

L'extrait de châtaignier réduit les diarrhées de post-sevrage et modifie la population bactérienne du jéjunum

Marion GIRARD, Nicolas PRADERVAND, Paolo SILACCI, Giuseppe BEE

Agroscope, Route de la Tioleyre 4, 1725 Posieux, Suisse

marion.girard@agroscope.admin.ch

Avec la collaboration de Guy MAÏKOFF, Sébastien DUBOIS, Marie-Françoise CRAUSAZ, Valérie VILLOZ, Tamara GOBET

Chestnut extract decreases post-weaning diarrhoea and modifies the bacteria population in the jejunum

Despite a multifactorial aetiology, post-weaning diarrhoea (PWD) is often related to pathogen infection such as enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC). Simultaneously, the increasing occurrence of antimicrobial resistance reinforces the emergent development of alternatives to antimicrobials, especially for prophylactic treatments. This experiment aimed to study whether a standard diet (SD) supplemented with 2% chestnut extract (CE) could affect the severity of diarrhoea, organic matter digestibility (OMd) and the intestinal bacterial population of piglets infected or not with ETEC F4. At weaning (23 ± 3 days), 48 piglets susceptible to ETEC F4 were housed in groups of 3 per pen and allocated in a 2 x 2 factorial design balanced for weaning body weight and litter. They had *ad libitum* access to either the SD or the CE diet. Four days after weaning, in each group, half of the piglets were orally infected with an ETEC F4 suspension (10^8 CFU/ml), whereas the remaining half received a solution of PBS. Occurrence of diarrhoea was monitored on a daily basis using a 4-level scale, and rectal samples were collected to determine faecal dry matter and ETEC shedding. Colon and jejunum contents were collected 3, 6 or 7 d post-infection to determine OMd and the bacterial population. Infection increased ($P < 0.05$) faecal score and ETEC shedding without affecting feed intake, growth, OMd or the bacterial population in the jejunum. Supplementation with CE led to a decrease in faecal score, in the relative abundance of *Clostridium* and ETEC F4 in the jejunum and to 43 g/d greater ($P < 0.10$) growth without modifying feed intake or OMd. The present study highlighted the potential of CE to reduce PWD.

INTRODUCTION

Malgré une étiologie multifactorielle, les diarrhées de post-sevrage (DPS) sont souvent liées à des germes pathogènes comme les *Escherichia coli* entérototoxiques (ETEC). Parallèlement, l'augmentation croissante des résistances aux antibiotiques encourage le développement de solutions alternatives, principalement en prophylaxie. Le châtaignier contient des tanins hydrolysables, molécules connues pour leurs propriétés antimicrobiennes (Girard *et al.*, 2017). Cette étude a voulu déterminer si un aliment standard (SD) pour porcelets sevrés supplémenté avec 2% d'extrait de châtaignier (EC) impactait la sévérité des DPS, la digestibilité de la matière organique (dMO) ainsi que le microbiote jéjunal de porcelets artificiellement infectés ou non avec ETEC.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

L'essai a été conduit en deux répétitions de 24 porcelets femelles et mâles castrés Large White détenus par groupe de trois par case. Au sevrage, les porcelets ont été répartis en quatre groupes dans un schéma factoriel 2x2 avec le niveau d'infection (infecté ou non) et le type d'aliment (SD vs EC). La répartition des porcelets dans les groupes a été équilibrée en fonction de leur poids de sevrage et de leur portée d'origine.

Le poids moyen des animaux était de $7,5 \pm 1,4$ kg pour un âge moyen de 23 ± 3 jours. Les animaux ont eu un accès *ad libitum* à l'aliment SD ou à l'aliment EC suivant leur groupe. L'extrait de châtaignier (Silvafeed Nutri P, Silvateam, Italie) contenait 45% de gallotannins, 9% d'ellagitanins et 3.7% d'acide gallique. Les deux aliments ont été formulés à 18% de matière azotée totale et 14 MJ/kg d'énergie digestible selon les recommandations suisses. La composition des deux aliments est détaillée dans le tableau 1. Puis, 4 jours post-sevrage (J0), la moitié des animaux a été artificiellement infectée avec 5 ml de suspension de ETEC (F4ac, LT⁺, STb⁺) à 10^8 UFC/ml (INF) alors que l'autre moitié a reçu 5 ml de solution saline (NINF). Cette souche ETEC F4 a été précédemment isolée d'un porcelet souffrant de diarrhée aiguë. Les porcelets ont été sacrifiés 3, 6 et 7 jours post-infection (quatre par groupe par jour) et les contenus du jéjunum et du côlon ont été collectés.

Tableau 1 – Composition chimique des aliments

Aliment ¹	SD	EC
Matière sèche, %	89,3	89,4
Matière azotée totale, %	18,1	18,0
Matières grasses brutes, %	5,2	5,2
Cellulose brute, %	3,3	2,9
Energie digestible calculée, MJ/kg	14	14

¹SD : aliment standard ; EC : aliment contenant 2% d'extrait de châtaignier.

1.2. Mesures expérimentales

La consommation moyenne journalière a été évaluée par case et les porcelets ont été pesés à J0 et à l'abattage. Dès J0 et chaque matin, le score fécal a été déterminé sur une échelle de 1 (consistance normale, ferme) à 4 (diarrhée aqueuse). Des échantillons ont été collectés directement dans le rectum afin de déterminer la matière sèche des fèces et l'excrétion de ECET. L'expression relative de *Clostridium* (cluster I, IV et XIV), *Enterococcus* spp, *Lactobacillus* spp et ECET F4 dans le jéjunum a été déterminée par PCR quantitative. La dMO dans le côlon a été calculée grâce à l'inclusion d'un marqueur indigestible dans les deux aliments.

1.3. Statistiques

Les données de l'ingestion par case, de croissance, de matière sèche fécale, de dMO, d'excrétion de ETEC dans les fèces et de population bactérienne dans le jéjunum ont été analysées avec la procédure MIXED de SAS (version 9.4., SAS Inst. Inc., Cary, NC). Les données ont été transformées lorsque les résidus n'étaient pas distribués normalement. Les données de score fécal et de pourcentage de diarrhées ont été analysées avec la procédure GLIMMIX de SAS. Les modèles incluaient l'infection, l'aliment, le jour, leurs interactions, la répétition et la date d'abattage comme effets fixes et la case et la portée comme effets aléatoires. Excepté pour l'ingestion où l'unité expérimentale était la case, pour le reste des données, l'unité expérimentale était le porcelet, en mesures répétées (jours) avec une structure de covariance AR(1) lorsque les données étaient dépendantes du temps. Les différences significatives sont définies avec une P-value < 0.05 et les tendances avec une P-value < 0.10.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Performances

L'infection par ETEC F4 n'a eu d'effet ($P > 0,10$) ni sur l'ingestion par case, ni sur le gain moyen quotidien ni sur la dMO. L'aliment EC n'a pas eu d'effet ($P > 0,10$) sur l'ingestion et la dMO. En revanche, les porcelets ayant reçu l'aliment EC ont tendance ($P = 0,08$) à avoir un gain moyen journalier supérieur de 43 g/j. Cette meilleure croissance avait déjà été observée dans un précédent essai utilisant aussi 2% d'EC et dans lequel tous les porcelets étaient infectés avec ETEC F4 (Girard *et al.*, 2017).

2.2. Incidence de diarrhées

L'infection tendait à augmenter ($P < 0,06$) l'apparition de diarrhées, ce qui s'est traduit par un score fécal ainsi qu'une teneur en eau dans les fèces plus élevés ($P < 0,05$). Une augmentation de l'excrétion de ETEC dans les fèces a été détectée chez les porcelets infectés ($P < 0,001$). La supplémentation en EC a diminué ($P = 0,003$) l'apparition de

diarrhées en comparaison à l'aliment SD. En effet, chez les porcelets ayant consommé l'aliment EC, il a été constaté une nette diminution du score fécal et de la teneur en eau des fèces ($P < 0,05$). Par exemple, 3 jours après l'infection, 5 porcelets du groupe INF-EC avaient des diarrhées contre 11 dans le groupe INF-SD (Figure 1). L'utilisation d'extraits contenant des tanins de pépins de raisin ou de canneberge avait aussi réduit les diarrhées chez des porcelets infectés avec ETEC F4 ou *E. coli* vérotoxique F18 (Verhelst *et al.*, 2014, Coddens *et al.*, 2017). En revanche, l'excrétion de ETEC dans les fèces n'a pas été réduite ($P = 0,63$) avec l'aliment EC par rapport à l'aliment SD.

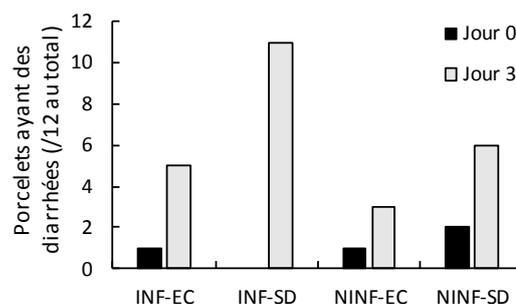


Figure 1 – Nombre de porcelets présentant des diarrhées 0 et 3 jours après l'infection dans les quatre groupes

¹INF-CE : infecté + extrait de châtaignier; INF-SD : infecté + aliment standard; NINF-CE : non infecté + extrait de châtaignier; NINF-SD : non infecté + aliment standard

2.3. Population bactérienne dans le jéjunum

L'infection n'a pas eu d'effet ($P > 0,10$) sur l'abondance relative de *Clostridium* (cluster I, IV et XIV), *Enterococcus* spp, *Lactobacillus* spp et ETEC F4 dans le jéjunum. L'aliment EC n'a pas eu non plus d'effet ($P > 0,10$) sur l'abondance relative de *Clostridium* cluster XIV et *Lactobacillus* spp. dans le jéjunum. Cependant, l'abondance relative de *Clostridium* cluster IV et ETEC F4 était moindre ($P < 0,05$) chez les porcelets ayant consommé l'aliment EC. De plus, chez les animaux infectés, *Clostridium* cluster I était moins abondant dans le groupe INF-CE que dans celui INF-SD alors qu'il n'y a pas eu de différences entre les groupes NINF-CE et NINF-SD (interaction infection x aliment : $P < 0,001$). Dans une étude précédente, des tanins hydrolysables de *Rosa rugosa* possédaient aussi une activité antimicrobienne contre *E. coli*, *S. aureus* et *Salmonella* spp. mais pas contre des bactéries bénéfiques comme *Lactobacillus salivarius* (Kamijo *et al.*, 2008).

CONCLUSION

Cet extrait de châtaignier modifie la population bactérienne dans le jéjunum, en réduisant notamment l'abondance de certains *Clostridium* et d'ETEC F4, ce qui semblerait bénéfique pour la santé intestinale et participerait à réduire les DPS.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Coddens A., Loos M., Vanrompay. D, Remon J.P., Cox E., 2017. Cranberry extract inhibits *in vitro* adhesion of F4 and F18+ *Escherichia coli* to pig intestinal epithelium and reduces *in vivo* excretion of pigs orally challenged with F18+ verotoxigenic *E. coli*. Vet. Microbiol., 202, 64-71.
- Girard M., Pradervand N., Silacci P., Bee G., 2017. Bioactive compounds as alternative to antibiotics to prevent coliform diarrhea in weaned piglets: example of hydrolysable tannins from chestnut wood. In: Book of Abstr. 68th Ann. Meeting European Federation of Animal Science (EAAP) (Eds), 23, pp.292. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.
- Kamijo M., Kanazawa T., Funaki M., Nishizawa M., Yamagishi T., 2008. Effects of *Rosa rugosa* petals on intestinal bacteria. Biosci. Biotech. Bioch., 72, 773-777.
- Verhelst R., Schroyen M., Buys N., Niewold T., 2014. Dietary polyphenols reduce diarrhea in enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) infected post-weaning piglets. Livest. Sci., 160, 138-140.