



institut français
du **cheval**
et de l'**équitation**



40^{ème} Journée de la Recherche Équine

Mardi 18 mars 2014

Etude de la cinétique de l'installation de la flore du poulain et effets d'une levure vivante administrée à la jument ou au poulain nouveau-né

Par

J.M. Betsch¹, F. Chaucheyras Durand^{2,3}, A. Sacy³, E. Chevaux³, K. Maillard⁴, Y. Le Treut³

¹ Clinique Vétérinaire Equine de Méheudin

² Unité de Microbiologie INRA UR 454

³ Lallemand Animal Nutrition

⁴ Laboratoire Frank Duncombe

Résumé

L'équilibre de la flore digestive est un enjeu majeur chez le poulain, particulièrement sensible aux troubles digestifs. Son installation démarre rapidement : dès le premier jour de vie du poulain, les *lactobacilles*, les *entérobactéries* et les *E.coli* sont retrouvés à de fortes concentrations dans les matières fécales. La mesure des caractéristiques des crottins de la naissance au 20^{ième} jour de vie, indique que la couleur (de plus en plus foncée) et la texture (risque de crottin plus mou à la naissance et entre 8 et 14 jours) évoluent au cours du temps. Afin de prévenir des risques de déséquilibres de flore, et donc de pathologie digestive, la levure vivante *Saccharomyces cerevisiae boulardii* a été apportée soit à la mère, soit à deux lots de poulains (à simple ou double dose) et les profils de flore fécale et caractéristiques des crottins furent comparés à un lot de poulains témoins. Apporté à la mère, le probiotique a induit des modifications de la flore du jeune poulain se traduisant par des crottins mieux moulés les 20 premiers jours de vie et des crottins plus foncés que pour le lot « témoin ». Apportée au poulain, la levure vivante a influencé la composition de la flore fécale en réduisant les flores potentiellement à risque et a permis l'obtention de crottins plus foncés que chez les poulains « témoins ». La double dose tend à réduire les populations bactériennes à risque dans les crottins, mais ce bénéfice ne s'est pas traduit dans un changement d'aspect des crottins. La croissance des poulains des lots levures a été améliorée.

Mots clés : flore, poulain, diarrhée, levures vivantes

Summary

Microflora balance is a major issue for foals that are very sensitive to digestive disorders. Its installation starts very early: as soon as on the first day of life of the foal, *lactobacilli*, *Enterobacteria* and *E. coli* are found in high concentrations in feces. Qualification of dung from birth to day 20 of life, indicated that the color (getting darker along the time) and texture (higher risk of soft dung at birth and between day 8 and 14) evolved. To prevent the risk of imbalanced flora and thus digestive pathology, live yeast *Saccharomyces cerevisiae boulardii* has been delivered to either the mare or two groups of foals (single or double dose) and the profile of fecal flora and the characteristics of the dung were compared vs a control group of foals. Given to mares, the Probiotic induced significant changes in the microflora of the young foal resulting in better shaped droppings during the first 20 days of life and darker than the control dung. Applied to foals, the live yeast influenced the composition of the fecal microflora, stimulating the families that are reputed to positively reduce the risk of enteric disorders, together with darker than the control dung. Double dose tends to reduce higher risk bacterial populations, but without any change in the physical appearance of the feces. The foals that were given the live yeast also displayed a high daily gain and improved growth.

Key-words: flora, foal, diarrhea, live yeast



Introduction : origine de la flore du poulain

Le poulain, comme tous les Mammifères, naît stérile et va rapidement constituer sa propre flore digestive dès la naissance, à partir de la flore vaginale de sa mère, puis au contact de sa peau, de la mamelle et probablement aussi du lait. L'environnement reste néanmoins la source principale de contamination du jeune : le box et les crottins de la mère seront des sources essentielles d'enrichissement de la flore du poulain dès les premières heures de vie.

La flore du jeune a donc principalement pour origine celle de sa mère. Or, en fin de gestation, sous l'effet du ralentissement physiologique du transit digestif, la flore maternelle est modifiée : de nombreuses espèces bactériennes disparaissent tandis que d'autres voient leur population « exploser » en raison de l'augmentation des fermentations dans le colon et de la stase intestinale. Parfois cette flore se déséquilibre fortement au profit de germes pathogènes, ou potentiellement pathogènes, qui peuvent être transmis au poulain (*E. coli*, *Clostridies*, *Coliformes*...).

Si le microbiote digestif de l'adulte peut être appréhendé à l'aide de modèles d'animaux à canule intestinale, dans le cas du poulain celui-ci ne peut être accessible qu'à partir des crottins. Il a été montré que l'étude des crottins (Le Treut et Sacy, 2011) peut fournir des informations pertinentes permettant d'évaluer la santé digestive du cheval. Par ailleurs, les fèces sont classiquement utilisés pour étudier l'écosystème intestinal chez l'homme et l'animal (Lamendella *et al*, 2011 ; Hildebrand *et al*, 2012 ; Faubladiet *et al*, 2013). Bien que les microbiotes colique (= dans l'intestin) et fécal puissent différer dans leur composition ou leurs activités (Da Veiga *et al*, 2005 ; Sadet-Bourgeteau *et al*, 2010), des modifications observées au niveau fécal peuvent être considérées comme représentatives de celles effectivement présentes au niveau du colon équin (Julliant et Goachet, 2005 ; Müller *et al*, 2008).

Cette étude propose la mise en place d'un protocole simple utilisable en routine, incluant l'examen des crottins ainsi que la détection et le dénombrement de populations bactériennes fécales ciblées, permettant *in fine* une évaluation pertinente de la flore digestive du poulain. L'intérêt d'une supplémentation en levures vivantes aux mères gestantes ou aux poulains dès la naissance a été étudié.

1 Mise en place d'un protocole d'étude de la flore et description des populations bactériennes

1.1 Matériel et méthodes

1.1.1 Animaux

Entre 2011 et 2012, 20 ponettes Welsh gestantes, arrivées de Hollande, dans un état corporel variable, âgées de 3 à 10 ans, ont été hébergées à la clinique vétérinaire équine de Méheudin (Ecouché, 61) pendant la durée de l'essai afin de suivre précisément toutes les mises-bas (arrivée 15 jours avant terme). Les ponettes avaient un accès libre au pré et ont reçu un complément de foin.

Afin d'évaluer les effets d'un supplément nutritionnel à base de levures vivantes (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM-I1079), 4 groupes ont été constitués :

- 6 juments et poulains ont reçu un placebo (dextrose) : TEMOIN
- 5 juments ont reçu *per os* la levure vivante à raison de 7.10^{10} UFC/ponette/jour : MERES TRAITEES
- 5 juments dont le poulain a reçu la levure vivante à raison de 4.10^{10} UFC/jour : LEVURE 4
- 4 juments dont le poulain a reçu la levure vivante à raison de 2.10^{10} UFC/jour : LEVURE 2.

Les 20 poulains faisaient partie d'un programme de recherche sur le nouveau-né et leur immunité passive était réduite par rapport à des poulains normaux. Ainsi, la pression infectieuse devrait être légèrement supérieure aux conditions naturelles (environnement hospitalier vétérinaire).

1.1.2 Protocole d'administration des traitements

Les levures vivantes ont été administrées via un pré-mélange sur dextrose. L'administration quotidienne des traitements (placebo ou levure vivante) s'est effectuée par voie orale, à la mère du 8^{ème} jour avant terme et jusqu'à 4^{ème} jour après la mise-bas (Mères traitées) et/ou au poulain dès les premières heures de vie et jusqu'au 7^{ème} jour de vie compris (Levure 2 et levure 4).

1.1.3 Collecte des crottins et analyses microbiologiques

L'aspect des crottins des poulains a été évalué quotidiennement suivant des critères précis et noté ainsi :

- Notes de couleur : 1) Marron clair/beige/blanc/marron gris/jaune 2) Marron 3) Marron foncé/marron vert/vert/vert marron



- Notes d'aspect : Note 1 : aqueux / liquide, Note 2 : souple, Note 3 : normal
- Note d'odeur : Note 1 : normale, Note 2 : nauséabonde

Tous les crottins collectés à la naissance, nommés méconium, sont retirés de l'analyse.

A la naissance, autour du 5^{ème}, 10^{ème} et 20^{ème} jours de vie, les crottins des poulains ont été collectés soit à leur émission, soit dans le rectum, pour analyse microbiologique des populations bactériennes suivantes : *Lactobacilles* (milieu MRS (BIOKAR)), *entérobactéries* (VRBG (BIOKAR) double couche), *E.coli* (milieu TBX (BIOKAR)) *Clostridium sordellii* (numération sur gélose Columbia au sang de mouton (OXOID)), *Clostridium perfringens* (numération sur gélose Columbia au sang de mouton (OXOID) et recherche de toxine A par PCR) et recherches des toxines A et B de *Clostridium difficile* (kit Premier Toxins A&B, Meridian Biosciences).

Enfin les levures vivantes ont été dénombrées dans les crottins des poulains et des mères pour tous les groupes (gélose Sabouraud chloramphénicol).

1.1.4 Enregistrement d'élevage

Les dates et heures de mise-bas ont été enregistrées, le sexe et le poids du poulain notés (poids à la naissance, 10 jours, 20 jours et 30 jours d'âge pour les poulains encore présents). Les traitements antibiotiques ont été également renseignés dans le registre d'élevage pendant le 1^{er} mois de vie.

1.2 Analyses statistiques

Les données de flores ont été analysées par ANOVA après transformation logarithmique puis retranscrites en unités formant colonies (UFC) dans les tableaux de résultats. Un poids âge-type à 10 et 20 jours a été calculé pour trois poulains ne disposant que d'une mesure au jour 5 ou 15, puis les données ont été comparées par ANOVA. Un contraste a ensuite été appliqué pour affiner les comparaisons entre traitements. Les données de crottins ont été analysées par un test du Chi-deux pour leur distribution selon les traitements expérimentaux.

2 Influence d'une levure vivante *Saccharomyces cerevisiae* sur l'implantation de la flore digestive du poulain

2.1 Recherche de levures vivantes dans les crottins

Les numérations sont données dans le tableau 1 pour les différents groupes.

Tableau 1 : Dénombrement de la population de levures viables dans les crottins (en UFC/g de crottin)
Table 1: Concentration of live yeasts in feces (in CFU/g of dung)

lot	Jument	poulain	Jours post poulinage
LEVURE 4		3,3.10 ⁶ ± 2,8.10 ⁶ aC	10,3 ± 3,3
LEVURE 2		2,4.10 ⁶ ± 2,8.10 ⁶ aD	10,5 ± 4,2
MERES TRAITEES	1,4.10 ⁵	8,0.10 ⁵ ± 9,0.10 ⁵ ab	7,0 ± 2,0
PLACEBO		1,2.10 ⁵ ± 1,3.10 ⁵ b	7,8 ± 2,6

a, b : P<0,05 ; C, D : P<0,10

Ces analyses permettent de confirmer la survie de la levure tout au long du tractus digestif des poulains (Levure 4 et Levure 2). En effet, la population de levure fécale retrouvée chez les poulains supplémentés est supérieure à celles des animaux Placébo pour Levure 4 (P<0,05) et Levure 2 (P<0,10). En revanche, aucune différence entre les 2 doses de levure au niveau fécal n'est relevée. Il est également intéressant de noter qu'un certain délai semble requis pour augmenter la population de levures transitant dans le tube digestif car la concentration au-delà de 7 jours (5,97 log UFC/g) post-poulinage est supérieure (P<0,05) à celle jusqu'à 7 jours après la naissance (4,3 log UFC/g).

Concernant le groupe des mères traitées, le niveau de levures retrouvées dans le groupe de poulains (8,0.10⁵ UFC/g) semble confirmer la transmission de la levure vivante de la mère (1,4.10⁵ UFC/g) au poulain par l'ingestion de matière fécale ou via l'environnement.

2.2 Description et évolution de la composition de la flore fécale

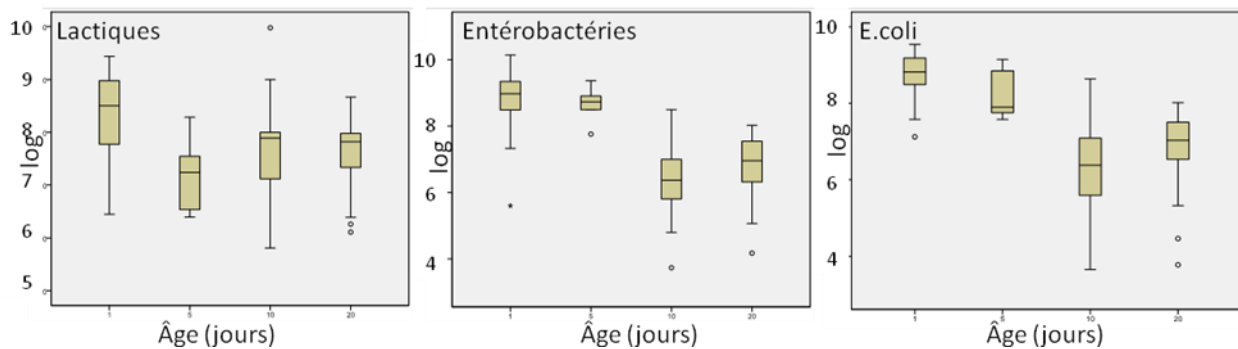
Clostridium sordellii n'a jamais été détecté dans les crottins de poulain dans notre étude.



Clostridium perfringens a été détecté dans 24 échantillons de crottins de poulain sur 63, soit 17 poulains sur 20 (19% poulains jamais positifs ; 52% poulains positifs 1 fois ; 24% poulains positifs 2 fois et 5% poulains positifs 3 fois). En ce qui concerne la recherche des toxines A et B de *Clostridium difficile*, 3 échantillons de 3 poulains différents contenaient les toxines A et B, et la toxine B a été détectée dans 10 échantillons de 8 poulains différents confirmant la réalité de la présence de *Clostridium difficile* chez le poulain. Les 50 autres échantillons étaient négatifs. Les pics de détection des toxines se concentrent sur 2 périodes : à la naissance ou entre 5 et 10 jours de vie. Les toxines ont été détectées sur seulement 13/63 échantillons répartis aléatoirement dans les différents lots.

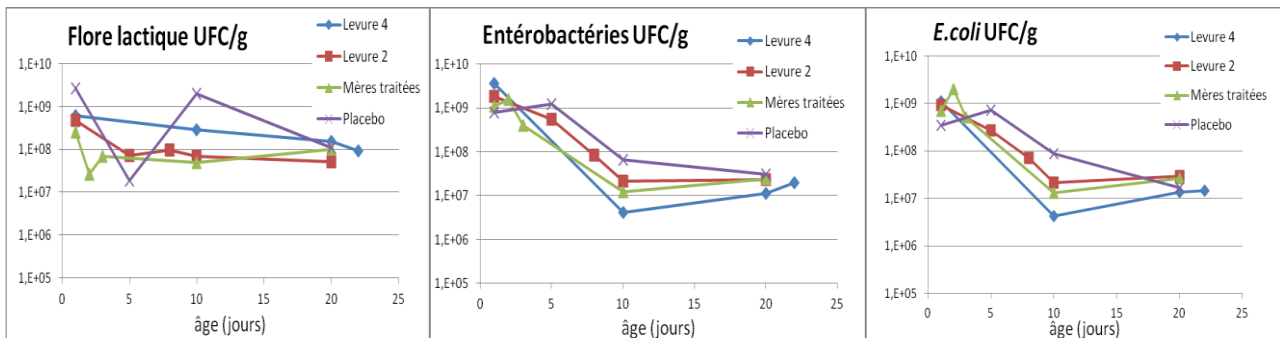
La figure I présente l'évolution des populations bactériennes fécales ciblées. A la naissance, la flore apparaît dominée par les espèces anaérobies facultatives (*entérobactéries*) et la flore lactique est un peu moins abondante. Les *entérobactéries* semblent se multiplier très rapidement au cours des 48h après la naissance pour se stabiliser autour de log 7 après 3 semaines, tandis que la flore lactique reste beaucoup plus stable au cours du temps. Les *entérobactéries* sont majoritairement des *E.coli* (>50% de la flore des *entérobactéries*) sauf au cours des 5 premiers jours (première semaine) où davantage de diversité semble être observée (Figure II).

Figure I : Principales flores d'intérêts présentes dans les crottins de poulain au cours du temps (jours)
Figure I: Level of the major microflora populations of interest measured in foal age (day)



En ce qui concerne l'effet traitement, il semble difficile de conclure significativement au vue des faibles effectifs dans chacun des groupes et de la forte hétérogénéité des numérations de flore. Cependant, les *entérobactéries* et *E.coli* diminuent progressivement pour atteindre 10⁷ UFC/g de crottin environ à 20 jours. Les cinétiques du lot placebo indiquent des niveaux de population supérieurs à ceux obtenus pour les lots traités (mères ou poulains), d'où une réduction du risque de flambée d'*E.coli* pour les lots traités, et donc du risque sanitaire dans les 10 à 15 premiers jours. Par rapport aux groupes témoin, chez les poulains « mères traitées » ou « Levure 2 », une réduction numériquement plus importante des flores potentiellement pathogènes (*E.coli* et *entérobactéries*) est observée à 10 jours pour les poulains recevant la double dose de probiotique (Levure 4).

Figure II : Evolution des populations bactériennes fécales selon l'âge des poulains (jours)
Figure II: Evolution of microbial populations in the foal dung depending on their age (day)





A la naissance, le tube digestif du poulain est relativement court. Le milieu digestif s'appauvrit en oxygène durant les premières heures de vie du poulain, devenant de plus en plus favorable à l'installation de la flore anaérobie stricte dont les bactéries cellulolytiques. Les *Lactobacilles* colonisent tout d'abord l'intestin grêle : en produisant de l'acide lactique, ils contribuent à l'abaissement local du pH (dans le mucus) et inhibent le développement des bactéries Gram négatif (dont *E. coli*) responsables de très nombreux cas de diarrhées parfois graves, voire fatales chez le poulain. D'autres pathogènes opportunistes (comme les *Clostridies*), souvent issus d'un déséquilibre de la flore maternelle, peuvent se développer rapidement et favoriser l'apparition de diarrhées chez le poulain nouveau-né (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).

En comparant les 3 traitements où la levure vivante est apportée, il est observé la même hiérarchie de réponse sur la flore : le traitement double dose (Levure 4) apparaît plus efficace sur les *entérobactéries* et les *E.coli* que lorsque la levure est apportée à la mère, ce traitement s'avérant lui-même plus efficace que lorsqu'une simple dose de levure est apportée au poulain (Levure 2).

Ces premiers éléments décrits ici chez le jeune équidé peuvent être rapprochés des études faites chez les porcins et montrant l'impact bénéfique du probiotique sur le microbiote digestif des mères (Walker *et al.*, 2008) et sur la qualité du colostrum de truie (Guillou *et al.*, 2012).

L'effet du *Saccharomyces boulardii* sur la flore a été plusieurs fois rapporté : la levure consomme l'oxygène, présent dans le caecum et le côlon, apporté par les vaisseaux sanguins irriguant les organes digestifs, ce qui induit une réduction du potentiel redox. Les populations anaérobies (bactéries cellulolytiques et fibrolytiques incluses) sont alors favorisées. Ainsi, les facteurs augmentant les risques de diarrhées (baisse de pH dans le gros intestin, production d'histamine, présence de coliformes, de toxines, de LPS...) sont limités. Desrocher *et al.* (2005) et Boyle *et al.* (2012) rapportent chez le cheval l'effet favorable de cette levure sur la pathologie de la diarrhée.

Concernant la qualité colostrale, les mécanismes doivent encore être élucidés, mais on peut supposer que l'augmentation de la concentration en IgG du colostrum est liée à une modification de la flore intestinale de la jument recevant des levures vivantes ou aux effets directs et/ou indirects de glucanes des parois de micro-organismes (de la levure elle-même ou de bactéries stimulées par la présence de la levure). Chez les équidés, il a récemment été démontré l'effet bénéfique de l'apport de cette levure vivante sur la qualité initiale du colostrum et la persistance des IgG dans les heures suivant la mise-bas, permettant potentiellement un meilleur transfert de l'immunité au poulain (Le Treut *et al.*, 2013). Enfin, il peut être envisagé chez les équidés le transfert de bactéries spécifiques par le colostrum comme il a été montré chez la truie (Salmon *et al.*, 2010).

3 Importance de la flore pour le poulain

3.1 Etude de l'aspect des crottins

3.1.1 Principales corrélations observées

L'aspect des crottins a plusieurs fois été décrit comme un critère pertinent de santé intestinale chez le cheval adulte (Wolter, 1999 ; Le Treut et Sacy, 2011). Parmi les 3 critères de description des crottins mesurés, l'odeur est corrélée ($r=-0,276$; $P<0,01$) à l'aspect et tend à l'être avec la couleur ($r=0,104$; $P<0,10$). La couleur et l'aspect présentent également une certaine corrélation ($r=0,104$; $P<0,10$).

Tableau 2 : Description des crottins de poulains sur leurs 20 premiers jours de vie
Table 2: Foal dung characteristics during the first 20 days of life

Aspect	(n=365)	Couleur	(n=376)	Odeur	(n=272)
Liquide	17,3%	Marron clair	46%	Nauséabond	21%
Souple	43,3%	Marron	29,8%	Normal	79%
Normal	39,5%	Marron foncé	24,2%	-	-

Les effectifs différents entre les catégories s'expliquent par des données non renseignées certains jours. L'échantillon des crottins observés présentait les caractéristiques suivantes : les 4/5 d'odeur « normale », une petite moitié de couleur marron clair et moins de un cinquième de crottins liquides.

Les crottins liquides sont majoritairement des crottins clairs (56%) contre 41% de clairs pour les crottins normaux. Les crottins normaux sont plus foncés (33% pour les crottins normaux contre 25% pour les liquides et 14% pour les souples). Ainsi, les crottins marron-marron foncés représentent 44% des crottins liquides, 53% des crottins souples et 59% des crottins moulés.

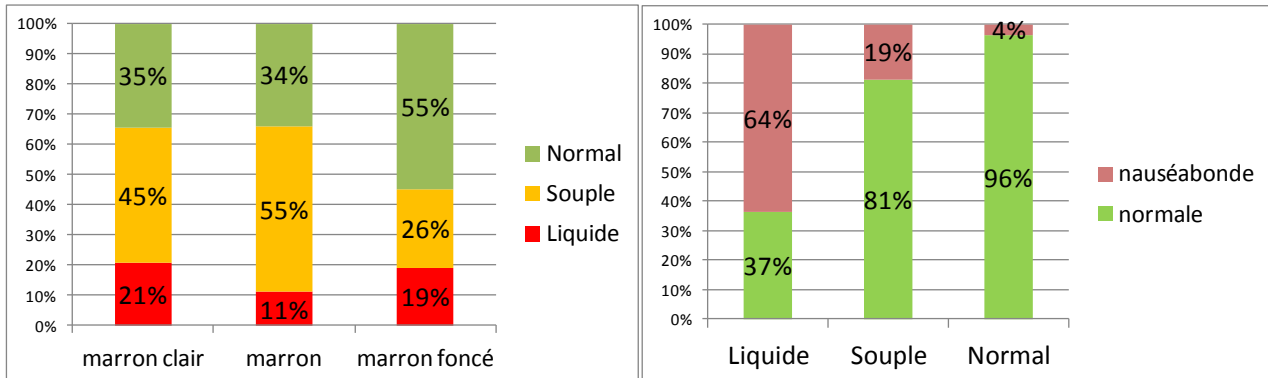


Ainsi, les profils de texture de crottins sont significativement différents ($P < 0,01$) en fonction de la couleur (Figure III, gauche).

Les crottins marron clair et marron sont plutôt souples, tandis que les crottins marron foncé demeurent principalement bien moulés.

Environ les deux tiers des crottins liquides présentent une odeur nauséabonde ($P < 0,01$), alors que plus de 95% des crottins normaux n'empesent pas (Figure III, droite).

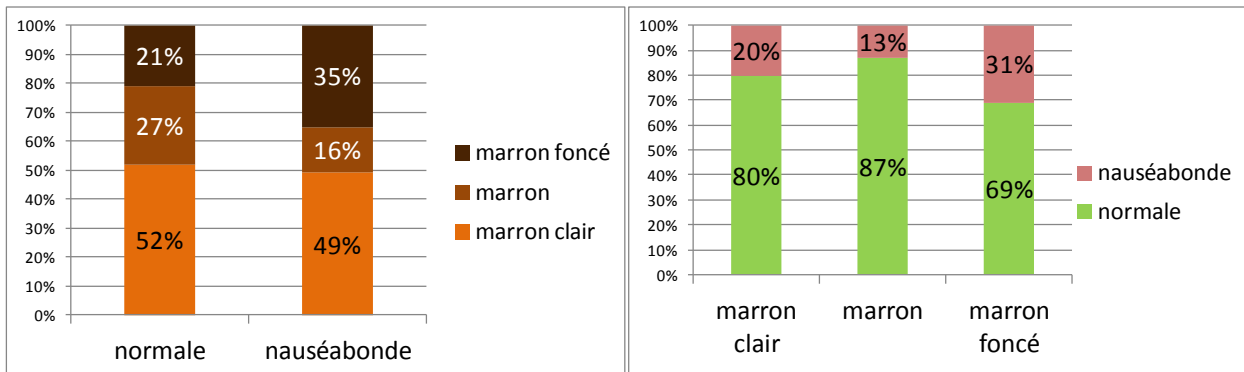
Figure III : Profil de crottins selon la couleur (gauche) ou la texture (droite)
Figure III: Dung characteristic depending on their color (left) or their softness (right)



Alors que les crottins marron clair et marron restent largement associés à une odeur normale, la situation s'affiche plus contrastée en présence de mauvaise odeur (Figure IV). Même si davantage de marron foncé sont retrouvés chez les crottins malodorants, la couleur semble être un descripteur moins contrasté que la texture en lien avec l'odeur.

Davantage de crottins nauséabonds sont de couleur marron foncé ($P < 0,05$).

Figure IV : Caractérisation des crottins selon leur couleur et leur odeur
Figure IV: characterization of foal dung depending on their color and smell



Les crottins sont majoritairement clairs à la naissance (80%) et foncent rapidement avec l'âge avec moins de 50% de crottins clairs à 6 jours (Figure V).

Alors que la fréquence des crottins nauséabonds oscille entre 10-20% sur les vingt premiers jours de vie des poulains, les crottins liquides apparaissent à partir du cinquième jour de vie avec un pic le dixième jour.

Les crottins sont rarement nauséabonds (moins de 20% à chaque jour de vie%).

Sur les 20 premiers jours, 8 poulains ont eu moins de 10% de crottins liquides, 8 poulains entre 10% et 29% et 4 poulains entre 42% et 50% de crottins liquides (Figure VI). Seulement 8 poulains présentent entre 57% et 95% de crottins bien moulés sur les 20 premiers jours de vie ; 6 poulains entre 20% et 37% et 6 poulains entre 0% et 13%. Sur les 20 premiers jours de vie, 8 poulains ont entre 0% et 18% de crottins clairs, 7 poulains ont entre 23% et 57% de crottins clairs et seulement 5 poulains de 70% à 100%.



Figure V : Evolution de la couleur et de la consistance des crottins de poulains selon son âge (jour)
Figure V: Evolution of dung color and consistency depending on foal age (day)

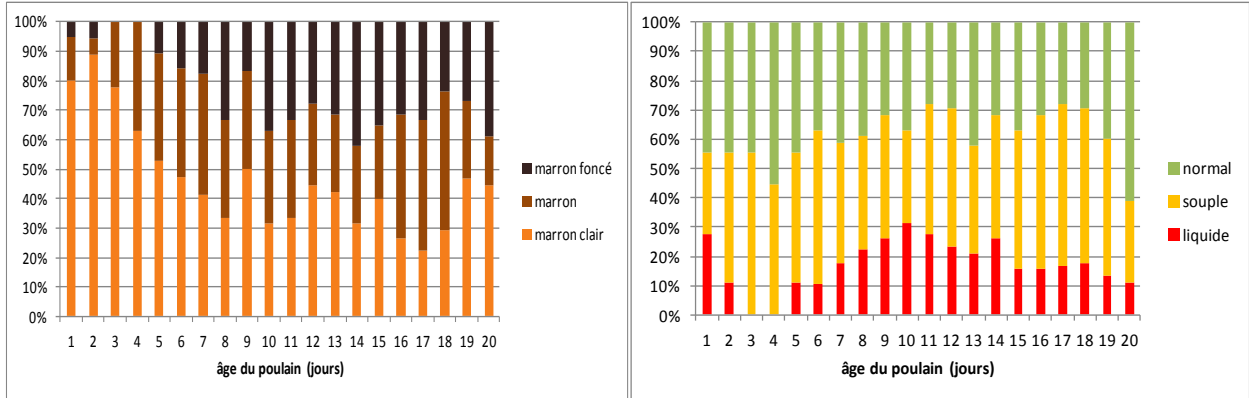


Figure VI : représentation de l'hétérogénéité des fréquences de diarrhée selon les poulains
Figure VI: representation of diarrhea frequency per foal

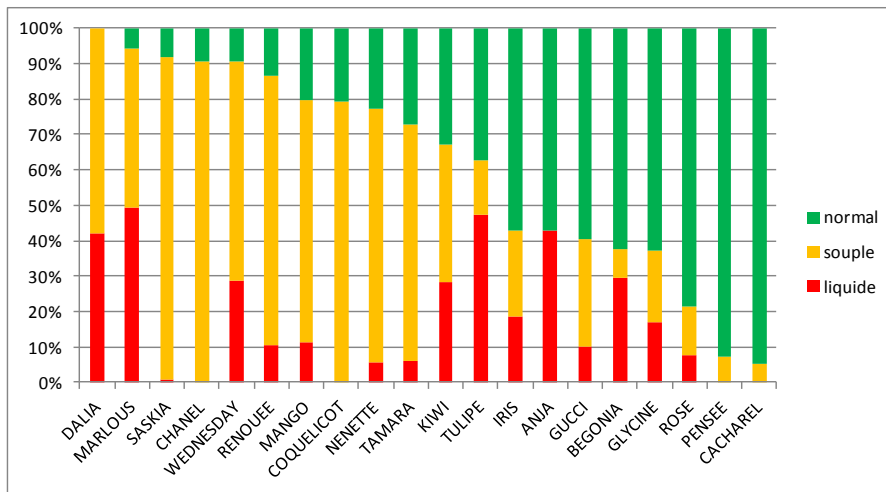
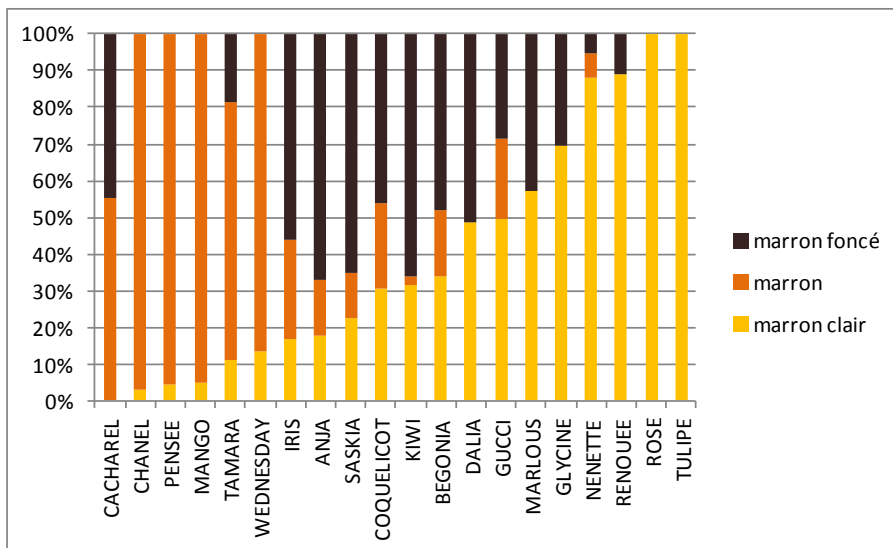


Figure VII : Disparité des couleurs de crottins sur les 20 premiers jours de vie par poulain
Figure VII: heterogeneity of dung color on the first 20 days of life per foal





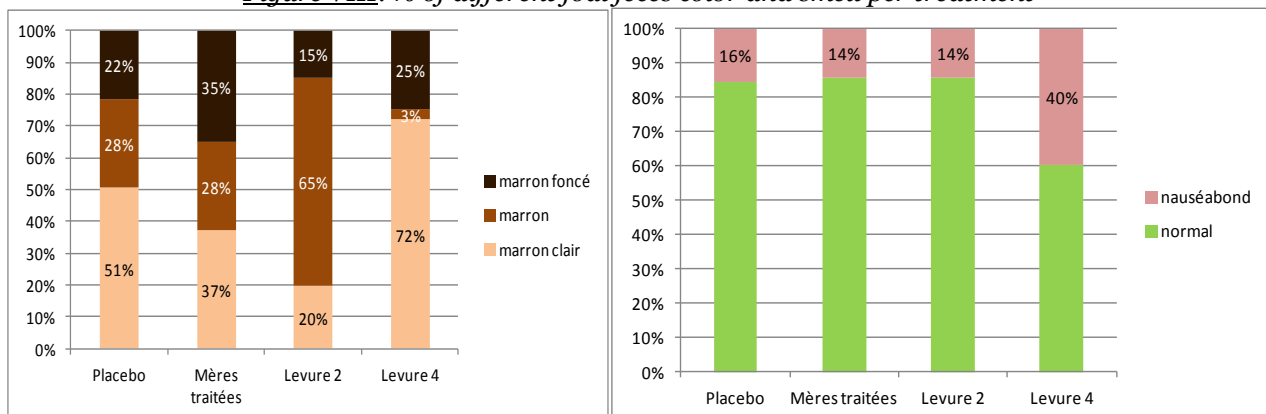
3.1.2 Effet des levures vivantes sur l'aspect des crottins

Les poulains des lots placebo et Levure 4 ont eu plus de 50% de crottins marron clair, tandis que les poulains du lot Mères traitées présentent la plus forte proportion de crottins foncés. Les poulains Levure 2 et Levure 4 affichent respectivement la plus haute et basse proportion de crottins marron ($P < 0,01$).

Sur l'ensemble de la période expérimentale (20 jours), les traitements Mères traitées et Levure 2 ont significativement présenté des crottins globalement plus foncés ($P < 0,05$).

Figure VIII : répartition des différentes couleurs et senteur selon le traitement

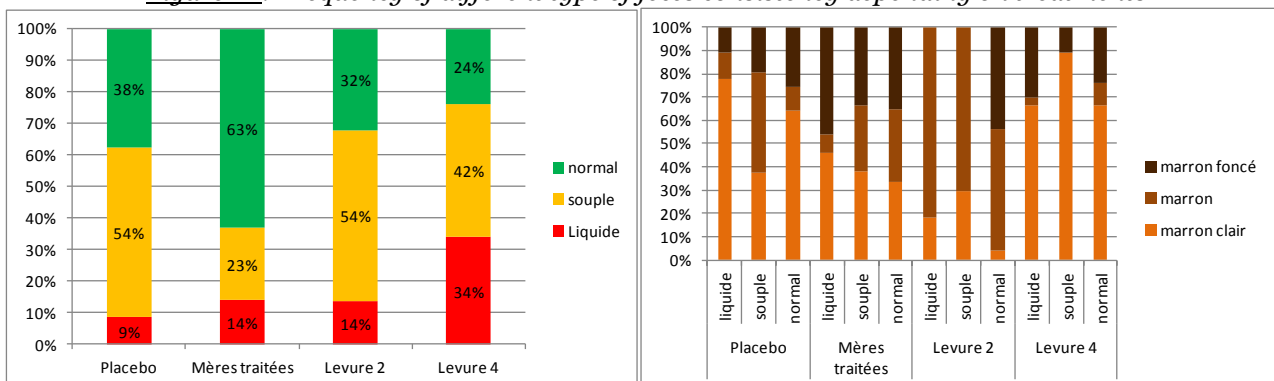
Figure VIII: % of different foal feces color and smell per treatment



Deux tiers des crottins issus de poulains de mères traitées montraient une texture normale contre de 25 à 35% pour les 3 autres groupes (Figure IX). Les crottins liquides étaient plus fréquents chez les Levure 4 ($P < 0,01$). La note moyenne de texture des crottins est significativement plus basse pour les poulains des lots Levure 4 (1,910^a) que pour les poulains Placebo (2,288^b) et Levure 2 (2,185^b), lesquels montrent des valeurs significativement inférieures (a, b, c : $P < 0,01$) à celle des crottins du lot Mères traitées (2,484^c). Une plus grande proportion de crottins présentant une mauvaise odeur s'est retrouvée pour le lot Levure 4 (40%) contre 14% (Placebo) et 16% (Mères et Levure 2), ce qui corrobore la part de crottins liquides plus élevée pour ce groupe ($P < 0,01$).

Figure IX : Fréquences des différentes textures de crottins selon les traitements : Placebo (n=104) ; Mères traitées (n=91) ; Levure 2 (n=81) et Levure 4 (n=89)

Figure IX: Frequency of different type of feces consistency depending on treatments

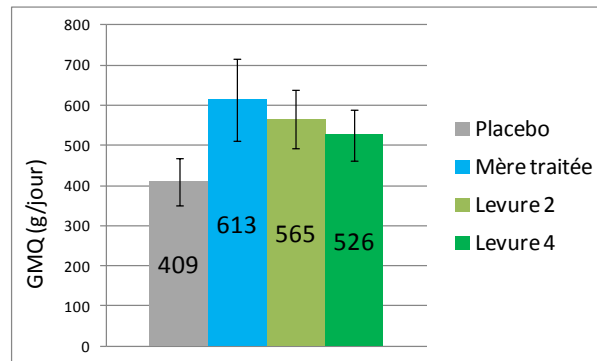


3.2 Etude de la croissance des poulains

Tous les poulains ont développé une croissance normale au cours des 3 premières semaines de vie, mais aucune différence significative n'est observée entre lots et cela peut provenir d'un effectif limité par traitement (n=4 à 6) et de la plus grande variabilité qui en découle. Au niveau de la vitesse de croissance (Figure X), les poulains ayant reçu de la levure depuis la naissance tendent ($P = 0,115$) à présenter un GMQ supérieur aux témoins sur la période 0-20 jours (Figure X). Ce constat est renforcé en considérant les poulains nés de juments supplémentées ($P = 0,055$).



Figure X : Gain moyen quotidien (écart-type) entre la naissance et 20 jours d'âge selon le traitement
Figure X: Average daily weight gain (standard variation) between birth and 20 days of age according to the treatment



Perspectives et conclusion générale

Description de la flore et rôle dans la santé intestinale :

La flore s'installe très précocement chez le poulain, mesurée dans cette étude dès le premier jour de vie par la colonisation rapide des entérobactéries et *E.coli*, ainsi que des lactobacilles.

C. difficile, reconnu responsable de certaines pathologies digestives, est un agent bactérien bien présent chez les équidés en France, détecté ici par la présence de toxines A et B ou B sur près de la moitié des poulains suivis (11 poulains sur 20). *C. perfringens* a été retrouvé dans plus d'un tiers des prélèvements. Les dénombrements supérieurs à 6.10^6 UFC/g favorisent les crottins liquides chez les poulains. Ces *Clostridium* pourraient donc faire l'objet d'une recherche plus systématique.

C. sordelli n'a jamais été retrouvé dans les analyses de crottins, il ne semble donc pas nécessaire de le rechercher en routine.

Il semble exister un lien entre la flore et l'aspect des crottins : parallèlement à la diminution des concentrations d'*E.coli* et d'entérobactéries dans les crottins les 20 premiers jours de vie, les crottins se foncent. Il semble exister 2 pics d'apparition de crottins liquides : à la naissance et entre 8 et 14 jours d'âge. En revanche, l'odeur ne semble pas modifiée avec l'âge du poulain. Lorsque la flore devient mature, elle acquiert progressivement ses capacités à dégrader et fermenter une grande diversité de substrats ce qui certainement va modifier l'aspect des crottins.

L'échelle de qualification des crottins du poulain (couleur et texture) aide au diagnostic de prévention du risque de diarrhée, mais n'est pas suffisant. Pour l'odeur, très subjective et difficile à mesurer, elle pourrait cependant être liée au faciès microbien présent dans l'intestin et à ses activités. Aujourd'hui, de plus en plus d'études s'intéressent aux profils de composés volatiles comme signature de l'efficacité digestive.

Rôles des levures vivantes :

Nos résultats, bien que préliminaires, laissent penser que la levure *Saccharomyces cerevisiae boulardii* pourrait favoriser l'implantation précoce d'une flore stable et diversifiée dès la naissance du poulain. Les mécanismes d'action sont mal connus à ce jour, mais les données obtenues chez d'autres espèces indiquent que ces microorganismes peuvent modifier les conditions du milieu digestif dans un sens plus favorable à l'installation du microbiote, réduisant ainsi le risque de colonisation par des bactéries pathogènes. Par ailleurs, elles pourraient avoir un effet direct d'inhibition de certaines espèces pathogènes opportunistes via leurs composés de paroi. La levure vivante *Sc boulardii* pourra donc avoir un effet bénéfique sur la santé de l'intestin et la digestibilité de la ration, favorisant la croissance du poulain et contribuant à une prévention efficace des diarrhées précoces.

- Apporté à la mère, le probiotique a induit des modifications de la flore du jeune poulain se traduisant par des crottins mieux moulés les 20 premiers jours de vie et des crottins plus foncés que le témoin.
- Apporté au poulain, le probiotique a influencé la composition de la flore fécale avec la réduction des flores potentiellement à risque et a permis l'obtention de crottins plus foncés que le témoin.
- La double dose tend à réduire les populations bactériennes à risque dans les crottins, mais ce bénéfice ne s'est pas traduit par un changement d'aspect des crottins.

L'installation précoce de la flore est à mettre en lien avec la maturité digestive permettant une croissance optimale du poulain. Le gain de poids quotidien a pu être augmenté de 200g par jour par rapport aux poulains « témoins » lorsque la levure a été apportée à la mère.



Recherches ultérieures :

Nos travaux, bien que partiels, confirment les données précédemment publiées sur la cinétique d'implantation du microbiote intestinal chez le poulain (Faubladier *et al*, 2013) et confirment la succession d'espèces microbiennes tel que décrit chez le veau : anaérobies facultatives puis anaérobies strictes (Jami *et al*, 2013). Il faudrait poursuivre les investigations sur le microbiote en complétant les données sur d'autres populations que celles dénombrées, en utilisant par exemple des technologies de séquençage haut débit à partir d'ADN fécaux ce qui permettrait de mieux comprendre l'impact des levures vivantes sur la maturation de l'écosystème intestinal chez les équidés.

Références

- Boyle A. G., Magdesian K. G., Gallop R., Sigdel S., Durando M. M., *Saccharomyces boulardii* viability and efficacy in horses with antimicrobial-induced diarrhea, *veterinaryrecord.bmj.com*, November 27, 2012
- Da Veiga, L., Chaucheyras-Durand F., Julliand V. Comparative study of colon and faeces microbial communities and activities in horses fed a high starch diet. *Pferdeheilkunde* 21 (Suppl. S):45-46. 2005
- Desrochers A. M., Dolente B. A., Roy M.F., Boston R., Carlisle S., Efficacy of *Saccharomyces boulardii* for treatment of horses with acute enterocolitis, *JAVMA*, Vol 227, No. 6, September 15, 2005
- Faubladier C., Julliand V., Danel J., Philippeau C., Bacterial carbohydrate-degrading capacity in foal faeces: changes from birth to pre-weaning and the impact of maternal supplementation with fermented feed products, 2013
- Fonty G. et Chaucheyras-Durand F., Les écosystèmes digestifs, Monographies de microbiologie, Lavoisier 2007
- Guillou D., Sacy A. Marchand D., Le Treut Y., Le Dividich J. Influence de l'apport alimentaire de *Saccharomyces cerevisiae boulardii* sur les immunoglobulines du colostrum et du lait de truie, *JRP* 2012
- Hildebrand F., T. Ebersbach, H. B. Nielsen, X. Li, S. B. Sonne, M. Bertalan, P. Dimitrov, L. Madsen, J. Qin, J. Wang, J. Raes, K. Kristiansen et T. R. Licht. A comparative analysis of the intestinal metagenomes present in guinea pigs (*Cavia porcellus*) and humans (*Homo sapiens*). *BMC Genomics*. 13:514. 2012
- Jami E., Israel A., Kotser A. et Mizrahi I., Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood *International Society for Microbial Ecology* 1-11, 2013
- Julliand, V. et Goachet A. G. Fecal microflora as a marker of cecal or colonic microflora in horses? Pages 140-141 in *Proc. 19th Equine Soc. Symp. Equine Sci. Soc., Savoy, IL.* 2005
- Lamendella R., Santo Domingo JW, Ghosh S., Martinson J., Oerther D.B., Comparative fecal metagenomics unveils unique functional capacity of the swine gut. *BMC Microbiol* 11: 103, 2011
- Le Treut Y. et Sacy A., Intérêt du tamisage du crottin frais dans l'évaluation des effets d'une levure vivante, *Saccharomyces cerevisiae* I-1077, sur la digestibilité de la ration chez le cheval, *AVEF* 2011
- Le Treut Y., Betsch J.M., Sacy A., Chevaux E., Effet d'un supplément nutritionnel riche en levures vivantes (Florequin®) sur la production d'IgG dans le colostrum de jument, *AVEF* 2013
- Müller C. E., von Rosen D., Udén P., Effect of forage conservation method on microbial flora and fermentation pattern in forage and in equine colon and faeces. *Livest. Sci.* 119:116-128. 2008
- Sadet-Bourgeteau, S., Philippeau C., Faure C., Julliand V., Comparison of bacterial community structure between right ventral colon, caecum and feces by Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis (ARISA). Page 57 in *Proc. 7th INRA-RRI Symp., Aberdeen, UK,* 2010
- Walker N.D., Quintino Cintora M.E., Durand H. et Le Treut Y., Influence of a live yeast on the faecal microflora of gestating and lactating sows. *J. Anim. Sci.*, 86 (E suppl.2): abstract W294, 293. 2008
- Wolter R., Alimentation du cheval, Editions France Agricole, 2ième édition 1999
- Salmon H., Mustapha Berri M., Meurens F., Immunité maternelle colostrale et lactée : facteurs humoraux et cellulaires d'induction et de transmission au porcelet jusqu'au sevrage, *JRP* 2010.