

Impact de stratégies alimentaires médicamenteuses et d'une substance aromatique sur les performances, la santé et la diversité bactérienne fécale chez le porcelet

Tristan BREHELIN (1), Sébastien COMYN (1), Lilian LELOUTRE (1), Jordi ESTELLE (2), Claire ROGEL-GAILLARD (2),
Sophie REYS (1), Cécile ROUGIER-BORNE (1)

(1) TECHNA FRANCE NUTRITION, Route de St-Etienne-de-Montluc D101, BP10, 44220 Couëron, France

(2) GABI, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 78350 Jouy-en-Josas, France

tristan_brehelin@techna.fr

Impact of medicated or flavor substance feeding strategies on performance and fecal bacterial diversity in piglets

The aim of this trial was to evaluate effects of two medicated feeding strategies versus an alternative one on performances and fecal bacteria diversity in piglets. A total of 144 piglets weaned at 21 days were fed *ad libitum* with a two-phase diet program supplying 10.8 MJ/kg of net energy (NE) and 1.22% of standardized ileal digestible (SID) lysine (Lys) (days 0-21) and 9.6 MJ/kg of NE and 1.05% of SID Lys (days 21-47). Piglets were divided into 4 experimental groups with different supplementations: a control group (CTL), with no supplementation; an antibiotic group (ATB), with 500 ppm of amoxicillin and 3,200,000 IU/kg of colistin from days 0-21; a zinc oxide group (ZnO), with 2500 ppm of Zn from days 0-21; and a flavor substance (FS) group, with 1000 ppm of a microencapsulated flavor throughout the trial. Piglet growth and feed intake were recorded, and gut microbiota composition was assessed by sequencing the 16S rRNA gene from fecal DNA samples before weaning and at 21 and 47 days post-weaning. Piglets in the ATB group had an improved feed conversion ratio from days 0-21. At day 47, piglets in the FS group weighed more than those in the CTL group. Piglets treated for digestive causes were more common in the CTL and ZnO groups. FS and CTL groups had the highest α -diversity of gut microbiota at days 21 and 47. A strong reduction in α -diversity was observed in the ZnO group at day 21. Maintenance of bacterial diversity may have a positive effect on the health and performance of piglets after weaning.

INTRODUCTION

Le sevrage est une période de transition alimentaire et environnementale, entraînant des perturbations du microbiote intestinal (Mach *et al.*, 2015) qui peuvent faciliter la colonisation bactérienne par les bactéries pathogènes. Après le sevrage, le microbiote intestinal joue un rôle important sur l'intégrité intestinale et la maturation du système immunitaire (Lallès *et al.*, 2007). Ces perturbations sont à l'origine de troubles digestifs, synonymes de pertes économiques. L'utilisation d'antibiotiques et de métaux lourds (Zinc, Cuivre) dans les aliments permet d'atténuer ces troubles digestifs, mais ces pratiques sont fortement controversées car elles contribuent à la sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques (Anses, 2014). Les substances aromatiques ont montré un intérêt pour renforcer les fonctions du microbiote en modulant positivement la flore intestinale du porcelet (Manzanilla *et al.*, 2004). L'objectif de cette étude est d'évaluer l'influence de ce type de supplémentation sur le microbiote, les performances et la santé des porcelets.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux et dispositif expérimental

L'essai s'est déroulé à la station expérimentale de Saint Symphorien (72, France) sur 114 porcelets, 74 femelles et 74 mâles castrés [(Large White x Landrace) x Piétrain], sevrés à

21j d'âge, considéré comme le jour 0 (J0) de l'expérimentation. Les porcelets ont reçu à volonté un aliment de J0 à J21 (Phase 1 : 10,8 MJ/kg d'énergie nette (EN) ; 1,22 % de lysine digestible standardisée (LysD)) et un aliment de J21 à J47 (Phase 2 : 9,6 MJ/Kg d'EN ; 1,05% de LysD). Les porcelets ont été répartis en quatre groupes expérimentaux avec neuf ou dix cases de trois porcelets par groupe en fonction de leur mère naturelle et de leur poids au sevrage : le groupe témoin (**TEM**) sans supplémentation ; le groupe antibiotique (**ATB**) supplémenté avec 500 ppm d'amoxicilline et 3,200,000 UI/kg de colistine uniquement de J0 à J21 ; le groupe oxyde de zinc (**ZnO**) supplémenté entre J0 et J21 avec une dose pharmacologique apportant 2500 ppm de Zn; le groupe substance aromatique (**SA**) supplémenté avec une dose de 1000 ppm d'un arôme micro-encapsulé de J0 à J47.

1.2 Mesures phénotypiques de performance et santé

Les porcelets ont été pesés individuellement le jour du sevrage (J0), à la fin de la première phase (J21) et à la fin de la seconde phase (J47). Un bilan de consommation à l'échelle de la case a été effectué à la fin de ces deux périodes. Les animaux malades ont été traités individuellement par injection d'un antibiotique selon les symptômes observés et conservés dans les analyses. Les analyses des performances ont été effectuées via un modèle linéaire (Minitab 16.1.1), avec prise en compte du poids de départ en covariable et en considérant l'effet de la supplémentation. Un test de Tukey a été utilisé pour étudier les différences entre les moyennes significatives à $P < 0,1$.

1.3 Analyse du microbiote fécal

Des prélèvements de fèces par écouvillonnage ont été réalisés l'avant-veille du sevrage (J-2), à J21 et à J47 sur 47 porcelets (12 porcelets par traitement). L'ADN fécal a été extrait pour séquençage de la région variable V3-V4 du gène ARNr 16s bactérien à l'aide d'un séquenceur Illumina MiSeq (Biofortis Mériex NutriSciences, 44, France). Les séquences ont été analysées à l'aide du logiciel Qiime v.1.91. (Caporaso *et al.*, 2010), afin d'obtenir le comptage d'OTUs (*operational taxonomic units*) pour chaque échantillon. Les OTUs observées une seule fois (singletons) et les OTUs avec une abondance globale inférieure à 0,05% ont été écartées de l'analyse, suivants les recommandations de Bokulich *et al.*, (2012). Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel R (v.3.3.1) et du package Vegan 2.4-1 (<https://vegan.r-forge.r-project.org>), afin de mesurer les diversités bactériennes au sein d'un individu (diversité α) et entre les individus au sein de chaque groupe (diversité β).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Performances zootechniques

Les résultats zootechniques sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 - Résultats zootechniques

	TEM	ATB	ZnO	SA	P-value
J0 - J21					
PV à J0 (kg) ¹	7,1	7,1	7,1	7,0	
CMJ (g/j) ¹	382 ^b	480 ^a	389 ^b	398 ^b	<0,01
GMQ (g/j) ¹	301 ^b	406 ^a	308 ^b	323 ^b	<0,001
IC (kg/kg) ¹	1,28 ^b	1,18 ^a	1,27 ^b	1,24 ^{ab}	<0,05
PV à J21 (kg) ¹	13,4 ^b	15,6 ^a	13,5 ^b	13,8 ^b	<0,001
J21 - J47					
CMJ, g/j ¹	1270 ^{ab}	1344 ^a	1203 ^b	1305 ^{ab}	<0,05
GMQ, g/j ¹	732 ^{ab}	743 ^{ab}	685 ^b	760 ^a	<0,05
IC, kg/kg ¹	1,73 ^a	1,81 ^b	1,76 ^{ab}	1,72 ^a	<0,01
PV à J47 (kg) ¹	32,4 ^{bc}	34,9 ^a	31,3 ^c	33,6 ^{ab}	<0,01

¹ CMJ : consommation moyenne journalière, GMQ : gain moyen quotidien, IC : indice de consommation, PV : poids vif

2.2. Morbidité

En phase 1, la proportion d'animaux traités individuellement pour cause digestive est très inférieure dans le groupe ATB (figure 1). A la transition vers la phase 2 (J21), les groupes TEM et ZnO voient la proportion d'animaux traités augmenter. En fin d'essai, les groupes TEM et ZnO ont le plus d'animaux traités, le groupe SA est intermédiaire et le groupe ATB à la proportion d'animaux traités la plus faible.

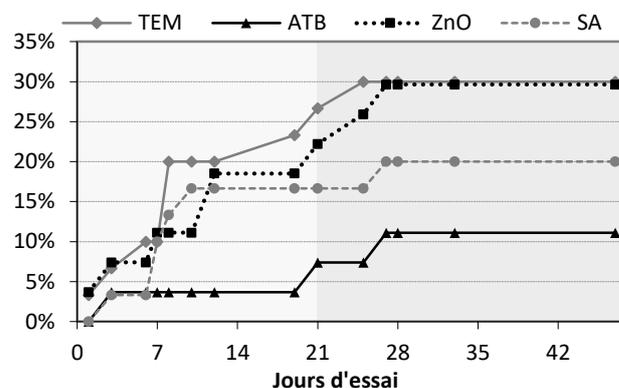


Figure 1 – Proportion cumulée de traitements pour morbidité

2.3 Diversités bactériennes du microbiote fécal

Les diverses supplémentations impactent la diversité α (figure 2), avec une réduction marquée pour le groupe ZnO par rapport au groupe TEM à la transition (J21). Pour le groupe ATB, la diversité α varie peu à J21 et à J47. Les groupes SA et TEM présentent les diversités α les plus élevées à J21, et à J47. La diversité α du groupe SA est celle qui reste la plus proche du groupe TEM. La diversité β augmente pour les groupes ATB et ZnO, mettant en évidence des effets hétérogènes de la supplémentation pour ces groupes (résultats non montrés).

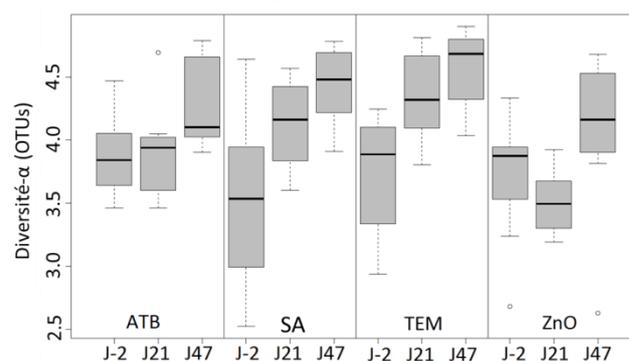


Figure 2 – Evolution de la diversité α selon les types de supplémentations

CONCLUSION

Ces résultats montrent qu'une supplémentation médicamenteuse de l'alimentation des porcelets après sevrage affecte négativement la diversité bactérienne intestinale, et peut entraîner une amélioration temporaire des performances (J21), qui s'inverse ensuite (J48). La supplémentation SA réduit la proportion d'animaux traités individuellement et améliore le poids final des porcelets. Ces résultats suggèrent qu'une supplémentation affectant modérément la diversification du microbiote intestinal peut avoir un effet favorable sur la santé et les performances des porcelets après sevrage.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anses, 2014. Évaluation des risques d'émergence d'antibiorésistances liées aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale, 218 pages. [En ligne] Disponible sur <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2011sa0071Ra.pdf>
- Bokulich N.A., Subramanian S., Faith J.J., Gevers D., Gordon J.I., Knight R., Mills D.A., Caporaso J.G., 2013. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nat. Methods*, Jan; 10, 57-59.
- Caporaso J.G., [...], Knight R., 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat. Methods*, 7,335-336.
- Lallès J.P., Bosi P., Smidt H., Stokes C.R., 2007. Nutritional management of gut health in pigs around weaning. *Proc. Nutr. Soc.*, 66, 260-268.
- Mach N, Berri M., Esquerre D., Chevalyre C., Lemonnier G., Billon Y., Lepage P., Oswald I., Doré J., Rogel-Gaillard C., Estellé J., 2014. Extensive expression differences along porcine small intestine evidenced by transcriptome sequencing. *PLoS One*, 9, Issue 2.
- Manzanilla E.G., Perez J.F., Martin M., Kamel C., Baucells F., Gasa J., 2004. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.*, 82, 3210–3218.