

IMPACT DES PROBIOACTIFAP® ET D'UN ANTIBIOTIQUE SUR LE MICROBIOTE DIGESTIF DU CANARD EN ENGRAISSEMENT.

Mauvisseau Thierry ¹, Houillé Benjamin ², Delporte Isabelle ³

¹RESEAU CRISTAL-LABOVET CONSEIL-28 rue des Sables, 85140 LES ESSARTS, France
t.mauvisseau@reseaucristal.fr

²RESALAB OUEST, ZAC de la Buzeniere, BP 539 85500 LES HERBIERS Cedex

³ORIGINAL PROCESS, 21 rue Saint André 59000 LILLE

RÉSUMÉ

L'engraissement des canards mulard était autrefois accompagné d'un traitement antibiotique ou de cuivre fortement réduit désormais avec les résistances aux antibiotiques et à la protection de l'environnement. L'objectif de cette étude a été de mesurer l'impact d'une administration d'une solution alternative d'un mélange de prébiotiques et de postbiotiques (ProbioactiFAP®) (Lot B) et de comparer les effets morphologiques, fonctionnels et l'impact sur le microbiote digestif du canard en engraissement avec un lot témoin négatif (Lot A) non éprouvé et un autre lot témoin positif (Lot C) avec une antibioprévention. L'essai a été conduit en salle d'engraissement sur 7 sujets à l'arrivée puis sur 7 canards de chaque lot au 9^{ème} (T9) et au 17^{ème} repas (T17). Sur chacun d'entre eux ont été réalisés, un bilan digestif avec un examen du jabot, iléon et caeca, une pesée, une mesure de la longueur de l'intestin, du pH digestif ainsi que des dénombrements des différentes populations du microbiote digestif à l'aide du séquenceur Miseq. À T9, l'augmentation du poids des canards du lot B est plus importante et la baisse du pH duodéal et jéjunal plus rapide. L'amoxicilline réduit drastiquement les lactobacilles au niveau du jabot à T9. Les ProbioactiFAP® stimulent les lactobacilles à T9, tout le long du tractus digestif, dès le jabot et particulièrement au niveau iléal pouvant expliquer la baisse plus rapide du pH en lien avec les substances acides qu'ils secrètent. L'administration des ProbioactiFAP® permet de renforcer et préserver un meilleur équilibre du microbiote digestif qu'un traitement antibiotique avec un respect de la diversité bactérienne, tout en limitant l'inflammation et en soutenant les performances.

ABSTRACT

Impact of ProbioactiFAP® and an antibiotic on the digestive microbiota of fattening duck

The fattening of mulard ducks was formerly accompanied by antibiotic or copper treatment, which has now been greatly reduced with antibiotic resistance and environmental protection. The objective of this study was to measure the impact of administering an alternative solution of a mixture of prebiotics and postbiotics (ProbioactiFAP®) (Batch B) and to compare the morphological, functional and impact on the digestive microbiota of fattening ducks with an untested negative control batch (Batch A) and another positive control batch (Batch C) with antibiotic prevention. The test was carried out in the fattening room on 7 subjects on arrival then on 7 ducks from each batch at the 9th (T9) and at the 17th meal (T17). On each of them, a digestive assessment was carried out with an examination of the crop, ileum and ceca, weighing, measurement of the length of the intestine, digestive pH as well as counts of the different populations of the digestive microbiota at using the Miseq sequencer. At T9, the increase in weight of ducks in batch B is greater and the drop in duodenal and jejunal pH is more rapid. Amoxicillin drastically reduces lactobacilli in the crop at T9. ProbioactiFAP® stimulates lactobacilli at T9, all along the digestive tract, from the crop and particularly at the ileal level which can explain the more rapid drop in pH linked to the acidic substances they secrete. The administration of ProbioactiFAP® makes it possible to strengthen and preserve a better balance of the digestive microbiota than antibiotic treatment with respect for bacterial diversity, while limiting inflammation and supporting performance.

INTRODUCTION

La volonté de réduire drastiquement le recours aux antibiotiques, pour préserver notre avenir en limitant l'antibiorésistance est une forte attente sociétale. La filière volaille a su en 12 ans atteindre une réduction de 72 % de l'exposition aux antibiotiques avec des diversités de production importantes et des réductions de la durée d'élevage pour obtenir les mêmes performances. Ainsi en engraissement de canard, il n'est pas rare d'avoir des périodes de 9-10 jours contre une quinzaine de jours dans les années 2000. Le gavage exclusivement avec du maïs et l'élevage en cage est une grosse source de stress pour le canard qui se traduit très fréquemment par des troubles digestifs évoluant rapidement vers une entérotaxémie mortelle en quelques heures. Les recours à l'amoxicilline ou au cuivre étaient les 2 principaux traitements régulièrement utilisés. Le cuivre n'étant pratiquement pas assimilable, les effluents se sont retrouvés fortement chargés en cuivre avec une toxicité pour les sols se traduisant par des baisses importantes de la microfaune terrestre et aquatique. Cette réduction de la diversité ayant pour conséquence un épuisement des sols et des rendements plus faibles. Le cuivre ayant également un effet amérissant en améliorant la structure des fientes et réduisant des candidoses avait toute sa place en engraissement de canards pour lutter contre les désordres digestifs. Les attentes sociétales sont désormais plus tournées vers des médecines plus naturelles et plus respectueuses de l'environnement. Le vétérinaire garant de la santé des élevages a donc dû s'orienter vers des alternatives telles que les prébiotiques, ingrédients alimentaires, stimulant des populations bactériennes favorables du microbiote (Inuline, parois bactériennes...) et des postbiotiques : substances à effet antibactérien secrétées par des bactéries. D'autres recherches ont déjà été effectuées sur les probiotiques en canard (Calenge et al., 2017) ; (Even et al., 2018) ; (Rey et al., 2015) et certaines en vue de remplacer l'engraissement (Knudsen et al., 2021). L'objectif de cette étude est de comparer l'effet d'un mélange de pré et de postbiotiques dénommé ProbioactiFAP®⁽¹⁾, au travers d'indicateurs mesurables et pertinents, avec une antibiothérapie, témoin positif et un lot témoin négatif sans traitement sur la période d'engraissement.

⁽¹⁾ ProbioactiFAP® : produits issus de la fermentation lactique de céréales Process FAP® - Original Process

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Les sujets

Les canards mulards de souche PKL MMG ont été élevés durant 11 semaines chez un pré-engraisseur puis transférés vers une salle d'engraissement, répartis en cages de 5 sujets type Palmistar. Les oiseaux n'ont

pas subi de traitement antibiotique durant la période de pré-engraissement afin de ne pas perturber le microbiote digestif. Les canards ont reçu une alimentation rationnée avant le transfert avec des périodes de rationnement alternées de 48 heures afin de préparer la dilatation du jabot pour l'embucage en engraissement. La salle d'engraissement comporte 7 rangées de cages et a été séparée en 3 afin de répartir géographiquement les 3 lots. (Lot A Non éprouvé témoin négatif, Lot B recevant le mélange ProbioactiFAP®. Lot C recevant l'amoxicilline) de façon à ne préparer qu'une gavageuse pour chaque lot. Les canards ont reçu 2 repas par jour à 12 heures d'intervalle avec le même plan de gavage progressif pour les 3 lots.

1.2. Les produits

Le mélange de prébiotique et de postbiotique (ProbioactiFAP®) a été sélectionné par rapport à ses effets positifs sur la digestion et santé digestive et ses impacts sur le microbiote, déjà démontrés sur d'autres espèces notamment les bovins (Faubladier et Guin., 2017) ; (Save et al., 2023) et les chevaux (Faubladier et al., 2017). À l'issue d'une fermentation lactique d'orge maîtrisée à partir de micro-organismes sélectionnés (technologie FAP®), la préparation ProbioactiFAP® liquide, conservée à température ambiante et prête à l'emploi est administrée à raison de 1 ml/canard et par repas. Les molécules pré et postbiotiques du ProbioactiFAP® ne sont pas détruites par des traitements biocides de l'eau ce qui est un avantage dans le choix de la solution alternative. Les postbiotiques sont des métabolites secrétés par des Probiotiques, récupérées par filtration.

L'antibiotique retenu en témoin positif est l'amoxicilline, régulièrement utilisé en gavage pour lutter contre les clostridiums responsables d'entérotaxémie. Ce médicament, sous forme de poudre comportant 10 % de matière active a été administré dans la pâte.

1.3. La méthode

À l'arrivée dans la salle de gavage à T0, 7 canards ont été sélectionnés au hasard en vue de réaliser une autopsie digestive afin de qualifier l'intégrité intestinale suivant une grille établie sur 30 critères ainsi qu'une mesure du poids des canards, du poids de foie et de la longueur de l'intestin. Une mesure du pH a été réalisée au niveau du duodénum, jéjunum et caecum à l'aide d'un papier colorimétrique. Enfin 100 mg de contenu digestif a été prélevé individuellement au niveau des 3 parties de l'intestin et congelé dans un premier temps à -20°C puis à -80°C à l'arrivée au laboratoire équipé afin de réaliser un séquençage de

microbiote. Les analyses ont été réalisées individuellement pour les canards. La première phase d'extraction totale de l'ADN a été réalisée avec le kit Quick-DNA Fecal/Soil Microbe Miniprep (Zymo research) à partir de chaque prélèvement. La préparation de la « librairie » pour le séquençage de l'ARN 16S a été ciblée plus spécifiquement sur la zone v3-v4, qui représente environ 460 paires de bases, reconnues d'intérêt pour ce type d'échantillon. (Best et al., 2017) ; (Zhu et al., 2020). Cette même technique a été utilisée sur des probiotiques en canard Pékin et mulard (Vasai et al., 2014) ; (Vasai, 2013). La préparation et la purification de la librairie a été pratiquée à l'aide du kit Nextera XT Index kit d'Illumina (amplification, purification et rajout des index). Nous avons ensuite procédé à la vérification de la qualité et de la concentration des librairies à l'aide d'un Nanodrop et d'un Qubit. Nous avons ensuite préparé la flow cell (Miseq Reagent Kit v3) puis chargé le mix des échantillons sur la flow cell pour séquençage.

Le séquençage a ensuite été réalisé à 2*300pb avec le séquenceur Miseq de la technologie Illumina. Le rendu des résultats est présenté sous la forme d'une table d'abondance d'OTUs.

Ces mêmes analyses ont été réalisées sur 7 canards de chaque lot (A-B-C) à T9 (après le 9ème repas) et à T17 (après le 17ème repas). Les canards ont été euthanasiés par section des jugulaires après passage à l'électronarcose entre 6 et 8 heures après le repas. Les canards ont ensuite été abattus à la fin de la période d'engraissement après le 21ème repas.

Le lot B a reçu les ProbioactiFAP® à raison de 1 ml/canard et par repas sur 12 repas puis 9 repas sans supplémentation. Le lot B a reçu de l'amoxicilline administrée dans la pâtée mélangée dans la gavageuse à raison de 0,3g/canard par repas soit 20 mg/kg/jour répartis en 2 repas sur 9 repas. Les canards ont ensuite reçu l'aliment sans supplémentation. Ce protocole respecte l'Autorisation de Mise sur le Marché définissant un temps de retrait en gavage de 48 heures compatible avec l'abattage à 11 jours.

Le lot A n'a reçu que l'aliment durant les 21 repas.

1.4. Analyse statistique

Les poids de foies, des canards et les longueurs des intestins des lots B et C ont été comparés à l'aide d'un Mann Whitney à T9 et à T17 puis à l'aide d'un test de Kruskal Wallis pour les 3 lots.

Les mesures du pH duodénal, jéjunal et caecal ont été comparées suivant les mêmes critères.

Les différentes lésions observées à l'aide de la grille d'observation de la santé digestive en canard en engraissement ont été regroupées en note digestive, hépato-rénale, respiratoire et locomotrice.

Les données issues du séquençage métabarcoding SRA number on ncbi ont ensuite été analysées par l'INRAE-UMR 1388-Genphyse par le logiciel FROGS qui permet de réaliser le prétraitement des données, les analyses statistiques et la présentation graphique des résultats. Ces données sont ensuite utilisées par un outil d'inférence fonctionnel (PICRUST2).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Résultats

Les notes obtenues sur la grille du bilan de la santé digestive sont meilleures sur les lots B et C à T9 et T17 par rapport au lot témoin. La note locomotrice est supérieure à T17 pour le lot C en lien avec des lésions de pododermatites observées à la mise en gavage à T0.

Les poids de foie sont statistiquement supérieurs à T9 (310gr) pour le lot C (p value=0,04) pour 273g et 269g pour les autres lots, en revanche à T17, il n'y a pas de différences entre les 3 lots. L'intestin s'allonge d'un mètre entre l'arrivée en gavage et T17 avec un allongement plus rapide à T9 pour le lot B mais non significatif (Figure 2). Les canards passent de 4 kg à 6 kg à T17 (Figure 1). L'augmentation plus importante du poids des canards à T9 pour le lot B est statistiquement significative par rapport au lot C (p value=0,01). Les mesures de pH au niveau duodénal (Figure 3) et jéjunal (Figure 4) sont plus basses pour le lot B à T9 avec une différence significative comparativement au lot C, tant pour le duodénum (p value= 0,03) que pour le jéjunum (p value = 0,01).

Au niveau du jabot (Figure 5) l'analyse individuelle du microbiote à T0 sur les 7 canards indique peu de différence avec majoritairement des enterococcacées. A T9, le lot C éprouvé antibiotique comporte très peu de lactobacilles par rapport aux 2 autres lots (notamment le lot B) avec un maximum de streptococcacées. A T17 la répartition des différentes familles de bactéries est similaire entre les 3 lots.

Concernant l'iléon, (Figure 6) le lot B comporte un maximum de lactobacilles à T9 alors que cette population est très réduite pour le lot C qui présente également une réduction de la diversité bactérienne. À T17., il y a peu de différences entre le lot A et le lot B, en revanche, nous observons une proportion plus importante de lactobacilles sur le lot C (Bhogoju et al., 2018).

Au niveau des caeca (Figure 7) la diversité bactérienne est beaucoup plus marquée que dans le duodénum et l'iléon avec pratiquement pas de lactobacilles à T9 sur le lot C.

2.2 Discussion

La note supérieure pour le lot témoin négatif antibiotique C pour le score de l'appareil locomoteur

est à mettre en lien avec la présence de pododermatite à la mise en gavage avec probablement des infections localisées à staphylocoque sur lesquelles l'amoxicilline est particulièrement indiquée, les ProbioactiFAP® n'ayant pas de propriétés anti-infectieuses sur des affections de l'appareil locomoteur.

L'augmentation du poids des oiseaux à T9 pour le lot B pourrait être mise en relation avec l'allongement plus rapide de l'intestin et à l'augmentation de surface d'échange au niveau intestinal.

Les pH duodéal et jéjunal baissent plus rapidement pour le lot B, avec une production d'acides plus élevée que pour les 2 autres lots. A T17 les pH obtenus sont identiques ce qui indique un équilibre de la flore digestive en adaptation avec l'alimentation. L'apport des ProbioactiFAP® entraîne une augmentation plus rapide et précoce des lactobacilles pour renforcer l'équilibre du microbiote dès le jabot. Ils contribuent également à une augmentation plus rapide de leurs activités se traduisant par une diminution du pH corrélée à la production plus importante d'acide lactique. L'amoxicilline a quant à elle un effet réducteur sur les lactobacilles. L'effet est de courte durée et est réversible à T17.

A l'arrêt des traitements, les populations se rééquilibrent et les différences sont moins marquées sur les 3 lots.

CONCLUSION

Cette étude a permis de bien caractériser les modifications fonctionnelles et morphologiques durant l'engraissement du canard et de mieux comprendre l'impact d'un traitement antibiotique et des ProbioactiFAP®. L'allongement très rapide de l'intestin et la colonisation de la muqueuse intestinale par un microbiote riche en lactobacilles expliquent l'abaissement rapide du pH. L'amoxicilline a réellement un impact réducteur sur ces lactobacilles bénéfiques à la digestion et réduit également la diversité du microbiote sur la durée du traitement avec néanmoins une restauration des lactobacilles post-antibiothérapie. Les ProbioactiFAP® accélèrent la croissance des lactobacilles tout en respectant la diversité du microbiote. Leur distribution prolongée sur toute la période d'engraissement sans arrêt à T12 pour un abattage à T21, permettrait peut-être d'améliorer encore les performances, ce qui pourrait faire l'objet d'une nouvelle étude. Dans le cas présent, outre les améliorations du poids de carcasse pour le lot ProbioactiFAP®, il n'y pas eu de variations significatives quant au poids de foie et la mortalité à l'abattage du lot entre les 3 lots.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Best, A. A., Porter, A. L., Fraley, S. M., & Fraley, G. S., 2017. *Frontiers in microbiology*, 7, 2125
- Bhogoju, S., Nahashon, S., Wang, X., Darris, C., & Kilonzo-Nthenge, A., 2018. *PloS one*, 13(3), e0191029
- Calenge, F., Leloutre, L., Quéré, P., Velge, P., Gabriel, I., & Dore, J., 2017. In 12. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras (No. 12, pp. 1222-p). ITAVI-Institut Technique de l'Aviculture
- Even, M., Davail, S., Rey, M., Tavernier, A., Houssier, M., Bernadet, M. D., & Ricaud, K., 2018. *The open microbiology journal*, 12, 71.
- Faubladier, C., Delporte, I., Cornou, R., & Paul, S. Ratio, 2(C4), C3.
- Faubladier, C., & Guin, B., 2017. *Bulletin des GTV*, (88), 69-74.
- Knudsen, C., Arroyo, J., Even, M., Cauquil, L., Pascal, G., Fernandez, X., & Ricaud, K., 2021. *Animal Microbiome*, 3, 1-13.
- Rey, M., Brugirard-Ricaud, K., Bernadet, M. D., Pascal, G., Combes, S., Cauquil, L., ... & Davail, S., 2015. Actes des 11èmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, France, les 25 et 26 mars 2015, 267-271.
- Save, M., Guin, B., Bompard, A., Barry, S., Bard, E., Schmitt, B. & Lurier, T., 2023. May. In Journées nationales des GTV
- Vasaï, F., Brugirard Ricaud, K., Bernadet, M. D., Cauquil, L., Bouchez, O., Combes, S., & Davail, S., 2014. *FEMS Microbiology Ecology*, 87(1), 204-216.
- Vasaï, F., 2013. (Doctoral dissertation, Pau).
- Zened, A., Forano, E., Delbes, C., Verdier-metz, I., Morgavi, D., popova, M., & Marie-Etancelin, C., 2020. *INRAE Productions Animales*, 33(4), 249-260.
- Zhu, C., Song, W., Tao, Z., Liu, H., Zhang, S., Xu, W., & Li, H., 2020. *Poultry science*, 99(2), 1096-1106.

Figure 1. Evolution des poids de carcasse (gr)

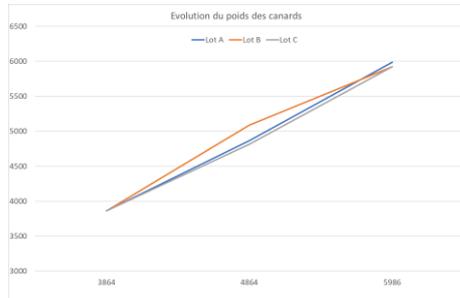


Figure 2. Evolution de la longueur de l'intestin (cm)

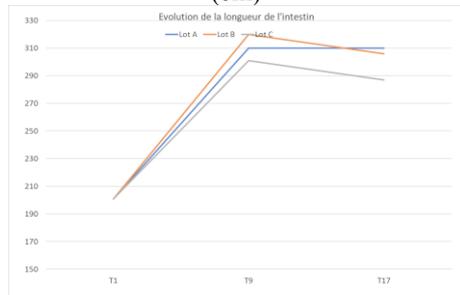


Figure 5. Composition individuelle du microbiote du jabot

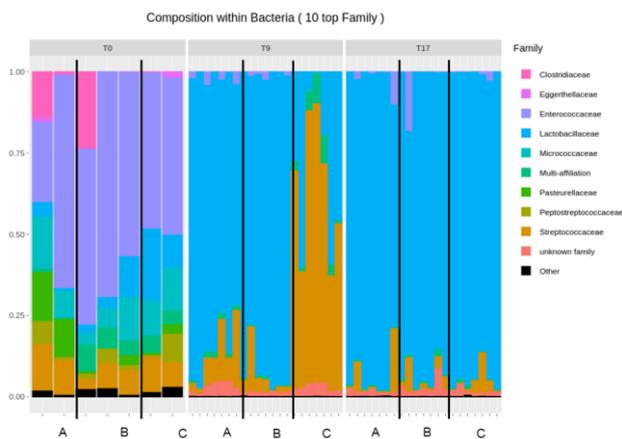


Figure 3. Evolution du pH duodénal

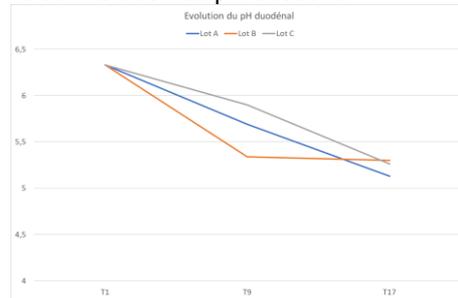


Figure 4. Evolution du pH jéjunal

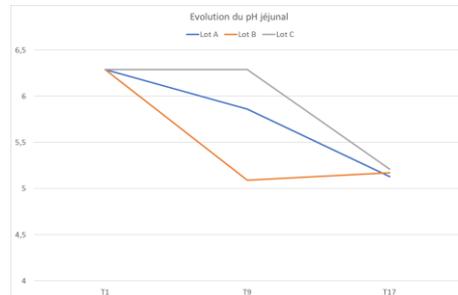


Figure 6. Diversité du microbiote de l'iléon à T9 Lot A-B-C

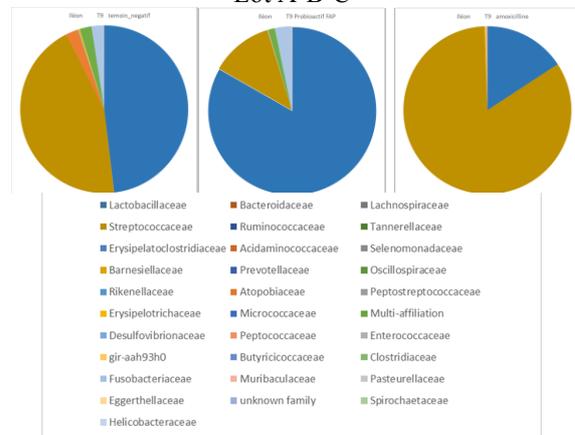


Figure 7. Diversité du microbiote du caeca à T9 Lot A-B-C

