

# Caractérisation de la microflore intestinale du veau de boucherie et développement d'un système continu *in vitro* simulant cet écosystème

## Characterisation of the intestinal microflora of veal calves and development of an *in vitro* continuous system modelling this ecosystem

CHAMPOD M. (1, 2), CARDOT J.-M. (1), BLANQUET-DIOT S. (1), BRAVO D. (2), ALRIC M (1)

(1) ERT CIDAM - Université Clermont-Ferrand I - CRNH Auvergne - IFR Santé 79 - 63000 Clermont-Ferrand - France

(2) PANCOSMA SA - CH-1218 Le-Grand-Saconnex - Switzerland

### INTRODUCTION

En janvier 2006, l'ensemble des antibiotiques utilisés comme facteurs de croissance (AFCs) dans l'alimentation animale a été interdit dans l'Union européenne. Cette interdiction risque d'entraîner une augmentation des pathologies intestinales, chez le veau de boucherie en particulier. Afin de minimiser les risques, il est d'intérêt de rechercher de nouveaux additifs alimentaires.

Pour des raisons économiques et éthiques, la mise au point d'un système *in vitro* modélisant l'écosystème intestinal du veau et permettant l'évaluation de ces nouveaux additifs, constitue une alternative intéressante à l'expérimentation animale.

Peu de données bibliographiques existent sur la flore intestinale du veau de boucherie. Aussi, la caractérisation de cette flore *in vivo*, nécessaire avant toute modélisation *in vitro*, a constitué la première étape de ce travail. La seconde étape a eu pour objectif de stabiliser les différents groupes bactériens caractérisés dans un système de fermentation *in vitro* en modulant le milieu nutritif apporté à la microflore.

### 1. MATERIELS ET METHODES

#### 1.1. CARACTERISATION DE LA MICROFLORE

Vingt-deux veaux de boucherie de race Prim'Holstein âgés de vingt semaines sont abattus après 6, 12 et 24 h de jeûne. Les contenus jéjuno-iléaux sont prélevés et analysés sur milieux de culture sélectifs afin de dénombrer la flore anaérobie totale, les lactobacilles, les bifidobactéries, les entérocoques, les Bactéroïdes, la flore utilisatrice de lactate, *Escherichia coli* et *Clostridium perfringens*.

#### 1.2. MODELISATION *IN VITRO*

Un fermenteur continu, reproduisant les conditions du compartiment jéjuno-ileal (anaérobiose, pH = 6,5 et température = 38,5°C), est inoculé avec le contenu jéjuno-iléal de trois veaux de boucherie de race Prim'Holstein, âgés de vingt semaines et abattus après 6 h de jeûne. Le contenu est ensuite continuellement homogénéisé et renouvelé par l'ajout de milieu nutritif frais (taux de renouvellement = 0,0125 h<sup>-1</sup>).

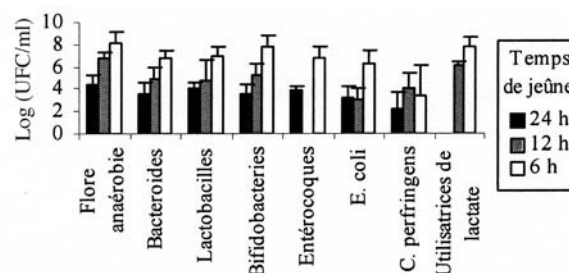
Trois milieux nutritifs sont testés (n = 3). M1 est le milieu nutritif classiquement utilisé pour simuler le côlon humain depuis 1998 (Macfarlane *et al.*). M2 et M3 ont été mis au point à partir d'analyses biochimiques effectuées sur le contenu jéjuno-iléal, M2 contenant plus de fibres que M3. Les groupes bactériens caractérisés précédemment, ainsi que la flore aérobie totale et les levures, sont dénombrés chaque jour pendant une semaine par culture sur milieux sélectifs. Les trois milieux nutritifs sont comparés (logiciel SAS) afin de déterminer celui permettant la stabilisation du plus grand nombre de groupes bactériens avec la plus faible variabilité. Puis, les résultats obtenus avec le milieu nutritif choisi sont comparés (analyse de variance) aux données obtenues *in vivo* (1.1).

### 2. RESULTATS ET DISCUSSION

#### 2.1. CARACTERISATION DE LA MICROFLORE

Les dénombrements des groupes bactériens sélectionnés sont inversement corrélés au temps de jeûne (figure 1). De plus, après 6 h de jeûne, temps nécessaire au chyme pour atteindre le compartiment jéjuno-iléal (Guilloteau *et al.*, 1986), les niveaux bactériens sont les moins variables entre les individus.

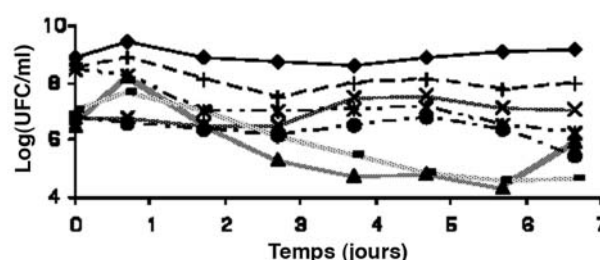
Figure 1 : caractérisation des groupes bactériens *in vivo* chez le veau de boucherie



#### 2.2. MODELISATION *IN VITRO*

Contrairement à M1 et M3, M2 n'a pas permis la stabilisation de tous les groupes bactériens. De plus, M3 permet l'obtention de résultats moins variables entre les essais et donc plus reproductibles. Les dénombrements à l'état stable avec le milieu M3 (figure 2) de la microflore anaérobie totale (◆), des entérocoques (●), des bifidobactéries (\*) et des bactéries utilisatrices de lactate (+) sont similaires aux valeurs *in vivo* (P > 0,05). Les populations de *Bactéroïdes* (▲) et d'*E. coli* (-) sont stabilisées à des concentrations significativement inférieures à celles obtenues *in vivo* (P < 0,01) et la population de lactobacilles (x) à une concentration significativement supérieure aux valeurs *in vivo* (P < 0,05).

Figure 2 : évolution moyenne (n = 3) des groupes bactériens au cours des fermentations avec le milieu M3



### CONCLUSION

Une base de données concernant les principaux groupes de l'écosystème intestinal du veau de boucherie est désormais disponible. Un système de modélisation *in vitro* de cette flore a également été mis au point. Ce système, dans un avenir proche, permettra d'évaluer l'influence de divers additifs alimentaires naturels sur l'équilibre de cette flore.

Guilloteau P.R., Toullec J.F., Grongnet P., Patureau Mirand J., Prugnaud and Sauvart D., 1986. *Br J Nutr* 55: 571-592  
Macfarlane G.T., Macfarlane S., Gibson G.R., 1998. *Microb. Ecol.*, 35, 180-187