

# Effet de deux sources d'oxyde de zinc à différentes doses sur la perméabilité et les populations bactériennes de l'intestin des porcelets

Agathe ROMÉO (1), Noémie VAN NOTEN (2), Jeroen DEGROOTE (2), Wei WANG (2), Joris MICHIELS (2)

(1) ANIMINE, 74330 Sillingy, France

(2) Université de Gand, Département des Biosciences Appliquées, 9000 Gand, Belgique

aromeo@animine.eu

## Effect of zinc oxide sources and doses on gut integrity and intestinal bacterial counts of piglets

Zinc oxide (ZnO) is a common zinc source in piglet diets. Supplied at pharmacological dosage (2400 ppm of Zn), it can reduce post-weaning diarrhoea and improve growth performance. In this study, the effects of a potentiated ZnO source at low dose were compared to the regular ZnO at nutritional and pharmacological doses. The conventional ZnO was evaluated at 110 and 2400 ppm of Zn (+100 or 500 ppm of Fe) vs. 110 and 220 ppm of Zn (+500 ppm of Fe) for the potentiated ZnO source. Higher iron level was used to induce gastro-intestinal disturbances. The study consisted of two identical time replicate experiments, with a total of 24 piglets (2 per pen), weaned at 21 days. After 15 days, bacterial counts in intestinal contents and Ussing chamber measurements in distal jejunum were recorded. Higher iron level had no significant effect on results. Groups fed with 2400 ppm of Zn had the lowest bacterial counts in distal small intestine. Groups fed with the potentiated ZnO source also had significantly (coliforms) or numerically (*Escherichia coli*) lower results than the groups fed with 110 ppm of regular ZnO. Concerning the measurements in Ussing chambers, transepithelial electrical resistance (TEER) of jejunal mucosa was significantly higher for groups fed with potentiated ZnO, compared with groups fed with 110 ppm of standard ZnO, showing a better integrity of tissue. In conclusion, the potentiated ZnO at low dose showed positive effects on intestinal health, similar to the effects of a pharmacological dosage of regular ZnO.

## INTRODUCTION

L'apport d'oxyde de zinc (ZnO) à dose pharmacologique (environ 2400 ppm de Zn) peut stimuler la croissance des porcelets et diminuer les diarrhées en post-sevrage (Starke *et al.*, 2014). Son mode d'action est encore mal connu, mais les hypothèses font état de propriétés antimicrobiennes (Starke *et al.*, 2014) et d'un effet positif sur la barrière intestinale (Zhang et Guo, 2009).

Dans cet essai, la dose pharmacologique de ZnO était comparée à deux sources de zinc, une source de ZnO standard et une source de ZnO potentialisée, à dose nutritionnelle (Europe ou hors-Europe), avec un niveau de fer intermédiaire ou élevé. Leurs effets sur les bactéries intestinales et sur la perméabilité de la muqueuse étaient évalués.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Animaux et aliments expérimentaux

L'étude a été conduite sur deux bandes de 24 porcelets (hybrides Topics x Pietrain) chacune, mâles et femelles, répartis dans 12 cases de 2,1 m<sup>2</sup>, avec deux jours d'écart entre les deux répétitions de l'essai. Chaque répétition débutait au sevrage des porcelets (à 21 jours, pour un poids de 6,0 ± 1,5 kg) et durait 15 jours.

Les animaux ont consommé *ad libitum* un mélange à base d'orge, de maïs, de blé et de tourteaux de soja (PB 18%, EN 2400 kcal). Les aliments comportaient environ 40 ppm de Zn et 130 ppm de Fe endogènes, avant d'être supplémentés : (T1) 110 ppm Zn de ZnO standard + 100 ppm Fe, (T2) 2400 ppm Zn de ZnO standard + 100 ppm Fe, (T3) 110 ppm Zn de ZnO standard + 500 ppm Fe, (T4) 2400 ppm Zn de ZnO + 500 ppm Fe, (T5) 110 ppm Zn de ZnO potentialisé (HiZox®) + 500 ppm Fe et (T6) 220 ppm Zn de ZnO potentialisé + 500 ppm Fe.

Une teneur plus élevée en fer, supplémenté sous forme FeSO<sub>4</sub>, était susceptible d'augmenter la perméabilité de l'intestin des porcelets, comme chez le veau (Hansen *et al.*, 2010).

### 1.2. Analyses

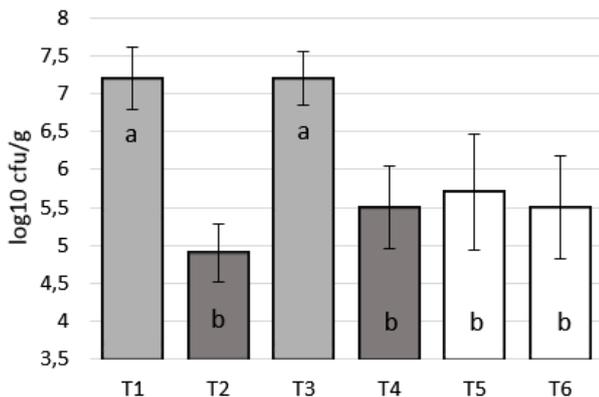
Les porcelets ont été euthanasiés après 15 jours d'essai. Le tractus gastro-intestinal a été prélevé. Un segment de 30 cm situé à 75% de la longueur totale de l'intestin grêle a été conservé pour des tests en chambres d'Ussing (Carlson *et al.*, 2004). Le contenu stomacal et le contenu intestinal, dans les sections correspondant à la partie proximale (0-25% de la longueur totale) et à la partie distale (75-100% de la longueur totale) de l'intestin grêle, ont été collectés. Des sous-échantillons de ces segments ont ensuite été préparés pour dénombrier les *Escherichia coli* et les coliformes, par la méthode des cultures.

### 1.3. Analyses statistiques

Sachant que notre modèle comportait un facteur fixe (traitements) et un facteur aléatoire (blocs de six cases), les données ont été analysées en utilisant la procédure Mixed Model de SAS. L'unité expérimentale était le porcelet. Les résultats étaient considérés significatifs avec  $P < 0,05$  ; un test de Tukey permettait alors de déterminer quels groupes étaient significativement différents.

## 2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

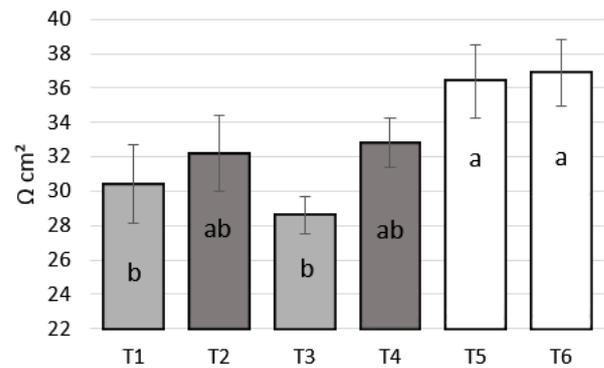
La teneur la plus élevée de  $\text{FeSO}_4$  n'a pas eu d'impact visible sur les caractéristiques du tractus gastro-intestinal. En ce qui concerne les différences entre les sources et doses de zinc, elles ont été observées dans la partie distale de l'intestin sur le comptage des bactéries : les groupes nourris avec 110 ppm de ZnO du ZnO standard (T1 et T3) présentaient des valeurs significativement plus élevées que les groupes nourris avec la dose pharmacologique de ZnO (T2 et T4). Le nombre de coliformes dans les groupes qui ont consommé la source de ZnO potentialisé (T5 et T6) étaient similaires à celui des deux groupes T2 et T4, et significativement inférieurs à ceux des deux groupes T1 et T3.



**Figure 1** – Comptage des coliformes dans la partie distale de l'intestin grêle, en fonction du régime

Des lettres différentes indiquent une différence significative ( $P < 0.05$ )

Les mesures en chambres d'Ussing ont montré que les groupes nourris avec le ZnO potentialisé obtenaient les valeurs les plus élevées pour la résistance électrique trans-épithéliale (TEER) de la muqueuse, significativement (comparées à T1 et T3) ou numériquement (comparées à T2 et T4) meilleures que celles des autres groupes.



**Figure 2** – Résistance électrique trans-épithéliale de la muqueuse de l'intestin grêle, en fonction du régime

Des lettres différentes indiquent une différence significative ( $P < 0.05$ )

L'augmentation de la TEER étant liée à une diminution de la perméabilité intestinale (Wijten *et al.*, 2011), la source de ZnO potentialisé améliorerait donc l'intégrité de la muqueuse.

Cet essai confirme l'effet positif du ZnO sur la santé intestinale des porcelets. Une diminution prononcée des bactéries intestinales a été observée dans des études antérieures portant sur le ZnO à dose pharmacologique (Starke *et al.*, 2014). Dans notre étude, cette diminution va de pair avec une meilleure intégrité de la muqueuse intestinale. L'effet du régime enrichi en zinc peut être double. En diminuant le nombre de bactéries pathogènes, il réduit aussi l'émission de toxines susceptibles d'altérer la muqueuse, par exemple en agissant sur les jonctions serrées (Berkes *et al.*, 2003) ; d'autre part, des études *in vitro* menées avec des milieux pauvres en zinc laissent penser que le zinc joue un rôle essentiel dans le maintien des jonctions d'ancrage et d'autres jonctions intercellulaires (Finamore *et al.*, 2008).

## CONCLUSION

Cet essai confirme que le ZnO à dose pharmacologique peut réduire la croissance bactérienne dans l'intestin grêle et améliorer l'intégrité de la barrière intestinale ; de plus, des résultats similaires (comptages bactériens) ou meilleurs (TEER) ont été obtenus avec une source de zinc potentialisée à faible dose (110 ou 220 ppm de Zn), mais pas avec la source de zinc standard.

A dose équivalente, deux sources d'oxydes de zinc peuvent donc avoir des effets différents sur la santé intestinale des porcelets.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Berkes J., Viswanathan V. K., Savkovic S. D., Hecht G., 2003. Intestinal epithelial responses to enteric pathogens: effects on the tight junction barrier, ion transport and inflammation. *Gut*, 52, 439-451.
- Carlson D., Poulsen H. D., Sehested J., 2004. Influence of weaning and effect of post weaning dietary zinc and copper on electrophysiological response to glucose, theophylline and 5-HT in piglet small intestinal mucosa. *Comp. Biochem. Physiol.*, 137, 757-756.
- Finamore A., Massimi M., Conti Devirgiliis L., Mengheri E., 2008. Zinc deficiency induces membrane barrier damage and increases neutrophil transmigration in Caco-2 cells. *J. Nutr.*, 138, 1664-1670.
- Hansen S. L., Ashwell M. S., Moeser A. J., Fry R. S., Knutson M. D., Spears J. W., 2010. High dietary iron reduces transporters involved in iron and manganese metabolism and increases intestinal permeability in calves. *J. Dairy Sci.*, 93, 656-665.
- Starke I. C., Pieper R., Neumann K., Zentek J., Vahjen W., 2014. The impact of high dietary zinc oxide on the development of the intestinal microbiota in weaned piglets. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 87, 416-427.
- Wijten P. J. A., van der Meulen J., Verstegen M. W. A., 2011. Intestinal barrier function and absorption in pigs after weaning: a review. *Br. J. Nutr.*, 105, 967-981.
- Zhang B., Guo Y., 2009. Supplemental zinc reduced intestinal permeability by enhancing occludin and zonula occludens protein-1 (ZO-1) expression in weaning piglets. *Br. J. Nutr.*, 102, 687-693.