

L'acide gluconique améliore les performances des porcelets nouvellement sevrés associées avec des modifications au niveau du microbiote intestinal et de la fermentation

Joris MICHELIS (1), Damien TRUFFIN (2), Maryam MAJDEDDIN (1), Elout VAN LIEFFERINGE (1), Noémie VAN NOTEN (1), Mario VANDAELE (1), Céline VAN KERSCHAUVER (1), Jeroen DEGROOTE (1), Pierre LINDER (2)

(1) Ghent University, Department of Animal Sciences and Aquatic Ecology, Coupure Links 653, 9000 Gent, Belgique

(2) Roquette Frères, 1 rue de la Haute Loge, 62136 Lestrem, France

joris.michiels@ugent.be

Gluconic acid improves performance of newly weaned piglets associated with alterations in gut microbiome and fermentation

Gluconic acid was previously shown to be poorly absorbed but readily fermented to butyrate in the gastro-intestinal tract. A total of 144 weaning piglets were fed three treatments (eight pens with six piglets/treatment): T1, control diet; T2, gluconic acid at 0.9%; and T3, gluconic acid at 1.8%, for 42 days. After 21 days of feeding, one piglet from each pen was sampled for blood hematology and biochemistry, and gut digesta characteristics and metagenomics. Feeding gluconic acid increased performance in the immediate postweaning period, particularly feed intake. Overall, from day 0-42, feed intake increased, which resulted in numerically higher final body weight. Piglets from T3 had fewer total white blood cells ($P = 0.060$), caused by particularly significantly lower numbers of lymphocytes than those from T1. Compared to T1; T2 and T3 had much lower plasma urea (3.8, 2.6 and 2.6 mmol/L, respectively, $P < 0.05$). Feeding gluconic acid provoked substantial changes in the relative abundance of lactic-acid-producing and acid-utilizing bacteria. The abundance of *Lactobacillus amylovorus* and *Veillonella* AY445131.1.1524 in the distal small intestine were increased and decreased, respectively ($P < 0.05$), whereas in mid-colon, a reduction in *Prevotella* 9 HQ716341.1.1469 (5.9 vs. 10.0% for T3 and T1, $P < 0.05$), and an increase in *Faecalibacterium prausnitzii* and *L. amylovorus* (7.2 vs. 2.8% for T3 and T1, $P < 0.05$ and 5.6 vs. 1.1% for T3 and T1, $P < 0.05$) were found. Finally, the butyrate producers *Megasphaera elsdenii* and *Mitsuokella multacida* were dose-dependently elevated, in particular *M. elsdenii* (1.7, 1.6 and 3.7% for T1, T2 and T3, respectively). Consequently, in caecum and mid-colon, increased relative molar percentage of butyrate were found, for example in caecum it was 10.0, 12.9 et 14.7% for T1, T2 and T3, respectively, $P < 0.05$). In conclusion, feeding gluconic acid reduces the postweaning growth-check in piglets.

INTRODUCTION

Précédemment, il a été montré que l'acide gluconique (AG) était mal absorbé dans le tractus gastro-intestinal (Asano *et al.* 1997), mais qu'il était sujet à une fermentation capable de stimuler la production de butyrate. Tsukahara *et al.* (2002) ont décrit que les bactéries lactiques sont capables de fermenter l'AG en lactate et en acétate et que ces composés sont ensuite transformés en butyrate par des bactéries utilisant ces acides. Le butyrate est la principale source d'énergie des cellules épithéliales du gros intestin. En outre, il agirait, probablement de manière indirecte comme un métabolite signal dans l'homéostasie des cellules épithéliales, sur le contrôle de la fonction de barrière intestinale et au niveau de la régulation de la production de cytokines dans l'intestin grêle (Bedford et Gong, 2018). De ce fait, l'objectif de cette étude est de montrer que l'ajout d'AG dans l'aliment pourrait améliorer les performances des porcelets par un effet prébiotique en modifiant le microbiome et les schémas de fermentations

1. MATERIEL ET METHODES

Au total, 144 porcelets au sevrage ont été utilisés au cours de l'essai durant 42 jours. De j0 à j14, un régime 1^{er} âge à base de protéines de céréales et de pommes de terre, de produits issus de soja et de protéines de pomme de terre a été administré,

suivi d'un régime 2^{ème} âge à base de céréales et de soja jusqu'à j42. A leur arrivée, les porcelets sont répartis selon leur sexe et leur poids dans 24 enclos avec 6 porcelets par enclos. Chacun des trois traitements étudiés est appliqué à huit cases contenant six porcelets avec les doses d'AG suivantes : T1, régime témoin ; T2, AG à 0,9%; et T3, AG à 1,8%. Les poids des porcelets et de la nourriture ont été pesés ainsi que les volumes d'eau consommée ont été mesurés à J0, J14, J28 et J42. Les paramètres de performances décrits dans le tableau 1 ont été analysés pour toutes les périodes. Après 21 jours, tous les porcelets ont été pesés, les refus de nourriture et la consommation d'eau ont été mesurés (données non présentées). Un porcelet dont le poids corporel était le plus proche du poids moyen par enclos a été sélectionné dans chaque case et euthanasié (pris en compte dans les calculs de performances). Le sang a été prélevé pour déterminer les paramètres hématologiques et biochimiques. L'ensemble du tractus gastro-intestinal a été prélevé et les différents contenus ont été recueillis afin de déterminer le pH, la teneur en matière sèche, acide lactique, et acides gras à courtes chaînes (SCFA) et les dénombrements des principales espèces bactériennes par étalement sur géloses sélectives (*Escherichia coli*, lactobacilles, streptocoques et anaérobies totales). Une analyse métagénomique a été réalisée sur les digestas distaux de l'intestin grêle et du côlon moyen après broyage et extraction de l'ADN génomique. La région hypervariable V1-V3 du gène

bactérien de l'ADNr 16S a été amplifiée en utilisant les amorces E9-E29 et E514-530. Les amplicons ont ensuite été séquencés sur la plate-forme Illumina Miseq et les données obtenues ont été lues et analysées selon De Witte *et al.* (2019). L'unité expérimentale pour toutes les variables est l'enclos avec trois traitements et huit cases par traitement (n = 8). Un modèle linéaire généralisé à effet de traitement fixe a été utilisé avec le test de Tukey pour comparer les moyennes dans SAS Enterprise.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

L'ajout d'AG dans la ration a eu un effet notable sur les performances au cours de la phase 1^{er} âge (Tableau 1) : les valeurs de poids corporel (j14) et de gain moyen quotidien montrent une tendance à la hausse ($P < 0,10$) à la fin de cette période. De plus, la consommation moyenne journalière augmente de manière significative ($P < 0,05$). En outre, une tendance à la baisse du rapport consommation eau : aliment a été observée ($P < 0,10$). Les performances de la période 2^{ème} âge sont similaires, bien que seule la CMJ soit augmentée de manière significative (T2 et T3 supérieurs à T1, $P < 0,05$), malgré un poids corporel présentant une tendance plus élevée ($P = 0,061$) à la fin de l'étude chez les porcelets ayant reçu l'AG (+1,3 et 0,9 kg par rapport à T1, respectivement pour T2 et T3).

Tableau 1 – Effets chez les porcelets de l'AG dans la ration sur les performances¹ selon la période

% Acide gluconique	T1 : 0	T2 : 0,9	T3 : 1,8	EC ²	P
d0-14					
PV Initial, kg	8,16	8,18	8,17	0,02	0,937
PV final, kg	9,49	10,07	9,90	0,11	0,061
GMQ, g/j	95	135	124	8	0,069
CMJ, g/j	181 ^b	224 ^a	205 ^{ab}	7	0,028
IC, g/g	2,10	1,70	1,71	0,09	0,108
CMEJ, mL/j	596	675	627	21	0,355
E:A, mL/g	3,3	2,9	3,1	0,1	0,095
d14-42					
PV final, kg	21,3	22,6	22,2	0,3	0,157
GMQ, g/j	416	445	437	8	0,325
CMJ, g/j	569 ^b	626 ^a	624 ^a	11	0,038
IC, g/g	1,41	1,43	1,45	0,01	0,352
CMEJ, mL/j	1470	1662	1642	66	0,488
E:A, mL/g	2,5	2,6	2,7	0,1	0,787
d0-42					
GMQ, g/j	309	341	332	7	0,147
CMJ, g/j	424 ^b	481 ^a	471 ^a	10	0,026
IC, g/g	1,47	1,46	1,48	0,01	0,834
CMEJ, mL/j	1157	1303	1245	49	0,532
E:A, mL/g	2,7	2,7	2,7	0,1	0,955

¹PV : poids vif, GMQ : gain moyen quotidien, CMJ : consommation moyenne journalière, IC : indice de consommation, CMEJ : consommation moyenne d'eau journalière, E:A : ratio eau consommée/aliment consommé ; 8 cases par lot, ²EC : erreur type de la moyenne. Les lettres en indice indiquent une différence significative dans la ligne au seuil de $P < 0,05$.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Asano T., Yuasa K., Yoshimura Y., Takenawa S., Fukuba H., 1997. Digestion, absorption and intestinal residue of various gluconic acids in rats. J. Jpn. Soc. Food. Sci., 50, 287–294.
- Bedford A., Gong J., 2018. Implications of butyrate and its derivatives for gut health and animal production. Anim. Nutr., 4, 151-159.
- De Witte C., Demeyere K., De Bruyckere S., Taminiau B., Daube G., Ducatelle R., Meyer E., Haesebrouck F., 2019. Characterization of the non-glandular gastric region microbiota in *Helicobacter suis*-infected versus non-infected pigs identifies a potential role for *Fusobacterium gastrois* in gastric ulceration. Vet. Res., 50, 39.
- Tsukahara T., Koyama H., Okada M., Ushida K., 2002. Stimulation of butyrate production by gluconic acid in batch culture of pigs cecal digesta and identification of butyrate-producing bacteria. J. Nutr., 132, 2229-2234.

Les porcelets prélevés à J21 ont un nombre moins élevé de globules blancs pour la dose T3, dû à un nombre particulièrement réduit de lymphocytes ($P < 0,05$ par rapport à T1), et une tendance à une diminution du nombre de neutrophiles ($P = 0,060$) qui indiquera des statuts infectieux plus faibles. De plus, les taux plasmatiques d'urée diminuent significativement ($P < 0,05$) en présence d'AG (respectivement de 3,8, 2,6 et 2,6 mmol/L pour T1, T2 et T3), ce qui corroborera la diminution du rapport E:A observée durant la phase 1^{er} âge. Par ailleurs, une tendance à la réduction du nombre de *E. coli* dans l'intestin grêle distal est observée (1 log de réduction T3 vs T1, $P = 0,064$). Dans les contenus caecaux, une augmentation de la production de butyrate et de valérate a été constatée ($P > 0,05$) avec une augmentation du pourcentage molaire du butyrate par rapport aux SCFA totaux (10,0, 12,9 et 14,7% pour T1, T2 et T3, respectivement. $P < 0,05$). Des observations similaires ont été faites pour les contenus de la partie médiane du colon. L'analyse de la composition du microbiote par métagénomique a montré que, dans l'intestin grêle distal, seuls deux niveaux d'unités taxonomiques opérationnelles (OTU) étaient significativement affectés par le traitement ($P < 0,05$): *Lactobacillus amylovorus* et *Veillonella* AY445131.1.1524, le premier augmentant linéairement et le dernier diminuant de manière linéaire avec des concentrations croissantes en AG dans la ration. Cela souligne que l'AG stimule considérablement les producteurs d'acide lactique mais aux dépens d'autres *Lactobacillus* spp. (*L. johnsonii* et *L. reuteri*) et *Veillonella* AY445131.1.1524, une bactérie Gram - consommant l'acide lactique. Au niveau de la partie moyenne du colon, l'abondance des espèces bactériennes est modifiée de la manière suivante : diminution de *Prevotella* 9 HQ716341.1.1469 (5,9 contre 10,0% pour T3 et T1, $P < 0,05$), augmentation de *Faecalibacterium prausnitzii* et *L. amylovorus* (7,2 contre 2,8% pour T3 et T1, $p < 0,05$ et 5,6 contre 1,1% pour T3 et T1, $P < 0,05$). Les acides produits (lactate, SCFA) peuvent ensuite être convertis en butyrate par *Megasphaera elsdenii* et *Mitsuokella multacida* (Tsukahara *et al.* 2002). En effet, ces deux espèces augmentent de manière dose-dépendante dans le côlon, en particulier pour *M. elsdenii* (1,7, 1,6 et 3,7% pour T1, T2 et T3, respectivement).

CONCLUSION

L'ajout de 0,9 et 1,8% d'AG dans la ration des porcelets améliore la prise alimentaire et permettra d'améliorer les performances immédiatement après le sevrage. En effet, en raison de modifications importantes de l'abondance relative des bactéries productrices d'acide lactique et des bactéries utilisant les acides, il en résulte une augmentation de production de butyrate au niveau de l'intestin postérieur. L'utilisation d'acide gluconique dans la ration chez le porcelet modifie des indices de la santé intestinale et de la fonction immunitaire qui apporte un bénéfice sur les performances zootechniques.