactéries lactiques en mélange pourraient agir en synergie pour améliorer le potentiel antioxydant global du mélange, devenant plus efficace que chaque souche individuellement. À nouveau, cette synergie serait le résultat d'interactions métaboliques entre les souches, stimulant la production ou la stabilité des composés antioxydants. Ces résultats appuient l'intérêt des formulations multi-souches de bactéries lactiques pour améliorer l'activité antioxydante du mélange.

3.3. Activité antimicrobienne

Les résultats mettent en évidence des différences significatives dans le pouvoir d'inhibition de la croissance d'agents pathogènes : le mélange LAB induit un taux d'inhibition de la croissance des pathogènes supérieur à celui induit par les souches individuelles. D'ailleurs, ce mélange a généré des diamètres d'inhibition de croissance élevés, les plus élevés contre les agents pathogènes des deux loques (*M. plutonius* et *P. larvae*) (**Figure 5 A et 5B**).

Conclusion

Cette étude démontre le potentiel des souches *L. plantarum*, *L. acidophilus* et *A. kunkeei* pour être intégrées dans un mélange probiotique visant à soutenir la santé des abeilles. Les effets individuels et combinés de ces souches ont été évalués à travers une série de tests. L'ensemble des résultats de cette étude suggèrent que le mélange testé (1) stimule le développement des souches qui semblent compatibles entre elles (aucun effet antagoniste observé), (2) peut survivre sous certaines concentrations en sucre et en milieu acide, (3) produit un biofilm permettant de maintenir son activité, et (4) exerce des actions antioxydantes et antimicrobiennes.

La formule probiotique multi-souches testée dans cette étude représenterait une piste prometteuse pour soutenir la santé des abeilles et contribuer à limiter l'impact des agents pathogènes et de certains facteurs de stress environnementaux. Cette étude contribue au développement de stratégies de biocontrôle naturel contre les agents pathogènes et permet de mieux appréhender leur potentiel en tant qu'agents de lutte biologique.

Mot de la fin

Cette étude approfondit les connaissances en matière de biologie de l'abeille en proposant un focus sur les capacités de bactéries à soutenir la santé de l'abeille en tant que probiotiques. Les scientifiques de cette étude ont également observé la capacité d'agrégation des souches ainsi que leur production d'acide lactique.

Si cette thématique vous intéresse, vous pouvez retrouver l'étude dans son intégralité grâce à ce lien : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41469384/>

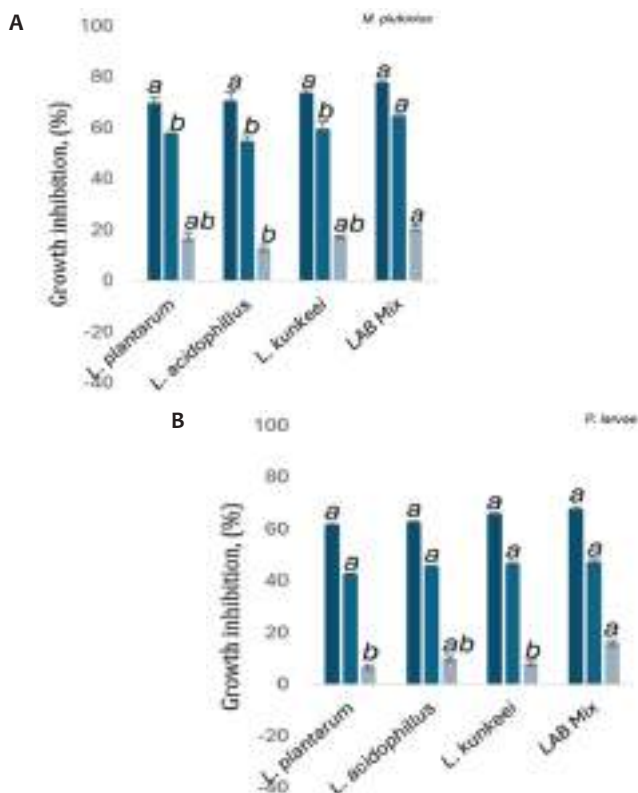


Figure 5 : Inhibition de la croissance (%) d'agents pathogènes (A) *M. plutonius* et (B) *P. larvae*