

INFLUENCE DU SEVRAGE ET DE L'ADDITION DE LEVURES VIVANTES SUR LA POPULATION BACTÉRIENNE FÉCALE CHEZ LE PORCELET

ELIZABETH KING¹, PHILIP RICHARDS¹, ARNAUD SAMSON², ERIC SCHETELAT³, MÉLANIE LE BON¹, CHRISTINE E.R. DODD¹, ERIC CHEVAUX⁴, MATTHIEU BAULEZ⁴, KENNETH H. MELLITS¹

¹University Of Nottingham/Lallemand Monogastric Centre of Excellence, Loughborough, LE12 5RD, UK

²In Vivo NSA, Rue de l'Eglise, CS 90019, 02402 Château-Thierry Cedex, France

³INZO SAS, 1 rue de la Marébaudière, BP 96669, 35766 Saint-Grégoire Cedex, France

⁴Lallemand SAS, Blagnac, 31702, France - echevaux@lallemand.com



The University of
Nottingham

in vivo
Nutrition et Santé Animales

INZO
Innovation en Nutrition et Élevage



INFLUENCE OF WEANING AND LIVE YEAST ON FAECAL BACTERIA POPULATIONS IN PIGS

The current study describes how the diversity of faecal bacteria is affected by weaning and incorporation of live yeast into the post-weaning diet of pigs. Pigs were weaned at 28 days of age onto an experimental weaner diet with or without *Saccharomyces cerevisiae* boulardii CNCM I-1079 (4×10^6 CFU/g in feed, plus an extra dose of 3×10^9 CFU delivered through oral drenching). A longitudinal analysis was performed, collecting faecal samples of the same individual pigs pre-weaning and at +4 and +11 days post-weaning. Culture-based and next generation sequencing (16S rDNA) approaches were used to describe the diversity and composition of the faecal bacterial community. We observed that a different and characteristic bacterial diversity depicts the faecal bacteria microbiota of individual pigs at weaning and after both 4 and 11 days post-weaning. In addition, our results show a difference in bacterial diversity and community structure between pigs fed live yeast versus control and that this difference may be attributable to changes in the composition of low abundance taxa. The specific changes on microbiota induced by adding live yeast to pig diets will then be investigated.

INTRODUCTION

Le sevrage précoce des porcelets s'accompagne d'un ralentissement de la croissance et souvent de diarrhées, dus aux effets du changement d'alimentation radical, à la perturbation du transfert d'immunité maternelle et au mélange de porcelets de portées différentes. Ces troubles de la santé intestinale sont probablement liés au rôle complexe joué par la composition bactérienne du microbiote intestinal (la résistance à la colonisation par des pathogènes) sur l'expression d'une réponse immunitaire inappropriée aux antigènes alimentaires et microbiens. Nous décrivons ici l'effet du sevrage sur le microbiote bactérien chez le porc durant la période de sevrage et comment une levure vivante probiotique affecte la microflore fécale autour du sevrage.



Gavage du porcelet

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Essai animal et collecte d'échantillon

- Animaux et collecte d'échantillons
- 2x3 porcs sevrés (28 jours d'âge)
- Nourris avec un aliment 1er âge à base de blé
- Supplémentation en *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1079 (Levucell SB, Lallemand SAS):
 - 4x10⁹ UFC/kg d'aliment
 - 3x10⁹ UFC/j en dosage oral les 5 premiers jours après le sevrage (Placébo pour le Témoin)
- Echantillons fécaux prélevés à J0 (sevrage), J4 et J11

Analyses microbiennes et moléculaires

- Entérobactéries : gélose glucosée biliaire au cristal violet et au rouge neutre (VRBG)
- Extraction ADN bactérien : mini kit QIAamp DNA stool (QIAGEN Ltd, UK) avec une étape de fractionnement à billes
- Amplification de la région variable V6-V8 du gène 16S de l'ARNr
- Pyroséquençage des amplicons sur une plateforme de titane GS FLX (Roche 454 Life Sciences, Connecticut, US)

Analyse statistique

Les séquences brutes ont été analysées à l'aide des logiciels Mothur et Schloss 454 SOP (Schloss et al., 2011). Des analyses métagénomiques ont été effectuées en calculant la β -diversité et en utilisant la distance UniFrac (Lozupone et Knight, 2005). La structure de la population bactérienne fécale de chaque porc (diversité α) est décrite par l'indice de Diversité de Shannon (SD), qui prend en compte la richesse des espèces et leur abondance relative. Les données obtenues par méthode culturale ont été analysées par régression linéaire (Genstat v15, VSN, Intl., UK).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le sevrage modifie la structure du microbiote fécal

- Diversité microbienne (Indice de Shannon, SD) non affectée ($P > 0,05$) par le sevrage
- Or, tendance à un SD plus faible le jour du sevrage (**Figure 1B**)
- Structure bactérienne différente pour ces mêmes porcelets à J0 mais aussi à J4 et J11 (**Figure 1A**)
- Proportion accrue des Gamma Proteobacteria pour les cas présentant un faible SD à J4 et J11 (également corrélé à des scores diarrhéiques plus élevés)
- Augmentation significative ($P < 0,05$) des Enterobacteriaceae (incluses dans les Gamma Proteobacteria) entre J0 et J11.

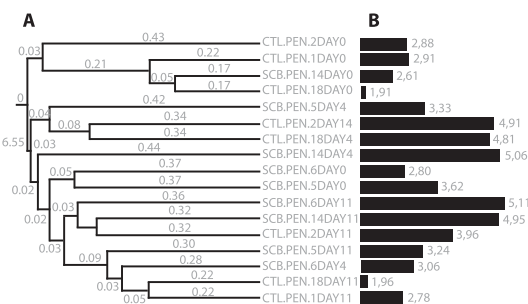


Figure 1. Analyse de la population microbienne des porcs en péri-sevrage (jours 0, 4 et 11) ($n = 6$ porcelets (cases)). Traitement : CTL = Témoin, SB = *S. cerevisiae* CNCM I-1079. A : classification hiérarchique de la diversité ; B : indice de diversité de Shannon

Le sevrage et la supplémentation avec SB entraînent des changements distincts du microbiote fécal

- Plus grande similarité entre les populations bactériennes d'individus différents au même âge qu'entre celles du même individu à des périodes distinctes (**Figure 2A**).
- Changement spécifique de la diversité microbienne avec SB, quelle que soit la période (**Figure 2B**)
- Microbiote des individus non supplémentés (pré-sevrage) est distribué de chaque côté des axes 2 et 3 de l'ACoP.

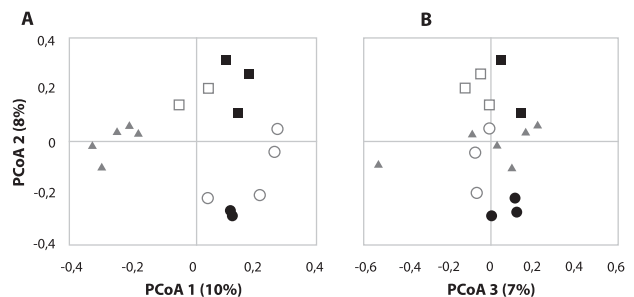


Figure 2. ACoP de la communauté bactérienne (UNIFRAC non-pondéré). Chaque point correspond à la population microbienne d'un porc, les formes indiquant différentes périodes : Δ : J0, $\square$: J4, $\circ$: J11, et la couleur indiquant le traitement : Avant traitement (gris), Témoin (noir), SB (blanc). L'axe 1 illustre l'âge du porcelet et l'axe 3 reste indéfini.

CONCLUSION

- Diversité microbienne spécifique et variée du microbiote fécal autour du sevrage
- Forte abondance des séquences de Gamma Proteobacteria très liée à une faible diversité bactérienne
- Réelle activité de la souche SB sur l'équilibre de la flore intestinale d'après les populations distinctes entre porcs ayant reçu ou non la levure vivante
- Le mode d'action de SB sur ces changements est à l'étude

Références bibliographiques

- Konstantinov S.R., Poznanski E., Fuentes S., Akkermans A.D.L., Smidt H., de Vos W.J.M., 2006. *Lactobacillus sobrius* sp. nov., a novel isolate abundant in the intestine of weaning piglets. Int. J. Syst. Evol. Micr., 56, 29–32.
- Lozupone C., Knight R., 2005. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. Appl. Environ. Microbiol., 71, 8228–8235.
- Schloss P.D., Gevers D., Westcott S.L., 2011. Reducing the effects of PCR amplification and sequencing artifacts on 16S rRNA-based studies. PLoS ONE, 6:e27310 (accessed 22/09/2014).
- Stecher B., Robbani R., Walker A.W., Westendorf A.M., Barthel M., Kremer M., Chaffron S., Macpherson A.J., Buer J., Parkhill J., Dougan G., von Mering C., Hardt W.D., 2007. *Salmonella enterica* serovar typhimurium exploits inflammation to compete with the intestinal microbiota. PLoS Biol., 5, 2177–2189.