



# Effets de deux symbiotiques distribués aux truies sur l'expression des gènes liés à la santé intestinale des porcelets

Ester ARÉVALO SUREDA (1,2), Nadia EVERAERT (1), Julie UERLINGS (2), Martine SCHROYEN (2), Christophe THIRY (3), Jehan LIÉNART (3), Ahmed SABRI (4), Philippe THONART (4), Véronique DELCENSERIE (5), José WAVREILLE (6)

(1) KU Leuven, Department of Biosystems, Kasteelpark Arenberg 30, 3001 Leuven, Belgique

(2) Liège Université, Gembloux Agro-Bio Tech, Passage des déportés 2, 5030 Gembloux, Belgique

(3) Vésale Pharmaceutica, Rue Louis Allaert 9, 5310 Eghezée, Belgique

(4) Artechno SA, Rue Herman Meganck 21, 5031 Isnes, Belgique

(5) Liège Université, Faculté de médecine vétérinaire, FARAH, Avenue de Cureghem 7A-7D, 4000 Liège, Belgique.

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

ester.arevalosureda@kuleuven.be

Avec la collaboration de Emilie Béra (2), Francois Debande (2), Ariane Dekeuwer (6), Maxence Didelez (6), France Fannes (3), Kikianne Kroeske (2), Xavier Kinif (6), Yvon Letellier (6), Sophie Mathieux (6), Sylvie Mabilille (2), Maurine Papes (6), Vincent Servais (6) et Marc Van Mechelen-Jadoul (6)

## Effects of dietary supplementation of sows with synbiotics on health-related gene expression in piglet intestinal tissue

In pig production, probiotics, prebiotics and combinations thereof are being extensively explored for their potential to improve intestinal health. This study investigated whether dietary synbiotic supplementation of sows could cause beneficial health effects on the expression of intestinal health genes in piglets. From gestation day 80 (G80) until the end of lactation (28 days post-partum), sows received a daily dose of a synbiotic as top feeding: Syn1 (*Enterococcus faecium*, *Clostridium butyricum*, beta-glucan; inulin) [n=9], Syn2 (*E. faecium*, *Bifidobacterium animalis lactis*, *B. crudilactis*; β-glucan; inulin) [n=7] or no supplementation (control) [n=8]. Intestinal tissue samples from the ileum and colon were collected from piglets at 25 days of age (pre-weaning), and at one and five weeks after weaning. Relative expressions of genes in collected samples were analysed by high-throughput qPCR. In summary, before weaning, the ileum showed decreased expression of genes encoding for intestinal barrier function in Syn1 and Syn2 piglets, while the colon showed increased expression of genes encoding for bacterial recognition in Syn2 piglets. One week after weaning, ileal tissue showed increased expression of pro-inflammatory genes and colonic tissue showed increased expression of genes encoding for bacterial recognition in Syn1 piglets. At the end of the experiment, five weeks after weaning, Syn1 and Syn2 piglets showed increased expression of gene encoding for intestinal barrier function and a pro-inflammatory response in the ileum and an anti-inflammatory response in the colon. In conclusion, supplementation of sows with synbiotics from late gestation throughout the lactation period can cause changes in the expression of intestinal health-related genes in the piglets.

## INTRODUCTION

L'efficacité et la rentabilité du secteur de l'élevage dépendent de la santé des animaux. Chez les porcs, le sevrage est une période courte et hautement stressante; les porcelets sont donc plus exposés aux infections intestinales. Le ZnO, le CuSO<sub>4</sub> ou les antibiotiques ont été utilisés dans l'alimentation pour prévenir les problèmes de santé, mais tous ces produits contribuent à l'apparition de résistance bactérienne et à la pollution de l'environnement. En production porcine, les probiotiques, les prébiotiques et leur combinaison sont largement explorés pour leur potentiel à améliorer la santé intestinale. L'objectif de notre étude était d'étudier l'effet de deux symbiotiques donnés aux truies en fin de gestation et en lactation sur l'expression des gènes de la santé intestinale des porcelets.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Dispositif expérimental

Au 80<sup>e</sup> jour de gestation, 24 truies Landrace ont été réparties dans des réfectoires individuels sur base de leur parité, poids vif et état d'embonpoint dans un dispositif expérimental comportant trois

groupes expérimentaux : témoin (n=8), Syn1 (n=9) et Syn2 (n=7). Au 108<sup>e</sup>, les truies ont été transférées en maternité avec le même dispositif expérimental dans des cases individuelles. A 114 jours, les mises bas qui n'étaient pas débutées ont été induites.

À la naissance, les porcelets Piétrain x Landrace ont été identifiés avec une marque auriculaire, pesés et dénombrés. Dès que l'ensemble des portées a été disponible, la taille a été équilibrée en réalisant des adoptions entre les portées d'un même groupe. Les porcelets ont été dénombrés chaque jour et pesés individuellement chaque semaine.

Les porcelets ont été sevrés à l'âge d'environ 28 jours. Au moment du sevrage, une sélection de deux mâles et de deux femelles de la même portée a été effectuée en fonction du poids vif moyen dans le groupe expérimental. Ces porcelets ont été transférés en post-sevrage et répartis par groupes en blocs aléatoires complets dans 24 loges sur base de la portée, du traitement, du sexe et du poids vif. Le sol était constitué de caillebotis en plastique. Ils ont reçu un aliment à volonté de composition similaire et sans probiotique, quel que soit le groupe expérimental de leurs mères. L'état de santé des porcelets et l'apparition de diarrhées ont été contrôlés quotidiennement. Le post-sevrage a duré cinq semaines.

## 1.2. Alimentation des truies, la supplémentation

Les truies des trois groupes expérimentaux ont reçu le même aliment témoin de gestation et ensuite de maternité. Une supplémentation synbiotique a commencé le 80<sup>e</sup> jour de gestation et duré jusqu'à la fin de l'allaitement pour les groupes expérimentaux Syn1 et Syn2. Cette supplémentation a été réalisée manuellement dans l'auge des truies une fois par jour avec un repas («top feeding»). La composition et le dosage des synbiotiques se trouvent dans le tableau 1. Les quantités consommées sont reprises dans le tableau 2.

**Tableau 1** - Composition des synbiotiques distribués aux truies

	Syn1	Syn2
Probiotique, CFU/kg aliment		
<i>Clostridium butyricum</i>	5 10 <sup>11</sup>	
<i>Enterococcus faecium</i>	5 10 <sup>11</sup>	3,33 10 <sup>11</sup>
<i>Bifidobacterium animalis lactis</i>		3,33 10 <sup>11</sup>
<i>Bifidobacterium crudilactis</i>		3,33 10 <sup>11</sup>
Prébiotique, g/kg aliment		
FOS (Inuline)	3	3
β-Glucane	0,5	0,5

**Tableau 2** - Consommation quotidienne moyenne des truies

	Aliment (kg/j)	Syn1 ou Syn2 <sup>1</sup> (g/j)
Gestation (80 jours - mise bas)	3,2	29
Lactation : - semaine 1	2,4	21,5
- semaine 2	5,5	50
- semaines 3 et 4	5	45

<sup>1</sup> Synbiotiques sont pré-mélangés avec l'aliment des truies en proportion 50/50

## 1.3. Échantillons et analyses

Des échantillons d'iléon et de colon d'un porcelet femelle par portée puis par loge de post-sevrage ont été collectés à 25 jours d'âge puis à une et cinq semaines après le sevrage et stockés à -80°C jusqu'aux analyses. Après extraction de l'ARN, ils ont été analysés par qPCR à haut débit pour l'analyse de l'expression relative des gènes (Leblois *et al.*, 2020 ; Uerlings *et al.*, 2021).

**Tableau 3** - Expression relative des gènes<sup>1</sup> dans l'iléon et le côlon des porcelets des groupes expérimentaux à trois moments

	Gène	Avant sevrage			1 semaine après sevrage			5 semaines après sevrage		
		Témoin	Syn1	Syn2	Témoin	Syn1	Syn2	Témoin	Syn1	Syn2
ILÉON	CLAU3 <sup>2</sup>	<u>1,10 ± 0,48</u>	<u>0,77 ± 0,18</u>	<u>0,74 ± 0,28</u>	0,91 ± 0,23	1,13 ± 0,29	0,98 ± 0,20	<b>0,90 ± 0,11</b>	<b>1,32 ± 0,24</b>	<u>1,22 ± 0,22</u>
	IFNγ <sup>3</sup>	0,72 ± 0,32	0,71 ± 0,31	0,51 ± 0,14	0,68 ± 0,22	0,95 ± 0,25	0,81 ± 0,26	<b>1,87 ± 0,59</b>	<b>2,36 ± 1,08</b>	2,09 ± 0,95
	IL1β <sup>4</sup>	1,31 ± 0,65	1,39 ± 1,04	1,03 ± 0,85	<b>1,08 ± 0,57</b>	<b>1,73 ± 2,29</b>	0,91 ± 0,54	<u>1,37 ± 1,07</u>	<u>0,94 ± 0,31</u>	<u>1,73 ± 1,32</u>
	IL8 <sup>5</sup>	0,68 ± 0,17	0,68 ± 0,08	0,60 ± 0,13	<b>0,86 ± 0,28</b>	<b>1,60 ± 1,39</b>	0,91 ± 0,39	1,12 ± 0,67	1,11 ± 0,40	1,13 ± 0,81
	ILRN1 <sup>6</sup>	<b>1,17 ± 0,58</b>	<b>1,59 ± 1,39</b>	<u>0,89 ± 0,44</u>	0,86 ± 0,33	1,21 ± 1,09	0,88 ± 0,5	0,87 ± 0,29	0,79 ± 0,33	1,04 ± 0,38
	LBP <sup>7</sup>	<b>2,15 ± 1,03</b>	<b>1,27 ± 0,59</b>	<b>0,94 ± 0,58</b>	<b>1,08 ± 0,64</b>	<b>2,13 ± 2,28</b>	0,93 ± 0,59	1,04 ± 0,61	1,08 ± 1,08	0,72 ± 0,44
	Occludin	1,00 ± 0,35	0,85 ± 0,19	0,84 ± 0,28	1,00 ± 0,26	1,36 ± 0,42	1,11 ± 0,29	<b>1,11 ± 0,19</b>	<b>1,69 ± 0,34</b>	<u>1,39 ± 0,31</u>
COLON	CXCL10 <sup>8</sup>	0,99 ± 0,39	0,64 ± 0,17	1,01 ± 0,32	0,76 ± 0,39	1,07 ± 0,78	0,72 ± 0,52	<b>1,97 ± 2,32</b>	<b>1,01 ± 0,9</b>	<b>0,65 ± 0,36</b>
	IFNγ <sup>9</sup>	0,94 ± 0,43	0,63 ± 0,32	1,17 ± 0,43	1,14 ± 0,53	1,26 ± 1,05	1,04 ± 0,51	<b>2,06 ± 1,82</b>	<b>1,23 ± 0,56</b>	<b>1,06 ± 0,53</b>
	IL1β <sup>10</sup>	1,12 ± 0,57	0,81 ± 0,54	1,22 ± 0,66	0,83 ± 0,34	0,92 ± 0,49	0,58 ± 0,35	<u>1,31 ± 1,35</u>	<u>0,77 ± 0,20</u>	<u>0,72 ± 0,53</u>
	IL6 <sup>11</sup>	1,20 ± 0,58	0,88 ± 0,49	1,20 ± 0,69	<b>0,66 ± 0,17</b>	<b>1,03 ± 0,68</b>	0,71 ± 0,32	<i>non déterminé</i>		
	ILRN1 <sup>12</sup>	1,12 ± 0,58	0,76 ± 0,33	1,37 ± 0,93	0,98 ± 0,53	1,16 ± 0,73	0,75 ± 0,37	<b>1,82 ± 2,01</b>	<b>1,09 ± 0,94</b>	<b>0,66 ± 0,19</b>
	LBP <sup>13</sup>	1,41 ± 0,58	1,25 ± 0,65	1,36 ± 1,11	1,12 ± 0,83	<b>1,64 ± 1,03</b>	1,03 ± 0,76	0,89 ± 0,71	1,08 ± 0,78	0,66 ± 0,86
	MCP1 <sup>14</sup>	0,98 ± 0,31	0,89 ± 0,21	1,05 ± 0,32	0,81 ± 0,32	1,01 ± 0,45	0,81 ± 0,39	<b>1,59 ± 1,09</b>	<u>1,11 ± 0,62</u>	<b>0,77 ± 0,16</b>
	NOD1 <sup>15</sup>	<b>1,76 ± 1,12</b>	<u>1,46 ± 0,43</u>	<b>2,39 ± 1,11</b>	0,90 ± 0,15	0,93 ± 0,25	0,92 ± 0,12	1,13 ± 0,59	1,03 ± 0,67	0,86 ± 0,25

<sup>1</sup> moyenne ± écart type, les différences entre Syn1 et Syn2 par rapport au témoin sont renseignées en caractères gras si FDR < 0,05 et soulignées si 0,05 < FDR < 0,1 (tendance); <sup>2</sup> Claudin-3; <sup>3</sup> Interferon gamma; <sup>4</sup> Interleukine 1 beta; <sup>5</sup> Interleukine IL8; <sup>6</sup> Interleukine receptor nuclear 1; <sup>7</sup> LBP LPS binding protein; <sup>8</sup> C-X-C motif chemokine ligand 10; <sup>9</sup> Interferon gamma; <sup>10</sup> Interleukine 1 beta; <sup>11</sup> Interleukine 6; <sup>12</sup> Interleukine receptor nuclear 1; <sup>13</sup> LPS binding protein; <sup>14</sup> Monocyte Chemoattractant protein 1; <sup>15</sup> Nucleotide-binding Oligomerization Domain 1;

## CONCLUSION

Ainsi, avant sevrage, Syn1 et Syn2 ont provoqué une diminution de l'expression des gènes de la fonction de barrière dans l'iléon et Syn2 a déclenché une expression des gènes accrue de la reconnaissance bactérienne dans le colon. Une semaine après le

## 1.4. Analyses statistiques

Pour chaque gène, une ANOVA unidirectionnelle a été réalisée pour chaque moment de prélèvement avec le facteur groupes expérimentaux suivie d'une comparaison des moyennes au témoin avec le test de Benjamini, Krieger and Yekutieli et un contrôle de fausses découvertes (FDR, false discovery rate).

## 2. RÉSULTATS

Dans l'iléon, avant le sevrage, l'expression du gène de la claudine3 avait tendance à diminuer chez les porcelets Syn1 et Syn2, et l'expression du gène de l'ILRN1 était augmentée chez les porcelets Syn1 mais avait tendance à diminuer chez les porcelets Syn2 par rapport aux témoins. Une semaine après le sevrage, l'expression génétique des interleukines (IL-8, IL-1β) était plus élevée chez les porcelets Syn1 que dans le groupe témoin. Cinq semaines après le sevrage, l'expression des gènes de l'occludine et de la claudine3 a augmenté dans l'iléon des porcelets Syn1 et Syn2. L'expression du gène IL1β a montré une tendance à la diminution chez les porcelets Syn1 et une tendance à l'augmentation chez les porcelets Syn2. L'expression du gène de l'interféron-gamma (IFNγ) a augmenté chez les porcelets Syn1. Dans le côlon, avant sevrage, l'expression de NOD1 a diminué chez les porcelets Syn2 par rapport aux témoins. La semaine après le sevrage, l'expression des gènes de l'IL6 et de la protéine de liaison au LPS a augmenté chez les porcelets Syn1 par rapport au groupe témoin. En fin de post-sevrage, l'expression du gène MCP1 a diminué chez les porcelets Syn1 (tendance) et Syn2 par rapport aux témoins. L'expression des gènes ILRN1, IFNγ et CXCL10 a diminué chez les porcelets Syn1 et Syn2 par rapport aux témoins. L'expression du gène IL1β a également montré une tendance à la baisse chez les porcelets Syn1 et Syn2 par rapport aux témoins.

sevrage, Syn1 a induit une expression des gènes pro-inflammatoires dans l'iléon et de reconnaissance bactérienne dans le colon. En fin de post-sevrage, Syn1 et Syn2 ont montré une expression des gènes de la fonction de barrière et de la réponse pro-inflammatoire dans l'iléon et de la réponse anti-inflammatoire dans le côlon, bénéfiques à la santé du porcelet.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Leblois J., Zhang Y., Wavreille J., Uerlings J., Schroyen M., Arévalo Sureda E., Soyeurt H., Dehareng F., Grelet C., Oswald I. P., Li B., Bindelle J., Zhang H., Everaert N. 2020. Effects of wheat bran applied to maternal diet on the intestinal architecture and immune gene expression in suckling piglets. *Animals*, 10, 251.
- Uerlings J., Arévalo Sureda E., Schroyen M., Kroeske K., Tanghe S., de Vos M., Bruggeman G., Wavreille J., Bindelle J., Purcaro G., Everaert N. 2021. Impact of Citrus Pulp or Inulin on Intestinal Microbiota and Metabolites, Barrier, and Immune Function of Weaned Piglets. *Front. in Nutr.*, 8, 650211.