

# La meilleure croissance des porcelets grâce aux additifs antimicrobiens est associée à l'amélioration de la fonction barrière intestinale

Alessandro MEREU, Jose PASTOR, Gemma TEDO, Ignacio. R. IPHARRAGUERRE

LUCTA, SA - Innovation Division, Carrer de Can Parellada, 28, UAB Research Park, Eureka, 08170 Montornès del Vallès, Espagne

gemma.tedo@lucta.com

Avec la collaboration de Carles COLOM, Jordi FORNES, Almudena MARTINEZ et François DENIEUL

## Pig growth promotion by antimicrobials is associated with enhanced intestinal barrier function

Antimicrobial additives (AMA) have long been used to treat infections and promote pig growth. Published evidence suggests that some AMA have a direct anti-inflammatory effect on the intestine. Therefore, it seems reasonable to expect that the growth-promoting effect of AMA may be related to improvements in the gut barrier function. To test this hypothesis, 24 piglets were weaned ( $5.8 \pm 0.34$  kg), housed individually, and fed standard pre-starter (from weaning to d 14) and starter (from d 15 to d 42) diets without (CON,  $n = 12$ ) or with (AMA,  $n = 12$ ) antimicrobial compounds (pre-starter, 40 g/T tiamulin, 400 g/T chlortétracycline and 2500 g/T zinc oxide; starter, 40 g/T tiamulin, 110 g/T chlortétracycline and 2500 g/T zinc oxide). On d 42, segments of mid-ileum were harvested from 8 pigs/treatment and mounted on Ussing chambers for measurements of trans-epithelial electrical resistance (TER) and short circuit current ( $I_{sc}$ ). On average, animals in the AMA group did not consume more feed (507 vs 480 g/d), but gained more BW (377 vs 328 g/d,  $P < 0.01$ ) and grew more efficiently (0.82 vs 0.78;  $P < 0.01$ ) than CON pigs. As a result, AMA animals finished the study with a higher BW (18.7 vs 16.8;  $P < 0.01$ ). Furthermore, AMA increased TER (163 vs 115  $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ,  $P = 0.02$ ) and decreased  $I_{sc}$  (2.2 vs 6.1  $\mu\text{A cm}^2$ ;  $P < 0.05$ ). In conclusion, AMA feed supplementation resulted in improved animal growth and this response was associated with improved gut barrier function.

## INTRODUCTION

Les additifs antimicrobiens (AMA) sont encore utilisés dans l'aliment porc à des fins thérapeutiques. Cependant, depuis 2006, leur utilisation est interdite dans l'UE comme facteur de croissance. Bien que les données publiées indiquent que les AMA aient un effet anti-inflammatoire direct sur l'intestin, on n'en sait peu sur les effets des AMA sur l'intégrité intestinale (Niewold, 2007). Récemment, nous avons montré que les performances de porcelets nourris avec des aliments non médicamenteux pouvaient être améliorées en empêchant le dysfonctionnement de la barrière intestinale induit par le sevrage (Mereu *et al.*, 2015). Par conséquent, il semble raisonnable de penser que l'amélioration de la croissance par les AMA est en partie liée à l'amélioration de la fonction de la barrière intestinale. L'objectif de cette étude était de tester cette hypothèse chez les porcelets en post-sevrage pour pouvoir l'utiliser après comme modèle expérimental.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Animaux

L'essai a été conduit à la ferme expérimentale de Lucta (Sant Aniol de Finestres, Espagne).

Au total, 24 porcelets croisés (Landrace  $\times$  Large White)  $\times$  Piétrain non sexés, sevrés à  $21 \pm 2$  jours de vie avec un poids vif (PV) moyen de  $5,8 \pm 0,3$  kg, ont été utilisés.

### 1.2. Logement et programme alimentaire

Les porcs étaient logés individuellement (0,7 m<sup>2</sup> /porcelet) à partir du sevrage (J1), pendant 42 jours après le sevrage. De J1 à J15, les porcelets ont reçu un aliment pré-starter contenant 19,5% de matières azotées totales (MAT), 3550 kcal d'énergie métabolisable (EM)/kg puis, de J16 à J42 un aliment starter avec 19,0% MAT et 3340 kcal EM/kg.

Les deux aliments étaient formulés selon les recommandations du NRC (2012). Tous les animaux étaient alimentés *ad libitum* pendant toute la période expérimentale.

### 1.3. Traitements expérimentaux

Les porcelets ont reçu un régime sans (CON,  $n = 12$ ) ou avec (AMA,  $n = 12$ ) les additifs antimicrobiens (pré-starter, 40 g/T de tiamuline, 400 g/T de chlortétracycline et 2500 g/T de ZnO ; starter, 40 g/T de tiamuline, 110 g/T chlortétracycline et 2500 g/T de ZnO).

#### 1.4. Mesures expérimentales

Le PV individuel et la consommation de l'aliment ont été mesurés chaque semaine jusqu'à J35. À J42, les porcelets ont été étourdis par cheville perforante et euthanasiés par exsanguination. Les segments de l'iléon moyen (4 échantillons par porcelet) de 8 porcelets par traitement, à jeun pendant 2 heures avant l'abattage, ont été collectés pour des mesures de résistance électrique trans-épithéliales (TER;  $\Omega$  par  $\text{cm}^2$ ) et de courant de court-circuit (*I*<sub>sc</sub>;  $\mu\text{A}$  par  $\text{cm}^2$ ) dans des chambres d'Ussing. Les échantillons de muqueuse intestinale ont été décapés de la couche séreuse-musculaire dans un bullage de carbogène (95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub>) de solution Ringer (en mmol/l: 115 NaCl, 2,4 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,4 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,2 CaCl<sub>2</sub>, 1,2 MgCl<sub>2</sub>, 25 NaHCO<sub>3</sub>, pH 7,4). Ensuite, cette muqueuse iléale a été montée dans une chambre d'Ussing avec 1  $\text{cm}^2$  de surface (Physiologic Instruments, San Diego, USA) en présence de 10 mL de solution Ringer. La solution utilisée du côté de la séreuse contenait 10 mM de glucose comme source d'énergie pour maintenir le tissu vivant, et celle utilisée du côté de la muqueuse contenait 10 mM de mannitol pour l'équilibre osmotique. Toutes les solutions utilisées ont été maintenues oxygénées à 37°C pendant tout l'essai. Après 30 minutes d'équilibration des solutions dans les chambres d'Ussing, des mesures de TER et *I*<sub>sc</sub> ont été collectées à intervalles de 15 minutes pendant 1 heure pour obtenir la valeur moyenne de chaque animal. Toutes les procédures expérimentales ont obtenu l'approbation du comité de protection et d'utilisation des animaux de l'Université Autonome de Barcelone.

#### 1.5. Analyses statistiques

Les données de performance ont été soumises à une analyse de la variance sur mesures répétées en utilisant un modèle mixte, le porc étant l'effet aléatoire, et le traitement, la semaine et leur interaction étant les effets fixes. Les données des chambres d'Ussing ont été soumises à une analyse de la variance en utilisant un modèle mixte, le porc étant l'effet aléatoire et le traitement étant l'effet fixe. Les résultats ont été considérés significatifs à  $P < 0,05$ . Toutes les données ont été analysées avec le logiciel SAS (version 9.2., 2002, Inst. Inc. Cary, NC).

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

En moyenne, les porcelets du groupe AMA n'ont pas consommé plus que le témoin mais avaient une meilleure croissance et efficacité alimentaire que le groupe CON. Par conséquent, les animaux du groupe AMA avaient un PV plus

élevé à J42 (Tableau 1). D'autre part, la mesure TER du groupe AMA a augmenté (136,3 contre  $115,0 \pm 6,37 \Omega \text{ cm}^2$ ,  $P = 0,02$ ) et la mesure *I*<sub>sc</sub> a diminué (2,23 vs.  $6,09 \pm 0,14 \mu\text{A cm}^2$ ;  $P < 0,05$ ). La technique de mesure en chambre d'Ussing permet d'apprécier le transport actif des ions. Les paramètres électriques *I*<sub>sc</sub> et TER permettent de vérifier l'intégrité intestinale et leur fonction de barrière. Des études sur l'intégrité intestinale des porcelets ont montré que la valeur *I*<sub>sc</sub> augmentait et la valeur TER diminuait lors du sevrage (Boudry, 2005). Par contre, les valeurs *I*<sub>sc</sub> moindres et TER élevés indiqueraient une réduction du flux d'ions et par conséquent une meilleure fonction barrière intestinale (Moeser *et al.*, 2007). Dans cette étude, les résultats suggèrent que les AMA dans l'aliment porcelet après le sevrage ont un effet positif sur la fonction barrière intestinale et, ainsi, améliorent les performances des porcelets pendant cette phase critique.

**Tableau 1** – Comparaison des performances des porcelets des groupes témoin (CON) et additifs antimicrobiens (AMA) pendant l'ensemble de la période d'étude

Traitement	CON	AMA	ETR	<i>P</i> <sup>2</sup>
Poids vif initial, kg	5,8	5,8	0,17	0,93
Poids vif final, kg	16,8	18,7	0,34	< 0,01
Aliment consommé, g/j	480	507	14	0,20
Vitesse de croissance, g/j	328	377	12	< 0,05
Efficacité alimentaire, g/g	0,78	0,82	0,009	< 0,01

<sup>1</sup> ETR : écart type résiduel

<sup>2</sup> Analyse de variance avec en effets fixes le traitement (*P*-value indiquée), la semaine et leur interaction, et en effet aléatoire le porc. Les valeurs indiquées correspondent à la moyenne ajustée des performances obtenues par semaine

## CONCLUSION

En conclusion, la supplémentation de l'aliment avec des AMA a amélioré les performances des porcelets après le sevrage. Les modifications des performances ont été associées avec l'amélioration de la fonction de la barrière intestinale. D'autres études sont nécessaires pour clarifier le mode d'action par lequel les AMA agissent sur les propriétés de barrière intestinale afin d'aider à la recherche d'additifs zootechniques.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Boudry G., 2005. The Ussing chamber technique to evaluate alternatives to in-feed antibiotics for young pigs. Anim. Res. 54, 219–230.
- Mereu A., Tedo G., Charve J., Moeser A., Ipharraguerre I.R., 2015. Réduire la perméabilité au sevrage améliore les performances des porcelets. Journées Rech. Porcine, 47, 131-132.
- Moeser A.J., Vander Kloek C., Ryan K.A., Wooten J.G., Little D., Cook V.L., Blikslager A.T., 2007. Stress signaling pathways activated by weaning mediate intestinal dysfunction in the pig. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 292, 173–181.
- Niewold T.A., 2007. The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis. Poul. Sci. 86, 605–609.
- NRC, Nutrient requirements of swine, 2012, 11<sup>th</sup> rev.ed. The National Academies Press, Washington, D.C. USA, 210 p.