

Effet d'un extrait d'algue sur les IgG spécifiques et les IgA totales du colostrum et du lait

Frédéric Bussy (1), Matthieu Le Goff (1), Henri Salmon (2), José Delaval (3), Pi Nyvall Collen (1), Hervé Demais (4)

(1) Olmix group, ZA du Haut du Bois, 56580 Bréhan, France

(2) Directeur de recherche honoraire INRA

(3) LDA 37, Z.I. N°1 du Papillon, 3 Rue de l'Aviation, 37210 Parçay-Meslay

(4) BioVet-Conseil, 56700 Merlevenez, France

fbussy@olmix.com

Immune modulating effect of a seaweed extract on specific IgG and total IgA titers in the colostrum and milk

The immunomodulation potential of a crude extract, from green algae *Ulva armoricana* (EA), has been demonstrated *in vitro* by Berri and al (2015). The goal of the present study was to evaluate *in vivo* the immunomodulation effect of several EA concentrations, administrated orally to gilts. In a commercial farm, 35 gilts were divided into four groups. Three groups received three different daily doses of EA: 2g (EA1), 8g (EA2) and 16g (EA3); the fourth received only the excipient (biscuit) as a control. The EA was distributed over 2 periods of three consecutive days: before the atrophic rhinitis vaccine booster and the week before the theoretical farrow. Anti-Bordetella IgG antibodies were measured in the colostrum, the milk and the blood of the gilts and piglets and total IgA in the colostrum and the milk. The kinetics between the serum taken before the farrow and the colostrum showed an increase in the IgG titer in the EA3 group ($P < 0.05$). A tendency was also observed in the EA2 and EA1 groups. Regarding the IgA level in the colostrum and the milk, the EA2 group showed a higher level of IgA than the control ($P < 0.05$) whereas doses 1 and 3 denoted an inhibition compared with the EA2 group. The results indicate that the seaweed extract administrated orally could stimulate the enteromammary immune system but not the systemic one. Additional studies are necessary to determine the mechanisms involved.

INTRODUCTION

De nombreuses études réalisées *in vitro* ont mis en évidence des actions immunomodulatrices de différents extraits d'algues vertes (Leiro et al, 2007 ; Tabarsa et al, 2012 ; Berri et al, 2015). Le peu d'études réalisées *in vivo* l'ont été chez le porc avec uniquement des extraits d'algue brune (Leonhard et al, 2010). L'objectif de notre étude a été d'évaluer l'effet immunomodulateur de plusieurs doses d'un extrait d'algue verte, distribué oralement aux cochettes en gestation.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux

L'essai a été conduit dans une exploitation commerciale sur 35 cochettes issues d'un autorenouvellement. Les cochettes ont été transférées en quarantaine vers 170 jours d'âge. Un rappel contre la Rhinite atrophique (RA) a été effectué à raison de 2 ml / animal d'un vaccin inactivé adjuvé, 30 jours avant la mise bas théorique. Les 35 cochettes ont été réparties de manière aléatoire dans 4 groupes : 10 dans le groupe contrôle, 8 dans le groupe traité recevant une dose de 2g/jour de l'extrait d'algue (EA1), 8 recevant une dose de 8g/jour du même extrait (EA2) et 9 recevant une dose de 16g de l'extrait (EA3). Afin de distribuer la même quantité de produit (50g) à chaque cochette, un support à base de biscuit a été ajouté aux différents extraits d'algue. Ce même support a été administré seul aux cochettes du groupe contrôle. Le produit (biscuit seul ou biscuit plus EA) a été distribué sur deux périodes de trois jours consécutifs : avant

le rappel vaccinal contre la RA puis une semaine avant les mises-bas (MB) théoriques. Les cochettes de chaque groupe ont été réparties équitablement dans 2 bandes consécutives.

1.2. Extrait d'algue

L'extrait d'algue verte *Ulva armoricana* (provenant de Bretagne) enrichie en ulvan était constitué de 11,6 % de sucres neutres, 7,3 % de protéines, 12,2 % d'acides uroniques et 26,4 % de polysaccharides sulfatés.

1.3. Mesures

1.3.1. Sérum

Les titres en immunoglobulines sériques IgG anti-Bordetella (IgG AB) ont été déterminés la veille de la première distribution d'algue (soit 34 jours avant les MB théoriques), une semaine après le rappel de la RA (23 jours avant les MB théoriques) ainsi que le 3^{ème} et le 21^{ème} jour après la MB, par un ELISA anti-FHA de Bordetella (IBL International, Germany). Les analyses ont été effectuées le même jour sur les mêmes plaques.

1.3.2. Colostrum et lait

Des échantillons de colostrum ont été collectés 2 heures après chaque début des MB. Le lait a été prélevé à 7, 14 et 21 jours après MB. Ces échantillons ont permis de mesurer les titres d'IgG AB ainsi que les immunoglobulines A (IgA) totales. Les taux d'IgA totales ont été déterminés par ELISA à l'aide de réactifs polyclonaux spécifiques des IgA de porc (Bethyl, Montgomery, USA).

1.4. Traitements statistiques

La normalité de la distribution des données a été validée par le test de Kolmogorov-Smirnov. Les comparaisons entre les données des concentrations en immunoglobulines ont été effectuées par analyse de variance. Les différences avec le contrôle ont été analysées via les tests de Bonferroni et « t » de Student. Par ailleurs, la vitesse de variation des Ig entre le groupe contrôle et les groupes EA1, EA2 et EA3 a été évaluée par comparaison des pentes des droites de régression, en utilisant le test F. En cas de parallélisme, les ordonnées à l'origine étaient comparées. Tous les calculs statistiques ont été effectués en utilisant le logiciel GraphPad Prism 4.03. Pour l'ensemble des tests, le seuil de significativité a été fixé à $P < 0,05$.

2. RESULTATS

2.1. Sérum

La décroissance des IgG AB dans le sang en fin de gestation tend à être plus rapide ($0,1 > P > 0,05$) dans les groupes traités par rapport au contrôle, d'autant plus que la dose EA est importante.

2.2. Colostrum

En comparant la courbe du groupe EA3 avec le contrôle (figure 1), on observe une augmentation dans le colostrum du titre anti Bordetella ($P < 0,05$). Concernant les doses 1 et 2, une tendance à la hausse est observée ($P < 0,07$).

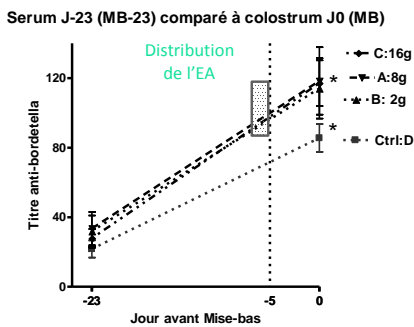


Figure 1 – Titre des IgG AB avant MB (dans le sérum) et après MB (dans le colostrum). (* $P < 0,05$)

2.3. Lait

La relation dose-effet (Figure 2) de l'influence de la dose d'EA sur la teneur en IgA du lait suit une courbe en cloche avec un effet maximum à la dose intermédiaire de 8g alors qu'à la dose

2 fois supérieure l'effet est moindre ($P < 0,05$).

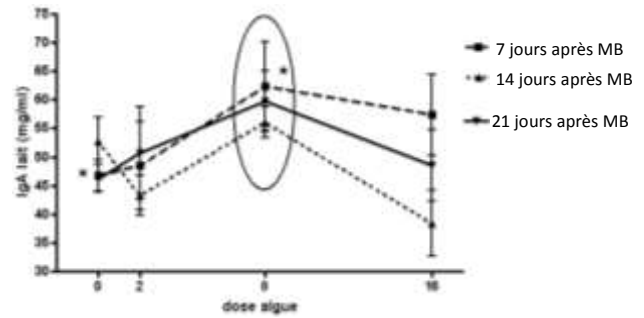


Figure 2 – Impact des différentes doses d'extrait d'algue sur les teneurs en IgA totales du lait. (* $P < 0,05$)

DISCUSSION ET CONCLUSION

L'observation d'une stimulation des IgG et des IgA à des doses différentes correspond aux différents modes de production et/ou de liaison des IgG et IgA avec leurs récepteurs respectivement FcRn (IgG) et pIgR (IgA).

Ainsi l'augmentation des IgG observée à la dose de 16g pourrait correspondre à une augmentation de la transsudation sérique responsable de la concentration en IgG dans le colostrum en fin de gestation (Salmon et al, 2009).

L'augmentation des IgA dans le lait, 7 jours après la mise bas peut être expliquée, en plus d'un effet stimulant du pIgR, par l'action de l'EA initiant localement dans l'intestin une plus grande réponse des plasmocytes à IgA, colonisant alors la mamelle (d'où un enrichissement d'IgA dans le lait). En effet les précurseurs des plasmocytes à IgA commencent à migrer dans la mamelle en fin de gestation en partance de l'intestin – « lien Immun Entéro -mammaire » (Salmon et al, 2009). La distribution de l'extrait étant effectuée sur une durée de 3 jours explique la courte période de stimulation des IgA.

La courbe dose-effet "en cloche" observée, *in vivo* pour les IgA calque la relation *in vitro* entre une chimiokine et un peptide chimioattractant du lait pour les lymphocytes B (Rodriguez et al, 2009). Le même effet dose est attendu de la production des cytokines par les cellules épithéliales lors d'une stimulation via l'extrait d'algue (Berri et al, 2015).

L'extrait d'algue suivant la dose donné en fin de gestation stimule l'accumulation des IgG dans le colostrum et/ou la réponse IgA de la mamelle via le lien entéro-mammaire.

Des études supplémentaires sont nécessaires pour valider les hypothèses d'activation du récepteur FcRn (récepteur des IgG) ainsi que les facteurs stimulant la réponse à IgA.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Berri M., Slugocki C., Olivier M., Holbert S., Helloin E., Jacques I., Salmon H., Nyvall Collen P., Le Goff M., Demais H., 2015. L'activité antibactérienne et immunomodulatrice d'un extrait d'algue verte riche en polysaccharides sulfatés. *JRP*, 47, 309-310.
- Leiro J., Castro R., Arranz J., Lamas J., 2007. Immunomodulating activities of acidic sulphated polysaccharides obtained from the seaweed *Ulva rigida* C. Agardh. *International Immunopharmacology*, 7, 879-888.
- Leonard S.G., Sweeney T., Bahar B., Lynch B.P., O'Doherty J.V., 2010. Effect of maternal fish oil and seaweed extract supplementation on colostrum and milk composition, humoral immune response, and performance of suckled piglets. *J Anim Sci* 88, 2988-2997.
- Rodriguez B., Chevalyere C., Henry G., Mollé D., Virlogeux-Payant I., Berri M., Boulay F., Léonil J., Meurens F., Salmon H., 2009. Identification in milk of a serum amyloid A peptide chemoattractant for B lymphoblasts. *BMC Immunology*, 10 :4.
- Salmon H., Berri M., Gerdtts V., Meurens F., 2009. Humoral and cellular factors of maternal immunity in swine. *Developmental and Comparative Immunology*, 33, 384-393.
- Tabarsa M., Han J., Kim C., You S., 2012. Molecular characteristics and immunomodulatory activities of water-soluble sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa*. *Journal of medicinal food*, 15, 135-144.