



Effet d'une supplémentation en fructo-oligosaccharides à chaîne courte (scFOS) pour limiter l'infection causée par *Escherichia coli* chez le porcelet sevré

Cindy LE BOURGOT (1), Laia FERRERES-SERAFINI (2), Lorena CASTILLEJOS-VELÁZQUEZ (2), Susana M^a MARTIN-ORUE (2)

(1) Tereos, R&D, Rue de Senlis, 77230 Moussy-le-Vieux, France

(2) Université Autonome de Barcelone, Service de Nutrition et de Bien-être Animal (SNIBA), Barcelone, Espagne

cindy.lebourgot@tereos.com

Supplementation with short-chain fructo-oligosaccharides (scFOS) limits infection caused by *Escherichia coli* in weaned piglets

Post-weaning diarrhoea is an economically important multifactorial disease in pigs often involving pathogenic enterotoxigenic *Escherichia coli* strains. It is now necessary to find alternatives to the use of antibiotics to control these post-weaning infectious diarrhoeas. Our study consisted of evaluating effects of supplementing short-chain fructo-oligosaccharides (scFOS), a prebiotic known to modulate the gut microbiota, on the health of weaning pigs challenged with *E. coli* F4. A total of 48 piglets weaned at 21 days of age, and allocated to 16 pens, received a control diet or a diet supplemented with 0.5 % scFOS for 15 days. After 8 days of adaptation, 6 ml of *E. coli* F4 culture (3×10^9 CFU) were administered orally to the two groups. Four- and 8-days post-inoculation (PI) one piglet per pen was euthanized to collect blood, intestinal digesta and tissue samples. The scFOS supplementation modulated the composition of the faecal microbiota, illustrated mainly by an increase in the number of faecal lactobacilli 8 days PI and a trend for higher faecal concentration of short-chain fatty acids, particularly acetate and butyrate. The scFOS supplementation reduced plate counts of EHEC in the ileal mucosa, ileal and colonic content, and faeces 8 days PI. This reduction in intestinal colonization by *E. coli* resulted in a decrease in the percentage of piglets per pen with post-challenge diarrhoea 3 days PI in the scFOS group (37.1 % vs 71.0 % in control group). Our results demonstrate that adding scFOS to the post-weaning diet could represent a nutritional alternative to the use of antibiotics to limit post-weaning diarrhoea caused by *E. coli* infection.

INTRODUCTION

La diarrhée en post-sevrage est une maladie multifactorielle économiquement importante chez les porcs. Cette maladie apparaît fréquemment dans les deux semaines après le sevrage et est caractérisée par une diarrhée abondante, une perte de poids et une mortalité significative. Elle implique souvent des souches pathogènes d'*Escherichia coli* entérotoxigènes (ETEC). Ces bactéries ETEC adhèrent à l'épithélium de l'intestin grêle, provoquent une augmentation de la sécrétion d'eau et d'électrolytes dans la lumière générée par la libération d'entérotoxines, altérant ainsi les fonctions des entérocytes. Une sécrétion excessive d'électrolytes et d'eau entraîne une déshydratation, une acidose métabolique, une diarrhée osmotique, pouvant conduire à la mort (Rhouma *et al.*, 2017).

Il est aujourd'hui nécessaire de trouver des alternatives à l'utilisation d'antibiotiques en élevage porcin pour contrôler ces diarrhées infectieuses. Des solutions nutritionnelles existent et représentent une opportunité intéressante pour la filière. C'est notamment le cas des fibres prébiotiques. Celles-ci sont des ingrédients alimentaires capables d'induire des changements spécifiques dans la composition et/ou l'activité du microbiote intestinal, conférant des bénéfices pour la santé (Roberfroid *et al.*, 2010). Les fructo-oligosaccharides à courte chaîne (scFOS) figurent parmi les prébiotiques utilisés et reconnus pour leur efficacité dans la filière porcine (Le Bourgot *et al.*, 2014, 2016 et

2017 ; Apper *et al.*, 2016). Cependant, leurs effets directs en post-sevrage ont été moins étudiés, notamment sur la prévention des diarrhées infectieuses. Notre étude consistait ainsi à évaluer les effets d'une supplémentation en scFOS sur la santé des porcelets sevrés challengés avec *E. coli* F4, modèles de diarrhées infectieuses.

1. MATERIEL ET METHODES

L'expérimentation animale a été réalisée au sein de la ferme expérimentale (SGiCE) de l'Université Autonome de Barcelone (UAB, Espagne) avec l'approbation du comité d'éthique en expérimentation animale (N° CEAH 4026 ; DMAH 10118).

Au total, 48 porcelets sevrés à 21 jours, répartis dans 16 enclos, ont reçu un régime contrôle (groupe CTRL) ou un régime supplémenté avec 0,5 % de scFOS (groupe scFOS ; Profeed®) pendant 15 jours. Après 8 jours d'adaptation, 6 mL de culture *E. coli* F4 (3×10^9 CFU) ont été administrés par voie orale aux deux groupes d'animaux. A 4 et 8 jours post-inoculation (PI), un porcelet par enclos a été euthanasié pour prélever des échantillons de sang, de digesta et de tissus intestinaux. Des analyses microbiologiques et histologiques ont été réalisées pour dénombrer les lactobacilles et *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) dans la muqueuse iléale, le contenu iléal et colique, et les fèces, et étudier la morphologie de l'iléon. La production fécale d'acides gras à courte chaîne

(AGCC) a été mesurée à 0 et 8 PI, et les taux sériques de TNF- α et PigMap ont été évalués à 0, 4 et 8 PI par tests ELISA (Quantikine Porcine TNF- α kit et PigMap kit).

Les données ont été analysées par ANOVA incluant l'effet traitement comme facteur fixe en utilisant le logiciel R (version x64 4.0.3). Les différences significatives sont définies avec une P-value $\leq 0,05$ et les tendances avec une P-value $\leq 0,10$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les analyses histologiques au niveau iléal à 8 PI indiquent que la supplémentation en scFOS tend à réduire le ratio longueur villosités/profondeur des cryptes (1,59 vs 1,29 ; $P = 0,078$) et le nombre de cellules en gobelet (13,2 vs 8,02 ; $P = 0,061$) suggérant une légère modification des capacités d'absorption et de sécrétion. A l'inverse, le nombre de cellules mitotiques augmente dans le groupe scFOS (0,52 vs 0,84 ; $P = 0,034$) indiquant une capacité de régénération plus importante en condition de challenge.

La supplémentation en scFOS a également modulé la composition du microbiote fécal à 8 PI, objectivée par une augmentation des lactobacilles et une production plus élevée d'AGCC, en particulier l'acétate et le butyrate (Tableau 1).

Tableau 1 – Contenu fécal en Lactobacilles et en AGCC chez les porcelets sevrés 8 jours post-inoculation (8 PI)¹

	CTRL	scFOS	ESR	P-value
Lactobacilles, log UFC/g	6,82	9,05	1,154	0,002
AGCC totaux, mM	77,4	93,2	15,11	0,063
Acétate, mM	44,7	52,7	7,18	0,050
Propionate, mM	17,1	20,3	3,83	0,125
Butyrate, mM	9,3	12,7	3,19	0,062

¹ESR : erreur standard relative ; N = 8 porcelets / groupe.

Une augmentation de la quantité de lactobacilles a aussi été observée dans la muqueuse iléale des porcelets supplémentés en scFOS (+ 0,54 log UFC/g ; $P = 0,009$).

Les analyses microbiologiques révèlent que la consommation de scFOS a réduit de façon très significative le nombre d'EHEC dans la muqueuse iléale, le contenu iléal et colique, et les fèces à 4 et 8 PI (Tableau 2). Le ratio Lactobacilli/EHEC dans les différents prélèvements intestinaux indique que la supplémentation en scFOS favorise la croissance des lactobacilles aux dépens de la colonisation intestinale d'*E. coli*, ce ratio étant supérieur à un et plus élevé que celui du groupe CTRL, 8 jours après l'inoculation d'ETEC ($P < 0,01$).

Tableau 2 – Quantité d'EHEC (log UFC/g) dans la muqueuse iléale, le contenu iléal et colique, et les fèces chez les porcelets sevrés 4 et 8 jours post-inoculation (4 PI et 8 PI)¹

		CTRL	scFOS	ESR	P-value
Muqueuse iléale	4 PI	7,96	5,61	1,372	0,006
	8 PI	5,43	4,14	0,454	< 0,001
Contenu iléal	4 PI	7,79	5,45	1,594	0,014
	8 PI	5,42	4,27	0,448	< 0,001
Contenu colique	4 PI	8,45	6,52	0,753	< 0,001
	8 PI	7,22	5,66	0,530	< 0,001
Fèces	4 PI	7,75	9,91	1,419	0,011
	8 PI	6,28	4,88	1,065	0,024

¹ESR : erreur standard relative ; N = 8 porcelets / groupe.

Cette réduction de la colonisation intestinale d'*E. coli* s'est traduite par une diminution du pourcentage de porcelets présentant des diarrhées 3 jours post-inoculation (71,0 % dans le groupe CTRL vs 37,1 % dans le groupe scFOS ; $P = 0,011$). De façon intéressante, une réduction de la proportion d'animaux diarrhéiques était déjà significative avant le challenge *E. coli* après seulement 8 jours de supplémentation en scFOS (37,7 % dans le groupe CTRL vs 8,3 % dans le groupe scFOS ; $P = 0,011$).

La réponse inflammatoire, analysée par la mesure de la cytokine TNF- α et du facteur PigMap dans le sérum des animaux, n'a pas été impactée par le type de régime alimentaire après le challenge infectieux. Une tendance à la diminution de la concentration de TNF- α a cependant été observée dans le groupe scFOS juste avant le challenge, soit 8 jours après le début de la supplémentation (124,1 pg/mL dans le groupe CTRL vs 94,4 pg/mL dans le groupe scFOS ; $P = 0,073$). De même, une plus faible température rectale a été mesurée avant l'inoculation d'ETEC dans le groupe scFOS (39,2 vs 38,9 ; $P = 0,024$). Les résultats obtenus avant l'inoculation d'ETEC (en condition basale) suggèrent que la supplémentation en scFOS pendant 8 jours pourrait être bénéfique pour la santé des porcelets sevrés, objectivée par une tendance à la diminution du statut inflammatoire, une réduction de la température rectale, se traduisant par un plus faible nombre d'animaux diarrhéiques.

CONCLUSION

Nos résultats démontrent que l'ajout de scFOS dans le régime en post-sevrage pourrait représenter une alternative nutritionnelle à l'utilisation d'antibiotiques pour limiter les diarrhées post-sevrage causées par une infection à *E. coli*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Apper E., Meymerit C., Bodin J.C., Respondek F., Wagner A., 2016. Effect of dietary supplementation with short-chain fructooligosaccharides in lactating sows and newly weaned piglets on reproductive performance of sows, immune response and growth performance of piglets from birth to slaughter. *J. Anim. Res. Nutr.*, 1, 4:19.
- Le Bourgot C., Ferret-Bernard S., Le Normand L., Savary G., Menendez-Aparicio E., Blat S., Appert-Bossard E., Respondek F., Le Huerou-Luron I., 2014. Maternal short-chain fructooligosaccharide supplementation influences intestinal immune system maturation in piglets. *PLoS One*, 9, e107508.
- Le Bourgot C., Ferret-Bernard S., Blat S., Apper E., Le Huerou-Luron I., 2016. Short-chain fructooligosaccharide supplementation during gestation and lactation or after weaning differentially impacts pig growth and IgA response to influenza vaccination. *J. Funct. Foods*, 24, 307-315.
- Le Bourgot C., Le Normand L., Formal M., Respondek F., Blat S., Apper E., Ferret-Bernard S., Le Huerou-Luron I., 2017. Maternal short-chain fructooligosaccharide supplementation increases intestinal cytokine secretion, goblet cell number, butyrate concentration and Lawsonia intracellularis humoral vaccine response in weaned pigs. *Br. J. Nutr.*, 117, 83-92.
- Rhouma M., Fairbrother J.M., Beaudry F., Letellier A., 2017. Post weaning diarrhea in pigs: risk factors and non-colistin-based control strategies. *Acta Vet. Scand.*, 59:31.
- Roberfroid M.B., Gibson G.R., Hoyle L., McCartney A.L., Rastall R.A., Rowland I.R., Wolvers D., Watzl B., Szajewska H., Stahl B., Guarner F., Respondek F., Whelan K., Coxam V., Davicco M.J., Leotoing L., Witrant Y., Delzenne N.M., Cani P.D., Neyrinck A.M., Meheust A., 2010. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *Br. J. Nutr.*, 104 Suppl 2: S1-63.