HAL
open science

Modulation de la composition l'écosystème digestif caecal du lapereau par voie alimentaire et relation avec son fonctionnement

Vincent Jacquier, Sylvie Combes, Géraldine Pascal, Laurent L. Cauquil, Beatrice Gabinaud, Muriel Segura, Olivier O. Bouchez, Elodie Balmisse Balmisse, Sili Lu, Jordi Estellé, et al.

To cite this version:

Vincent Jacquier, Sylvie Combes, Géraldine Pascal, Laurent L. Cauquil, Beatrice Gabinaud, et al.. Modulation de la composition l'écosystème digestif caecal du lapereau par voie alimentaire et relation avec son fonctionnement. 16. Journées de la Recherche Cunicole, Nov 2015, Le Mans, France. 264 p. hal-02742208

HAL Id: hal-02742208

https://hal.inrae.fr/hal-02742208

Submitted on 3 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Modulation de la composition l'écosystème digestif caecal du lapereau par voie alimentaire et relation avec son fonctionnement

V. JACQUIER[1,3,5], S. COMBES[1], G. PASCAL[1], L. CAUQUIL[1], B. GABINAUD[1], M. SEGURA[1], O. BOUCHEZ[1,2], E. BALMISSE[4], S. LU[1], J ESTELLE[3], I. OSWALD[5], C. ROGEL-GAILLARD[3], T. GIDENNE[1]

[1] INRA, UMR1388 GenPhySE, Chemin de Borde-Rouge, 31326 Castanet-Tolosan,
[2] INRA, GeT PLAGE, Chemin de Borde-Rouge, 31326 Castanet-Tolosan,
[3] INRA, UMR1313 GABI, Domaine de Vilvert, 78350 Jouy-en-Josas.
[4] INRA, UE1322 PECTOUL PEA Cunicole Toulousain, Chemin de Borde-Rouge, 31326 Castanet-Tolosan,
[5] INRA, UMR1331 TOXALIM, 180 Chemin de Tournefeuille, 31027 Toulouse.

Résumé – L'objectif était d'évaluer la possibilité de moduler l'implantation du microbiote caecal par voie alimentaire, et d'étudier les relations entre la composition et le fonctionnement de cet écosystème. L'apport de fibres rapidement fermentescibles (FRF) dans l'alimentation solide du lapereau dès 15 jours d'âge (J15), ou l'application d'une antibiothérapie des mères ou des jeunes ont été utilisés comme facteurs stimulants ou inhibiteurs de l'implantation du microbiote caecal. Une antibiothérapie des mères ne semble pas modifier la composition du microbiote caecal du lapereau allaité (à J15). A l'inverse, dès J29 la composition du microbiote caecal est différente (P<0,05) pour les lapereaux supplémentés en FRF comparativement au lot control. Parmi les 7295 "espèces" bactériennes caecales, l'abondance relative de 17 d'entre elles est fortement liée aux variations des paramètres fermentaires (propionate, butyrate, acides gras volatils totaux) et au poids relatif du caecum et de la rate. Parmi ces 17, seuls trois "espèces" ont été affiliées à des genres connus (*Bacteroides, Intestinimona, Blautia*). En conclusion, notre étude 1) montre que la composition et le fonctionnement de l'écosystème digestif caecal, peut être orienté via la qualité de l'alimentation solide dès 29 jours d'âge, 2) met en évidence l'existence d'espèces très liées aux produits de fermentation, et donc "ingénieures" du fonctionnement de l'écosystème.

Abstract –Solid feed shape digestive bacterial community establishment in young rabbits. The objectives were to evaluate the possibility to modulate the implantation of the ceacal microbiota through diet, and to study the relationship between the composition and the function of this ecosystem. The incorporation of rapidly fermentable fibres (FRF) in the pelleted feed of rabbit pups from 15 days of age (D15), or the use of an antibiotic treatment, on the rabbit does or the pups, were used as inhibitors or stimulants of the implantation of the caecal microbiota. An antibiotic treatment of the does did not alter the composition of the caecal microbiota in nursing pups (D15). Conversely, at D29 the microbial composition was different (P<0.05) for the pups supplemented with FRF compared to the control group. Among the 7295 caecal bacterial "species", the relative abundance of 17 species was closely linked to the variations in fermentative parameters (propionate, butyrate, total volatile fatty acids), and the relative weight of the caecum and spleen. However, only 3 "species" of them were affiliated to known genera (*Bacteroides, Intestinimonas, Blautia*). In conclusion, our study 1) demonstrates that the implantation of the gastrointestinal microbiota could be controlled by the solid feed before weaning, 2) highlights the existence of species closely related to fermentation products, and therefore "engineers" of the ecosystem functioning..

Introduction

La mise en place de l'ingestion solide joue un rôle essentiel dans la structuration du microbiote digestif chez les jeunes mammifères. Ainsi, des lapins ayant une alimentation lactée exclusive sans accès à l'aliment solide montrent une biodiversité plus faible à 30 jours (Combes *et al.*, 2008). De même, la prolongation d'une alimentation lactée exclusive inhibe l'implantation des espèces cellulolytiques (Padilha *et al.*, 1999) et l'activité microbienne caecale. A l'opposé, un sevrage précoce associé à l'ingestion d'aliment solide s'accompagnent d'une stimulation de l'activité microbienne. Mais cette pratique se traduit également par une plus forte mortalité, probablement en lien avec l'arrêt de l'immunité passive apportée par le lait (Combes *et al.*, 2013).

Par ailleurs, la colonisation microbienne du tractus digestif de l'hôte influence son développement, et plus particulièrement celui de son système immunitaire associé aux muqueuses digestives (Fortun-Lamothe and Boullier, 2007). Au cours du développement de l'hôte un étroit dialogue s'établit entre le microbiote et le système immunitaire digestif. Ce dialogue est le garant de l'homéostasie, de la tolérance orale (absence de réaction immunitaire aux antigènes alimentaires et tolérance des microorganismes commensaux) et de la prévention de l'introduction et de la dissémination des pathogènes dans les compartiments digestifs et systémiques. L'hypothèse sous-jacente à ce travail était de valider la possibilité de moduler précocement l'implantation et le fonctionnement du microbiote caecal par voie nutritionnelle.

L'objectif finalisé est de promouvoir le développement du système immunitaire du lapereau, et améliorer ainsi sa robustesse. L'apport de fibres rapidement fermentescibles (FRF) dans l'alimentation des jeunes ou l'application d'une antibiothérapie aux mères ou aux jeunes ont été utilisés comme facteur stimulants ou inhibiteurs, respectivement, de l'implantation et du fonctionnement du microbiote caecal. Les résultats concernant les performances de croissance et l'activité fermentaire ont été présentés précédemment (Jacquier *et al.*, 2013; Jacquier *et al.*, 2014).

1. Matériel et méthodes

1.1. Protocole expérimental

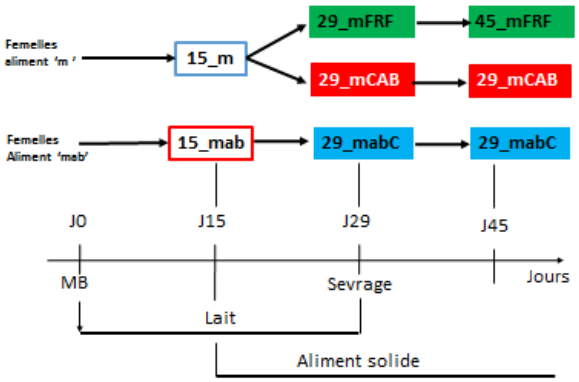

Figure 1: Schéma expérimental, les prélèvements ont été effectués sur les lapereaux âgés de 15, 29 et 45 jours (n=10 par lot). MB : mise bas

A l'insémination (parité 4,8 ± 1,0), 45 lapines ont reçu un aliment maternité standard ("m") et 25 lapines ont reçu ce même aliment maternité supplémenté avec 400 mg/kg d'oxytétracycline et 2,4 millions UI/kg de colistine ("mab"). A la mise bas 30 et 15 lapines sont retenues respectivement (figure 1), les portées sont égalisées à 9 -10 lapereaux avec adoption intra lot uniquement. Quinze jours après la mise-bas, les lapereaux provenant des mères supplémentées (n=15 portées) ont reçu un aliment standard expérimental (lot "mabC"), les lapereaux issus des mères non supplémentées ont été divisés en deux groupes : 1) la moitié (n=15 portées) des portées a reçu un aliment standard expérimental avec incorporation d'antibiotiques (lot "mCAB") classiquement utilisés pour réduire les risques liés à l'EEL autour du sevrage (tiamuline 32,5 ppm et apramycine 100 ppm). 2) Les quinze autres portées ont reçu un aliment expérimental riche en fibres rapidement fermentescibles (lot "mFRF"), au travers d'un apport en fibres solubles dans l'eau et en pectines (pulpe de betterave et marc de pomme, tableau 1). Les animaux ont été sevrés à 29 jours.

1.2. Communauté bactérienne caecale, profils fermentaires et pesées

Les prélèvements ont été réalisés sur des lapereaux sacrifiés (n=15 lapereaux par lot présentant un poids moyen de la portée) à l'âge de 15 jours (lot "15_mab" et lot "15_m"), 29 jours (lot 29_mCAB, 29_mFRF, 29_mabC) et 45 j ours (lot 45_mCAB, 45_mFRF, 45_mabC). Les paramètres mesurés concernaient le poids de caecum (plein et vide), de l'appendice et de la rate, l'activité fermentaire (pH, acide gras volatils, NH3, matière sèche), et la composition de la communauté bactérienne par séquençage des gènes ARN16S. Un total de 151 genres et 7295 « espèces » bactériennes (OTU Opérational Taxonomic Unit) a été détecté. Au plan statistique, la dissimilarité entre les communautés bactériennes a été représentée par nMDS (non Metric Dimensional Scaling, distance de Bray-Curtis). La valeur ANOSIM permet de quantifier la dissimilarité (0 non différent, 1 totalement différent). Par ailleurs, les abondances relatives ont été analysées selon un modèle linéaire mixte avec le lot comme effet fixe (8 niveaux) et la portée d'origine comme variable aléatoire (logiciel R) après transformation et correction des faux positifs. Les moyennes par lot ont été comparées en utilisant le test de Tukey. La variabilité des profils fermentaires et poids relatifs des organes a été représentée par ACP (Analyse en Composante Principale) tandis que les relations entre profils fermentaires et taxonomiques ont été étudiées par rCCA (regularized Canonical Correlation Analysis) (Combes *et al.*, 2008; Gonzalez *et al.*, 2008).

Tableau 1: Composition chimique[1] des aliments expérimentaux distribué aux lapereaux (C, FRF)

% Matière sèche	C[1]	FRF
ED (kcal/kg)[2]	2420	2340
Matière sèche %	88,0	88,5
Mat. Grasse %	3,6	2,8
Amidon %	11,8	4,3
Protéine brute %	14,0	14,7
Cendres brutes %	6,2	7,3
NDF %	38,8	39.2
ADF % µ	22,9	24,9
TDF % α	41,0	47,1
TDF-NDF	2,2	7,9

[1]la composition chimique de l'aliment médicamenteux CAB est identique à celle de l'aliment C.
[2]ED : énergie digestible mesurée sur 12 lapereaux de chaque groupe, entre 42 et 46 jours, exprimée en kcal/kg brut. µ: Van Soest et al. (1991). α: Mc Cleary et al., (2010)

2. Résultats et discussion

2.1. Composition de la communauté bactérienne

Comme observé précédemment (Padilha *et al.*, 1999; Combes *et al.*, 2014), l'âge et le passage à l'alimentation solide affecte fortement la structure de la communauté bactérienne des lapereaux (figure 2). Le traitement antibiotique des mères (oxytétracycline-colistine) affecte peu la structuration de la communauté bactérienne caecale des lapereaux allaités (ANOSIM 15_mab vs 15_m = 0,20 NS). Parmi les 50 genres majoritaires, seul un genre semble favorisé chez ces lapereaux : *Oscillospira* (0,045% vs

0,004% p<0,05 pour 15_mab vs 15_m respectivement). Les antibiotiques administrés à la mère sont susceptibles d'être excrétés dans les fèces (Combes *et al.*, 2014) et/ou dans le lait maternel. Toutefois Abecia *et al.* (2007) suggèrent que la transmission du microbiote de la mère vers le jeune serait davantage influencée par les contacts maternels ou la consommation de fèces maternels que par l'ingestion de lait. Par ailleurs, en accord avec les résultats de notre étude, nous avons montré précédemment que la consommation de fèces issues de femelles traitées *via* l'aliment par la tiamuline et la tétracycline ne module que faiblement la population bactérienne (Combes *et al.*, 2014) de lapereaux allaités âgés de 14 jours.

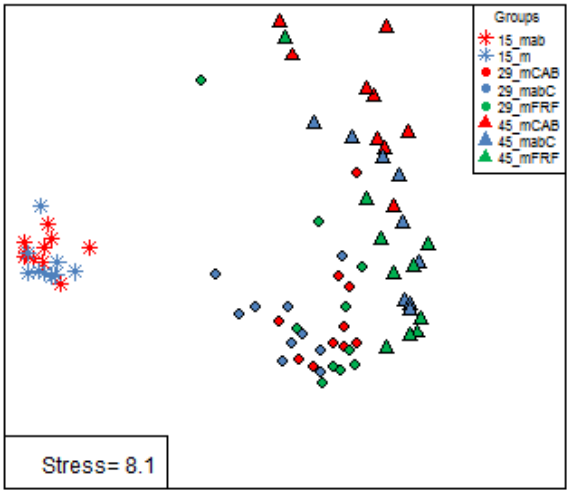

Figure 2: Représentation graphique des similarités entre les communautés bactériennes caecales des lapins, selon leur âge et leur lot (n=10/lot). Chaque point représente un individu, plus les points sont éloignés plus les communautés sont distinctes.

Dès 29 jours d'âge, les lapins recevant l'aliment FRF (29_mFRF) se distinguent du lot 29_mabC (ANOSIM 0,26 p<0,01). Toutefois à cet âge, le lot traité dès J15 (29_mCAB) ne diffère pas du lot non traité recevant le même aliment (29_mabC). Bäuerl et al (2014) n'observent pas de différence significative de composition du microbiote caecal entre des lapins traités pendant 10 j ours (lyncomycin 29 ppm , spectinomycin 29 ppm, timaulin 40 ppm et neomycine 121 ppm) et des lapins sans traitement âgé de 40 jours. A l'inverse dans notre étude, à 45 jours, la structuration des communautés bactériennes des individus recevant un aliment médicamenteux (49_mCAB) se distingue des deux autres lots (ANOSIM 0.54 et 0,27 respectivement pour les lots 45_mFRF et 45_mabC, p<0,01). L'ensemble de ces observations montre donc qu'une modulation de la composition du microbiote caecal est possible dès 29 jours (avant sevrage), et que ces différences semblent s'accentuer à 49 jours.

2.2. Relation entre la composition de la communauté bactérienne et le profil fermentaire

Comme attendu, l'ingestion d'un aliment riche en FRF a stimulé l'activité fermentaire caecale (figure 3). Cet effet est observable dès 29 jours d'âge (Jacquier *et al.*, 2013; Jacquier *et al.*, 2014). Parmi les 7295 "espèces" détectées dans la communauté bactérienne caecale, les abondances relatives de 17 d'entre elles sont les plus fortement corrélées aux variations des paramètres fermentaires et de poids relatif des organes (figure 4). Seules trois espèces ont pu être affiliées avec certitude (identité > 9 8%) à d es genres connus (*Bacteroides, Intestinimonas, Blautia*). Ces "espèces" peuvent être divisées en 3 groupes (figure 4). Un premier groupe rassemble 12 espèces, dont l'abondance relative est principalement liée au poids relatif du caecum. Un deuxième groupe associe les 4 espèces dont l'abondance relative est en lien avec les teneurs en propionate et le ratio acétate sur butyrate. Enfin, l'abondance de l'OTU_10 est corrélée négativement avec le poids relatif de la rate et positivement avec les teneurs en butyrate et acides gras volatils totaux. Les valeurs élevées d'acides gras volatils, et associées à des pH bas, sont réputées bénéfiques à l a santé digestive du lapin, et confèrerait une meilleure résistance à l'EEL (Grueso *et al.*, 2013). Notre étude permet ainsi l'identification d'espèces ingénieurs de l'écosystème, c'est-à-dire impliquées dans la production de ces métabolites en relation avec la santé digestive.

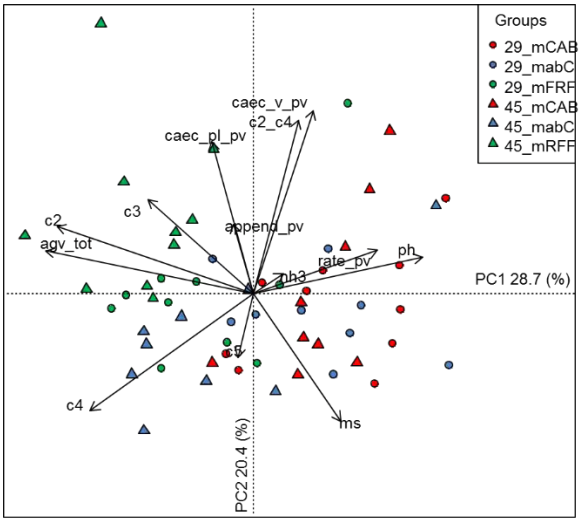

Figure 3: Représentation de la variabilité des paramètres fermentaires et des poids des organes (n=10 parlot). (caec_pl_pv, cac_v_pv, append_pv, rate_pv : poids relatif au poids vif du caecum plein, vide, de l'appendice vermiforme et de la rate respectivement ; ms, nh3, ph agv_tot, c2, c3, c4, c5, c, c2_c4 : matière sèche (%), teneur en ammoniaque (mmol/l), acides gras volatils totaux (mmol/l), proportions relatives d'acétate, propionate, butyrate et valérate (%) et ratio acétate sur butyrate du contenu caecal).

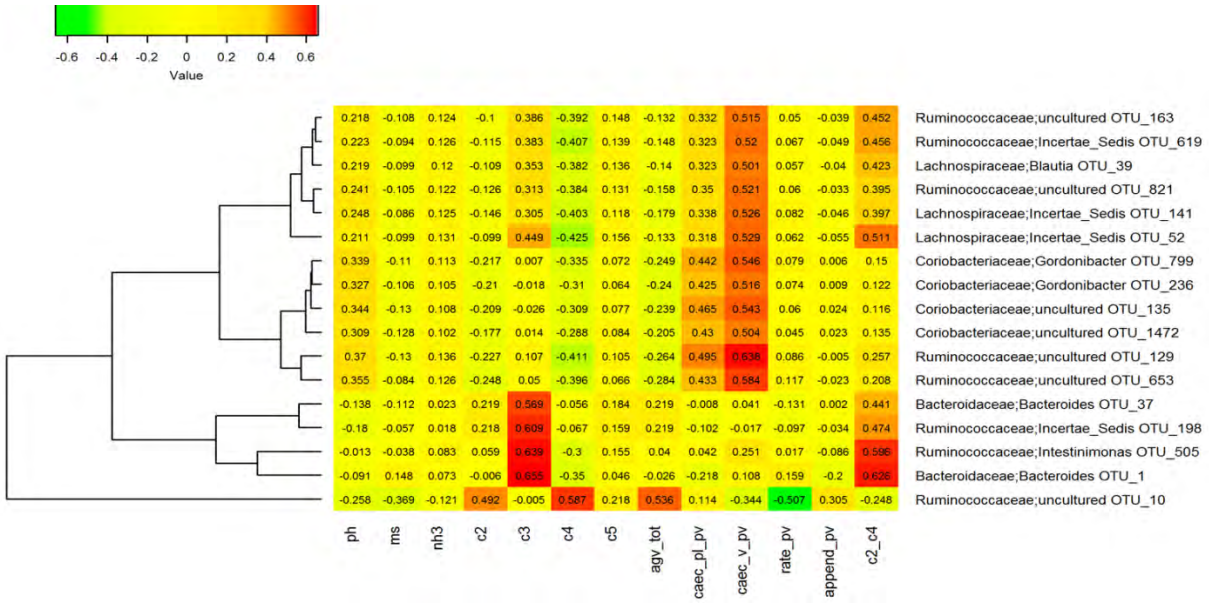

Figure 4: Représentation des corrélations entre les "espèces" bactériennes (OTU en ligne) et les paramètres fermentaires et poids des organes (en colonne). 17 OTU présentent une corrélation supérieure à 0,5 .

Conclusions

Chez le lapin, il paraît possible de moduler précocement (dès 29 jours d'âge), la composition et le fonctionnement de l'écosystème digestif caecal, via la qualité de l'alimentation solide. Nous avons identifié quelques espèces bactériennes, impliquées dans l'activité fermentaire, et donc ingénieures de l'écosystème caecal. En perspectives, nous explorons l'impact de ces modifications de composition et de fonctionnement de l'écosystème sur le développement du système immunitaire du jeune et sa santé. Il s'agit à court terme de mieux comprendre la mise en place du comportement d'ingestion du lapereau, l'évolution de ses besoins nutritionnels, à moyen terme de développer des systèmes d'alimentation efficaces et adaptés, et à plus long terme de développer des indicateurs précoces de santé digestive (par exemple quantification rapide de la présence d'espèces ingénieures).

Références

ABECIA L., FONDEVILA M., BALCELLS J., MCEWAN N.R., 2007. The effect of lactating rabbit does on the development of the caecal microbial community in the pups they nurture. *J. Appl. Microbiol.,* 103, 557-564.

BAUERL C., COLLADO M.C., ZUNIGA M., BLAS E., MARTINEZ G.P., 2014. Changes in Cecal Microbiota and Mucosal Gene Expression Revealed New Aspects of Epizootic Rabbit Enteropathy. Plos One, 9.

COMBES S., CAUQUIL L., GIDENNE T., 2008. Impact of an exclusive milk vs milk and dry feed intake till weaning on intake, growth, and on t he caecal biociversity and f ibrolytic activity of the young rabbit. In: G. Xiccato, A. Trocino and S.D. Lukefahr (Ed), *9th World Rabbit Congress,* June 10-13, Verona, Italy, p607-611.

COMBES S., GIDENNE T., BOUCHER S., FORTUN-LAMOTHE L., BOLET G., COUREAUD G., 2013. Lapereaux de l a naissance au sevrage : quels outils pour des lapereaux plus robustes ? In: G. Bolet (Ed), *15ème Journées de la Recherche Cunicole,* 20-21 Novembre, Le Mans (FRA), p63-77.

COMBES S., GIDENNE T., CAUQUIL L., BOUCHEZ O., FORTUN-LAMOTHE L., 2014. Coprophagous behavior of rabbit pups affects implantation of cecal microbiota and heal th status. *J. Anim. Sci.,* 92, 652-665.

COMBES S., GONZALEZ I., DEJEAN S., BACCINI A., JEHL N., JUIN H., CAUQUIL L., GABINAUD B., LEBAS F., LARZUL C., 2008. Relationships between sensory and phy sicochemical measurements in meat of rabbit from three different breeding systems using canonical correlation analysis. *Meat Sci.,* 80, 835-841.

FORTUN-LAMOTHE L., BOULLIER S., 2007. A review on t he interactions between gut microflora and digestive mucosal immunity. Possible ways to improve the health of rabbits. *Livest Sci,* 107, 1-18.

GONZALEZ I., DÉJEAN S., MARTIN P., BACCINI A., 2008. CCA: an R package to extend canonical correlation analysis. *Journal of Statistical Software,* 23, 1-14.

GRUESO I., DE BLAS J.C., CACHALDORA P., MENDEZ J., LOSADA B., GARCÍA-REBOLLAR P., 2013. Combined effects of supplementation of diets with hops and of a s ubstitution of starch with soluble fiber on feed efficiency and pr evention of digestive disorders in rabbits. *Anim. Feed Sci. Technol.,* 180, 92-100.

JACQUIER V., COMBES S., OSWALD I., ROGEL-GAILLARD C., GIDENNE T. 2013. Incorporation de fibres rapidement fermentescibles dans un al iment périsevrage : impact sur la digestion, la croissance et l´état sanitaire du lapin. 15. Journées de la Recherche Cunicole. Le Mans**:** 1-4.

JACQUIER V., COMBES S., OSWALD I.P., ROGEL-GAILLARD C., GIDENNE T., 2014. Early modulation of the cecal microbial activity in the young rabbit with rapidly fermentable fiber: Impact on health and growth. *J. Anim. Sci.,* 92, 5551-5559.

MC CLEARY B.V., DEVRIES J.W., RADER J.I., COHEN G., PROSKY L., MUGFORD D.C., Champ M.K., 2010. Determination of Total Dietary Fiber (CODEX Definition) by Enzymatic-Gravimetric Method and Liquid Chromatography: Collaborative Study. . *Journal of Aoac International,,* 93, 221-233.

PADILHA M.T.S., LICOIS D., GIDENNE T., CARRÉ B., 1999. Caecal microflora and fermentation pattern in exclusively milk-fed young rabbits. *Reprod Nutr Dev,* 39, 223-230.

VAN SOEST P.J., ROBERTSON J.B., LEWIS B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non s tarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.,* 74, 3583-3597.