



HAL
open science

VARIABILITE DE LA COMPOSITION EN OLIGOSACCHARIDES DU LAIT ET LIEN AVEC LA CARRIERE REPRODUCTIVE DES LAPINES ET LA VIABILITE DES LAPEREAX AU SEVRAGE

Sylvie Combes, Virginie Helies, Marine Paccanelli, Claude Lille-Laroucau, Julien Ruesche, Maryse Poli, Mathilde Rumeau, Martin Beaumont, Christelle Knudsen, Eric Venot, et al.

► To cite this version:

Sylvie Combes, Virginie Helies, Marine Paccanelli, Claude Lille-Laroucau, Julien Ruesche, et al.. VARIABILITE DE LA COMPOSITION EN OLIGOSACCHARIDES DU LAIT ET LIEN AVEC LA CARRIERE REPRODUCTIVE DES LAPINES ET LA VIABILITE DES LAPEREAX AU SEVRAGE. 19ème Journées de la Recherche Cunicole, ITAVI, Mar 2023, Le Mans (72000), France. pp.86-90. hal-04580177

HAL Id: hal-04580177

<https://hal.inrae.fr/hal-04580177>

Submitted on 19 May 2024

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.

VARIABILITE DE LA COMPOSITION EN OLIGOSACCHARIDES DU LAIT ET LIEN AVEC LA CARRIERE REPRODUCTIVE DES LAPINES ET LA VIABILITE DES LAPEREUX AU SEVRAGE

Combes S.^{1*}, Helies V.¹, Paccanelli M.¹, Lille-Laroucau C.¹, Ruesche J.¹, Poli M.¹, Rumeau M.¹, Beaumont M.¹, Knudsen C.¹, Venot E.², Cholet S.², Fenaille F.²

¹ GenPhySE, INRAE, Université de Toulouse, 31326 Castanet Tolosan, France.

² Université Paris-Saclay, CEA, INRAE, Département Médicaments et Technologies pour la Santé (DMTS), MetaboHUB, 91191 Gif-sur-Yvette, France

*Auteur correspondant : sylvie.combes@inrae.fr

Résumé – Les oligosaccharides qui composent le lait des mammifères présentent des propriétés immunomodulatrices, anti-inflammatoires et interviennent dans le développement de la barrière intestinale et du microbiote digestif. La composition en oligosaccharides du lait pourrait ainsi jouer un rôle important dans la survie du lapereau jusqu'au sevrage. Toutefois cette composition n'est pas encore décrite chez le lapin. L'objectif de cette étude était d'évaluer la diversité de la composition en oligosaccharides du lait dans un troupeau de lapines de lignée INRAE 1777. Le lait a été prélevé sur 67 lapines entre le 8^{ème} et le 10^{ème} jour de la seconde lactation. Les oligosaccharides ont été purifiés et analysés par spectrométrie de masse (MALDI-ToF). Les performances reproductives des 67 femelles et la viabilité des lapereaux au sevrage ont été enregistrées au cours de 7 cycles de reproduction. A partir de la composition en monosaccharides, nous avons pu mettre en évidence un total de 37 structures différentes dont 3 seulement étaient présentes dans les laits de toutes les lapines avec une large dominance des isomères du Sialyllactose ($70 \pm 13\%$). Le nombre médian d'oligosaccharides dans le lait de lapine était de 13 avec un minimum de 7 et un maximum de 26. Les formes sialylées dominent les profils d'oligosaccharides des laits de lapine (83% de l'abondance relative), toutefois 15 (sur 37) structures sont fucosylées (13 % de l'abondance relative). Les relations entre la composition en oligosaccharides et les performances reproductives des lapines sont modérées. Cependant, nous avons pu identifier une relation négative entre le nombre de lapereaux sevrés total ou rapporté à la longévité de la femelle et l'abondance relative des isomères du Sialyllactose. La mortalité de la naissance au sevrage est négativement liée à l'abondance relative de Hex3_HexNac2_Fuc1 et positivement avec le Disialyllacto-N-hexaoses (DS-LNH : Hex4_HexNac2_NeuAc2). Cette étude a permis de caractériser pour la première fois la composition en oligosaccharides du lait de lapine. Proche de la composition des laits de truie, celle-ci se distingue notamment par une prévalence et une abondance plus importante des formes fucosylées. Les liens entre cette composition et la viabilité des lapereaux laissent entrevoir la possibilité de développement d'un aliment enrichi en oligosaccharides pour les lapereaux allaités.

Abstract – Variability of milk oligosaccharide composition and its relationship with the reproductive career of females. Mammalian milk oligosaccharides have immunomodulatory and anti-inflammatory properties and are involved in the maturation of the intestinal barrier and digestive microbiota. The oligosaccharide composition of milk could thus play an important role in the survival of the rabbits until weaning. However, this composition has not yet been described in rabbit. The objective of this study was to evaluate the diversity of the oligosaccharide composition of milk in a rabbit herd of the INRAE 1777 line. Milk was collected from 67 female rabbits between days 8 and 10 of the second lactation. Oligosaccharides were purified and analysed by mass spectrometry (MALDI-ToF). The reproductive performances of the 67 females were recorded during 7 breeding cycles. Based on the monosaccharide composition, we were able to identify a total of 37 different structures, of which only 3 were present in the milk of all females, with a large predominance of Sialyllactose isomers ($70 \pm 13\%$). The median number of oligosaccharides in rabbit milk was 13 with a minimum of 7 and a maximum of 26. Sialylated forms dominated the oligosaccharide profiles (83% of relative abundance), while 15 structures were fucosylated (13 % of relative abundance). The relationships between oligosaccharide composition and the productive performances of the rabbits are moderate. However, we were able to identify a negative relationship between the number of weaned rabbits, in total or expressed by day of longevity, and the relative abundance of Sialyllactose. Birth to weaning mortality was negatively related with the relative abundance of Hex3_HexNac2_Fuc1 and positively related with Disialyllacto-N-hexaoses (DS-LNH: Hex4_HexNac2_NeuAc2). This study allowed us to characterize for the first time the oligosaccharide composition of rabbit milk. The composition of rabbit milk is similar to that of sow's, but it is distinguished by a higher prevalence and abundance of fucosylated forms. The links between this composition and young rabbit viability suggest the possibility of developing an oligosaccharide-enriched feed for suckling rabbits.

Introduction

Le lait apporte au nouveau-né des composés nutritionnels indispensables à sa croissance mais également des composés non nutritionnels tels que les oligosaccharides libres. Dans le lait humain, ils représentent le 3ème constituant après le lactose et les lipides (Urashima et al., 2012). Ces polymères jouent un rôle de préservation de la santé en limitant l'adhésion des pathogènes chez le nouveau-né. Ils présentent également des propriétés immunomodulatrices et anti-inflammatoires et interviennent dans le développement de la barrière intestinale (Bode and Jantscher-Krenn, 2012). Indigestibles par l'hôte, ces prébiotiques du lait constituent un substrat pour le microbiote du nouveau-né. Leur rôle dans la construction de la santé serait particulièrement prégnant chez les espèces peu matures à la naissance (Urashima et al., 2016). Ainsi dans les laits humains, plus de 200 structures (Remorosa et al., 2020) ont été identifiées tandis que dans les laits de vaches ou de truies, ce nombre est largement inférieur avec 55 et 39 structures identifiées respectivement (Albrecht et al., 2014; Aldredge et al., 2013). Le lapin, espèce nidicole, est particulièrement immature à la naissance : les lapereaux naissent nus, aveugles et incapables de se mouvoir hors de leur nid, leur survie dépend d'une seule prise de lait quotidienne sans autre contact avec leur mère. Si la composition en oligosaccharides du lait a été évaluée dans de nombreuses espèces (primates, ruminants, éléphants, carnivores, cétacés, marsupiaux, monotrèmes), aucune donnée n'est disponible chez le lapin (Urashima et al., 2016).

L'objectif de cette étude était d'obtenir les premières données relatives à la diversité des oligosaccharides du lait de lapine. Nous avons également évalué les liens entre la variabilité de cette composition en oligosaccharides des laits prélevés entre le 8^{ème} et le 10^{ème} jour de la lactation à la 2^{nde} mise bas, les performances reproductives des lapines suivies sur 7 cycles reproductifs et la viabilité des lapereaux qu'elles élèvent.

1. Matériel et méthodes

1.1. Animaux

Le protocole a porté sur un total de 67 femelles de souche INRAE 1777 élevées dans l'Installation Expérimentale INRAE de GenPhySE (site PECTOUL de Langlade) et conduites en deux cohortes avec un intervalle entre inséminations artificielles (IA) de 42 jours. Les lapines ont été alimentées à volonté avec un aliment commercial (STABIMAT INRA, Terrya, Rignac, France) et n'ont reçu aucun traitement antibiotique. L'âge à la première IA était de 19,4 semaines.

1.2. Prélèvements de lait

Les prélèvements de lait ont été effectués entre le 8^{ème} et le 10^{ème} jour de la lactation à la 2^{nde} mise bas. Les boîtes à nid ont été fermées la veille du prélèvement. Les prélèvements de lait ont été réalisés selon la procédure modifiée décrite par Lebas (1970) sans injection d'ocytocine avec une machine à traire (dispositif avec tétérille adaptée utilisant une pompe à vide pour tirer le lait). Le matin du prélèvement, les femelles sont mises en contact avec leurs lapereaux pendant 30 secondes, puis retirées. Après collecte de 2-3 ml de lait, la lapine est replacée immédiatement avec ses lapereaux dans la boîte à nid pour la poursuite de l'allaitement.

1.3. Performances reproductives

Les performances reproductives ainsi que la viabilité des lapereaux ont été étudiées sur 7 cycles. Le nombre de portée, le nombre de lapereaux nés totaux et nés vivants, le nombre de lapereaux élevés après adoption, le nombre de lapereaux sevrés ont été enregistrés pour chaque femelle. Si l'état sanitaire n'était pas jugé satisfaisant, les femelles n'étaient pas inséminées. Les femelles étaient réformées si elles présentaient un abcès ou d'autres problèmes liés à la reproduction, des blessures (maux de pattes), un mauvais état général (c'est-à-dire un faible poids vif ou une faible consommation d'aliments). La longévité a été évaluée par l'âge à la dernière mise-bas exprimé en nombre de jours. Le nombre cumulé de lapereaux sevrés rapporté à la longévité de la femelle (SV_long) a été calculé.

1.4. Analyses du profil d'oligosaccharides du lait.

La détermination de la composition en oligosaccharides du lait a été réalisée par spectrométrie de masse MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight). Les oligosaccharides ont été extraits des laits de lapine après une étape de délipidation à froid puis par extraction sur phase solide selon le protocole décrit par (Oursel et al., 2017). Les oligosaccharides extraits et purifiés ont été perméthylés puis analysés par MALDI-TOF (Bruneel et al., 2018). La mesure de la masse précise des oligosaccharides (<10ppm) permet notamment d'accéder à leurs compositions en monosaccharides. Les proportions des différents oligosaccharides ont été obtenues en divisant l'intensité d'un oligosaccharide par la somme des intensités de tous les oligosaccharides détectés.

1.3. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (version 4.1.0.). La variabilité des profils d'oligosaccharides a été visualisée par clustering hiérarchique (méthode de Ward et distance Euclidienne). Les relations entre les profils d'oligosaccharides des laits des 67 lapines déterminés lors de la seconde lactation et les performances reproductives sur les 7 cycles de production ont été

évaluées par régression PLS (Rohart et al., 2017) en utilisant ASTERICS (Magné et al., 2022) (<https://asterics.pages.mia.inra.fr/>).

2. Résultats et discussion

2.1. Performances du troupeau de lapines

Parmi les 67 femelles prélevées en seconde lactation, 62 (92,5%) ont été ensuite inséminées 3 fois, 36 (53,7 %) ont été inséminées 6 fois et 26 (38,8%) 7 fois. Le taux de fertilité de la 3^{ème} à la 7^{ème} IA, était de 72,6%, 76,9%, 86,0%, 69,4% et 76,9% respectivement. La longévité (âge à la dernière mise bas) maximale était de 421 jours tandis que la longévité médiane (qui correspond à l'âge où 50 % des femelles présentes ont encore mis bas dans le troupeau) était de 378 jours. Sur l'ensemble des 7 cycles reproductifs, 3107 lapereaux sont nés vivants (min 17 – max 88 nés vivants par femelle). Compte tenu des éliminations au moment de l'égalisation des portées, 2811 lapereaux (90,4 %) ont été allaités (min 19 – max 68 lapereaux allaités par femelle) et 85,3 % ont été sevrés (min =15 et max = 63 lapereaux sevrés par femelle).

2.2. Variabilité de la composition en oligosaccharides des laits de lapine

Initialement nommés "facteur bifidogène" en raison de leur action sur la croissance des bifidobactéries chez le nouveau-né humain (Gyorgy et al., 1954), les oligosaccharides du lait sont les premiers prébiotiques disponibles chez le nouveau-né. Ils sont majoritairement composés de trois à une dizaine d'unités monosaccharidiques, et sont construits à partir de 5 monosaccharides qui sont le glucose, le galactose, la N-acétyl-glucosamine, le fucose et les résidus d'acide sialique (acide N-acétylneuraminique). La variabilité des combinaisons de monosaccharides et de leurs liaisons dépend de l'action de différentes glycosyltransférases, ce qui donne des structures complexes linéaires ou ramifiées avec des extrémités aldéhydes réductrices. La méthodologie d'analyse par spectrométrie de masse permet d'identifier après purification les oligosaccharides en fonction de leur masse et d'en déduire ainsi leur composition en monosaccharides sans toutefois résoudre les isoméries de structures. Nous avons ainsi pu mettre en évidence un total de 37 compositions différentes dont 3 seulement sont présentes dans tous les laits prélevés (figure 1).

Parmi ces 3 structures, sont présents (i) les isomères du Sialyllactose (Hex2_NeuAc) largement majoritaires avec une abondance relative de $71 \pm 13\%$ (figure 2); (ii) les isomères du lacto-N-fucopentaose (Hex3_HexNAc1_Fuc1) avec une abondance relative de $6,5 \pm 5,3\%$ et ceux du Lacto-N-Triaose (Hex2_HexNAc1 ; $1,8 \pm 2,0\%$) (figure 2). A l'inverse 4 structures ont été identifiées de manière unique et correspondent à des molécules de plus grands poids moléculaire et constituées de 10 monosaccharides. Ces caractéristiques de profils sont similaires à celles

observées dans les laits de truie. En effet avec une technique similaire, Trevisi et al (2020) rapportent la détection de 21 structures dans le colostrum de 83 truies dont 5 seulement sont détectées sur l'ensemble des femelles. De même, la dominance du Sialyllactose est également retrouvée dans une moindre mesure (26 %) dans le lait de truie (Salcedo et al., 2016).

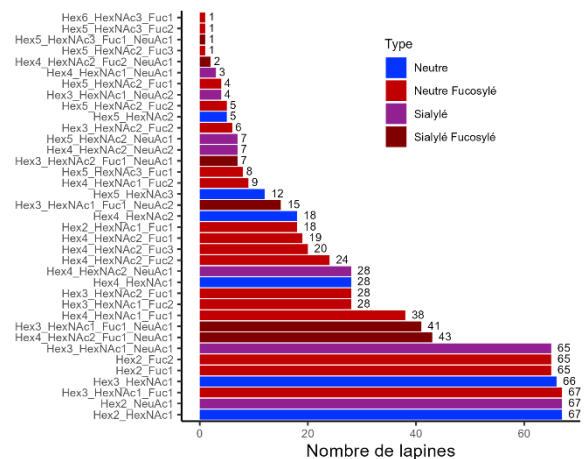


Figure 1 : Prévalence des oligosaccharides dans les 67 laits de lapines prélevés entre le 8^{ème} et le 10^{ème} jour en 2^{nde} lactation. (Hex : glucose ou galactose, HexNAc : N-acétylhexosamine; Fuc : fucose ; NeuAc : acide N-acétylneuraminique)

D'un point de vue qualitatif, 16% des structures sont neutres (dépourvues de fucose ou d'acide sialique) tandis que 49 % sont neutres et fucosylées et 16% sont fucosylées et sialylées (figure 1). Compte tenu de l'abondance du sialyllactose dans les laits de lapine, les formes sialylées dominent quantitativement. Toutefois, les formes fucosylées représentent 13% des abondances relatives contre 9% et 1 % dans les laits de truies et de vache (Salcedo et al., 2016).

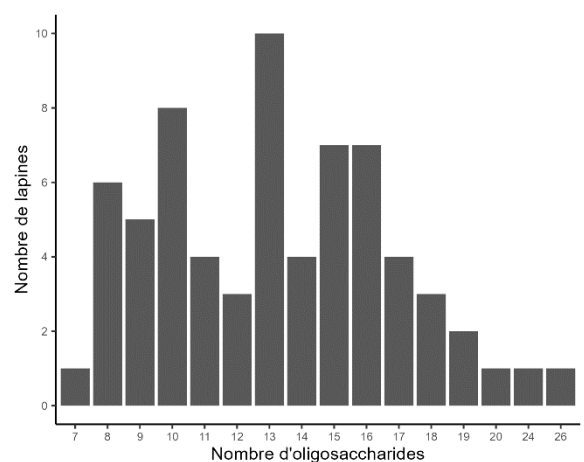


Figure 2 : Richesse en oligosaccharides des laits de 67 lapines prélevés entre le 8^{ème} et le 10^{ème} jour en 2^{nde} lactation

L'analyse des 67 laits montre une importante variabilité en termes de richesse en oligosaccharides (figure 2). En effet, le nombre d'oligosaccharides

identifiés dans les laits varie de 7 à 26 structures avec une valeur médiane de 13. Ainsi, le lait de lapine à l'instar de celui de la truie, de vache ou de la chèvre

présente également une richesse en oligosaccharides relativement faible au regard de celle observée dans le lait humain (Salcedo et al., 2016).

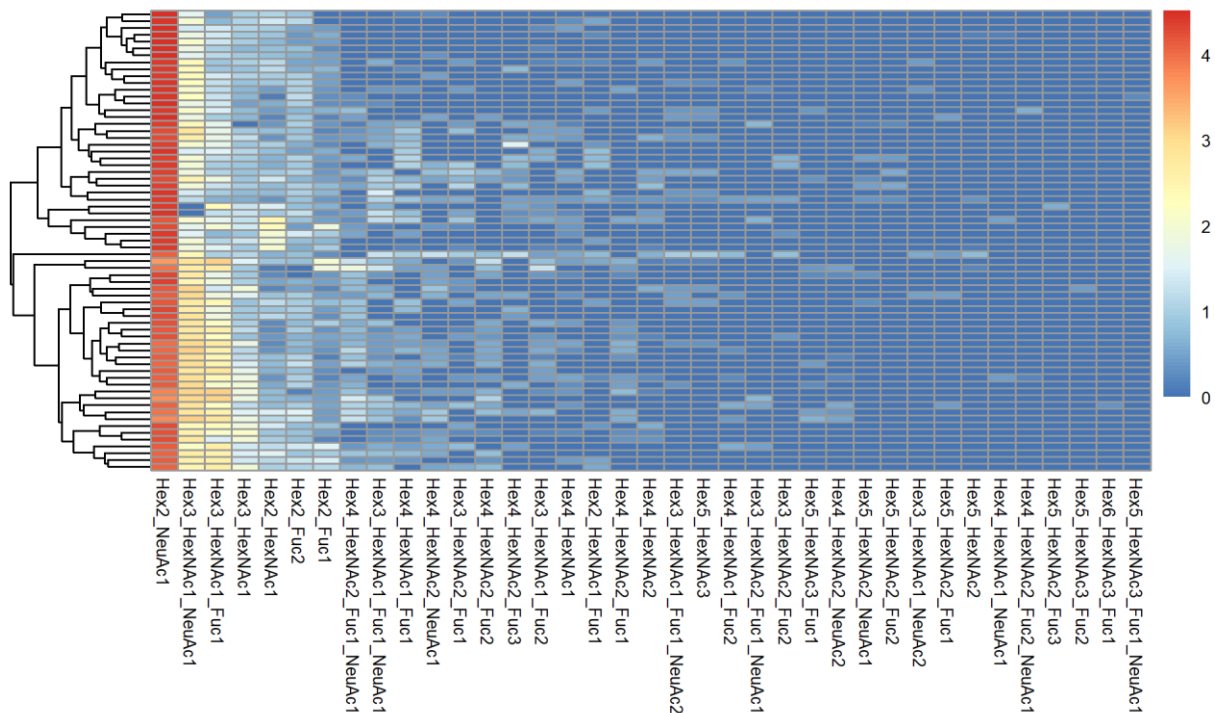


Figure 3 Représentation d'une analyse de clustering hiérarchique des abondances relatives (après log transformation) des oligosaccharides identifiés (en colonne) dans les 67 laits de lapine (en ligne). Hex : glucose ou galactose, HexNAc : N-acétylhexosamine; Fuc : fucose ; NeuAc : acide N-acétylneuraminique)

Une analyse par clusterisation hiérarchique des 67 laits révèle deux types de profils d'oligosaccharides (figure 3). Ces deux profils se distinguent principalement par les équilibres entre l'abondance relative en Sialyllactose et celles des Lacto-N-fucopentaose (LNFP : Hex3_HexNAc1_Fuc1) et Fucosylsialyllactolacto-N-hexaose (FS-LNH : Hex4_HexNAc2_Fuc1_NeuAc1) d'autre part. Dans notre étude toutes les femelles sont contemporaines et au même stade de lactation, cette dichotomie des profils pourrait ainsi refléter une variabilité génétique. En effet la variabilité des combinaisons de monosaccharides présente un déterminisme génétique et dépend de l'action de différentes glycosyltransférases (traduites à partir des gènes FUT) (Bode and Jantscher-Krenn, 2012). Chez la femme en fonction de l'expression des gènes FUT 2 et FUT3, 4 typologies de profils ont pu être identifiées (Bode and Jantscher-Krenn, 2012). Chez le lapin le déterminisme génétique de la variabilité des profils en oligosaccharides reste à étudier.

2.3. Etude des relations entre la composition en oligosaccharides des laits de lapines, les performances reproductives et la viabilité des lapereaux.

Chez le porc la composition en oligosaccharides du colostrum expliquerait en partie la variabilité des performances maternelles au sein d'une même race et entre différentes races de truies (Trevisi et al., 2020).

Globalement dans notre étude, les relations entre les performances reproductives des femelles sur 7 cycles de reproduction et la composition de leur lait en oligosaccharides en 2^{nde} lactation sont modérées : les 2 composantes du cercle des corrélations expliquent 90% de variance pour les performances reproductives contre seulement 19,7% pour les oligosaccharides (figure 4). Les oligosaccharides qui présentent les corrélations les plus élevées appartiennent à toutes les typologies (neutres, sialylés ou fucosylés). Parmi les oligosaccharides les plus abondants, les femelles qui présentent dans leur lait une abondance relative de Sialyllactose (Hex2_NeuAc1) ou de Hex2_HexNAc1_Fuc1 la plus faible et inversement de Sialyllacto-N-fucopentaose (Hex3_HexNAc1_Fuc1_NeuAc1) la plus élevée montrent un nombre de lapereaux sevrés total (SV_NBR) ou rapporté à la longévité de la femelle (SV_long) plus élevé. Par ailleurs, la mortalité naissance-sevrage est négativement liée à l'abondance relative de Hex3_HexNAc2_Fuc1 et positivement avec le Disialyllacto-N-hexaoses (DS-LNH : Hex4_HexNAc2_NeuAc2). Chez la truie le rang de parité ne semble pas influencer le profil en oligosaccharides du colostrum (Trevisi et al., 2020). Afin de conforter les relations que nous avons mises en évidence, il conviendrait de déterminer la stabilité des profils d'oligosaccharides au cours des lactations.

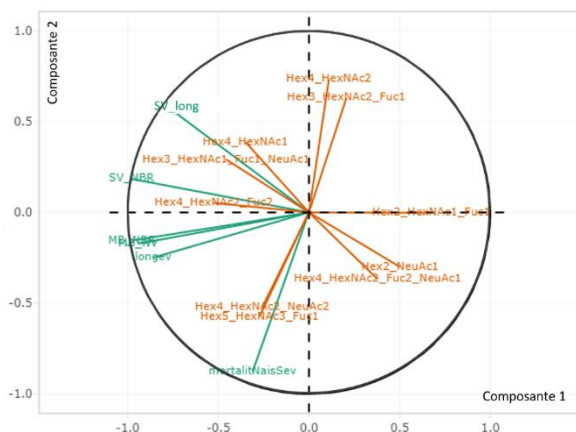


Figure 4 : Cercles des corrélations entre les performances reproductives des lapines suivies sur 7 cycles et la composition en oligosaccharides des laits prélevés en 2nde lactation. Analyse PLS (Partial Least Square), les corrélations > 0.5 sont présentées ; SV_NBR : nombre de lapereaux sevrés total, ou rapporté à la longévité (SV_long) ; MB NBR : nombre de mises bas, longev : longévité ; mortalitNaisSev ; mortalité entre la naissance et le sevrage ; en orange les oligosaccharides définis en fonction de leur composition en monosaccharides (Hex : glucose ou galactose, HexNAc : N-acétylhexosamine ; Fuc : fucose ; NeuAc : acide N-acétylneuraminique). Les variables de même direction ou direction opposée dans le cercle sont corrélées positivement ou négativement respectivement.

Conclusions

Cette étude menée sur un troupeau de 67 lapines a permis de caractériser pour la première fois la variabilité de la composition en oligosaccharides du lait de lapine. Le stade de lactation a été décrit comme un paramètre majeur de variation de la composition en oligosaccharides du lait dans différentes espèces incluant l'homme le porc et les bovins. Aussi, il conviendrait de poursuivre cette caractérisation en étudiant différents temps de la lactation chez le lapin. L'analyse par clusterisation suggère la présence de 2 types de profils. Afin de valider ce résultat, une étude du déterminisme génétique de la composition des laits de lapines serait nécessaire. Enfin, nos résultats suggèrent des liens entre la composition des laits des lapines et la survie des lapereaux jusqu'au sevrage. L'étude des effets des oligosaccharides sur la mise en place du microbiote et sur la barrière intestinale permettrait de mieux comprendre le rôle de ces premiers prébiotiques présents dans le lait maternel, dans les mécanismes impliqués dans la survie du lapereau jusqu'au sevrage.

Remerciements

Ces travaux ont été soutenus par le département PHASE INRAE et l'ANR HoloOLIGO. Nous remercions l'ensemble du personnel de l'unité expérimentale de GenPhysE pour le soin apporté aux animaux.

Références

- Albrecht, S., Lane, J.A., Mariño, K., Al Busadah, K.A., Carrington, S.D., Hickey, R.M., Rudd, P.M., 2014. A comparative study of free oligosaccharides in the milk of domestic animals. *Br. J. Nutr.* 111, 1313–1328. <https://doi.org/10.1017/S0007114513003772>
- Aldredge, D.L., Geronimo, M.R., Hua, S., Nwosu, C.C., Lebrilla, C.B., Barile, D., 2013. Annotation and structural elucidation of bovine milk oligosaccharides and determination of novel fucosylated structures. *Glycobiology* 23, 664–676. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwt007>
- Bode, L., Jantscher-Krenn, E., 2012. Structure-Function Relationships of Human Milk Oligosaccharides. *Adv. Nutr.* 3, 383S–391S. <https://doi.org/10.3945/an.111.001404>
- Bruneel, A., Cholet, S., Drouin-Garraud, V., Jacquemont, M.L., Cano, A., Mégarbané, A., Ruel, C., Cheillan, D., Dupré, T., Vuillaumier-Barrot, S., Seta, N., Fenaille, F., 2018. Complementarity of electrophoretic, mass spectrometric, and gene sequencing techniques for the diagnosis and characterization of congenital disorders of glycosylation. *Electrophoresis* 39, 3123–3132. <https://doi.org/10.1002/elps.201800021>
- Gyorgy, P., Norris, R.F., Rose, C.S., 1954. Bifidus factor. I. A variant of *Lactobacillus bifidus* requiring a special growth factor. *Arch. Biochem. Biophys.* 48, 193–201.
- Lebas, F., 1970. Description d'une machine à traire les lapines. *Ann. Zootech.* 223–228.
- Magné, E., Noirot, C., Mariette, J., Adu Kesewaah, Y., Dejean, S., Guilmineau, C., Henry, J., Krebs, A., Liaubet, L., Mathevet, F., Hyphen-Stat, Gaspin, C., 2022. ASTERICS: A Tool for the ExploRation and Integration of omiCS data, in: JOBIM. Presented at the JOBIM, Rennes, France.
- Oursel, S., Cholet, S., Junot, C., Fenaille, F., 2017. Comparative analysis of native and permethylated human milk oligosaccharides by liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. *J. Chromatogr. B-Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 1071, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.03.028>
- Remoroza, C.A., Liang, Y., Mak, T.D., Mirokhin, Y., Sheetlin, S.L., Yang, X., San Andres, J.V., Power, M.L., Stein, S.E., 2020. Increasing the Coverage of a Mass Spectral Library of Milk Oligosaccharides Using a Hybrid-Search-Based Bootstrapping Method and Milks from a Wide Variety of Mammals. *Anal. Chem.* 92, 10316–10326. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00342>
- Rohart, F., Gautier, B., Singh, A., Lê Cao, K.-A., 2017. mixOmics: An R package for 'omics feature selection and multiple data integration. *PLoS Comput. Biol.* 13, e1005752. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005752>
- Salcedo, J., Frese, S.A., Mills, D.A., Barile, D., 2016. Characterization of porcine milk oligosaccharides during early lactation and their relation to the fecal microbiome. *J. Dairy Sci.* 99, 7733–7743. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10966>
- Trevisi, P., Luise, D., Won, S., Salcedo, J., Bertocchi, M., Barile, D., Bosi, P., 2020. Variations in porcine colostrum oligosaccharide composition between breeds and in association with sow maternal performance. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 11, 21. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-0430-x>
- Urashima, T., Asakuma, S., Leo, F., Fukuda, K., Messer, M., Oftedal, O.T., 2012. The Predominance of Type I Oligosaccharides Is a Feature Specific to Human Breast Milk. *Adv. Nutr.* 3, 473S–482S. <https://doi.org/10.3945/an.111.001412>
- Urashima, T., Messer, M., Oftedal, O.T., 2016. Oligosaccharides in the Milk of Other Mammals, in: McGuire, M., McGuire, M.A., Bode, L. (Eds.), *Prebiotics and Probiotics in Human Milk. Origins and Functions of Milk-Borne Oligosaccharides and Bacteria*. Elsevier science, Saint Louis, MO.