

Effet des galacto-oligosaccharides sur la maturation intestinale et les performances de porcelets nouveau-nés

Sofie TANGHE (1), Jan VANDE GINSTE (1), Bart MATTON (1), Romain D'INCA (1), José WAVREILLE (2), Nadia EVERAERT (3)

(1) Nutrition Sciences NV, Booiebos 5, 9031 Gent, Belgique

(2) Centre wallon de Recherches agronomiques, Rue de Liroux 9, 5030 Gembloux, Belgique

(3) University of Liège, TERRA Teaching and Research Unit, Gembloux Agro-Bio Tech, Passage des Déportés 2, 5030 Gembloux, Belgique

sofie.tanghe@nusciencgroup.com

Effect of a galacto-oligosaccharide enriched concept on gut maturation and performance of neonatal piglets

In humans, milk oligosaccharides have proven prebiotic effects. Therefore, the aim of this study was to examine the effect of galacto-oligosaccharides (GOS) on gut maturation of piglets *in vitro* and *in vivo*. First, the effect of GOS on transepithelial electrical resistance (TEER), as an indicator of the integrity of the gut barrier, was tested *in vitro*. Second, a piglet trial was conducted in which two treatments (control vs. GOS-enriched concept) were compared (3 sows/treatment × 6 piglets/sow). The piglets received the treatments daily via forced feeding, from 1-21 days after birth. Piglets were individually weighed at birth, day 7 and day 14. On day 21, 12 piglets per treatment were euthanized, and intestinal samples were taken for analysis of histology and microbiology, as parameters of early gut maturation. The *in vitro* test showed that GOS increased TEER ($P < 0.05$), indicating the protective effect of GOS on the gut barrier. *In vivo*, supplementing piglets with the GOS-enriched concept resulted in higher body weight at day 7 (+690g) and day 14 (+960 g) compared to the control piglets ($P < 0.05$). There was no significant difference in lactobacilli and Enterobacteriaceae colony-forming units, but numerically lactobacilli counts were higher whereas Enterobacteriaceae counts were lower in the stomach and ileum after supplementation with the GOS-enriched concept, which may suggest the prebiotic effect of GOS. In the jejunum, non-significant increases of villus height from 426 to 671 μm ($P = 0.16$), and of villus:crypt from 1.73 to 3.53 ($P = 0.13$) were observed. From this study, it can be concluded that supplementing neonatal piglets with GOS may have beneficial effects on gut maturation and piglet performance.

INTRODUCTION

La sélection génétique pour augmenter la taille des portées a favorisé l'apparition de porcelets légers et moins matures à la naissance. Ces porcelets ingèrent également moins de colostrum et de lait. Pourtant, le lait de truie contient des oligosaccharides aux effets prébiotiques (PMO) essentiels au développement du porcelet et à la maturation du tube digestif (Wei *et al.*, 2018). De tels oligosaccharides sont également retrouvés dans le lait humain (HMO). Mudd *et al.* (2016) ont identifié 24 oligosaccharides communs aux deux espèces sur 60, confirmant la forte similarité de leur composition. En nutrition infantile, les laits de substitution sont fréquemment enrichis en galacto-oligosaccharides (GOS) afin de reproduire les effets des HMO. Considérant les similarités entre HMO et PMO, cette étude explore l'effet des GOS sur la maturation du système digestif et les performances de croissance des porcelets nouveau-nés *in vitro* et *in vivo*.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Etude *in vitro*

Des tests *in vitro* ont été réalisés pour évaluer les effets des GOS sur l'intégrité de la muqueuse digestive. Des cellules

intestinales Caco-2 ont été incubées en présence du concept enrichi en GOS à 2% dans des plaques Transwell®, 24 puits, en présence de déoxynivalénol (DON) afin d'induire un stress, aux concentrations 0 μM (témoin), 2,5 μM (stress modéré) ou 20 μM (stress élevé). Après incubation pendant 0, 4, 24 et 48 h, la résistance électrique transépithéliale (TEER) a été déterminée. La perméabilité intestinale a été mesurée par addition de 100 μM de Jaune Lucifer, pré-dissout dans le milieu de culture, au pôle apical des puits. La fluorescence à 428/535 nm d'une aliquote de 200 μL du pôle basolatéral a été déterminée par un lecteur de plaques SpectraMax®.

1.2. Etude *in vivo*

Les effets des GOS ont été déterminés sur la maturation intestinale et la croissance de porcelets nouveau-nés. L'étude conduite au Centre wallon de Recherches agronomiques a comparé deux régimes : témoin vs concept enrichi en GOS. Le protocole a bénéficié d'un avis favorable de la Commission d'Ethique de l'ULg sous la référence 14-1640. Trois truies et six porcelets par portée (trois mâles et trois femelles, Piétrain × Landrace) ont été inclus. Les régimes expérimentaux ont été distribués deux fois par jour par gavage du lendemain de la naissance (J1) à J21 (2,5 mL/administration la première semaine puis 5 mL). La solution contrôle a été préparée sur une base

aqueuse contenant de l'huile de coco, du dextrose et un agent gélifiant. Dans la solution enrichie en GOS, 5% d'eau ont été remplacés par 5% du concept enrichi en GOS (START+, Nuscience, Tronchienne, Belgique). Les porcelets ont reçu un aliment dès J5.

Les porcelets ont été pesés individuellement à la naissance, à J7 et à J14. A J21, 12 porcelets par traitement ont été euthanasiés. Des contenus digestifs de l'estomac, de l'iléon et du colon ont été prélevés pour des dénombrements bactériens (unités formant colonies, UFC) sur des milieux de culture adéquats (gélose Man-Rogosa-Sharpe et Cristal Violet/Rouge Neutre pour les lactobacilli et les Enterobacteriaceae, respectivement). Des échantillons d'iléon et de jéjunum ont été prélevés pour déterminer la hauteur des villosités et la profondeur des cryptes.

Le logiciel R (2018) a permis de traiter les données *in vitro* de TEER et de perméabilité à l'aide d'un test-t de Student pour échantillons indépendants et *in vivo* par un modèle linéaire mixte. Le sexe, le traitement et l'interaction sexe x traitement ont été considérés comme des effets fixes et la portée (trouie) comme un effet aléatoire. L'unité expérimentale était le porcelet. La méthode de Tukey a été utilisée pour les comparaisons post hoc dans l'étude *in vivo*. Les différences statistiques ont été considérées comme significatives pour $P < 0,05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

In vitro en l'absence de DON, la présence des GOS augmente significativement la TEER après 4 et 24 h par rapport au témoin. Une augmentation de la TEER est également observée en présence de DON (significative après 4 h, $P < 0,05$, Tableau 1).

Tableau 1 – Résistance électrique transépithéliale
Expression en % par rapport à T0 (100 % = 895 ± 187 Ohm/puit) ; témoin $6 \leq n \leq 8$, GOS $3 \leq n \leq 4$

DON, µM	Incubation, h	Témoin, %	GOS, %
0	4	77 ± 13	97 ± 1*
	24	75 ± 10	108 ± 10*
	48	54 ± 12	95 ± 35
2,5	4	67 ± 28	100 ± 12*
	24	83 ± 7	103 ± 25
	48	71 ± 16	143 ± 96
20	4	74 ± 16	95 ± 8*
	24	31 ± 10	53 ± 21
	48	22 ± 4	42 ± 22

* différence significative par rapport aux cellules non-traitées, $P < 0,05$

Le passage du Jaune Lucifer était numériquement plus faible pour le traitement en GOS par rapport aux cellules non traitées (NS) et significatif à 4 et 48 h pour le stress modéré en DON

($P < 0,05$). En accord avec l'étude *in vitro* de Akbari *et al.* (2015), cela pourrait indiquer un effet protecteur des GOS sur la barrière intestinale. Alizadeh *et al.* (2016) et Tian *et al.* (2018) ont également observé une augmentation des ARNm ou des protéines des jonctions serrées chez des porcelets supplémentés en GOS, indiquant une amélioration de la fonction barrière du tube digestif.

L'administration du concept enrichi en GOS a augmenté le poids vif des porcelets à J7 (+690 g) et à J14 (+960 g) par rapport au témoin ($P < 0,05$; Figure 1).

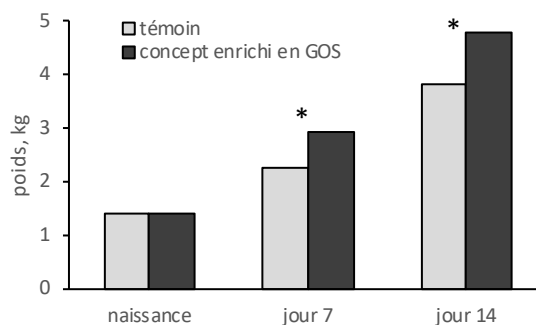


Figure 1 – Poids vif des porcelets après supplémentation quotidienne par une solution témoin ou enrichie en GOS

*différence significative par rapport au témoin, $P < 0,05$

Aucune différence n'a été observée pour les populations de lactobacilli et d'Enterobacteriaceae dans l'estomac, l'iléon ou le colon ($P > 0,05$). La variation de la population de lactobacilli dans l'estomac (2,3 à 3,6 log UFC/g) et l'iléon (6,3 à 6,7 log UFC/g) ainsi que celle de la population d'Enterobacteriaceae dans l'estomac (4,2 à 3,6 log UFC/g) et l'iléon (5,7 à 4,3 log UFC/g) observées après supplémentation par le concept enrichi en GOS, sont en accord avec l'observation d'Alizadeh *et al.* (2016) indiquant l'effet prébiotique d'une augmentation des populations de lactobacilli et de Bifidobacteria dans les fèces de porcelets supplémentés en GOS.

Aucune différence n'a été observée pour les mesures histologiques de l'iléon. Cependant, l'augmentation numérique de la hauteur des villosités de 426 à 671 µm ($P = 0,16$) et du ratio villosité/crypte de 1,73 à 3,53 ($P = 0,13$) dans le jéjunum suggère un effet bénéfique des GOS sur la maturation du tractus gastro-intestinal.

CONCLUSION

L'étude *in vitro* permet de conclure à un effet bénéfique des GOS sur la perméabilité et la fonction barrière intestinales. L'étude *in vivo* indique également que la supplémentation de porcelets nouveau-nés en GOS pourrait favoriser une amélioration des performances de croissance.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Akbari P., Braber S., Alizadeh A., Verheijden K.A.T., Schoterman M.H.C., Kraneveld A.D., Garssen J., Fink-Gremmels J., 2015. Galacto-oligosaccharides protect the intestinal barrier by maintaining the tight junction network and modulating the inflammatory responses after a challenge with the mycotoxin deoxynivalenol in human caco-2 cell monolayers and B6C3F1 mice. *J. Nutr.*, 145, 1604-1613.
- Alizadeh A., Akbari P., Difilippo E., Schols H.A., Ulfman L.H., Schoterman M.H.C., Garssen J., Fink-Gremmels J., Braber S., 2016. The piglet as a model for studying dietary components in infant diets: effects of galacto-oligosaccharides on intestinal functions. *Brit. J. Nutr.*, 115, 605-618.
- Mudd A.T., Salcedo J., Alexander L.S., Johnson S.K., Getty C.M., Chichlowski M., Berg B.M., Barile D., Dilger R.N., 2016. Porcine milk oligosaccharides and sialic acid concentrations vary throughout lactation. *Front. Nutr.*, 3:39, 1-10.
- R Core Team, 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org>.
- Tian S., Wang J., Yu H., Wang J., Zhu W., 2018. Effects of galacto-oligosaccharides on growth and gut function of newborn suckling piglets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 9:75, 1-11.
- Wei J., Wang Z.A., Wang B., Jahan M., Wang Z., Wynn P.C., Du Y., 2018. Characterization of porcine milk oligosaccharides over lactation between primiparous and multiparous female pigs. *Sci. Rep.*, 8:4688, 1-16.