



HAL
open science

Impact de la source énergétique alimentaire sur les métabolites digestifs microbiens chez le poulet

Irène Gabriel, Julie Lalande, Illa Téa, Florence Gondret, Sandrine Lagarrigue,
Elisabeth Baéza, Agnès Narcy, Michel Jacques M.J. Duclos

► **To cite this version:**

Irène Gabriel, Julie Lalande, Illa Téa, Florence Gondret, Sandrine Lagarrigue, et al.. Impact de la source énergétique alimentaire sur les métabolites digestifs microbiens chez le poulet. 11ème Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Mar 2015, Tours, France. hal-01210972

HAL Id: hal-01210972

<https://hal.science/hal-01210972>

Submitted on 3 Oct 2022

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.

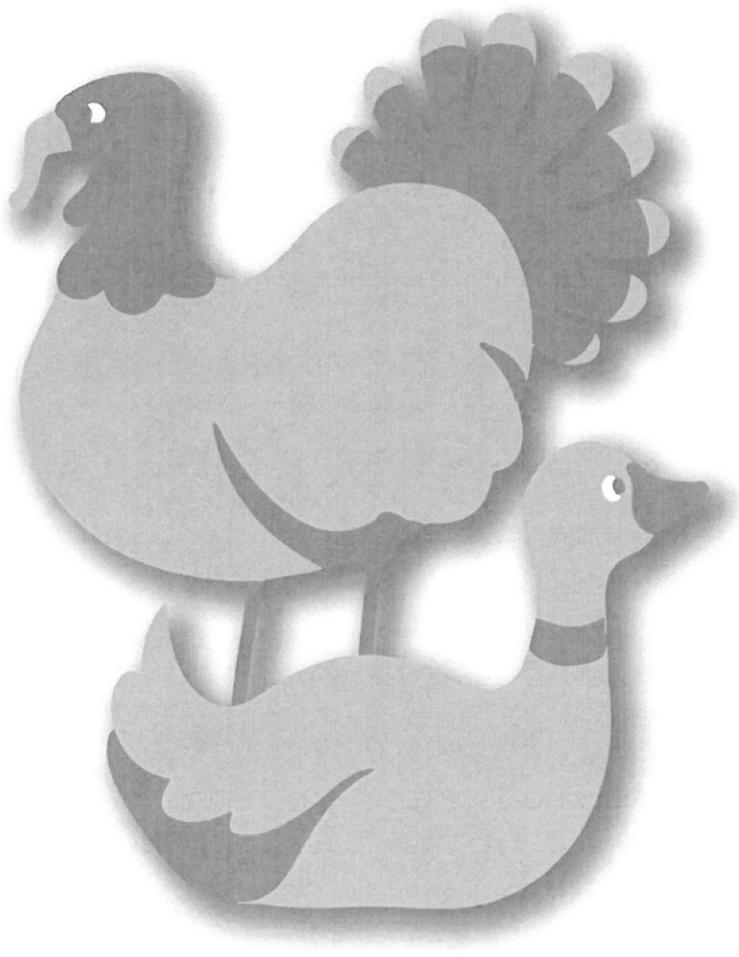
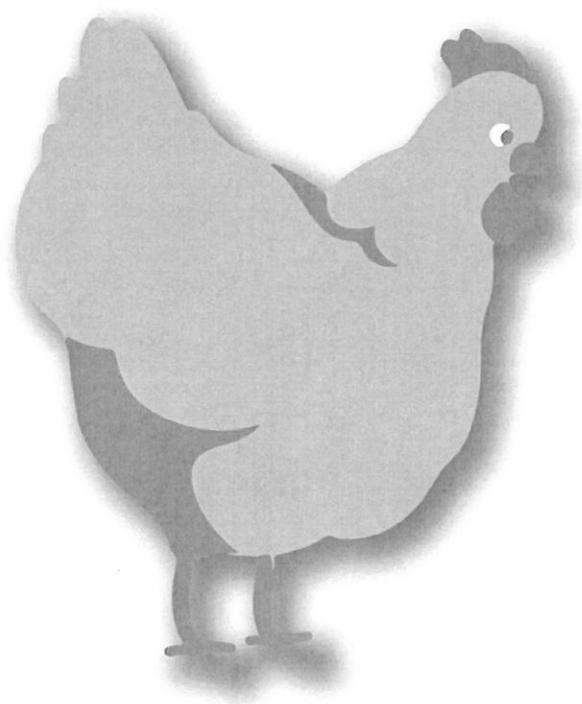
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

11^e Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras



25 & 26 mars 2015

TOURS - Centre des congrès Vinci



**IMPACT DE LA SOURCE ENERGETIQUE ALIMENTAIRE
SUR LES METABOLITES DIGESTIFS MICROBIENS CHEZ LE POULET**

**Gabriel Irène¹, Lalande Julie⁴, Tea, Illa⁴, Gondret Florence^{2,3}, Lagarrigue Sandrine^{2,3},
Baéza Elisabeth¹, Nancy Agnes¹, Duclos Michel Jacques¹**

¹ INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37380 Nouzilly, France

² INRA, UMR1348 PEGASE, F-35590 Saint-Gilles, France

³ Agrocampus Ouest, UMR1348 PEGASE, F-35000, Rennes, France

⁴ Université de Nantes, CNRS, CEISAM, UMR 6230, B.P. 92208, F-44322 Nantes Cedex 03,
France

Irene.gabriel@tours.inra.fr

RÉSUMÉ

L'utilisation croissante de matières premières non conventionnelles dans les aliments destinés aux volailles, entraînant la substitution de l'amidon par des lipides comme source énergétique, pourrait influencer la fonctionnalité du microbiote digestif des poulets de chair. Pour évaluer cet effet, des poulets sélectionnés de manière divergente sur leur engraissement (maigres ou gras) ont été alimentés de 22 à 63 jours avec des régimes isoénergétiques et isoprotéiques présentant des teneurs en lipides élevées (8%, HL) ou faibles (2%, BL) mais des rapports identiques en type d'acides gras. A l'abattage à 63 jours, les métabolites digestifs de l'intestin grêle et des caeca ont été étudiés par RMN du proton (¹H). Les métabolites détectés et identifiés sont présents en plus grand nombre dans les caeca (41) par rapport à l'intestin grêle (29). Parmi les métabolites pouvant provenir du microbiote, certains sont présents dans les 2 segments comme certains acides gras à chaîne courte (AGCC), deux acides organiques, une amine secondaire et un dérivé d'acide aminé. Plusieurs métabolites ne sont détectés que dans les caeca, comme certains AGCC, un dérivé d'AGCC, un acide dicarboxylique, des α-cétoacides, une amine tertiaire, une base pyrimidique, des monosaccharides et un acide aminé. Cette différence est probablement liée à la diversité plus importante du microbiote dans les caeca par rapport au jéjunum. L'analyse statistique multivariée des données a révélé une forte variabilité inter-individuelle et a mis en évidence une différence dans le jéjunum entre les deux régimes due à plusieurs métabolites, dont l'un deux pourrait être d'origine microbienne.

ABSTRACT

Impact of dietary energetic source on microbial digestive metabolites in the chicken

The increasing use of unconventional feedstuffs in broiler's diets, resulting in the substitution of starch by lipids as the main energy source, could influence the functionality of their digestive microbiota. To evaluate this effect, chicken divergently selected on their fatness (Fat or Lean) were fed isoenergetic, isoproteic diets with high (8 %) or low (2 %) lipid content from 22 to 63 days of age. At 63 days, birds were slaughtered and digestive metabolites in the small intestine (jejunum) and the caeca were studied by proton NMR (¹H). The number of metabolites detected and identified in the two digestive segments was higher in the caeca compared to the small intestine (41 instead of 29). Among metabolites that might originate from microbiota, some compounds were found in the two segments such as short chain fatty acids (SCFA), two organic acids, a secondary amine and an amino acid derivative. Several metabolites were found only in the caeca, as different SCFA, a derivative of SCFA, a dicarboxylic acid, ketoacids, a tertiary amine, the pyrimidine derivative, monosaccharides and an amino acid. The difference is likely due to the higher microbial diversity in the caeca compared to jejunum. Multivariate statistical analysis of the data highlighted a high inter-individual variability, and a difference in the jejunum between dietary treatments due to several metabolites, whose one may come from bacteria.

INTRODUCTION

Ces dernières années, de nombreux travaux ont été menés sur le microbiote digestif des animaux du fait de son implication au niveau digestif, mais aussi au niveau de la physiologie globale de l'animal, aussi bien chez les mammifères (Blottière et al., 2013), que chez les oiseaux (Gabriel et al., 2014). Ainsi depuis plusieurs années, des études montrent une relation entre l'engraissement corporel et le microbiote digestif chez les mammifères (Backhed et al., 2004 ; Turnbaugh et al., 2006 ; Lartigue et al., 2011 ; Clavel et al., 2014). Chez les oiseaux, une récente étude a montré chez le canard que le gavage, responsable de modifications du métabolisme énergétique, conduisait également à une modification du microbiote digestif (Vasai et al., 2014). Chez le poulet, alors qu'une modification du microbiote a un effet sur le métabolisme lipidique (Zhao et al., 2013), les conséquences d'une modification du métabolisme énergétique sur le microbiote ne sont pas connues. Or l'utilisation croissante de matières premières non conventionnelles dans les aliments destinés aux volailles, entraînant la substitution de l'amidon par des lipides comme source énergétique, pourrait modifier le métabolisme énergétique. Les lipides peuvent eux-mêmes modifier le microbiote digestif, ce qui a été principalement étudié chez les volailles avec des mélanges de graisses végétales et animales (Leeson et al., 1997) ou en comparant des lipides d'origine animale ou végétale (Knarreborg et al., 2002 ; Jozefiak et al., 2014) ou chez les rongeurs avec des régimes riches en lipides d'origine animale (Shen et al., 2014). De plus le changement de source énergétique dans l'aliment, entraîne la modification d'autres composants alimentaires comme l'augmentation de l'apport de fibres pouvant également modifier le microbiote digestif (Cao et al., 2003 ; Saki et al., 2010).

L'étude du microbiote digestif a été effectuée jusqu'à présent principalement par l'étude de sa composition, avec ces dernières années, le développement d'analyses à haut débit tel que le séquençage de l'ADNr16S. Cependant, la composition du microbiote ne traduit pas nécessairement sa fonctionnalité (Mouchet et al., 2012). Se sont donc aussi développées des approches ciblant les fonctions du microbiote, dont l'étude des métabolites digestifs. Ceux-ci sont les produits finaux des processus biologiques, et ils correspondent à des molécules de poids moléculaires inférieurs à 1000 D (Nicholson et al., 2012 ; Blottière et al., 2013). Ces métabolites contiennent des composants de l'alimentation et des sécrétions endogènes de l'animal ainsi que les produits de leur digestion, mais aussi des métabolites microbiens, particulièrement présents dans les segments digestifs à forte concentration microbienne, comme à la fin du système digestif. L'étude des métabolites digestifs a été développée principalement chez l'Homme ou des espèces modèles, en ciblant

principalement les fèces. Seules de rares études se sont intéressées aux métabolites digestifs de l'intestin grêle (Tian et al., 2012). Concernant les volailles, à notre connaissance, jusqu'à présent, une seule étude a utilisé cette approche (Bailey, 2010).

L'objectif de ce travail a donc été d'une part de déterminer la faisabilité de l'étude des métabolites dans des contenus digestifs par une approche de métabolomique, et en particulier dans les caeca qui rassemblent à la fois des métabolites digestifs et urinaires. La méthode choisie, la résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ¹H) présente l'avantage de donner une image qualitative et quantitative sans a priori des constituants des fluides biologiques. D'autre part, nous avons souhaité caractériser l'effet de modifications du métabolisme énergétique, par voie génétique ou alimentaire, sur ces profils métabolites. Pour cela, des poulets issus d'une sélection divergente sur l'engraissement corporel (lignées maigre et grasse, Leclercq, 1988) et nourris avec des régimes isoénergétiques et isoprotéiques présentant des teneurs contrastées en lipides et amidon ont été comparés, ces régimes entraînant une modification du métabolisme énergétique (Baéza et al., 2015).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et régimes alimentaires

Des poulets mâles d'une lignée maigre (n = 60) ou d'une lignée grasse (n = 60) ont été élevés ensembles et nourris avec le même régime de démarrage (2900 kcal EM/kg et 210 g PB/kg) jusqu'à l'âge de 21 jours (Baéza et al., 2015). Puis 32 mâles par lignée, de poids vif équivalent, ont été placés en cages individuelles et répartis en 2 lots recevant 2 régimes croissance différents entre 21 et 63 jours d'âge. Ces 2 régimes étaient isoénergétiques et isoprotéiques (3000 kcal /kg et 190 g /kg de protéines). Ils avaient une teneur en lipides élevée (8,0%, HL) ou faible (2,0%, BL) mais une composition en acides gras équivalente. Pour ce faire, le régime HL contenait plus d'huile végétale (6,3% vs. 0,5%), et de cellulose (6,4 vs. 2,1%), tandis que le régime BL contenait plus d'amidon (51,4 vs. 37,9%), avec plus de blé (40 vs. 25%).

A 63 jours, 12 poulets par lignée et par régime ont été mis à jeun pendant 12 h puis renourris pendant 3 h avant sacrifice de manière à refléter un état postprandial. Les contenus digestifs du jéjunum et des caeca ont été prélevés, immédiatement congelés dans l'azote liquide et conservés à -80°C jusqu'aux analyses ultérieures.

1.2. Analyse métabolomique

Les métabolites ont été extraits des échantillons de contenus digestifs à l'aide d'un tampon phosphate, avec des cycles de congélation et décongélation et de sonication. Après centrifugation durant 10 min à

13 000 rpm, les surnageants ont été collectés et stockés à -80°C jusqu'à leur analyse par RMN ¹H. Les spectres RMN ¹H à une dimension ont été générés à 30°C sur un spectromètre Bruker Avance 500 muni d'une cryo-sonde. Ils ont ensuite été traités avec le logiciel Topspin 2.1 (Bruker). La correction de la ligne de base, le phasage des signaux et la calibration des déplacements chimiques (δ) ont été systématiquement effectués pour chaque spectre. L'attribution des spectres aux différents métabolites a été réalisée en se basant sur des données de la littérature.

1.3. Analyse statistique

Après une procédure de normalisation des données, des analyses statistiques ont été réalisées : d'une part une analyse univariée sous le logiciel R (Balayssac et al., 2013) et d'autre part une approche multivariée avec une Analyse en Composantes Principales (ACP), et une Analyse Discriminante par la méthode de régression des moindres carrés partiels (PLS-DA).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Métabolites des contenus digestifs

Les analyses par ACP ont montré une grande variabilité inter individuelle de la composition en métabolites digestifs, aussi bien au niveau de l'intestin grêle qu'au niveau des caeca. Par ailleurs, une différence très nette a été observée entre les profils métaboliques du jéjunum et des caeca, avec un nombre nettement plus important de métabolites détectés dans les caeca. Ainsi, parmi les métabolites identifiés, alors que 29 ont été dénombrés dans le jéjunum, ce nombre s'est élevé à 41 dans les caeca. Parmi les métabolites identifiés, 27 sont communs aux deux segments digestifs. Ce sont majoritairement des acides aminés (16), mais aussi le glucose, la créatine, l'adénine et la choline. Par ailleurs, des métabolites pouvant provenir spécifiquement du microbiote digestif (Nicholson et al., 2012) ont été détectés: trois acides gras à chaîne courte (AGCC) (acétate, formate, fumarate), deux acides organiques (lactate, succinate), une amine secondaire (diméthylamine) et un dérivé d'acide aminé (taurine). Des métabolites ne sont présents que dans les contenus du jéjunum ou dans les caeca. Ainsi, au niveau du jéjunum, ont été observés spécifiquement 2 acides aminés (arginine, histidine). Au niveau des caeca, 14 métabolites ont été mis en évidence de façon spécifique à ce segment, et pourraient provenir du microbiote digestif (Nicholson et al., 2012). Il s'agit d'AGCC (n-butyrate, n-valérate, propionate), et d'un dérivé d'AGCC (3-(4'-hydroxyphényl)-propionate), d'un acide dicarboxylique (k-glutarate), d' α -cétos-acides (pyruvate, α -cétos-isovalérate, α -cétos- β -méthyl-valérate), d'une amine tertiaire (tryméthylamine), d'une base pyrimidique (uracile),

de monosaccharides (arabinose, galactose, xylose) et d'un acide aminé (citrulline). Ainsi les produits du métabolisme microbien s'avèrent plus diversifiés dans les caeca que dans le jéjunum. Cette différence entre segments digestifs est probablement liée à la diversité plus importante du microbiote dans les caeca par rapport à l'intestin grêle (Gong et al., 2002).

Effet d'une modification du statut énergétique des animaux induite par leur génétique et/ou leur régime

Les analyses par ACP et PLS-DA pour le jéjunum révèlent une différence de profils métaboliques entre régimes alimentaires, mais pas entre lignées génétiques. La différence liée au régime alimentaire a été observée à la fois pour les poulets de la lignée grasse et de la lignée maigre. Indépendamment de la lignée, les métabolites à l'origine de cette différence entre régimes, étaient par ordre de signification statistique décroissante : le glucose, l'acide lactique, ainsi que 7 acides aminés (Lys, Ile, Ala, Leu, His, Val, Tyr).

Ainsi, dans le jéjunum, le glucose a été détecté en concentration plus importante dans le régime BL que dans le régime HL. Le régime BL contenait comme source énergétique principale de l'amidon, dont l'hydrolyse conduit à des dextrines, puis du maltose et au final du glucose. La concentration en amidon du régime BL étant plus importante que celle du régime HL, les produits de l'hydrolyse de cette macromolécule ont probablement été produits en quantité plus importante pour le régime BL, et le glucose n'a donc pas été encore totalement absorbés au niveau du jéjunum, segment médian de l'intestin grêle, 3h après la distribution du repas, et / ou moins utilisés pour les fermentations microbiennes.

A l'inverse, l'acide lactique a été détecté en concentration plus importante dans le régime HL que dans le régime BL. Cet acide organique est présent en quantité importante dans l'intestin grêle (Jin et al., 1998 ; Engberg et al., 2002) et est généralement considéré comme provenant de bactéries notamment lactiques. Sa concentration plus élevée suite à la distribution du régime HL pourrait refléter l'augmentation de la présence de bactéries productrices de lactate comme l'ont observé Saki et al (2010) en présence de cellulose et pectine, mais aussi d'une diminution de la quantité de bactéries consommatrices de lactate. Cependant, l'acide lactique pourrait aussi provenir de la muqueuse intestinale (Wang et al., 2005). En effet dans le cas de pathologies inflammatoires de l'intestin, une augmentation des concentrations d'acide lactique a été observée et attribuée aux sécrétions de la muqueuse (Hove et al., 1995). Or il a été suggéré que la consommation de régimes riches en lipides peut induire des réactions inflammatoires (Ji et al., 2011). Parmi les acides aminés identifiés, 7 montrent une augmentation de concentration avec le régime HL

comparativement au régime BL. Cette réponse pourrait être dû à une moins bonne digestion des protéines ou une augmentation de la production endogène de protéines consécutives à la présence de plus forte teneur en lipides et de cellulose au niveau de l'intestin grêle (Honda et al., 2009 ; Kluth et Rodehutschord, 2009), et qui pourrait être dû en partie à la concentration plus élevée en acide lactique augmentant la vitesse de transit et la desquamation des cellules intestinales (Saunders et Sillery, 1982). Cela reste à démontrer dans la mesure où la digestibilité en fin de tube digestif des lipides étaient plus importante avec le régime HL (Baeza et al, 2015).

Au niveau des caeca, malgré le nombre plus important de métabolites par rapport à l'intestin grêle, aucuns effets significatifs du régime alimentaire ou du génotype n'ont été mis en évidence.

CONCLUSION

Dans cette étude, une différence du profil en métabolites a été observée au niveau du jéjunum en réponse à la distribution de régimes alimentaires contrastés quant à la source d'énergie et à la composition en fibres. Cette différence est observée

quelle que soit la lignée génétique (maigre ou grasse) considérée. Elle est liée à la variation de concentrations de plusieurs métabolites, dont l'acide lactique qui pourrait être originaire du microbiote et / ou du métabolisme de l'animal. L'acide lactique est présent en concentration plus élevée dans le jéjunum des poulets ayant consommé un régime riche en lipides et en cellulose mais plus pauvre en amidon, et contenant moins de blé. L'étude de la composition fine du microbiote pourra permettre à l'avenir de déterminer si ce métabolite traduit une modification de microbiote.

Par ailleurs, cette étude a montré que de nombreux métabolites sont détectables dans les contenus digestifs par une approche sans a priori comme la RMN du proton (¹H), aussi bien dans l'intestin grêle que dans les caeca. Dans ce dernier, un grand nombre de métabolites bactériens sont détectés. Cette approche métabolomique a donc un fort potentiel pour l'étude du microbiote digestif des oiseaux d'élevage, comme l'a montré précédemment Bailey (2010). Elle pourra être utilisée pour mettre en évidence des marqueurs de situations physiologiques particulières chez les volailles, comme cela a pu être effectué chez les mammifères (Marchesi et al., 2007).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Backhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L.V., Koh, G.Y., Nagy, A., Semenkovich, C.F., Gordon, J.I., 2004.. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 101 : 15718-15723.
2. Baeza, E., Gondret, F., Chartrin, P., Le Bihan-Duval, E., Berri, C., Gabriel, I., Narcy, A., Lessire, M., Métayer-Coustard, S., Collin, A., Jégou, M., Lagarrigue, S., Duclos, M. J, 2015. 11ème Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à foie gras, Tours.
3. Bailey, R.A., 2010. University of East Anglia (UK), thèse, 198 pages.
4. Balayssac, S., Déjean S., Lalande, J., Gilard, V., Malet-Martino, M., 2013. Chemometrics Intell. Lab. Syst., 126 : 50-59.
5. Blottière HM, de Vos WM, Ehrlich SD, Doré J., 2013. Curr. Opin. Microbiol., 16 : 232-239.
6. Cao, B. H., Zhang, X. P., Guo, Y. M., Karasawa, Y., Kumao, T, 2003. Asian Australas. J. Anim. Sci., 16 : 863-866.
7. Clavel, T., Desmarchelier, C., Haller, D., Gerard, P., Rohn, S., Lepage, P., Daniel, H., 2014. Gut Microbes, 5 : 544-551
8. Engberg, R. M., Hedemann, M. S., Jensen, B. B., 2002. Br. Poult. Sci., 43 : 569-579.
9. Gabriel, I., Calenge, F., Narcy, A., Mignon-Grasteau, S., 2014. 5th International Broiler Nutritionists' Conference, Queenstown, New Zealand, pp 99-148.
10. Gong, J., Forster, R. J., Yu, H., Chambers, J. R., Wheatcroft, R., Sabour, P. M., Chen, S., 2002. FEMS Microbiol. Ecol., 41 : 171-179.
11. Hove, H; Holtug, K; Jeppesen, P B; Mortensen, P B, 1995. Dis. Colon Rectum, 38 : 519-525.
12. Honda, K., Kamisoyama, H., Isshiki, Y., Hasegawa, S., 2009. J. Poult. Sci., 46 : 291-295.
13. Ji, Y., Sakata, Y., Tso, P., 2011. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care, 14 : 315-321.
14. Jin, L.Z., Ho, Y.W., Abdullah, N., Ali, M.A., Jalaludin, S., 1998. Anim. Feed Sci. Technol., 70 : 197-209.
15. Jozefiak, D., Kieronczyk, B., Rawski, M., Hejdysz, M., Rutkowski, A., Engberg, R. M., Hojberg, O., 2014. Animal, 8 : 912-922.
16. Kluth, H., Rodehutschord, M., 2009. Poult. Sci., 88 : 1199-1205.
17. Knarreborg, A., Simon, M.A., Engberg, R.M., Jensen, B.B., Tannock, G.W., 2002. Appl. Environ. Microbiol., 68 : 5918-5924.
18. Lartigue, G., Barbier de la Serre, C., Espero, E., Lee, J., Raybould, H.E., 2011. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 301 : E187-195.

19. Leclercq, B. 1988. In : Leanness in domestic birds: genetic, metabolic and hormonal aspects (ed. B. Leclercq and C.C. Whitehead), Butterworths & Co, Ltd-INRA, London, UK, pp. 25-40.
20. Leeson, S., Zubair, A.K., Squires, E.J., Forsberg, C., 1997. *Poult. Sci.*, 76 : 59-66.
21. Marchesi, J. R., Holmes, E., Khan, F., Kochhar, S., Scanlan, P., Shanahan, F., Wilson, I. D., Wang, Y., 2007. *J. Proteome Res.*, 6 : 546-551.
22. Mouchet, M. A., Bouvier, C., Bouvier, T., Troussellier, M., Escalas, A., Mouillot, D., 2012. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 79 : 568-580.
23. Nicholson, J. K., Holmes, E., Kinross, J., Burcelin, R., Gibson, G., Jia, W., Pettersson, S. 2012. *Science*, 336 : 1262-1267.
24. Saki, A. A., Matin, H. R. H., Tabatabai, M. M., Zamani, P., Harsini, R. N., 2010. *Arch. Geflugelkd.*, 74 : 183-188.
25. Saunders, D. R., Sillery, J., 1982. *Digest. Dis. Sci.*, 27 : 33-41.
26. Shen, W, Gaskins, H.R., McIntosh, M.K., 2014. *J. Nutr. Biochem.*, 25 : 270-80.
27. Tian, Y., Zhang, L., Wang, Y., Tang, H., 2012. *J. Proteome Res.*, 11 : 1397-1411.
28. Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M.A., Magrini, V., Mardis, E.R., Gordon, J.I., 2006. *Nature*, 444 : 1027-1031.
29. Vasai, F., Brugirard Ricaud, K., Bernadet, M.D., Cauquil, L., Bouchez, O., Combes, S., Davail, S., 2014. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 87, 204-216.
30. Wang, Y., Tang, H., Holmes, E., Lindon, J. C., Turini, M. E., Sprenger, N., Bergonzelli, G., Fay, L. B., Kochhar, S., Nicholson, J. K., 2005. *J. Proteome Res.*, 4 : 1324-1329.
31. Zhao, X., Guo, Y. M., Guo, S. S., Tan, J. Z., 2013. *Appl. Microbiol. Biot.*, 97 : 6477-6488.

