



HAL
open science

Statut nutritionnel du lapereau

Mélanie Gallois

► **To cite this version:**

Mélanie Gallois. Statut nutritionnel du lapereau : maturation des structures et des fonctions digestives et sensibilité à une infection par une souche entéropathogène d'Escherichia coli. Alimentation et Nutrition. Institut National Polytechnique (Toulouse), 2006. Français. NNT : 2006INPT002A . tel-04626003

HAL Id: tel-04626003

<https://ut3-toulouseinp.hal.science/tel-04626003>

Submitted on 26 Jun 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.

N° d'ordre : 2330

THESE

Présentée pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE

Ecole doctorale : Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries

Spécialité : Qualité et Sécurité des Aliments

Par Mélanie GALLOIS

**STATUT NUTRITIONNEL DU LAPEREAU :
MATURATION DES STRUCTURES ET DES FONCTIONS DIGESTIVES
ET SENSIBILITE A UNE INFECTION PAR UNE SOUCHE
ENTEROPATHOGENE D'*ESCHERICHIA COLI***

Soutenue le 17/03/2006 devant le jury composé de :

M.	J.P. LALLES	Président
MM.	T. GIDENNE	Directeur de thèse
	E. BLAS	Rapporteur
	J. LE DIVIDICH	Rapporteur
	S. BOULLIER	Membre
	A. BOURDILLON	Membre

N° d'ordre : 2330

THESE

Présentée pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE

Ecole doctorale : Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries

Spécialité : Qualité et Sécurité des Aliments

Par Mélanie GALLOIS

**STATUT NUTRITIONNEL DU LAPEREAU :
MATURATION DES STRUCTURES ET DES FONCTIONS DIGESTIVES
ET SENSIBILITE A UNE INFECTION PAR UNE SOUCHE
ENTEROPATHOGENE D'*ESCHERICHIA COLI***

Soutenue le 17/03/2006 devant le jury composé de :

M.	J.P. LALLES	Président
MM.	T. GIDENNE	Directeur de thèse
	E. BLAS	Rapporteur
	J. LE DIVIDICH	Rapporteur
	S. BOULLIER	Membre
	A. BOURDILLON	Membre

REMERCIEMENTS

Le travail présenté dans ce mémoire de thèse a été réalisé à la Station de Recherches Cunicoles (SRC) de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) à Auzeville (31), et a bénéficié du soutien financier de Cybéla du groupe Glon.

Je tiens dans un premier temps à remercier vivement les membres du jury de cette thèse :

M. Jean-Paul LALLES de l'unité SENAH de l'INRA de Rennes de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de cette thèse.

MM. Enrique BLAS de l'unité d'Alimentation Animale de l'Université Polytechnique de Valence (Espagne), et Jean LE DIVIDICH de l'unité Système d'Elevage, Nutrition Animale et Humaine (SENAH) de l'INRA de Rennes, pour avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse. Je vous assure de ma profonde reconnaissance.

Mmes Séverine BOULLIER de l'unité Interactions Hôtes - Agents Pathogènes (IHAP) de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT) et Anne BOURDILLON de Cybéla du groupe Glon, pour avoir accepté de participer à ce jury.

M. Thierry GIDENNE, directeur de cette thèse, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire, pour avoir encadré ces travaux et pour la confiance qu'il m'a témoignée au cours de ces 3 années.

J'adresse mes sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ces travaux :

Anne BOURDILLON, Sandrine VERDELHAN, Annick MOREL-SAIVES et Bertrand RENOUF de Cybéla du groupe Glon pour l'intérêt constant qu'ils ont porté aux travaux réalisés, pour leur confiance et leurs avis et conseils constructifs lors des comités de thèse.

Séverine BOULLIER et Alain MILON de l'unité IHAP de l'ENVT pour leur collaboration au cours de ces travaux, leur disponibilité et leurs conseils avisés. Un grand merci également à Christian TASCA, Cécile CAUBET et Cécile COUDERT pour leur aide technique et leur sympathie.

Isabelle LE HUËROU-LURON et Jean-Paul LALLES de l'unité SENAH de l'INRA de Rennes pour leur accueil chaleureux au sein de leur équipe et pour le temps consacré à m'enseigner les rudiments de l'analyse morphométrique et de l'enzymologie. Un grand merci à Véronique ROME, Gérard SAVARY et Lucile BROTIER pour leur précieux appui dans l'apprentissage de ces méthodes.

Marie-Claude NICOT et Marie-Luce CHEMIT de l'équipe Nutrition de la vache laitière et qualité du lait de l'ENVT pour m'avoir initiée aux analyses d'ytterbium et d'acides gras, pour leur sourire et leur grande disponibilité.

Hervé REMIGNON du laboratoire de Zootechnie et Qualité des Produits Animaux de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Toulouse, pour avoir consenti de m'accueillir durant de longues heures au sein de son unité pour l'analyse d'images sur Visilog.

J'exprime également toute ma reconnaissance à l'ensemble de l'équipe de la Station de Recherches Cunicoles, sans qui ce travail n'aurait pu voir le jour :

Viviane BATAILLER, pour son aide administrative au cours de ces 3 années, mais aussi pour sa perpétuelle bienveillance. Muriel SEGURA pour sa patience et sa motivation à m'enseigner les notions essentielles des analyses de laboratoire, pour son aide chaleureuse et sa bonne humeur. Carole BANNELIER et Véronique TARTIE pour leur aide amicale et technique, leurs conseils et leur disponibilité. Laurence FORTUN-LAMOTHE pour avoir suivi consciencieusement l'ensemble de ce travail, et pour ses conseils éclairés. Laurent CAUQUIL, Sylvie COMBES et Béatrice DARCHE pour les moments partagés au cours de ces trois années. André LAPANOUSE, Patrick AYMARD, Jean DE DAPPER et Jacques DE DAPPER pour leur appui technique à l'élevage. Michèle THEAU-CLEMENT pour son oreille attentive, notamment lors de la "dernière ligne droite". Andréa MICHELAN et Juan ORENCO pour leur participation plus qu'active à ce travail et leur bonne humeur. Aux stagiaires et thésards dont j'ai croisé le chemin, et le sourire : Alex, Kimsé, Sandrine, Miranda, Lisiane, Vincent, Nadia, Alexandre...

Enfin, je voudrais remercier tout particulièrement ma petite famille pour son soutien constant tout au long de mes études. Promis, j'arrête !!!

Mille mercis à mes amis d'enfance, de cheval, de soirées, de voyages, de balades, d'école... pour leur réconfort.

A Doudou...

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS SE RAPPORTANT A LA THESE

PUBLICATIONS DANS DES REVUES A COMITE DE LECTURE

- GALLOIS M., GIDENNE T., FORTUN-LAMOTHE L., LE HUËROU-LURON I., LALLES J.P., 2005. An early stimulation of solid feed intake slightly influences the morphological gut maturation in the rabbit. *Reprod Nutr Dev*, 45 (1) : 109-122.
- GALLOIS M., LE HUËROU-LURON I., FORTUN-LAMOTHE L., LALLES J.P., GIDENNE T. Adaptability of the digestive function to an early stimulation of the solid feed intake in the young rabbit. I. Digestive potential: small intestinal enzymatic and cæcal microbial activities. (Soumis à *J Anim Sci*).
- GALLOIS M., FORTUN-LAMOTHE L., MICHELAN A., GIDENNE T. Adaptability of the digestive function to an early stimulation of the solid feed intake in the young rabbit. II. Digestive capacities: nutrient digestion in the small intestine and in the whole digestive tract. (Soumis à *J Anim Sci*).

COMMUNICATIONS DANS DES CONGRES

Communications orales

- GALLOIS M., BOULLIER S., MILON A., GIDENNE T., 2005. Age au sevrage et sensibilité à une infection expérimentale par une souche d'*E. coli* O103. In : *11^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, 29-30 novembre, Paris, France, 1 : 249-252.
- GALLOIS M., GIDENNE T., FORTUN-LAMOTHE L., LE HUËROU-LURON I., LALLES J.P., 2004. Weaning age and development of the small intestinal mucosa in the young rabbit. In : *8th World Rabbit Congress*, 7-10 septembre, Puebla, Mexique : 1079-1085.
- GALLOIS M., GIDENNE T., FORTUN-LAMOTHE L., SEGURA M., 2004. Enzymatic profile in the small intestinal mucosa of the young rabbit weaned at 21 or 35 days of age. In : *4th European Meeting COST Action 848*, 24-26 juin, Madrid, Espagne, 1 : 18-19.

- GALLOIS M., GIDENNE T., FORTUN-LAMOTHE L., 2003. Sevrage précoce des lapereaux : conséquences sur le développement de l'appareil digestif en relation avec les performances zootechniques. In : *10^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, 19-20 novembre, Paris, France, 1 : 127-130.

- GALLOIS M., GIDENNE T., FORTUN-LAMOTHE L., 2003. Digestive development in the young rabbit: impact of a weaning at 21d. *3rd European Meeting COST Action 848*, 25-27 septembre, Prague, République Tchèque, 1 : 15.

Poster

- GALLOIS M., GIDENNE T., LE HUËROU-LURON I., LALLES J.P., 2005. Réponse fonctionnelle de la muqueuse digestive à un sevrage précoce chez le lapereau. In : *1^{ères} Journées d'Animation Scientifique du Département de Physiologie Animale et Systèmes d'Elevage, INRA*, 15-16 mars, Tours, France, 1 : 130.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX	12
LISTE DES FIGURES.....	14
LISTE DES PHOTOS.....	17
LISTE DES ANNEXES.....	17
LISTE DES ABBREVIATIONS.....	18
INTRODUCTION GENERALE	19
<hr/>	
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	23
<hr/>	
INTRODUCTION.....	25
CHAPITRE 1 - L'APPAREIL DIGESTIF : DUALITE DE FONCTIONS.....	27
I. UN ENSEMBLE DE COMPARTIMENTS : DIGESTION ET ABSORPTION DE NUTRIMENTS, ET LUTTE CONTRE LES AGENTS INDESIRABLES.....	27
I.A. Organisation générale	27
I.B. Structure histologique	28
II. LA FONCTION DE DIGESTION.....	29
II.A. De la préhension des aliments à la déglutition du bol alimentaire	29
II.A.1. Le lapin : un herbivore	29
II.A.2. Une cavité buccale spécifique des Lagomorphes	30
II.B. La digestion gastrique.....	31
II.B.1. Une muqueuse gastrique entièrement sécrétante	31
II.B.2. Un début de digestion protéique et lipidique	32
II.B.3. Un brassage avant transfert vers l'intestin grêle.....	33
II.C. L'intestin grêle : site majeur des phénomènes de digestion et d'absorption.....	34
II.C.1. Une augmentation considérable de la surface d'échange	34
II.C.2. Des glandes associées participant activement à la digestion.....	36
II.C.3. Neutralisation du chyme gastrique	37
II.C.4. Fonction digestive	37
II.C.5. Transfert du contenu luminal vers le cæcum	40
II.D. Le cæcum : une aide microbienne pour la digestion de l'aliment.....	41
II.D.1. Un réservoir volumineux	41
II.D.2. Une flore particulière chez le lapin.....	42
II.D.3. Action de la microflore sur la physiologie nutritionnelle de l'hôte	45
II.D.4. Temps de séjour des nutriments dans le cæcum.....	48
II.E. Le côlon : formation de deux types de feces	48
II.E.1. Une essoreuse et un lubrifiant du contenu cæcal	48
II.E.2. Cæcotrophes et fèces dures.....	49
II.F. Efficacité digestive	51
III. LA FONCTION DE DEFENSE CONTRE LES AGENTS INDESIRABLES.....	52
III.A. Des moyens non spécifiques	52
III.A.1. La flore résidente	52
III.A.2. Barrières physiques et chimiques.....	53
III.B. Des moyens immunitaires spécifiques.....	53
III.B.1. Le tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT) : structure.....	54
III.B.2. Réponse immunitaire intestinale : rôle des IgA.....	55
III.B.3. Tolérance orale.....	57
IV. L'ECOSYSTEME INTESTINAL : UN EQUILIBRE DYNAMIQUE ET FRAGILE.....	58

CHAPITRE 2 - LE SEVRAGE DU LAPEREAU : VERS UN EQUILIBRE DES FONCTIONS	
INTESTINALES	61
I. CHANGEMENTS NUTRITIONNELS AUTOUR DU SEVRAGE	61
I.A. Modalités de réalisation	61
I.B. Changement d'alimentation : du lait maternel à l'aliment solide végétal	62
I.B.1. Du lait de lapine.....	62
I.B.2. ...à un aliment granulé.....	64
II. LES CHANGEMENTS STRUCTURAUX ET FONCTIONNELS DE L'APPAREIL DIGESTIF	
AUTOUR DU SEVRAGE	65
II.A. Développement des segments digestifs.....	65
II.A.1. Evolution post-natale.....	65
II.A.2. Influence de l'alimentation	66
II.B. Développement de la muqueuse intestinale	66
II.B.1. Evolution post-natale.....	66
II.B.2. Influence de l'alimentation.....	67
II.C. Développement des sécrétions endogènes	68
II.C.1. Enzymes gastriques	68
II.C.2. Enzymes pancréatiques.....	68
II.C.3. Enzymes de la muqueuse intestinale	69
II.D. Colonisation microbienne	70
II.D.1. Evolution post-natale.....	70
II.D.2. Influence de l'alimentation	71
III. D'UNE IMMUNITE PASSIVE, VIA LA LAPINE, A UNE IMMUNITE ACTIVE DU	
LAPEREAU	72
III.A. Immunité passive transmise par la mère.....	72
III.B. Développement de l'immunité active.....	72
IV. LE SEVRAGE : UNE TRANSITION NON MAITRISEE EN ELEVAGE CUNICOLE.....	74
IV.A. Une situation sanitaire instable en France	74
IV.A.1. Fréquence des affections du système digestif	74
IV.A.2. Complexité de l'étiopathogénie des affections du système digestif	74
IV.A.3. Revue des principales maladies digestives.....	75
IV.A.4. Un exemple d'agent infectieux : les <i>Escherichia coli</i> entéropathogènes	76
IV.B. Voies d'amélioration de la transition autour du sevrage des lapereaux.....	79
IV.B.1. Prophylaxies sanitaire et médicale, traitements.....	79
IV.B.2. Adapter l'alimentation du jeune	80
 CONCLUSIONS ET OBJECTIFS DE CE TRAVAIL DE THESE	 87

ETUDE EXPERIMENTALE

91

CHAPITRE 1 - LE STATUT NUTRITIONNEL DU LAPEREAU, VIA LA MODULATION DE L'AGE	
AU SEVRAGE, INFLUENCE-T-IL LE DEVELOPPEMENT DE LA FONCTION DE DIGESTION ?	93
I. OBJECTIFS ET CHOIX DU MODELE	93
I.A. Objectifs.....	93
I.B. Choix du modèle	93
II. MOYENS EXPERIMENTAUX GENERAUX.....	94
II.A. Schémas expérimentaux	94
II.B. Animaux, logement et alimentation	96
II.B.1. Animaux et logement	96
II.B.2. Alimentation.....	98
II.C. Contrôle de l'ingestion et de la croissance	100
II.D. Mesures et prélèvements réalisés au cours des abattages.....	100
II.D.1. Choix des lapereaux abattus et de l'heure d'abattage	100
II.D.2. Mesures et prélèvements réalisés	100
III. LES PERFORMANCES ZOOTECHNIQUES SONT AFFECTEES PAR L'AGE AU SEVRAGE.....	102
III.A. Analyse des données	102
III.B. Résultats : Poids et vitesses de croissance	103
III.C. Résultats : Ingestions d'aliment et de lait.....	104
III.C.1. Evolution des profils d'ingestion lait / aliment granulé	104
III.C.2. Evolution de l'ingestion de nutriments au cours de la période 21-35 jours.....	106
III.D. Discussion	108

IV. LE DEVELOPPEMENT STRUCTURAL DE L'APPAREIL DIGESTIF EST PEU INFLUENCE PAR L'AGE AU SEVRAGE	109
IV.A. Evolution anatomique de l'appareil digestif en fonction de l'âge au sevrage.....	109
IV.A.1. Analyse des données.....	109
IV.A.2. Résultats : Poids des différents segments digestifs et de leurs contenus	109
IV.A.3. Résultats : Longueur des différents segments digestifs.....	113
IV.A.4. Discussion.....	114
IV.B. Evolution histologique de l'intestin grêle en fonction de l'âge au sevrage	115
IV.B.1. Méthode	115
IV.B.2. Résultats : Evolution morphométrique des villosités et des cryptes intestinales	116
IV.B.3. Discussion	120
V. LES CAPACITES DE DIGESTION DES LAPEREAUX SONT MODULABLES EN FONCTION DE L'AGE AU SEVRAGE	123
V.A. Développement du potentiel enzymatique endogène.....	123
V.A.1. Méthodes.....	123
V.A.2. Résultats : Evolution des activités des enzymes de l'intestin grêle.....	125
V.A.3. Résultats : Un milieu d'action de l'équipement enzymatique différent, évolution du pH stomacal en fonction de l'âge au sevrage	132
V.A.4. Discussion	132
V.B. Développement du potentiel enzymatique bactérien et de l'activité fermentaire dans le cæcum	136
V.B.1. Méthodes	136
V.B.2. Résultats : Evolution des activités fibrolytiques bactériennes	137
V.B.3. Résultats : Evolution des activités fermentaires cæcales	139
V.B.4. Discussion	142
V.C. Evaluation de l'efficacité de la digestion : digestibilités iléale et fécale	144
V.C.1. Méthodes.....	144
V.C.2. Résultats : Digestibilité iléale de l'aliment à 28 et à 42 jours	149
V.C.3. Résultats : Digestibilité fécale de l'aliment entre 24 et 28 jours, et entre 38 et 42 jours	150
V.C.4. Discussion des aspects méthodologiques	154
V.D. Evaluation de l'efficacité de la digestion : bilans digestifs	156
V.D.1. Méthodes.....	156
V.D.2. Résultats : Bilan digestif au cours de la période 24-28 jours.....	156
V.D.3. Résultats : Bilan digestif au cours de la période 38-42 jours.....	159
V.D.4. Discussion : Efficacité de la digestion en fonction de l'âge au sevrage.....	161

CHAPITRE 2 - LE STATUT NUTRITIONNEL DU LAPEREAU, VIA LA MODULATION DE L'AGE AU SEVRAGE, INFLUENCE-T-IL SA SENSIBILITE A UNE INFECTION EXPERIMENTALE PAR UNE SOUCHE ENTEROPATHOGENE D'*E. COLI* ?

I. OBJECTIFS ET CHOIX DU MODELE	165
I.A. Objectifs.....	165
I.B. Choix du modèle	165
II. MOYENS EXPERIMENTAUX	166
II.A. Schéma expérimental.....	166
II.B. Animaux, logement et alimentation	167
II.B.1. Animaux et logement	167
II.B.2. Alimentation.....	168
II.C. Inoculations expérimentales.....	169
II.C.1. Description des souches bactériennes.....	169
II.C.2. Préparation de l'inoculum	169
II.C.3. Inoculations	169
II.D. Suivi sanitaire	170
II.D.1. Examens cliniques.....	170
II.D.2. Autopsies.....	170
II.E. Evaluation des performances	170
II.F. Suivis bactériologiques et sérologiques.....	171
II.F.1. Bactériologies cæcales et fécales	171
II.F.2. Sérologies	172
II.G. Analyse des données.....	173
III. DEROULEMENT GENERAL DE L'EXPERIMENTATION	174
III.A. Vérifications expérimentales	174
III.B. Contamination des témoins.....	174

IV. RESULTATS : LES LAPEREAX ALLAITES SONT PROTEGES CONTRE LA COLIBACILLOSE MAIS N'ELIMINENT PAS L'AGENT PATHOGENE.....	175
IV.A. Symptômes et lésions de la colibacillose	175
IV.B. Analyses de morbidité et de mortalité.....	176
IV.B.1. Evolution de la mortalité et de la morbidité des lapereaux infectés à 28 jours.....	177
IV.B.2. Evolution de la mortalité des lapereaux infectés à 42 jours	178
IV.C. Performances de croissance et d'ingestion.....	179
IV.C.1. Evolution du poids et des vitesses de croissance.....	179
IV.C.2. Evolution de l'ingestion d'aliment.....	182
IV.D. Evolution de l'excrétion colibacillaire.....	183
IV.E. Développement de la réponse immunitaire.....	184
V. DISCUSSION	185
V.A. Déroulement général de l'expérimentation	185
V.B. Sensibilité à la colibacillose en fonction de l'âge au sevrage	186
V.C. Le lait de lapine : un rôle fondamental dans la résistance des lapereaux à la colibacillose ?.....	187
V.D. Substances bioactives du lait et mécanismes d'action possibles	188

CHAPITRE 3 - LE STATUT NUTRITIONNEL DU LAPEREAU, VIA L'INCORPORATION DE TRIGLYCERIDES A CHAINES MOYENNES DANS L'ALIMENT DE PERI-SEVRAGE, REDUIT-IL SA SENSIBILITE A LA COLIBACILLOSE ?193

I. OBJECTIFS ET CHOIX DU MODELE	193
I.A. Objectifs.....	193
I.B. Choix du modèle	194
I.B.1. Supplémentation alimentaire en acides gras à chaînes moyennes	194
I.B.2. Age au sevrage.....	195
II. MOYENS EXPERIMENTAUX	195
II.A. Schéma expérimental.....	195
II.B. Animaux, logement et alimentation	196
II.B.1. Animaux et logement	196
II.B.2. Alimentation	197
II.C. Inoculations expérimentales.....	198
II.D. Suivi sanitaire	198
II.E. Evaluation des performances	198
II.F. Mesures, prélèvements et analyses effectués.....	198
II.F.1. Bactériologies cœcales et fécales	198
II.F.2. Sérologies	199
II.F.3. Digestibilité fécale apparente des aliments	199
II.F.4. Evaluation de différents paramètres physiologiques à 36 jours	199
II.F.5. Analyse de la composition en acides gras des échantillons.....	200
II.G. Mesures complémentaires mises en œuvre pour le contrôle de la contamination des témoins	200
III. LES TRIGLYCERIDES A CHAINES MOYENNES NE PROLONGENT PAS LA PROTECTION CONFEREE PAR LE LAIT MATERNEL LORS D'UN CHALLENGE AVEC UNE SOUCHE EPEC.....	201
III.A. Déroulement général de l'étude et analyse des données	201
III.B. Résultats : Sensibilité à la colibacillose.....	202
III.B.1. Evolution de la mortalité.....	202
III.B.2. Evolution de la morbidité.....	204
III.C. Résultats : Performances des lapereaux	205
III.C.1. Poids et croissance des lapereaux.....	205
III.C.2. Ingestion d'aliment	207
III.D. Résultats : Excrétion colibacillaire	208
III.E. Résultats : Réponse immunitaire.....	209
III.F. Discussion.....	211
IV. DISPONIBILITE DES ACIDES GRAS A CHAINES MOYENNES : INGESTION ET DEVENIR DANS LE TRACTUS DIGESTIF ET CONSEQUENCES PHYSIOLOGIQUES	213
IV.A. Analyse des données	213
IV.B. Résultats : Profil d'ingestion des acides gras à chaînes moyennes.....	213
IV.B.1. Composition du lait de lapine	213
IV.B.2. Profil des acides gras de l'aliment.....	214
IV.B.3. Ingestion d'acide caprylique par les lapereaux	215
IV.C. Résultats : Devenir des acides gras dans le tractus digestif des lapereaux.....	217
IV.C.1. Evolution du profil des acides gras dans l'estomac, puis l'iléon des lapereaux témoins	217
IV.C.2. Devenir des acides gras à chaînes moyennes dans les contenus des lapereaux infectés ou non.....	218
IV.C.3. Conséquences sur le devenir dans le tractus digestif des acides gras autres que les acides caprylique et caprique	220

IV.D. Résultats : Conséquences physiologiques de la nature de l'huile incorporée dans l'aliment et de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours	222
IV.D.1. Evaluation de la digestibilité fécale apparente	222
IV.D.2. Evaluation de différents paramètres digestifs à 36 jours	222
IV.E. Discussion	224
IV.E.1. Conséquences physiologiques de l'infection par <i>E. coli</i> O103:H2	224
IV.E.2. Influence des triglycérides à chaînes moyennes sur les désordres digestifs occasionnés par l'infection à <i>E. coli</i> O103:H2	225

DISCUSSION GENERALE

229

I. ASPECTS METHODOLOGIQUES	231
I.A. Choix des modèles	232
I.B. Choix des méthodes	233
II. EVOLUTION DU PROFIL D'INGESTION AUTOUR DU SEVRAGE	239
III. STATUT NUTRITIONNEL ET MATURATION DE LA FONCTION DIGESTIVE	240
III.A. Développement de la digestion dans l'intestin grêle	240
III.A.1. Evolution du potentiel digestif endogène chez le jeune lapereau sevré à 35 jours	240
III.A.2. Statut nutritionnel et capacités digestives pré-cæcales	244
III.B. Développement de la digestion dans le gros intestin	248
III.B.1. Evolution du potentiel digestif microbien chez le jeune	248
III.B.2. Statut nutritionnel et capacités digestives microbiennes	249
III.C. Bilan de la digestion	252
IV. STATUT NUTRITIONNEL ET SENSIBILITE A UNE INFECTION EXPERIMENTALE PAR UNE SOUCHE ENTEROPATHOGENE D' <i>E. COLI</i>	253
IV.A. Symptomatologie et tableau lésionnel	253
IV.B. Age au sevrage et sensibilité à la colibacillose	255
IV.C. Incorporation de substances potentiellement antimicrobiennes dans l'aliment de péri-sevrage et sensibilité à la colibacillose	257

CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

261

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... 267

ANNEXES..... 287

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Taux d'incorporation habituels des différentes matières premières en alimentation cunicole.....	29
Tableau 2 Recommandations nutritionnelles aux différentes catégories de lapins.....	30
Tableau 3 Sites d'action des différentes enzymes impliquées dans la digestion des protéines et des peptides dans l'intestin grêle.....	37
Tableau 4 Flore cœcale identifiée chez le lapin.....	43
Tableau 5 Caractéristiques des différentes classes de fibres de la paroi végétale	46
Tableau 6 Composition des crottes dures et cœcotrophes du lapin	49
Tableau 7 Valeurs de digestibilité fécale apparente des différents constituants des aliments du lapin.....	51
Tableau 8 Composition chimique du lait de lapine	62
Tableau 9 Composition en acides gras du lait de lapine.....	63
Tableau 10 Influence de la modulation du niveau d'ingestion d'aliment solide avant sevrage sur la croissance et la santé des lapereaux	82
Tableau 11 Influence de la modulation de la composition de l'aliment sur la croissance et la santé des lapereaux.....	84
Tableau 12 Analyses chimiques effectuées sur les aliments	98
Tableau 13 Ingrédients et composition chimique des aliments distribués aux lapereaux dans les études 1 et 2	99
Tableau 14 Composition chimique du lait de lapine	99
Tableau 15 Prélèvements intestinaux effectués au cours des études 1 et 2	101
Tableau 16 Evolution du poids vif des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	103
Tableau 17 Evolution du gain moyen quotidien des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	104
Tableau 18 Caractéristiques du contenu et de la muqueuse de l'intestin grêle des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	125
Tableau 19 Evolution des caractéristiques du contenu cœcal des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage...	140
Tableau 20 Digestibilité iléale de l'aliment granulé à 28 et à 42 jours en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux.....	149
Tableau 21 Caractéristiques des différentes méthodes d'évaluation de la digestibilité fécale apparente pour la période 24-28 jours, en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux.....	150
Tableau 22 Digestibilité fécale apparente des différents composants de l'aliment granulé de 24 à 28 jours en fonction de la méthode utilisée et de l'âge au sevrage des lapereaux	151
Tableau 23 Caractéristiques de la méthode employée pour corriger la digestibilité de l'aliment granulé en fonction de la digestibilité supposée du lait de lapine.....	152
Tableau 24 Digestibilité fécale apparente de l'aliment granulé de 24 à 28 jours par la méthode décalée selon la digestibilité supposée du lait et en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux.....	152
Tableau 25 Caractéristiques des différentes méthodes d'évaluation de la digestibilité fécale apparente pour la période 38-42 jours, en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux	153
Tableau 26 Digestibilité fécale apparente de l'aliment de 38 à 42 jours selon la méthode utilisée et en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux.....	153
Tableau 27 Identification des lots, séquences d'inoculations réalisées et nombre de portées de l'étude 3	167
Tableau 28 Ingrédients et composition chimique de l'aliment distribué aux lapereaux dans l'étude 3	168

Tableau 29	Souches bactériennes utilisées dans l'étude 3	169
Tableau 30	Concentrations des inoculums bactériens utilisés dans l'étude 3	174
Tableau 31	Principales lésions observées au cours des autopsies de lapereaux morts de colibacillose	175
Tableau 32	Evolution du poids vif des lapereaux en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'âge au sevrage	180
Tableau 33	Evolution du gain moyen quotidien des lapereaux en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'âge au sevrage.....	180
Tableau 34	Evolution de la croissance relative journalière des lapereaux en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'âge au sevrage.....	181
Tableau 35	Evolution de l'ingestion d'aliment par les lapereaux en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'âge au sevrage.....	183
Tableau 36	Comptage colibacillaire cœcal à 63 jours des lapereaux infectés à 28 jours par la souche d' <i>E. coli</i> entéropathogène E22 en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux	184
Tableau 37	Explications plausibles de la propagation rapide de l'agent pathogène aux lapereaux témoins	186
Tableau 38	Ingrédients et composition chimique des aliments distribués aux lapereaux dans l'étude 4	197
Tableau 39	Evolution de la croissance relative journalière des lapereaux en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment	206
Tableau 40	Pourcentage de lapereaux présentant une séroconversion vis-à-vis du LPS O103 aux différents âges de prélèvement, en fonction de l'huile incorporée dans l'aliment.....	210
Tableau 41	Répartition du nombre de lapereaux selon leur statut immunitaire et la manifestation de signes cliniques antérieurement à la réalisation de la sérologie, et en fonction de l'huile incorporée dans l'aliment.....	210
Tableau 42	Composition moyenne du lait des lapines de l'étude 4	214
Tableau 43	Evolution des concentrations en acides gras totaux, depuis l'aliment jusqu'à l'iléon des lapereaux non infectés, en fonction de l'huile incorporée dans l'aliment.....	217
Tableau 44	Concentrations en acides gras à chaînes moyennes du contenu stomacal des lapereaux à 36 jours en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment	219
Tableau 45	Concentrations en acides gras à chaînes moyennes du contenu iléal des lapereaux à 36 jours en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment	220
Tableau 46	Profil des différents acides gras du contenu stomacal des lapereaux à 36 jours en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment (sauf C8:0 et C10:0)	221
Tableau 47	Profil des différents acides gras du contenu iléal des lapereaux à 36 jours en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment (sauf C8:0 et C10:0)	221
Tableau 48	Digestibilité fécale apparente des nutriments de 38 à 42 jours en fonction de l'huile incorporée dans l'aliment par les lapereaux non infectés T.....	222
Tableau 49	Détermination de différents paramètres des contenus stomacaux, iléaux et cœcaux à 36 jours en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment des lapereaux	223
Tableau 50	Détermination des activités bactériennes cœcales à 36 jours en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment des lapereaux	223
Tableau 51	Pertinence des méthodes utilisées selon les objectifs fixés : avantages et limites	236

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Représentation des différents segments digestifs du lapin en croissance	27
Figure 2 Structure histologique de la paroi digestive (coupe transversale).....	28
Figure 3 Dents permanentes gauches, en place.....	31
Figure 4 Face viscérale et muqueuse gastrique de l'estomac du lapin.....	32
Figure 5 Systèmes d'amplification de la surface de la muqueuse intestinale	34
Figure 6 Schéma de l'organisation histologique des villosités et cryptes intestinales	35
Figure 7 Conformation externe du cæcum de lapin	41
Figure 8 Méthodes de dosage des fibres végétales et nature du résidu d'analyse.....	46
Figure 9 Représentation schématique du côlon du lapin.....	48
Figure 10 Représentation schématique des différentes structures lymphoïdes organisées associées à l'appareil digestif.....	54
Figure 11 Structure d'une IgA sécrétoire humaine	56
Figure 12 Représentation schématique des interactions aliment/hôte/flore au sein de l'écosystème intestinal....	58
Figure 13 Comparaison de la composition chimique moyenne du lait maternel et de l'aliment granulé des lapines	64
Figure 14 Evolution du poids frais et de la longueur des segments digestifs chez le lapin entre 3 et 11 semaines d'âge.....	65
Figure 15 Structure des <i>Escherichia coli</i>	77
Figure 16 Stratégies de lutte contre les maladies digestives du lapereau après sevrage	80
Figure 17 Complexité des interactions possibles entre les modifications de statut nutritionnel au sevrage, l'hôte et la flore microbienne au sein du tractus digestif	88
Figure 18 Schéma expérimental de l'étude 1.....	95
Figure 19 Schéma expérimental de l'étude 2.....	95
Figure 20 Effectifs et mouvements de lapereaux dans l'étude 2	97
Figure 21 Mesures effectuées dans l'appareil digestif au cours de l'étude 1	101
Figure 22 Ingestion hebdomadaire par les lapereaux de l'aliment granulé et du lait maternel de 14 à 49 jours, en frais et en matière sèche, en fonction de l'âge au sevrage (Etude 1).....	104
Figure 23 Ingestion quotidienne par les lapereaux de l'aliment granulé et du lait maternel au cours de la période 21-28 jours, en frais et en matière sèche, en fonction de l'âge au sevrage (Etude 2).....	105
Figure 24 Ingestion quotidienne par les lapereaux de l'aliment granulé et du lait maternel au cours de la période 35-42 jours, en frais et en matière sèche, en fonction de l'âge au sevrage (Etude 2).....	106
Figure 25 Ingestion de nutriments par les lapereaux entre 21 et 35 jours en fonction de l'âge au sevrage	107
Figure 26 Evolution du poids frais absolu et relatif des différents segments digestifs des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	110
Figure 27 Evolution du poids frais absolu et relatif du contenu des différents segments digestifs des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	112
Figure 28 Evolution des longueurs des différents segments digestifs des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	113
Figure 29 Mesures morphologiques effectuées sur les villosités et les cryptes intestinales de la muqueuse de l'intestin grêle des lapereaux	115

Figure 30 Evolution des hauteurs de villosités et profondeurs de cryptes le long de l'intestin grêle des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	117
Figure 31 Evolution du ratio hauteur / base des villosités le long de l'intestin grêle des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	118
Figure 32 Evolution des surfaces des villosités et des cryptes le long de l'intestin grêle des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	119
Figure 33 Evolution des activités relatives de l'amylase, de la lipase et de la trypsine dans le contenu intestinal des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage.....	126
Figure 34 Evolution des activités totales de l'amylase, de la lipase et de la trypsine dans le contenu intestinal des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	127
Figure 35 Evolution des activités relatives des enzymes de la muqueuse intestinale des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage.....	128
Figure 36 Evolution des activités spécifiques des enzymes de la muqueuse intestinale des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage.....	129
Figure 37 Evolution des activités totales des enzymes des muqueuses duodénale et jéjunale des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage.....	131
Figure 38 Evolution du pH stomacal, fundique et antral, en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux.....	132
Figure 39 Activités enzymatiques bactériennes dans le contenu cæcal des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	138
Figure 40 Evolution des proportions molaires de l'acétate, du propionate et du butyrate du contenu cæcal des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	141
Figure 41 Evolution de la concentration en ammoniacque et du pH du contenu cæcal des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	142
Figure 42 Profils d'ingestion d'aliment et d'excrétion de fèces par les lapereaux en fonction de la période d'étude et de l'âge au sevrage.....	146
Figure 43 Bilan quotidien de la "digestibilité" de la matière sèche de l'aliment en fonction de la période d'étude et de l'âge au sevrage des lapereaux.....	147
Figure 44 Bilan quotidien de la "digestibilité" de la matière sèche de l'aliment en fonction de la période d'étude et de l'âge au sevrage des lapereaux, en décalant d'une journée la période d'ingestion	148
Figure 45 Bilan à 28 jours des matières ingérées, digérées ou non dans l'iléon par les lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	157
Figure 46 Bilan total des nutriments ingérés et digestibles entre 23 et 27 jours en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux.....	158
Figure 47 Bilan à 42 jours des matières ingérées, digérées ou non dans l'iléon par les lapereaux en fonction de l'âge au sevrage	159
Figure 48 Bilan total de nutriments ingérés et digestibles entre 37 et 41 jours en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux.....	160
Figure 49 Schéma expérimental de l'étude 3.....	166
Figure 50 Chronologie des mesures effectuées dans l'étude 3.....	170
Figure 51 Courbe de survie à la colibacillose des lapereaux infectés à 28 jours par la souche d' <i>E. coli</i> entéropathogène E22 en fonction de l'âge au sevrage.....	177
Figure 52 Evolution de la morbidité des lapereaux infectés à 28 jours par la souche d' <i>E. coli</i> entéropathogène E22 en fonction de l'âge au sevrage.....	178
Figure 53 Courbe de survie à la colibacillose des lapereaux infectés à 42 jours par la souche d' <i>E. coli</i> entéropathogène E22 en fonction de l'âge au sevrage.....	179
Figure 54 Evolution du poids vif relatif des lapereaux et du pourcentage d'animaux présentant des signes cliniques de diarrhée selon le nombre de jours avant leur mort par colibacillose	182

Figure 55 Evolution de l'excrétion colibacillaire des lapereaux infectés à 28 jours par la souche d' <i>E. coli</i> entéropathogène E22 en fonction de l'âge au sevrage.....	183
Figure 56 Sérologies individuelles des lapereaux infectés à 28 jours par la souche d' <i>E. coli</i> entéropathogène E22 en fonction de l'âge au sevrage.....	185
Figure 57 Schéma expérimental de l'étude 4.....	196
Figure 58 Taux de survie des lapereaux en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment	203
Figure 59 Production laitière des lapines entre 28 et 35 jours et taux de survie à la colibacillose des lapereaux infectés à 28 jours par la souche d' <i>E. coli</i> entéropathogène E22	204
Figure 60 Evolution de la morbidité des lapereaux infectés à 28 jours par la souche E22 d' <i>E. coli</i> en fonction de l'huile incorporée dans l'aliment.....	205
Figure 61 Evolution du poids vif des lapereaux en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours.....	206
Figure 62 Evolution de l'ingestion d'aliment par les lapereaux en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment	207
Figure 63 Excrétion colibacillaire fécale des lapereaux en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment	209
Figure 64 Profil des acides gras du lait de lapine.....	214
Figure 65 Profil des acides gras des deux aliments distribués aux lapereaux dans l'étude 4	215
Figure 66 Ingestion d'acide caprylique par les lapereaux en fonction de la souche d' <i>E. coli</i> inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment	216
Figure 67 Evolution du profil des acides gras dans l'estomac et l'iléon des lapereaux non infectés	218
Figure 68 Nutrition du lapereau : vers un équilibre entre l'alimentation, l'hôte et la flore.....	237
Figure 69 Influence d'un sevrage précoce à 3 semaines sur le développement structural et fonctionnel de la muqueuse duodénale relativement à un sevrage de référence à 5 semaines.....	243
Figure 70 Modifications quantitatives et qualitatives de la matière organique ingérée selon que les lapereaux sont sevrés ou allaités à 28 jours	244
Figure 71 Evolution morphométrique des villosités intestinales lors d'un sevrage à 5 semaines	247
Figure 72 Hypothèses concernant l'absence d'effets bénéfiques des TCM sur le développement d'une colibacillose expérimentale à REPEC O103.....	259

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 Evolution des villosités intestinales au microscope électronique à transmission (×100).....	67
Photo 2 Evolution morphologique des villosités duodénales avec l'âge.....	117
Photo 3 Inoculation d'un lapereau.....	169
Photo 4 Colonies d' <i>E. coli</i> sur milieu EMB (photo de gauche), et colonies d' <i>E. coli</i> rhamnose ⊕ et rhamnose ⊖ sur milieu rhamnose (photo de droite)	171
Photo 5 Agglutinations positive (gauche) et négative (droite) anti-LPS O103.....	172
Photo 6 Prise de sang sur un lapereau avec la technique du “buvard”.....	172
Photo 7 Principales lésions observées au cours des autopsies de lapereaux morts de colibacillose	176

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 Avis du comité régional d'éthique pour la réalisation de l'étude 3.....	289
Annexe 2 Avis du comité régional d'éthique pour la réalisation de l'étude 4.....	290

LISTE DES ABBREVIATIONS

ADF	Acid detergent fiber
ADL	Acid detergent lignin
ADN	Acide désoxyribonucléique
AEB	Activités enzymatiques bactériennes
AGV	Acides gras volatils
ARNr	Acide ribonucléique ribosomal
<i>cf.</i>	<i>Confer</i>
CFU	Colonie formant unité
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CPA	Cellule présentatrice d'antigène
CVr	Coefficient de variation résiduelle
DO	Densité optique
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EGF	Epidermal growth factor
EHEC	Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i>
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
EMB	Eosine-bleu de méthylène
ET	Ecart-type
FAE	Follicle associated epithelium
GALT	Gut associated lymphoid tissue
GMQ	Gain moyen quotidien
GLM	General linear models
Ig	Immunoglobuline
IGF	Insulin-like growth factor
IL	Interleukine
Jx	x jours après la mise-bas
LPS	Lipopolysaccharide
MS	Matière sèche
NDF	Neutral detergent fiber
NH ₃	Ammoniaque
NS	Non significatif
PV	Poids vif
(R)EPEC	(Rabbit) enteropathogenic <i>Escherichia coli</i>
TCM	Triglycérides à chaînes moyennes
TGF	Transforming growth factor
UI	Unité internationale
UV	Ultraviolet
<i>vs.</i>	<i>versus</i>
Yb	Ytterbium

INTRODUCTION GENERALE

En élevage cunicole, les affections du système digestif sont très fréquentes chez le jeune en croissance et sont responsables d'importantes pertes économiques (mortalité, coûts des traitements,...). Des solutions destinées à prévenir ces maladies doivent donc être envisagées : développement des prophylaxies sanitaire et médicale, maîtrise de la conduite générale de l'élevage (renouvellement des reproducteurs, rythme de reproduction, programmes alimentaires...). Parmi elles, la voie de l'alimentation semble une piste intéressante. En effet, le rôle fondamental de l'aliment est de fournir à l'organisme les nutriments nécessaires à ses besoins d'entretien, de croissance et éventuellement de productions (lactation, gestation...). Mais un aliment adapté doit, de plus, garantir l'équilibre de l'écosystème intestinal (interactions entre les structures et fonctions digestives et la flore intestinale). La flore microbienne a un rôle particulièrement important chez les herbivores : elle est responsable de la digestion des polysaccharides pariétaux, non digérés par les enzymes endogènes, et synthétise des substances indispensables à l'hôte. Chez le lapin, ces substances, de nature protéique et vitaminique, sont valorisées par le biais d'une pratique particulière : la cæcotrophie, consistant en l'ingestion de crottes molles directement à l'anus en début de journée. Aussi, les agents indésirables, vivants ou inertes, véhiculés par l'aliment ou l'environnement seront d'autant mieux tolérés que l'écosystème intestinal sera stable (muqueuse digestive saine associée à une flore intestinale optimale).

Chez le jeune, l'équilibre de cet écosystème s'installe progressivement. D'une part, les différentes structures du tractus digestif et leurs fonctionnalités se développent, et l'intestin est graduellement colonisé par la flore environnante. D'autre part, la protection passive conférée par le lait maternel s'estompe et les structures et fonctions immunitaires propres au lapereau se mettent en place. Cette "immaturité" explique probablement la grande sensibilité du jeune aux affections gastro-intestinales. Selon nous, la connaissance des impacts des facteurs environnementaux sur le développement du système digestif du jeune s'avère une étape indispensable pour, à terme, satisfaire ses exigences nutritionnelles, tant pour sa croissance que pour sa résistance ultérieure aux maladies. Cependant, si la physiologie gastro-intestinale du lapin adulte est relativement bien connue, beaucoup d'incertitudes subsistent quant à la maturation du système digestif du lapereau.

L'objectif de ce travail a été, dans un premier temps, d'enrichir les connaissances actuelles sur le développement des structures et des fonctions digestives du lapereau autour du sevrage, et d'évaluer l'influence du statut nutritionnel sur leur maturation. Les effets de la modulation de l'âge au sevrage, donc des proportions relatives d'aliment solide et de lait maternel, sur certains aspects du développement structural et fonctionnel de l'appareil digestif ont été évalués, et mis en relation avec les capacités du lapereau à digérer l'aliment granulé. Dans un

deuxième temps, nous avons déterminé dans quelle mesure ces changements nutritionnels pouvaient affecter la sensibilité du jeune aux désordres digestifs, en réalisant un challenge bactérien avec une souche entéropathogène d'*Escherichia coli* O103, un agent fréquemment isolé en élevage cunicole. Dans une dernière partie, une stratégie alimentaire élaborée à partir des résultats obtenus au cours de ces travaux et visant à améliorer la résistance des lapereaux à la colibacillose a été expérimentée.

Dans ce document, nous présenterons dans une première partie bibliographique le système digestif du lapin, dans sa fonction de digestion, mais également de défense face aux agents indésirables. Puis nous nous intéresserons plus particulièrement à la mise en place de ces différentes fonctions chez le lapereau, en insistant sur l'influence de l'alimentation (sevrage, composition de l'aliment) dans ce développement. Dans une deuxième partie, expérimentale, les méthodes mises en œuvre et les résultats obtenus au cours de ce travail de thèse seront détaillés. Enfin, dans une troisième partie, une discussion générale permettra de faire une synthèse des principaux résultats obtenus et d'envisager des perspectives de travail.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

L'appareil digestif a pour fonction principale la digestion des aliments, phénomène conduisant à leur hydrolyse et à leur assimilation. Les nutriments indispensables aux besoins d'entretien, à la croissance et aux éventuelles productions (lactation, gestation...) sont ainsi fournis à l'organisme. Le tractus digestif est une succession de compartiments, dans la lumière desquels transite le bol alimentaire qui est soumis à l'action de diverses sécrétions. Ceux-ci sont tapissés d'une muqueuse en contact avec le milieu environnant, les exposant alors à de nombreuses agressions (antigéniques, toxiques...). De ce fait, un rôle de barrière visant à limiter l'entrée d'agents indésirables (vivants ou inertes) à travers l'épithélium est également dévolu au système digestif. Par ailleurs, il héberge de nombreux microorganismes participant activement aux phénomènes de digestion et de lutte contre l'installation d'agents pathogènes. Ces phénomènes interagissent, et sont sensibles à l'environnement (aliment, microorganismes...). Cette complexité des fonctions de l'appareil digestif sera décrite dans une première partie chez l'adulte : de la digestion à la lutte contre les agents indésirables. Dans une deuxième partie, les problèmes spécifiques de la période entourant le sevrage seront abordés : développement des structures et des fonctions digestives et immunitaires chez le jeune, en relation avec les changements nutritionnels observés à cette période. Les principales affections du système digestif du lapin en croissance seront également détaillées.

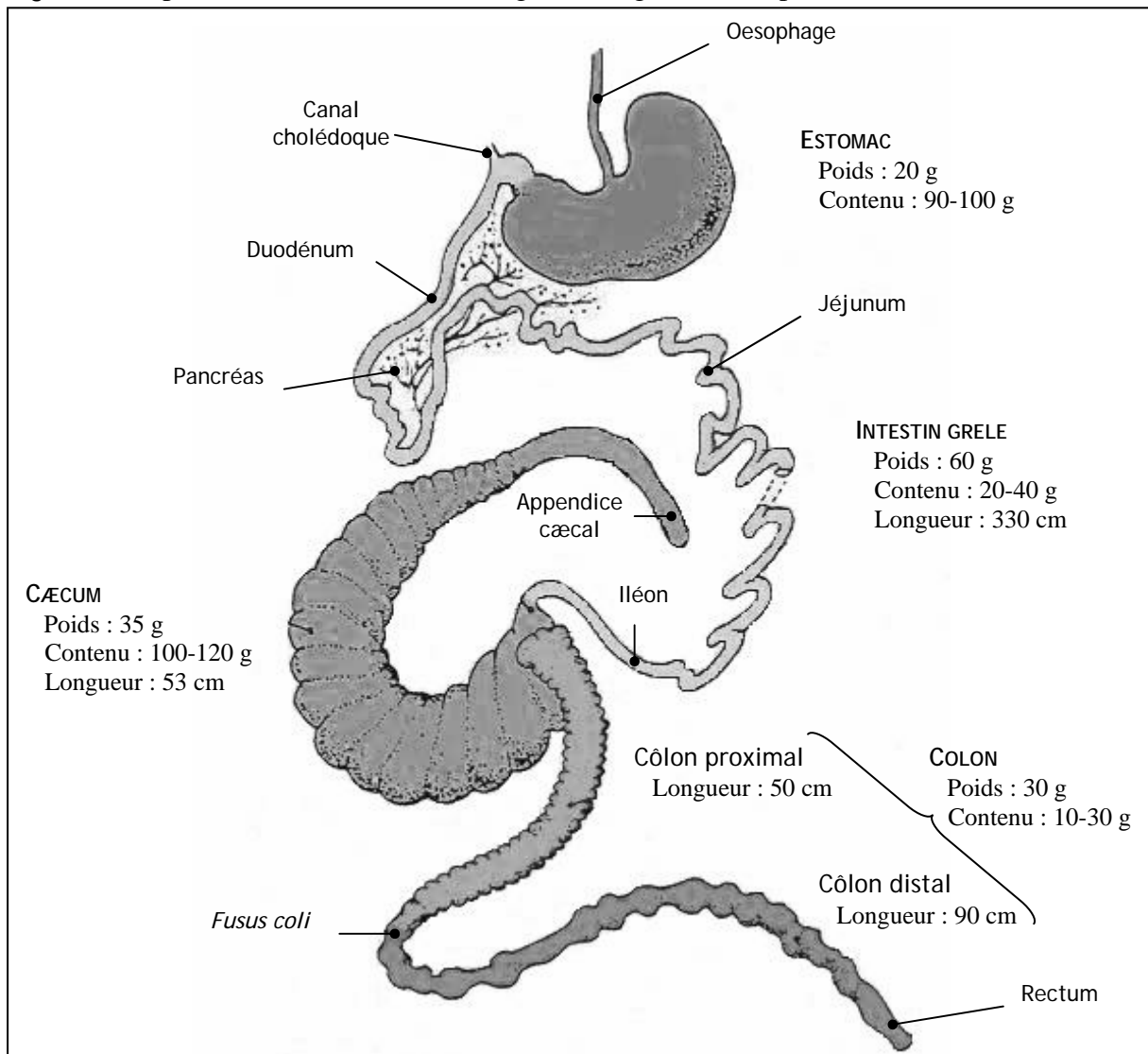
CHAPITRE 1 - L'APPAREIL DIGESTIF : DUALITE DE FONCTIONS

I. UN ENSEMBLE DE COMPARTIMENTS : DIGESTION ET ABSORPTION DE NUTRIMENTS, ET LUTTE CONTRE LES AGENTS INDESIRABLES

I.A. ORGANISATION GENERALE

L'appareil digestif est composé d'une succession de compartiments dont la muqueuse est en contact avec le bol alimentaire : la bouche, l'œsophage, l'intestin grêle (duodénum, jéjunum puis iléon), le cæcum, le côlon (proximal et distal), puis le rectum aboutissant à l'anus (Figure 1).

Figure 1 Représentation des différents segments digestifs du lapin en croissance



Mesures réalisées sur des lapins Néo-Zélandais de 12 semaines; D'après Lebas *et al.*, 1996.

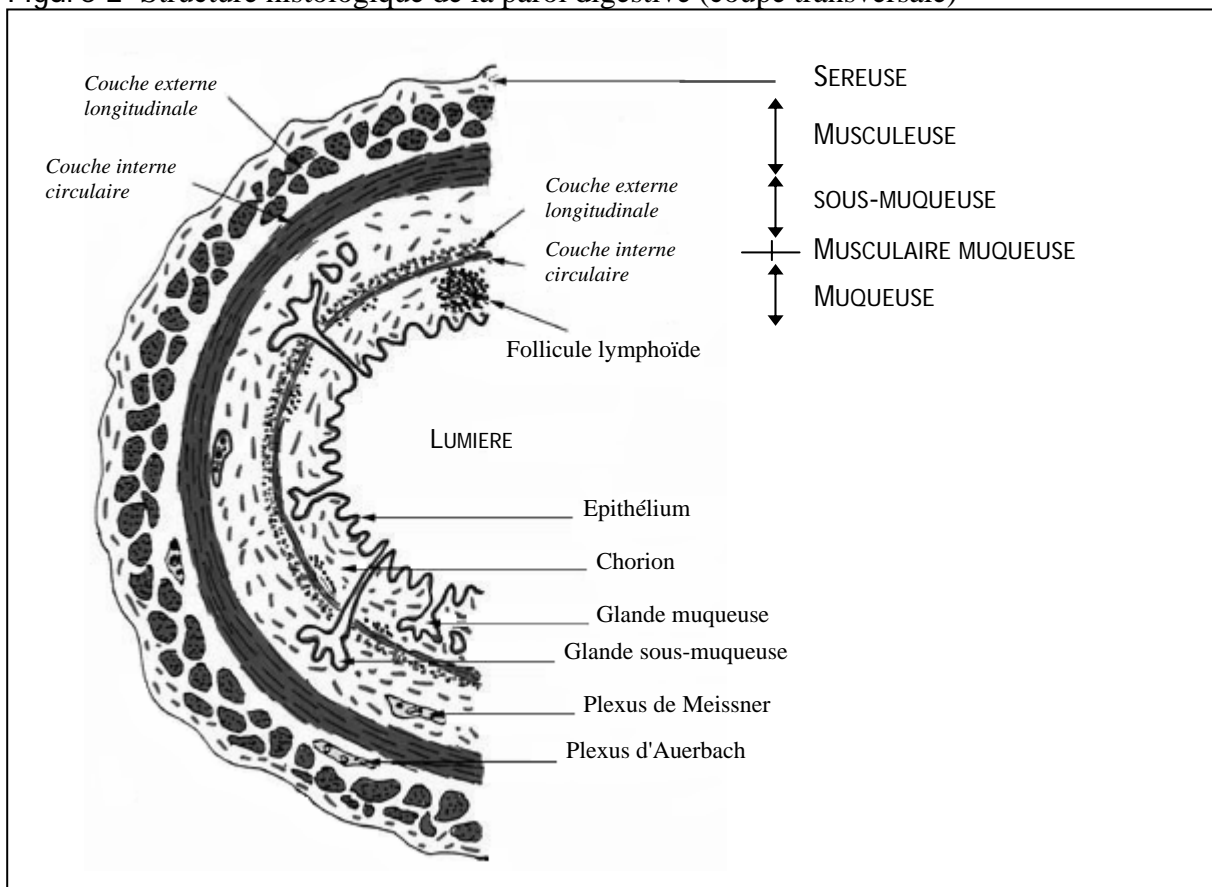
Celui du lapin est très particulier (*Snipes et Snipes, 1997*) : l'intestin grêle représente une faible part du tractus digestif (56% de la longueur et 12% du volume de l'ensemble intestin grêle-cæcum-côlon), alors que le cæcum est très développé : en volume, il représente 90% de l'ensemble intestin grêle-cæcum-côlon alors que pour la plupart des espèces domestiques il compte seulement pour 4 à 11% de cet ensemble. Seul le cheval a également un cæcum bien développé (30%). A ces organes viennent s'ajouter des glandes annexes sécrétoires reliées à différents niveaux de ce dispositif : les glandes salivaires, le foie et le pancréas.

Par ailleurs des éléments lymphoïdes, diffus ou organisés, sont disséminés tout au long de l'appareil digestif lui conférant un rôle important dans la défense de l'organisme : les plaques de Peyer de l'intestin grêle, le *sacculus rotundus* au niveau de la jonction iléo-cæcale et l'appendice cæcal (ou vermiforme) à l'extrémité distale du cæcum (*Mage, 1998*).

I.B. STRUCTURE HISTOLOGIQUE

La Figure 2 présente la structure de base de la paroi du tube digestif.

Figure 2 Structure histologique de la paroi digestive (coupe transversale)



(<http://spiral.univ-lyon1.fr/polycops/HistologieFonctionnelleOrganes/AppareilDigestif/TexteP3.html>).

Elle comporte cinq tuniques concentriques, de la lumière intestinale vers l'extérieur :

Une muqueuse : celle-ci est constituée d'un épithélium de revêtement reposant sur un chorion (ou *lamina propria*).

Une musculaire muqueuse : elle comprend deux couches de cellules musculaires lisses, une couche interne à disposition circulaire et une couche externe à disposition longitudinale.

Une sous-muqueuse : elle est de nature conjonctive et riche en fibres nerveuses formant le plexus de Meissner.

Une musculuse : elle présente la même conformation générale que la musculaire muqueuse, avec deux couches de cellules musculaires lisses. De nombreuses fibres nerveuses forment le plexus d'Auerbach.

Une séreuse de nature conjonctive dans laquelle circulent les vaisseaux et nerfs qui vont pénétrer dans les parties les plus internes de la paroi.

Le chorion et la sous-muqueuse abritent de plus des capillaires sanguins et lymphatiques. La muqueuse est l'élément le plus variable en fonction du segment digestif considéré (*cf. infra*).

II. LA FONCTION DE DIGESTION

II.A. DE LA PREHENSION DES ALIMENTS A LA DEGLUTITION DU BOL ALIMENTAIRE

II.A.1. Le lapin : un herbivore

Le lapin européen, *Oryctolagus cuniculus*, appartenant à l'ordre des Lagomorphes et à la famille des Léporidés, est un herbivore. En situation d'élevage, un aliment complet lui est distribué sous forme de granulés à haute teneur en matière sèche (environ 90%). Les matières premières, et leur taux d'incorporation varient selon la catégorie d'animaux : âge, stade de production. Les taux habituellement incorporés dans l'aliment des lapins figurent dans le Tableau 1.

Tableau 1 Taux d'incorporation habituels des différentes matières premières en alimentation cunicole

	Taux (%)
Luzerne déshydratée	25-35
Céréales	15-25
Sous-produits de céréales	15-25
Concentrés protéiques	15-20
Sous-produits fibreux	5-10
Graisses animales ou végétales	1-3
Mélasse	1-3
Pulpes de betterave	0-10

D'après De Blas et Mateos, 1998.

Les recommandations nutritionnelles pour les différentes catégories d'animaux figurent dans le Tableau 2. L'énergie est essentiellement fournie par les glucides cytoplasmiques (notamment l'amidon), mais également par les lipides ou les protéines en excès. Les constituants pariétaux participent également à l'apport d'énergie lorsqu'ils proviennent de plantes peu lignifiées. Un apport minimal de fibres est nécessaire, notamment pour la régulation du transit digestif (*Gidenne, 1996*). Les besoins azotés sont satisfaits par un apport de protéines adapté quantitativement et qualitativement.

Tableau 2 Recommandations nutritionnelles aux différentes catégories de lapins

En % du brut	Lapines en production	Engrais- sement	Mixte
Energie digestible (MJ.kg ⁻¹)	11,1	10,5	10,5
Protéines brutes	18,4	15,3	15,9
Matières grasses	5,5	libre	libre
NDF*	31,5	33,5	33,0
ADF*	16,5	17,5	17,0
ADL*	5,0	5,5	5,5
Cellulose brute	13,5	14,5	14,0
Amidon	18,0	16,0	16,0

Valeurs estimées pour un aliment à 90% de matière sèche; D'après *De Blas et Mateos, 1998*.

* NDF = Neutral Detergent Fiber, ADF = Acid Detergent Fiber, ADL = Acid Detergent Lignin (*cf. page 45*).

Par ailleurs, le lapin développe un comportement d'ingestion particulier : la cæcotrophie. Elle consiste en l'ingestion de fèces molles directement à l'anus : les cæcotrophes, produites en début de matinée. Ce comportement conduit à un apport non négligeable en protéines et vitamines (*cf. page 49*).

II.A.2. Une cavité buccale spécifique des Lagomorphes

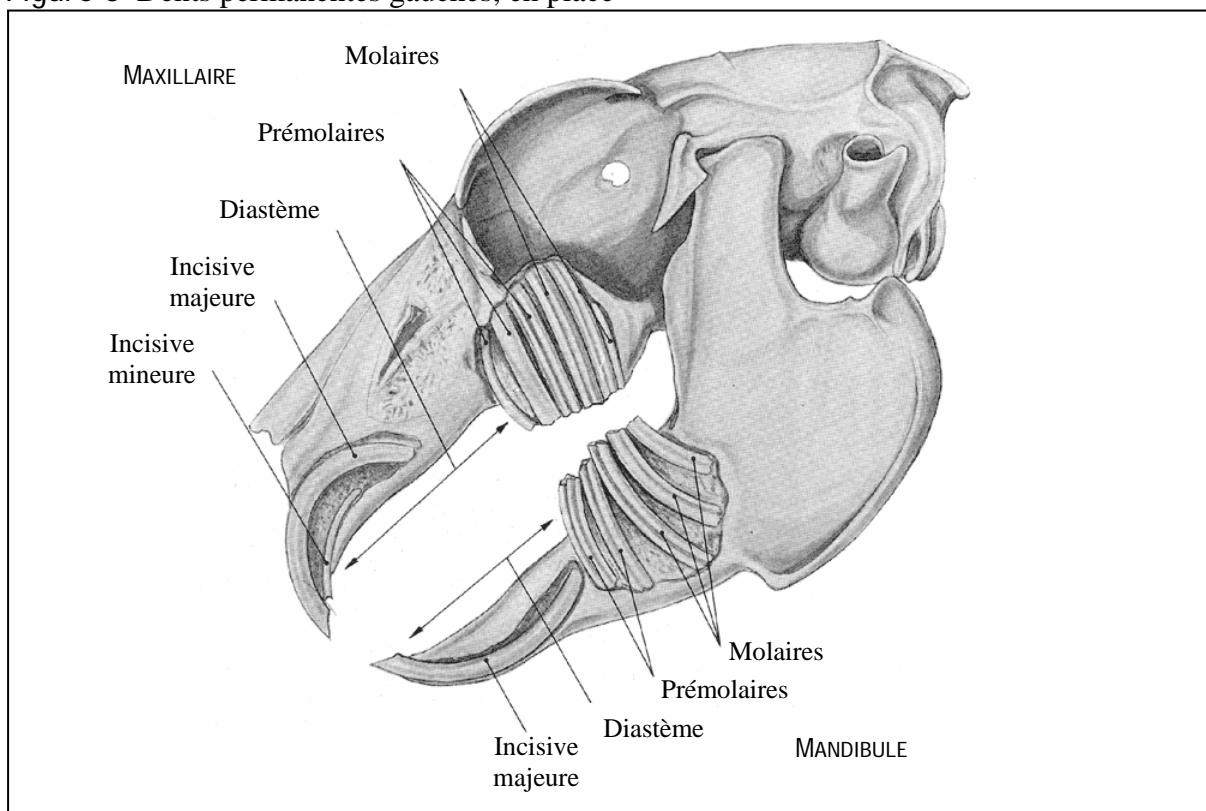
La bouche du lapin, munie de 2 lèvres, est relativement petite et située ventralement. L'existence d'une deuxième paire d'incisives à la mâchoire supérieure, dissimulée derrière la première paire, distingue l'ordre des Lagomorphes, dont fait partie le lapin européen, de celui des rongeurs (Figure 3). Ces incisives sont séparées des prémolaires et molaires par un important diastème. Les canines sont absentes de la dentition du lapin. La formule dentaire est la suivante :

$$I : 2/1 \quad C : 0/0 \quad PM : 3/2 \quad M : 3/3$$

Les dents sont profondément insérées dans la mâchoire et présentent une croissance continue. Des mouvements masticateurs latéraux (jusqu'à 120 par minute) assurent une trituration efficace de l'aliment et aboutissent à une réduction importante de la taille des particules alimentaires. Les glandes salivaires sont bien développées (parotide, mandibulaire, sublinguale...) et sécrètent diverses enzymes. Une lipase linguale a été mise en évidence chez

le lapin, mais son activité serait très faible (DeNigris et al., 1988). Une activité amylolytique salivaire a également été détectée (Chauncey et al., 1963; Blas et al., 1988).

Figure 3 Dents permanentes gauches, en place



D'après Barone et al., 1973 (Planche 56).

II.B. LA DIGESTION GASTRIQUE

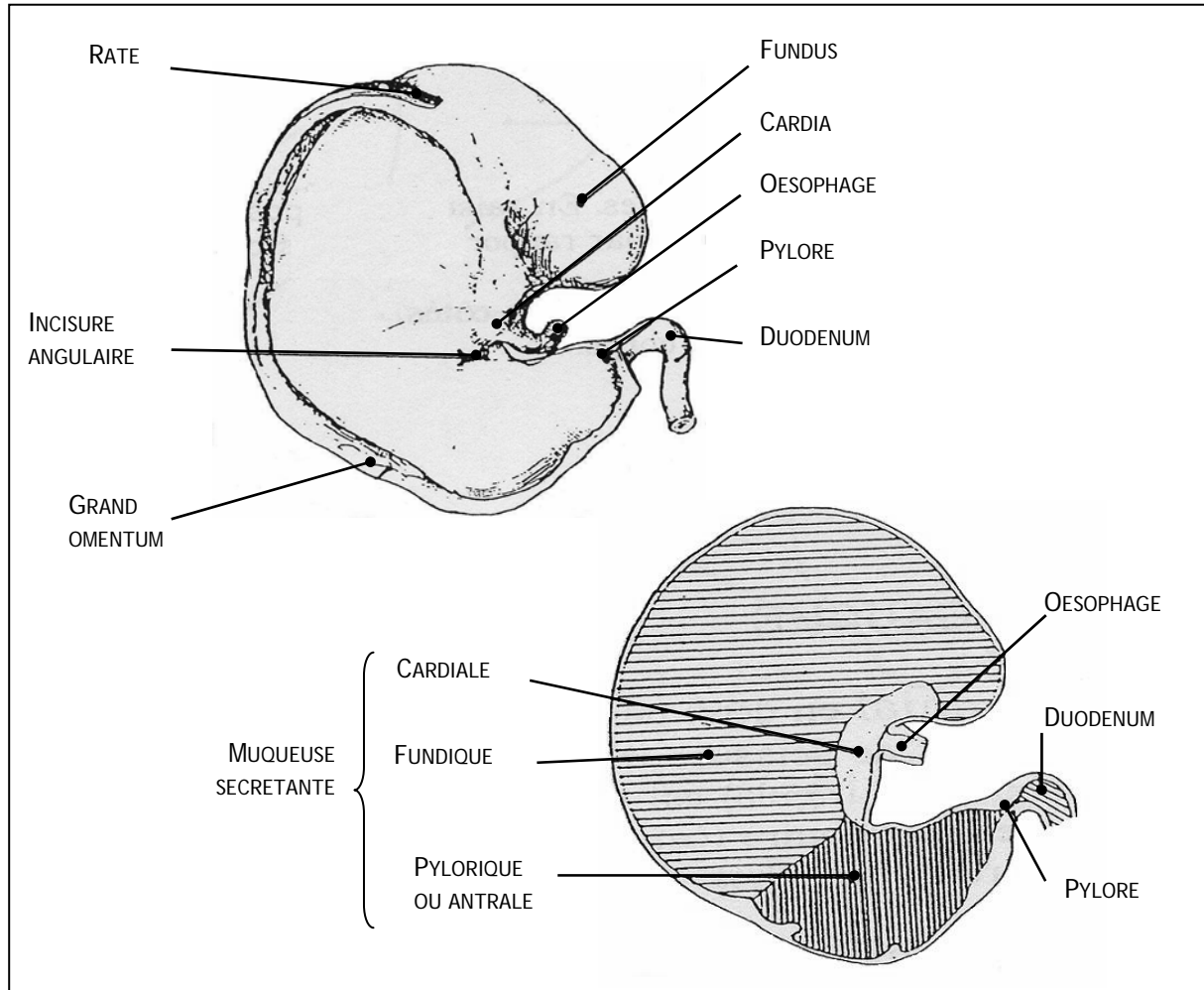
II.B.1. Une muqueuse gastrique entièrement sécrétante

L'estomac fait suite à l'œsophage au niveau du cardia et précède l'intestin grêle au niveau du pylore. Il forme une poche comprenant une petite et une grande courbure. Il est aplati sur ses deux faces, allongé avec un léger rétrécissement circulaire en regard de l'incisure angulaire.

La muqueuse stomacale du lapin est entièrement sécrétante. Elle est tapissée d'un épithélium unistratifié, composé de cellules de type muqueux et organisé en dépressions : les cryptes, au fond desquelles abouchent de nombreuses glandes. Dans la zone cardiaque, ces glandes, de type tubuleux simple, sont légèrement contournées. Elles sont composées de cellules à mucus, de cellules pariétales (ou bordantes) synthétisant et sécrétant l'acide chlorhydrique et de cellules principales synthétisant des enzymes. La muqueuse fundique contient des glandes tubuleuses simples droites composées de cellules pariétales, de cellules principales, et de cellules à mucus principalement localisées au niveau du col. La muqueuse

antrale est formée de glandes tubuleuses composées, contenant essentiellement des cellules à mucus (Moré, 1969). Des cellules à sécrétion endocrine sont retrouvées dans les glandes fundiques (Tusques et Pradal, 1968) et antrales (Pradal et Tusques, 1969).

Figure 4 Face viscérale et muqueuse gastrique de l'estomac du lapin



D'après Barone, 1984.

II.B.2. Un début de digestion protéique et lipidique

Le bol alimentaire dégluti s'accumule dans l'estomac, y séjourne pour transformation mécanique et chimique en chyme gastrique. L'estomac produit un suc gastrique comprenant différents types de sécrétions : de l'acide chlorhydrique participant à l'acidification du milieu, du mucus (glycoprotéines) constituant une couche protectrice de l'épithélium contre les attaques acides, et des enzymes.

Le pH de l'estomac du lapin adulte oscille entre des valeurs de 1,5 et 2,6 (Penney *et al.*, 1986; Marounek *et al.*, 1995). Cette acidité gastrique a un rôle dans la digestion (dénaturation

des protéines, activation du pepsinogène...), mais également dans l'inactivation des microorganismes ingérés (*Martinsen et al., 2005*).

Les glandes stomacales produisent deux enzymes majeures : une lipase gastrique et du pepsinogène (*Bernadac et al., 1991*).

Le lapin est une des espèces, avec les primates, l'homme et le chien, où la production de lipase gastrique est quantitativement importante (*DeNigris et al., 1988; Moreau et al., 1988b*). Le ratio de l'activité totale de la lipase pancréatique sur celle de la lipase gastrique est de 7 (*Moreau et al., 1988b*). Sa sécrétion, forte au niveau du cardia, est faible voire nulle dans l'antrum. Dans le fundus, sa sécrétion est soumise à controverse (*DeNigris et al., 1988; Perret et al., 1993*). La lipase gastrique du lapin, proche structuralement et cinétiquement de celle de l'homme, hydrolyse préférentiellement les acides gras à chaînes courtes ou moyennes (*Perret, 1982; DeNigris et al., 1988; Moreau et al., 1988a; Rogalska et al., 1990*), à un pH optimum compris entre 5 et 6. Son optimum d'activité pour les acides gras à longues chaînes se situe à pH 4 (*Moreau et al., 1988a*). Il est établi chez l'homme que la lipase gastrique hydrolyse préférentiellement les acides gras en position *sn*-3 sur le glycérol, jamais ceux en position *sn*-2, ce qui aboutit principalement à la formation d'acides gras libres et de *sn*-1,2-diacylglycérols (*Miled et al., 2000; Mu et Hoy, 2004*).

La digestion des protéines débute dans l'estomac sous l'action de la pepsine. Sa sécrétion se répartit de manière assez homogène dans l'estomac, sauf dans l'antrum où elle est relativement faible (*DeNigris et al., 1988*). Sécrétée sous forme inactive par les cellules principales ou à zymogène, et appelée pepsinogène, elle est activée par l'acidité gastrique.

Les cellules pariétales sécrètent également le facteur intrinsèque, une glycoprotéine impliquée dans l'absorption de la vitamine B12 (*Serfilippi et Donaldson, 1986*).

II.B.3. Un brassage avant transfert vers l'intestin grêle

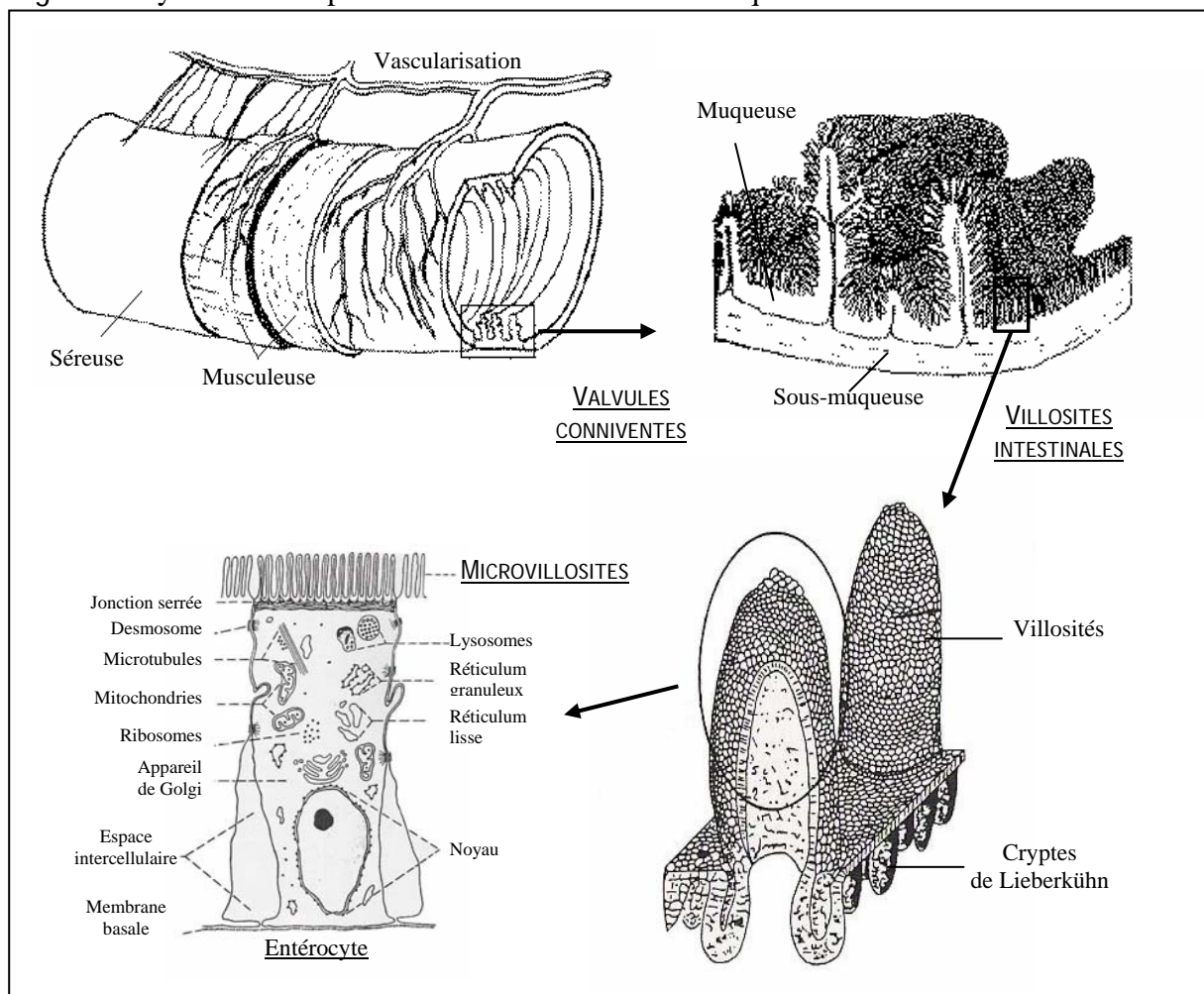
Différents types de contractions assurent le brassage du bol alimentaire avec les sucs gastriques, avant l'évacuation du chyme vers le duodénum. Ainsi, les aliments séjournent entre 1,7 et 4 heures dans l'estomac du lapin (*Gidenne, 1987*).

II.C. L'INTESTIN GRELE : SITE MAJEUR DES PHENOMENES DE DIGESTION ET D'ABSORPTION

II.C.1. Une augmentation considérable de la surface d'échange

L'intestin grêle représente une augmentation considérable de la surface d'échange entre le milieu extérieur et le milieu intérieur. Au plan anatomique, il mesure environ 3 mètres de long chez l'adulte, et est replié en anses intestinales. Il est classiquement divisé proximo-distalement en 3 parties : le duodénum, le jéjunum et l'iléon. A la surface de la paroi intestinale, les valvules conniventes, replis circulaires macroscopiques, participent également à l'augmentation de la surface d'échange. Puis, la muqueuse présente d'innombrables petites évaginations de quelques centaines de μm appelées villosités. Au niveau cellulaire, les entérocytes présentent à leur surface apicale une multitude de replis : les microvillosités (Figure 5).

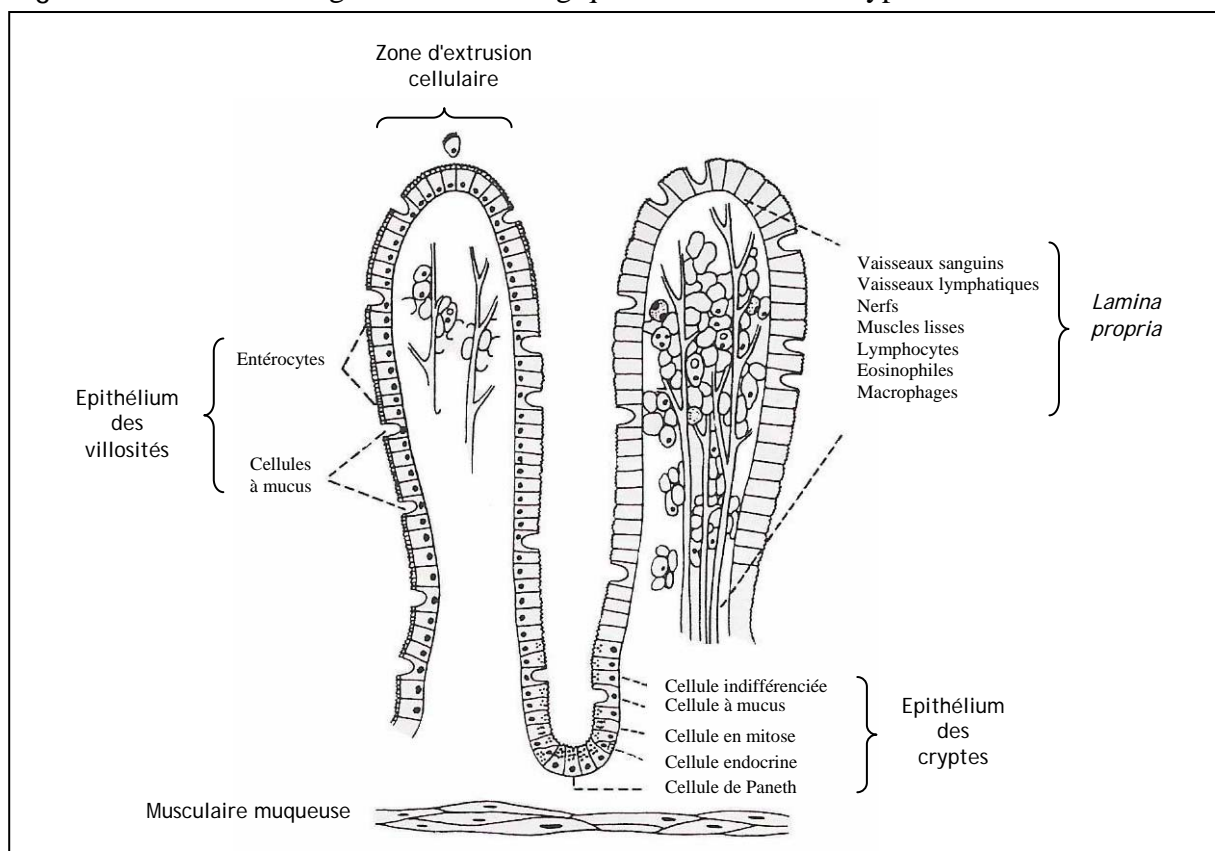
Figure 5 Systèmes d'amplification de la surface de la muqueuse intestinale



D'après Cheeke (1987), Madara et Trier (1987), Calas et al. (1997).

La paroi de l'intestin grêle est divisée en différentes couches, décrites précédemment (cf. page 28). Dans la sous-muqueuse, des glandes exocrines sont observées au niveau duodénal : les glandes de Brunner, sécrétant une solution contenant des mucines et des bicarbonates participant à la neutralisation du chyme gastrique (Schumacher et al., 2004). La muqueuse est organisée en villosités tournées vers la lumière intestinale, et en cryptes dans la couche profonde (Figure 6). L'épithélium des villosités est prismatique simple et comprend deux types cellulaires majoritaires : les entérocytes, cellules les plus nombreuses, et les cellules caliciformes (à mucus). Les entérocytes présentent à leur surface des microvillosités (Madara et Trier, 1987).

Figure 6 Schéma de l'organisation histologique des villosités et cryptes intestinales



D'après Madara et Trier (1987).

Le chorion, tissu conjonctif lâche, constitue la partie centrale des villosités, tandis qu'il entoure l'épithélium des cryptes (Madara et Trier, 1987). Il contient un chylofère central, capillaire lymphatique en cul de sac, et des fibres musculaires lisses issues de la couche interne de la *muscularis mucosae*, le muscle de Brücke. Ses contractions favorisent le contact de l'épithélium intestinal avec le chyme ainsi que le drainage lymphatique dans le chylofère central. Les cryptes de Lieberkühn sont des glandes en tube droit, s'ouvrant dans la lumière intestinale entre les villosités. L'épithélium glandulaire comporte différents types cellulaires :

de nombreuses cellules indifférenciées en mitose, des cellules caliciformes jeunes, des cellules de Paneth situées au fond des glandes (*Madara et Trier, 1987*). Les entérocytes acquièrent leur maturité structurale et fonctionnelle au cours de leur migration depuis les cryptes vers le pôle apical des villosités, avant d'être éliminés au niveau de la zone d'extrusion cellulaire. Ce renouvellement est estimé à 5 ou 6 jours en moyenne chez le lapin adulte, avec cependant un renouvellement qui serait plus rapide au niveau des valvules conniventes (*Takeuchi et Gonda, 2004*).

II.C.2. Des glandes associées participant activement à la digestion

° Le foie et les sécrétions biliaires

Le canal cholédoque aboutit 3 à 4 cm après le pylore, au niveau du sphincter d'Oddi. Il apporte la bile en provenance du foie en partie proximale du duodénum. Celle-ci est sécrétée en continu dans le foie par les hépatocytes, puis stockée dans la vésicule biliaire, avant d'être excrétée de manière régulée dans le duodénum. La vésicule biliaire se contracte, et le sphincter d'Oddi se relâche : la bile est alors libérée dans le duodénum. Celle-ci contient des sels et des pigments biliaires (*Davies et Davies, 2003*). Les pigments biliaires sont issus du métabolisme de l'hémoglobine : formation de bilirubine dans le foie, libérée sous forme glucuroconjuguée dans l'intestin grêle. Les sels biliaires dérivent de l'acide cholique (sels de sodium ou potassium). Ils sont soit synthétisés dans le foie à partir du cholestérol, soit recaptés et reconjugués au cours du cycle entéro-porto-hépatique. Les sels biliaires ont un rôle essentiel dans la digestion des lipides permettant leur accessibilité par les enzymes lipolytiques dans l'intestin grêle (*cf. page 38*).

° Le pancréas exocrine et les sécrétions enzymatiques

Le pancréas est une glande à l'origine de deux types de sécrétions : les sécrétions endocrines d'insuline et de glucagon par les îlots de Langerhans, et exocrines par les acini sécrétoires et leurs canalicules. Cette sécrétion exocrine donne naissance au suc pancréatique déversé dans l'intestin grêle par les canaux pancréatiques. Les cellules acineuses contiennent des grains de sécrétion protéique (appelés grains de zymogène) dans lesquels se trouvent les pro-enzymes et enzymes. Celles-ci seront libérées par exocytose dans la lumière de l'acinus, puis évacuées dans les canaux excréteurs, lesquels élaborent une solution aqueuse alcaline riche en bicarbonates (*Davies et Davies, 2003*).

II.C.3. Neutralisation du chyme gastrique

Les bicarbonates contenus dans le suc pancréatique, ainsi que ceux sécrétés par les cellules de la muqueuse duodénale et par les glandes de Brunner de la sous-muqueuse duodénale, participent activement à la neutralisation du chyme gastrique (*Baron, 2000; Konturek et al., 2004b*). De valeurs oscillant entre 1,5 et 2 dans l'estomac, le pH du contenu augmente dans le duodénum jusqu'à avoisiner des valeurs comprises entre 6,5 et 7 (*Penney et al., 1986; Marounek et al., 1995*).

II.C.4. Fonction digestive

L'hydrolyse des différents composés alimentaires et endogènes se produit à 3 niveaux : au niveau extracellulaire dans la lumière intestinale sous l'action des enzymes pancréatiques, au niveau de la membrane entérocytaire sous l'action des enzymes de la bordure en brosse, et au niveau intracellulaire sous l'action d'enzymes cytoplasmiques ou lysosomiales.

° Digestion et absorption des protides

Au niveau intestinal, des protéases d'origine pancréatique et des peptidases localisées dans les entérocytes poursuivent la protéolyse amorcée dans l'estomac (Tableau 3).

Tableau 3 Sites d'action des différentes enzymes impliquées dans la digestion des protéines et des peptides dans l'intestin grêle

Origine	Nom	Type	Acides aminés impliqués dans la liaison peptidique
Pancréas	Trypsine	Endopeptidase	Arg / Lys / AA basiques
	Chymotrypsine	Endopeptidase	Tyr / Phe / Try
	Elastase	Endopeptidase	Ala / Leu / Gly / Val / Ile
	Carboxypeptidases	Exopeptidase	AA de l'extrémité carboxylique
Bordure en brosse intestinale	Aminopeptidase neutre (N)	Exopeptidase	Ala / Leu / Mét
	Aminopeptidase acide (A)	Exopeptidase	Asp / Glu / Arg / Lys
	Dipeptidyl peptidase IV	Exopeptidase	Pro / Ala
	Aminopeptidase P	Exopeptidase	Pro
	Carboxypeptidase P	Exopeptidase	Pro
Cytoplasme des entérocytes	Glutamylaminopeptidase	Exopeptidase	Glu / Asp
	Di- et tripeptidases		

Arg : arginine, Lys : lysine, AA : acide aminé, Tyr : tyrosine, Phe : phenylalanine, Try : tryptophane, Ala : alanine, Leu : leucine, Gly : glycine, Val : valine, Ile : isoleucine, Mét : méthionine, Asp : aspartate, Glu : glutamate, Pro : proline; D'après *Erickson et Kim (1990)*.

Les protéases pancréatiques sont des endopeptidases (trypsine, chymotrypsine ou élastases) hydrolysant les liaisons peptidiques situées au centre des protéines, ou des exopeptidases exerçant leur activité protéolytique aux extrémités de la molécule (carboxypeptidases A et B). Elles sont sécrétées sous forme inactive : trypsinogène, chymotrypsinogène, proélastases et procarboxypeptidases. L'activation de la trypsine est initiée par une entérokinase entérocytaire, et débouche sur une cascade d'évènements conduisant à l'activation de l'ensemble des protéases pancréatiques sous l'action de la trypsine active (*Corring et Rérat, 1983*). Puis, au niveau de la bordure en brosse et dans le cytoplasme des entérocytes, différentes peptidases hydrolysent les peptides issus de la digestion par les protéases. Le Tableau 3 recense les principales enzymes intervenant dans l'hydrolyse intestinale des protéines connues chez l'homme (*Erickson et Kim, 1990*).

Les protéines soumises à la digestion dans la lumière intestinale peuvent être d'origine alimentaire ou d'origine endogène (enzymes, corps bactériens, entérocytes desquamés...). Leur hydrolyse produit à la fois des peptides et des acides aminés libres. Le transport des acides aminés peut s'effectuer par diffusion si la structure de l'acide aminé lui confère des propriétés lipophiles ou par l'intermédiaire de transporteurs. Deux types de transporteurs sont décrits, dépendants ou indépendants des ions sodium. Certains peptides traversent la membrane entérocytaire. Ils sont pour la plupart rapidement hydrolysés par des peptidases présentes dans le cytoplasme des entérocytes, mais certains parviendraient tout de même intacts dans la circulation porte (*Erickson et Kim, 1990*).

◦ Digestion et absorption des lipides

La digestion des lipides alimentaires dans l'intestin grêle est réalisée par différentes enzymes : la lipase et la colipase pancréatiques responsables de l'hydrolyse des triglycérides, et des estérases à l'origine de l'hydrolyse des autres composés lipidiques (phospholipides, cholestérol, esters de cholestérol...) : phospholipase A2, cholestérol estérase...

Ces enzymes sont sécrétées par le pancréas directement sous forme active (lipase), ou sous forme de procoenzymes (colipase) ou proenzymes (phospholipase A2) nécessitant une activation dans l'intestin grêle par la trypsine (*Carey et al., 1983*). Les lipides, peu solubles dans l'eau, entrent difficilement en contact avec les enzymes hydrosolubles. De plus, ils tendent à former des agrégats. Ainsi, au niveau intestinal, la digestion des triglycérides est rendue plus efficace par un processus d'émulsification par les sels biliaires, sécrétés par le foie, aboutissant à la formation de micelles hydrophiles. Les sels biliaires, à propriétés tensio-actives, vont former une interface à la périphérie des gouttelettes lipidiques. En abaissant la tension superficielle à l'interface, cette couche de sels permet de réduire progressivement la

taille des gouttelettes. Vient alors se fixer la colipase, qui va servir d'ancrage à la lipase pancréatique. Le site catalytique de cette dernière se trouve alors dans la gouttelette et permet l'hydrolyse des triglycérides. Il est par ailleurs établi chez l'homme que la colipase permet de diminuer le pH optimal d'activité de la lipase, et d'éviter son inhibition par une forte concentration de sels biliaires (*Kerfelec, 2004*).

La lipase pancréatique a moins de stéréospécificité que la lipase gastrique et hydrolyse indifféremment les acides gras en position *sn-1* ou *sn-3*. En revanche, comme la lipase gastrique, elle ne rompt pas les liaisons en *sn-2*, ce qui aboutit à la libération d'acides gras libres et de 2-monoglycérides. Cependant, un repositionnement des acides gras *sn-2* en position *sn-1* ou *sn-3* serait possible, et permettrait la libération de l'acide gras initialement en position *sn-2* (*Mu et Hoy, 2004*). La phospholipase A2 et la cholestérol estérase, d'origine pancréatique, hydrolysent respectivement les phospholipides et les esters de cholestérol en présence de sels biliaires (*Ramírez et al., 2001*).

Ainsi l'hydrolyse des lipides entraîne la libération d'acides gras libres, de mono- et diglycérides de différentes longueurs de chaînes, de glycérol, de phosphatidylcholine et de cholestérol.

Le transport des acides gras libres et des 2-monoglycérides (*Kerfelec, 2004*) jusqu'à la membrane des entérocytes est permis par les sels biliaires qui maintiennent ces éléments en solution dans des micelles d'une taille de l'ordre du nanomètre. Ensuite, la traversée de la membrane par ces éléments liposolubles est réalisée soit par diffusion passive, soit par l'intermédiaire de transporteurs. Une fois internalisés dans l'entérocyte, les lipides vont se réorganiser en chylomicrons qui vont être exportés par exocytose dans la lymphe (*Thomson et al., 1993*). En revanche, les acides gras à chaînes courtes et moyennes court-circuitent pour la plupart cette réorganisation en chylomicrons et sont transportés directement dans la circulation porte (*Ramírez et al., 2001*).

◦ Digestion et absorption des glucides

Chez les mammifères, l'équipement enzymatique pour digérer les glucides est en général très incomplet. Si les glucides intracellulaires, tel l'amidon, sont très bien valorisés par les sécrétions propres de l'animal, de nombreuses enzymes d'origine exogène, sécrétées par des bactéries intestinales, sont nécessaires pour assurer la digestion des glucides pariétaux (*cf. page 45*).

Concernant les enzymes d'origine endogène, l'amylase pancréatique a un rôle majeur dans la digestion de l'amidon. Elle agit sur les liaisons osidiques en α 1-4 de l'amylose et de l'amylopectine, et conduit à la formation de maltotriose, de maltose et de dextrans dans le suc

intestinal (*Corring et Rérat, 1983*). Puis, les oligo- ou di-saccharidases (α ou β) de la muqueuse intestinale interviennent en fin de digestion pour libérer des oses simples. Parmi les principales α -disaccharidases, on retrouve les complexes suivants : saccharase/isomaltase (EC 3.2.1.48/10) et maltase/glucoamylase (EC 3.2.1.20/3). Chaque complexe est formé de deux sous-unités liées de manière non covalente et possédant chacune un site actif (*Galand, 1989*). Le premier complexe hydrolyse les liaisons terminales en α et β -(1 \rightarrow 2), α -(1 \rightarrow 4) et α -(1 \rightarrow 6), tandis que le deuxième ne clive que les liaisons en α -(1 \rightarrow 4). Les noms ont été donnés aux sous-unités en fonction de leur spécificité de substrat (*Hertel et al., 2000*). Cependant, les deux sous-unités du complexe saccharase/isomaltase montrent une activité maltasique. Ainsi, la sous-unité maltase ne serait responsable que de 70% de l'activité maltasique chez le lapin (*Le Huërou-Luron, 2002*). Cette activité maltasique, relativement faible au début du duodénum, augmente rapidement et reste à des valeurs élevées en fin de duodénum et dans le jéjunum, puis décroît progressivement dans le dernier tiers de l'intestin grêle (*Sivakami et Radhakrishnan, 1975*). D'autre part, des β -disaccharidases sont présentes dans la muqueuse intestinale du lapin : la lactase (*Toofanian, 1984a*) possédant un rôle physiologique surtout chez le lapereau allaité (*cf. page 69*) et la tréhalase (*Toofanian, 1984a; Galand, 1989*). D'autres β -galactosidases, dont l'importance physiologique reste méconnue, ont également été identifiées chez le lapin (*Toofanian, 1984a*).

Les oses libérés sont ensuite absorbés par la bordure en brosse entérocytaire selon divers mécanismes : transport passif (fructose) ou transport actif couplé avec le sodium (galactose et glucose). Le passage de ces sucres vers le sang se fait ensuite par transport passif au niveau de la membrane basale entérocytaire (*Wright et al., 2003*).

II.C.5. Transfert du contenu luminal vers le cæcum

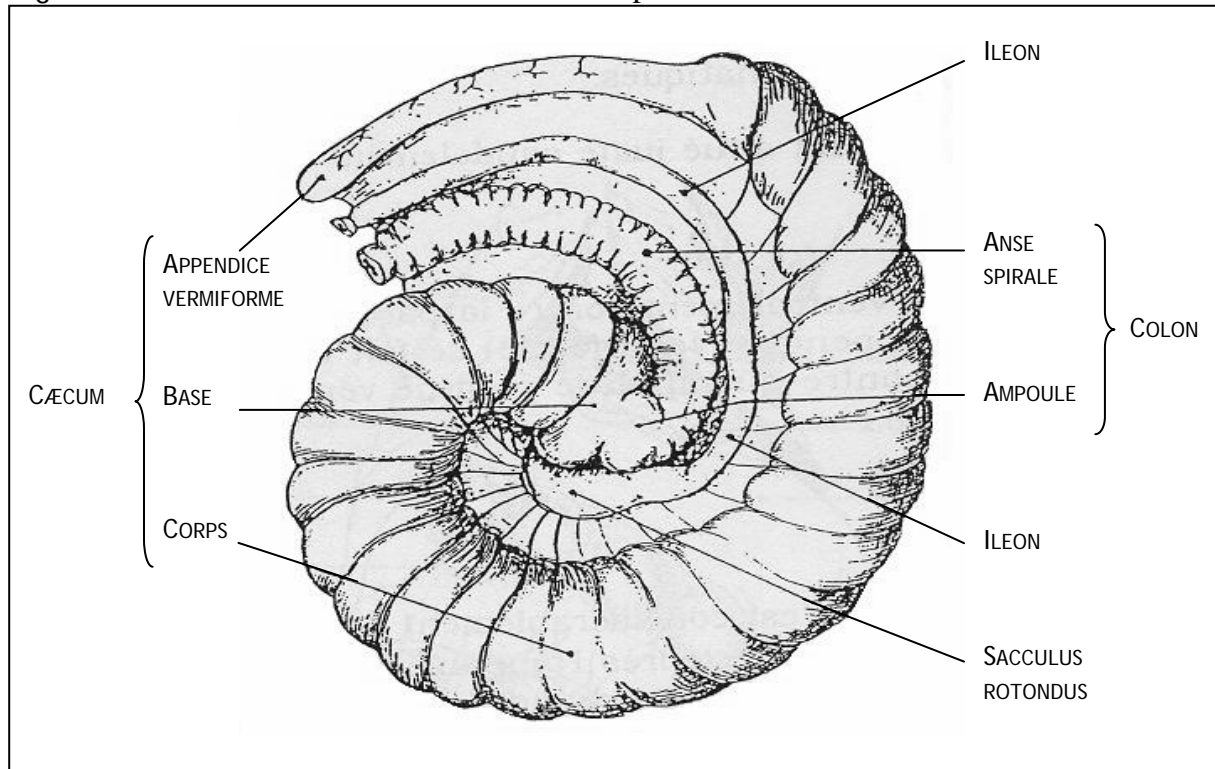
Les contractions des diverses fibres musculaires vont permettre un brassage du contenu luminal avec les sécrétions, la mise au contact de la muqueuse avec les digestas, la limitation du reflux des aliments vers l'estomac, et la progression du contenu intestinal du pôle oral vers le pôle aboral. Chez le lapin, le temps de rétention moyen des digestas entre la bouche et l'iléon terminal est estimé entre 3 et 8 heures (*Gidenne, 1992; Gidenne et Perez, 1993; Gidenne et Bellier, 2000*).

II.D. LE CÆCUM : UNE AIDE MICROBIENNE POUR LA DIGESTION DE L'ALIMENT

II.D.1. Un réservoir volumineux

L'intestin grêle aboute à la base du cæcum par le *sacculus rotundus*, un organe lymphoïde. Le cæcum, réservoir volumineux du tube digestif, forme une spirale comprenant 22 à 25 spires, augmentant ainsi sa surface d'échange. A son extrémité se trouve l'appendice cæcal de diamètre nettement plus faible, et constitué de tissu lymphoïde. Près de l'abouchement de l'intestin grêle se trouve le départ du côlon, au niveau de l'*ampulla coli*. Le cæcum représente donc un compartiment en dérivation sur l'axe intestin grêle-côlon (*Snipes, 1978*).

Figure 7 Conformation externe du cæcum de lapin



D'après *Barone et al., 1973* (Planche 63).

La muqueuse cæcale ne forme pas de villosités mais présente des cryptes. La surface luminale est composée d'un épithélium prismatique simple, présentant une bordure de microvillosités bien développée, tapissée d'un glycocalyx. Des cellules à mucus sont présentes en faible quantité et des lymphocytes et leucocytes ont également été identifiés. L'épithélium des cryptes comprend des cellules indifférenciées, des cellules à mucus, des cellules épithéliales immatures et des cellules endocrines. Des lymphocytes sont présents dans la *lamina propria* (*Ross et al., 1989*).

II.D.2. Une flore particulière chez le lapin

Bien que la partie antérieure du tractus digestif héberge des micro-organismes, leur composition a fait l'objet de peu d'études. Ceci tient probablement au fait que leur rôle dans la digestion des aliments est faible comparativement aux microorganismes du cæcum. En effet, ce dernier constitue une poche, en cul-de-sac, où un milieu relativement stable permet à la flore intestinale de se développer : une teneur en matière sèche de 21 à 23%, et un pH oscillant entre 5,5 et 6 selon l'heure de la journée (*Gidenne et Lebas, 1984*). Cette flore comprend des microorganismes adaptés à se multiplier dans certaines niches écologiques (flore autochtone) ainsi que de nombreux microorganismes en transit qui constituent la flore transitoire ou allochtone (*Berg, 1996*). Celle-ci peut éventuellement comporter des agents infectieux, c'est-à-dire capables de franchir la barrière de l'immunité naturelle de la muqueuse, et/ou de se multiplier dans les tissus vivants et de devenir pathogènes pour l'hôte.

Jusqu'à récemment, l'identification de la microflore de différents écosystèmes reposait sur la culture *in vitro* des microorganismes. Or, la fraction cultivable n'est probablement pas représentative de la microflore digestive. En effet, des conditions de culture de certains microorganismes encore méconnues, la sélectivité des milieux de culture, le stress provoqué par la culture, la nécessité de conditions anaérobies strictes et les difficultés pour stimuler les interactions entre les microorganismes et les cellules de l'hôte sont autant d'obstacles à l'identification complète de la microflore digestive (*Zoetendal et al., 2004*). Le développement récent de techniques de biologie moléculaire a permis de passer outre cette étape de mise en culture, et d'identifier de nouveaux genres. Ainsi, nous pouvons supposer que de nombreux microorganismes de la flore intestinale devraient être identifiés dans les années à venir.

Les études concernant la flore du lapin sont peu nombreuses et pour la plupart anciennes. La flore autochtone qu'il héberge serait particulièrement originale. Une étude récente, utilisant des techniques d'hybridation moléculaire, évoque une microflore presque exclusivement composée de bactéries (80 à 90% de l'ARNr 16S) (*Bennegadi et al., 2003*). Cette flore bactérienne est constituée principalement de microorganismes anaérobies stricts, et de quelques microorganismes aéro-anaérobies facultatifs (Tableau 4).

Tableau 4 Flore cœcale identifiée chez le lapin

BACTERIES						
		BACTERIES ANAEROBIES	10 ⁸ -10 ¹¹			
GRAM - NON SPORULE Bacilles		<i>Bacteroides</i> 10 ⁵ -10 ¹⁰ [Bennegadi et al. 2003, Lanning et al. 2000a, Zomborszky-Kovács et al. 2000, Yanabe et al. 1999, Penney et al. 1986, Morisse et al. 1985]	<i>caccae</i>	Sirotek et al. 2004, Sirotek et al. 2001		
			<i>pseudo insolita</i>	Bacques et al. 1983		
			<i>ruminicola</i>	Boulahrouf et al. 1991, Pacini et al. 1986		
			<i>ovatus</i>	Sirotek et al. 2001		
			<i>thetaitomicron</i>	Sirotek et al. 2001, Pacini et al. 1986		
			<i>stercoris</i>	Sirotek et al. 2001		
			<i>vulgatus</i>	Yanabe et al. 1999, Wang et al. 1996, Pacini et al. 1986, Forsythe et Parker 1985		
			<i>capillosus</i>	Sirotek et al. 2001, Pacini et al. 1986		
			<i>uniformis</i>	Pacini et al. 1986		
			<i>distasonis</i>	Pacini et al. 1986		
	<i>multiacidus</i>	Pacini et al. 1986				
	<i>fragilis</i>	Yanabe et al. 1999				
	<i>ochraceus</i>	Sirotek et al. 2001				
	<i>Fibrobacter</i>	<i>intestinalis</i>	Bennegadi et al. 2003			
		<i>succinogenes</i>	Bennegadi et al. 2003			
	<i>Fusobacterium</i>	<i>russii</i>	Crociani et al. 1984			
		<i>prausnitzii</i>	Wang et al. 1996			
	<i>Bifidobacterium</i> [Pacini et al. 1986]					
GRAM +	NON SPORULE	Bacilles	<i>Eubacterium</i> [Yanabe et al. 1999]	<i>cellulosolvens</i>	Boulahrouf et al. 1991	
			<i>Lactobacillus</i> [Yanabe et al. 1999]			
		Coques	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>productus</i>	Wang et al. 1996, Crociani et al. 1984	
				<i>micros</i>	Crociani et al. 1984	
			<i>Ruminococcus</i>	<i>flavefaciens</i>	Bennegadi et al. 2003	
			<i>albus</i>	Bennegadi et al. 2003		
		<i>Peptococcus</i>	<i>magnus</i>	Crociani et al. 1984		
		SPORULE	Bacilles	<i>Clostridium</i> 10 ¹ -10 ⁹ [Lanning et al. 2000a, Yanabe et al. 1999, Tortuero et al. 1994, Penney et al. 1986, Morisse et al. 1985, Gouet et Fonty 1979]	<i>sporogenes</i>	Bacques et al. 1983
					<i>clostridiiforme</i>	Wang et al. 1996, Forsythe et Parker 1985
					<i>coccoides</i>	Crociani et al. 1984
<i>innocuum</i>	Crociani et al. 1984					

		BACTERIES AERO-ANAEROBIES		10 ¹ -10 ⁶
G R A M -	NON SPORULE	Bacilles	<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i> <i>aerogenes</i> Canganella et al. 1992 Canganella et al. 1992
			<i>Escherichia</i> [Penney et al. 1986]	<i>coli</i> 10 ² -10 ⁵ Padilha et al. 1995, Morisse et al. 1985, Bacques et al. 1983
	SPORULE	Bacilles	<i>Bacillus</i> 10 ⁶ -10 ⁷ [Yanabe et al. 1999, Penney et al. 1986, Forsythe et Parker 1985]	<i>cereus</i> <i>licheniformis</i> Bacques et al. 1983 Bacques et al. 1983
G R A M +	NON SPORULE	Bacilles	<i>Corynebacterium</i> 10 ⁴ -10 ⁵ [Yanabe et al. 1999, Gouet et Fonty 1979]	
			<i>Staphylococcus</i> [Yanabe et al. 1999, Tortuero et al. 1994, Forsythe et Parker 1985, Bacques et al. 1983]	<i>intermedius</i> <i>epidermitis</i> <i>lentus</i> Canganella et al. 1992 Canganella et al. 1992 Canganella et al. 1992
		Coques	<i>Streptococcus</i> 10 ¹ -10 ⁵ [Zomborszky-Kovács et al. 2000, Yanabe et al. 1999, Tortuero et al. 1994, Penney et al. 1986, Gouet et Fonty 1979]	<i>faecalis</i> Bacques et al. 1983
			<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i> <i>avium</i> <i>faecium</i> <i>durans</i> Canganella et al. 1992 Canganella et al. 1992 Canganella et al. 1992 Canganella et al. 1992
			<i>Micrococcus</i> [Gouet et Fonty 1979]	

LEVURES		10 ⁶
<i>Cyniclomyces</i>	<i>guttulatus</i>	Forsythe et Parker 1985

ARCHAE	
[Bennegadi et al. 2003]	

Les chiffres indiquent le nombre de microorganismes des différents groupes par g de contenu cæcal.

La flore anaérobie stricte est dominée par les Bacteroidaceae, des bacilles gram négatifs asporulés, dont notamment le genre *Bacteroides*. De nombreuses espèces ont été isolées. Des bactéries des genres *Fibrobacter*, *Fusobacterium* et *Clostridium* sont également décrites. Les genres *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Peptostreptococcus*, *Peptococcus* et *Bifidobacterium* ont parfois été identifiés. Contrairement à la flore constitutive du tractus digestif de la plupart des mammifères, le genre *Lactobacillus* n'est pratiquement jamais retrouvé dans le cæcum du

lapin. Concernant les organismes aéro-anaérobies facultatifs, les entérobactéries des genres *Escherichia* et *Enterobacter* et les genres *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus* et *Enterococcus* ont été isolés. Cependant, les résultats très divergents entre les études concernant leur dénombrement témoignent de la difficulté d'identification de la flore : variabilités individuelles importantes, variabilité des milieux de culture, appartenance probable de certains genres et/ou espèces à la flore transitoire.

Les 10 à 20% de flore n'appartenant pas au règne des bactéries seraient des eucaryotes (protozoaires et/ou levures), ou encore des organismes appartenant au règne des archaea (*Bennegadi et al., 2003*). Cependant, ces résultats n'ont pas été confirmés.

II.D.3. Action de la microflore sur la physiologie nutritionnelle de l'hôte

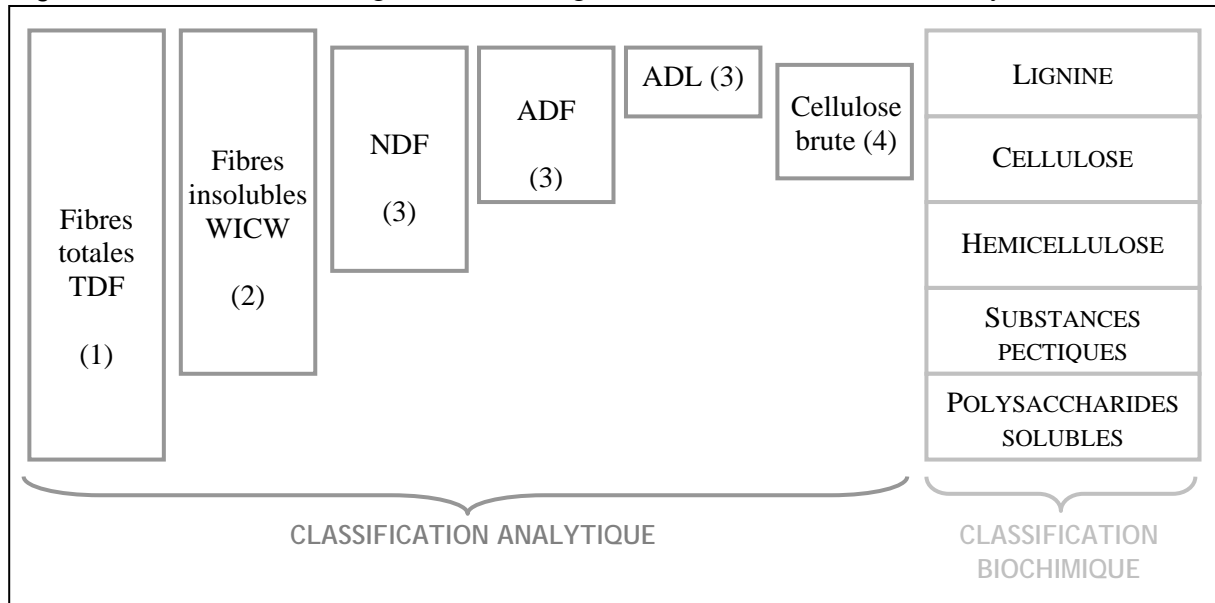
Un rôle majeur des microorganismes présents dans le tractus digestif est l'hydrolyse et la fermentation 1) des résidus alimentaires non digérés et absorbés dans la partie antérieure du tractus digestif, donc essentiellement les fibres, et 2) des molécules endogènes, essentiellement protéiques (*Forsythe et Parker, 1985; Guarner et Malagelada, 2003*).

◦ Digestion des glucides

Les principales sources de carbone et d'énergie pour la croissance bactérienne sont l'amidon résistant à la dégradation par les enzymes de l'hôte, les polysaccharides de la paroi cellulaire des végétaux, les mucopolysaccharides de l'hôte, et autres oligosaccharides ayant échappé à la digestion et à l'absorption dans l'intestin grêle. Ces polymères complexes sont dégradés par les enzymes bactériennes en oligomères et sucres simples. Les bactéries sont ensuite capables de fermenter ces substances en acides gras volatils, acides dicarboxyliques, alcools, H₂, CO₂...

Chez le lapin, un herbivore, les sources majeures de glucides pour les bactéries cœcales sont les fibres. Il existe cinq classes majeures de fibres alimentaires (Figure 8), parmi lesquelles seules les lignines ne sont pas des composés glucidiques. Dans la paroi végétale, la cellulose sous forme de microfibrilles constitue le squelette autour duquel la matrice vient s'organiser : lignines, hémicelluloses, pectines et parfois des protéines. Les principales caractéristiques de ces fibres sont présentées dans le Tableau 5. Divers dosages permettent de quantifier les différentes fractions fibreuses (Figure 8).

Figure 8 Méthodes de dosage des fibres végétales et nature du résidu d'analyse



D'après Gidenne, 1996; (1) TDF = Total Dietary Fiber (Lee et al., 1992); (2) WICW = Water Insoluble Cell-Wall (Carré et Brillouet, 1989); (3) NDF = Neutral Detergent Fiber, ADF = Acid Detergent Fiber, ADL = Acid Detergent Lignin (Van Soest et al., 1991); (4) selon Weende.

Récemment, plusieurs techniques d'estimation des activités enzymatiques fibrolytiques bactériennes ont été développées : détermination des activités cellulolytique (digestion de la cellulose), pectinolytique (digestion des pectines) et xylanolytique (digestion des hémicelluloses) (Boulahrouf et al., 1991). L'activité de la pectinase est classiquement supérieure dans la littérature à celle de la xylanase, elle-même supérieure à celle de la cellulase. Aussi, les substances pectiques sont relativement bien digérées chez le lapin, alors que la cellulose est très peu valorisée (Gidenne, 1996). Les bactéries du genre *Bacteroides* seraient les principaux microorganismes pectinolytiques (Sirotek et al., 2001).

Tableau 5 Caractéristiques des différentes classes de fibres de la paroi végétale

	Structure	Solubilité dans l'eau	Digestibilité (%)
Lignines	Polymères phénoliques organisés en réseaux très complexes	NON	10 à 15
Cellulose	Homopolymère linéaire de glucose en liaison β 1-4	NON	15 à 18
Hémicelluloses	Chaîne de glucose en β 1-4 sur laquelle viennent se fixer de courtes chaînes d'oses (xylose, fucose, galactose, arabinose, mannose)	NON	25 à 35
Substances pectiques	Pectines : polymère avec chaîne principale d'acide galacturonique interrompu par des rhamnoses où se fixent des chaînes latérales d'oses (arabinose, galactose...)	OUI/NON	70 à 76
Polysaccharides non amylicés hydrosolubles	Unité : β -glucane, degré de polymérisation : 15 à > 2000	OUI	

D'après Gidenne, 1996.

La fermentation des oses simples produit différents gaz : des acides gras volatils (AGV), de l'hydrogène, du méthane et du dioxyde de carbone. Le profil des AGV est spécifique du lapin : l'acétate est prédominant (70 à 80%), suivi par le butyrate (8 à 20%) puis par le propionate (3 à 10%). Ainsi, la prédominance du butyrate par rapport au propionate est opposée à ce qui est classiquement observé chez les ruminants ou le cheval, mais a été décrite chez d'autres herbivores, tels que le porc-épic ou le castor (*Hintz et al., 1978*). Les AGV ainsi produits sont absorbés par la paroi cœcale par diffusion passive. Ils constituent une source énergétique estimée entre 10 et 40% des besoins d'entretien (*Hoover et Heitmann, 1972; Marty et Vernay, 1984*).

◦ Métabolisme azoté

Chez les ruminants, le matériel azoté disponible pour les microorganismes est très important puisque le rumen est situé dans la partie proximale du tube digestif. Chez le lapin, en revanche, l'azote exogène est majoritairement digéré et absorbé avant le cæcum. Aussi, la source azotée pour les microorganismes cœcaux est essentiellement constituée de molécules endogènes : cellules épithéliales desquamées, mucus, bactéries lysées et urée. Les activités métaboliques (protéolytiques et uréolytiques) aboutissent à la production d'ammoniaque, après fermentation des acides aminés. L'activité uréolytique observée (*Hill, 1983; Crociani et al., 1984; Forsythe et Parker, 1985; Crociani et al., 1986*) serait principalement dévolue aux bactéries associées à la muqueuse cœcale (*Hill, 1983*). L'ammoniac produit peut être soit directement absorbé par la muqueuse cœcale pour la synthèse hépatique des acides aminés non essentiels ou pour la synthèse d'urée éliminée par voie urinaire, soit utilisé dans les biosynthèses microbiennes essentiellement protéiques (*Crociani et al., 1985*). Les produits de ces biosynthèses pourront être valorisés par l'hôte lors de la cœcotrophie (*Forsythe et Parker, 1985*).

◦ Autres

Les microorganismes ont également un rôle dans l'absorption de certains minéraux. Ainsi, le phosphore contenu dans les végétaux est essentiellement de l'acide phytique sous forme de sels mono- ou divalents (phytates). Chez les monogastriques, les phytates sont en général peu valorisés, contrairement aux ruminants chez lesquels la microflore symbiotique ruminale synthétise des phytases. Il a été récemment suggéré que 80% des phytates seraient hydrolysés dans l'appareil digestif du lapin (*Marounek et al., 2003a*). Cette activité est retrouvée tout au long de l'appareil digestif, mais elle prédomine dans le gros intestin. Cependant, la capacité des lapereaux à absorber les phosphates libérés serait limitée.

Les besoins en vitamines du groupe B et en vitamine K sont normalement couverts par les biosynthèses microbiennes en l'absence de troubles digestifs (Lebas, 2000). Ces vitamines sont ingérées au cours de la cæcotrophie.

Des activités amylolytiques (Marounek et al., 1995; Padilha et al., 1995), lipolytiques (Marounek et al., 1995) et mucinolytiques (Hill, 1986) ont également été identifiées au niveau cæcal.

II.D.4. Temps de séjour des nutriments dans le cæcum

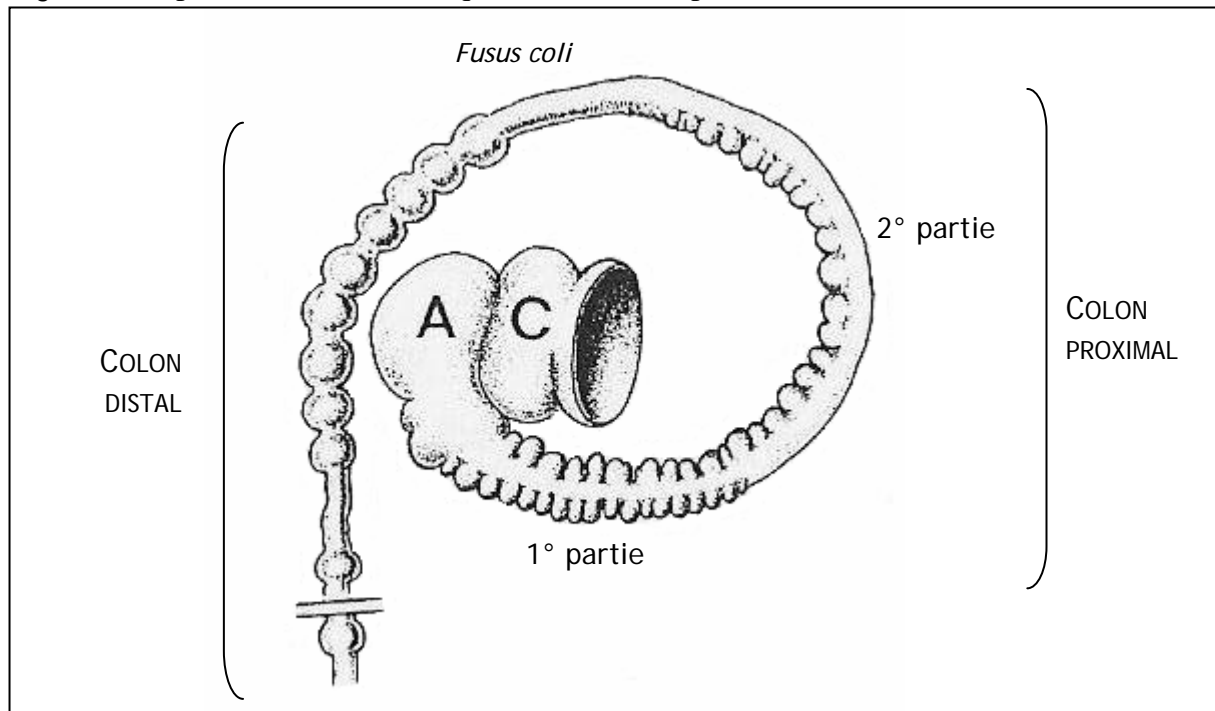
Le temps de séjour moyen des particules alimentaires dans le cæcum des lapereaux va essentiellement dépendre de leur taille. Le temps de rétention serait en moyenne de 7 à 16 heures pour les particules grossières (> 300 µm), et de 16 à 42 heures pour les particules les plus fines (< 300 µm) et les liquides (Gidenne, 1997).

II.E. LE COLON : FORMATION DE DEUX TYPES DE FECES

II.E.1. Une essoreuse et un lubrifiant du contenu cæcal

Le côlon, qui fait suite au cæcum, est divisé en deux parties : le côlon proximal et le côlon distal (Figure 9).

Figure 9 Représentation schématique du côlon du lapin



A = ampoule cæcale, C = cæcum; D'après Snipes et al., 1982.

Le côlon proximal est lui-même subdivisé (*Snipes et al., 1982*) : un premier segment avec trois rangs de replis longitudinaux, ne faisant pas saillie dans la lumière intestinale, est suivi par un segment où les replis font protrusion dans la lumière intestinale (1° partie). Ces évaginations représentent une augmentation importante de la surface d'échange et pourraient aider à la séparation des phases solide et liquide. Le segment suivant (2° partie) comporte un unique rang de replis, et le dernier segment, le *fusus coli*, long de 3 à 4 cm possède une activité pace-maker. La paroi du côlon distal devient ensuite lisse et aboute sur le rectum, puis sur l'anus. La muqueuse colique contient de nombreuses cellules à mucus dans ses cryptes, dont le rôle serait de lubrifier la paroi intestinale afin de faciliter le passage des crottes dures (*Snipes et al., 1982*).

II.E.2. Cæcotrophes et fèces dures

° Deux mécanismes d'excrétion différents

Le lapin présente un comportement très particulier, il produit deux types d'excréments : 1) les crottes dures éliminées dans le milieu environnant, et 2) les cæcotrophes, petites grappes de crottes molles entourées d'une couche de mucus, et récupérées dès leur émission directement à l'anus par aspiration. Le rythme d'excrétion de ces deux types de crottes est soumis au rythme d'ingestion des aliments. L'émission de crottes dures semble se superposer au rythme d'ingestion des aliments, avec une forte activité en période sombre. Les cæcotrophes sont, quant à elles, émises lors de la période de faible excrétion de fèces dures (*Laplace, 1978*), donc au cours de la matinée et en début d'après-midi, en une période unique de 7h environ. Celle-ci peut toutefois être entrecoupée par une émission plus ou moins prolongée de fèces dures (*Laplace, 1978*).

Tableau 6 Composition des crottes dures et cæcotrophes du lapin

	Crottes dures	Cæcotrophes
<u>Matière sèche (%)</u>	52-57	29-39
Protéines brutes	11-15	26-32
Matières grasses	2,7	2,2
Cellulose brute	29-30	17-18
Cendres	5-14	8-15

D'après *Proto, 1965; Fekete et Bokori, 1985; Carabaño et al., 1988; Fraga et al., 1991.*

Les cæcotrophes correspondent à du contenu cæcal ayant transité dans le côlon sans y subir de changements notoires (fines et grosses particules). En revanche, la production de crottes dures implique de nombreuses modifications du contenu cæcal au cours de la traversée

du côlon : tandis que les grosses particules (supérieures à 300 µm, donc principalement des fibres) poursuivent leur transit dans le côlon, les fines particules sont refoulées vers le cæcum pour y subir une nouvelle dégradation bactérienne (*Gidenne, 1997*). Ainsi, la composition des cæcotrophes et des crottes dures est différente (Tableau 6). Les cæcotrophes sont enrichies en protéines, vitamines et minéraux, tandis que les crottes dures sont majoritairement constituées de fibres.

Les protéines des cæcotrophes, issues des biosynthèses microbiennes, contribuent ainsi à 15-20% des apports azotés journaliers (*García et al., 1995; Belenguer et al., 2005*). De plus, ces protéines sont riches en acides aminés essentiels, tels que la lysine, la thréonine et la méthionine (*Ferrando et al., 1972*).

◦ Des mouvements d'eau et d'électrolytes adaptés au type d'excrétion

Lors de la formation des fèces dures, le côlon agit comme une "essoreuse" du contenu cæcal. Sauf dans la partie orale du côlon proximal où des phénomènes de sécrétion hydrique ont été observés (*Vernay, 1986*), l'eau est intensément réabsorbée au niveau colique. Il semblerait que les échanges d'électrolytes soient également différents selon le segment considéré. Ainsi, dans la zone à 3 rangs de replis, le potassium est absorbé et le sodium libéré dans la lumière intestinale, tandis que dans la zone à un unique rang de replis, l'inverse est observé. En passant au niveau du *fusus coli*, le contenu intestinal perd beaucoup de sodium, de potassium et d'eau. Plusieurs raisons pourraient expliquer ce phénomène. Le *fusus* est la région du côlon où la capacité d'absorption de sodium est la plus grande. Sa paroi musculaire est très développée et pourrait "compresser" mécaniquement le contenu intestinal (*Snipes et al., 1982*).

Par ailleurs, les acides gras volatils continuent d'être absorbés par simple diffusion passive dans le côlon (*Snipes et al., 1982; Vernay, 1986*).

◦ Elimination des fèces

Lors de l'élimination des crottes dures, une onde de contraction se propage du cæcum vers le côlon proximal, puis jusqu'au côlon distal toutes les 10 à 15 minutes. Des contractions antipéristaltiques coliques, ayant pour origine le *fusus coli*, se propagent sur toute la longueur du cæcum, et permettent de refouler les particules fines et les liquides vers le cæcum (*Ehrlein et al., 1983*). Ce phénomène, associé à la réabsorption hydrique dès le *fusus coli* décrite précédemment, aboutirait à l'assèchement du contenu colique.

En période de cæcotrophie, l'activité antipéristaltique très réduite et la motricité accrue du côlon distal permettent une excrétion rapide des cæcotrophes (*Laplace, 1978*). En fait, la

vacuité du côlon distal qui suit la période d'excrétion des fèces dures serait à l'origine d'une hyperactivité du côlon proximal. Cette zone d'hyperactivité se déplacerait vers le côlon distal et aboutirait à l'émission des cæcotrophes (*Ruckebusch et Hörnicke, 1977*).

II.F. EFFICACITE DIGESTIVE

Au bilan, les aliments ingérés ne sont pas digérés et absorbés en totalité et une partie des ingesta est retrouvée dans les fèces. La digestibilité fécale apparente des aliments (D_A) est la proportion des aliments non excrétée, donc considérée comme disparaissant dans le tube digestif.

$$D_A = (\text{Quantité ingérée} - \text{Quantité excrétée}) / \text{Quantité ingérée}$$

Cette formule peut s'appliquer aux différents composants de l'aliment. Cependant, cette valeur estimée ne correspond pas à la digestion réelle. En effet, des substances d'une origine autre qu'alimentaire vont être retrouvées dans les fèces : mucus, débris de cellules desquamées, microorganismes et produits de synthèses microbiennes... dont la proportion est difficile à évaluer. Ainsi, la digestibilité apparente sous-estime en général la capacité de l'animal à digérer l'aliment, particulièrement les protéines.

Tableau 7 Valeurs de digestibilité fécale apparente des différents constituants des aliments du lapin

	Composition aliment (en % du brut, mini-maxi)	D_A (mini-maxi)
Matière organique	90 - 95	0,61 - 0,76
Protéines brutes	17 - 20	0,66 - 0,81
Amidon	12 - 23	0,97 - 0,99
Matières grasses	2 - 4	0,61 - 0,85
NDF	32 - 43	0,20 - 0,55
ADF	18 - 23	0,14 - 0,34

Lapereaux de plus de 7 semaines; D'après *De Blas et al., 1995; Bellier et Gidenne, 1996; Scapinello et al., 1999; Gidenne et al., 2000; Gutiérrez et al., 2000; García et al., 2002; Debray et al., 2003; Falcão-e-Cunha et al., 2004.*

Le Tableau 7 présente les valeurs de digestibilité retrouvées dans la littérature pour des aliments de composition habituelle. La digestibilité de la matière organique varie entre 60 et 75% selon les études. Parmi les composants les mieux valorisés figurent les constituants intracellulaires : l'amidon est digéré à plus de 95%, et la digestibilité des lipides et des protéines varie de 60 à 85% en fonction des études. Les constituants pariétaux sont moins digestibles. La lignine est peu dégradée et, de plus, elle réduit la digestibilité de la cellulose et

des hémicelluloses en diminuant leur accessibilité par les bactéries. Les fibres sont les composants dont les estimations de digestibilité sont les plus variables entre études. En effet, différents paramètres vont modifier leur digestibilité et notamment leur source botanique (*Falcão-e-Cunha et al., 2004*).

III. LA FONCTION DE DEFENSE CONTRE LES AGENTS INDESIRABLES

Au premier rôle dévolu à l'appareil digestif développé précédemment, s'ajoute celui de barrière contre les agents indésirables. En effet, la muqueuse intestinale représente une surface d'échange considérable avec le milieu extérieur, et constitue ainsi une zone où les agressions antigéniques sont multiples. Si les stimulations antigéniques provenant de composants alimentaires ou de la flore commensale doivent être tolérées, celles de la flore pathogène doivent en revanche susciter une réponse efficace afin d'éliminer l'agent indésirable. Nous nous limiterons dans cet exposé aux moyens de défense locaux, qui, si ils sont dépassés, sont suppléés par des moyens de défense généraux non spécifiques (fièvre, inflammation, phagocytose) et spécifiques (réponses immunitaires humorales et/ou cellulaires).

III.A. DES MOYENS NON SPECIFIQUES

III.A.1. La flore résidente

Outre son rôle prédominant dans la digestion et l'absorption de nutriments, d'électrolytes et d'eau, la flore commensale intestinale entre en compétition avec les microorganismes potentiellement pathogènes. Une compétition directe au niveau des sites d'attachement aux cellules épithéliales peut s'établir. Ainsi, des bactéries segmentées filamenteuses, non cultivables, ont été récemment observées en microscopie électronique chez le lapin : elles préviendraient la colonisation iléale par les *Escherichia coli* O103, par compétition directe sur leur site de fixation aux cellules épithéliales (*Heczko et al., 2000a*). Par ailleurs, la non-implantation d'un microorganisme pathogène peut résulter de conditions physico-chimiques du milieu inadéquates : température, potentiel d'oxydo-réduction, facteurs nutritionnels non présents (non apportés par l'alimentation ou compétition de substrat avec la flore résidente), présence de substances antimicrobiennes sécrétées par les bactéries elles-mêmes (bactériocines). Cependant, ces substances étant elles-mêmes digestibles, leur rôle se restreint à des niches très localisées (*Guarner et Malagelada, 2003*). Les interactions entre les microorganismes de la flore commensale et les microorganismes potentiellement pathogènes sont très difficiles à étudier, car elles sont spécifiques d'un environnement particulier. Un

organisme exogène pourra d'autant plus facilement s'installer parmi la flore résidente, qu'il aura évolué auparavant dans un environnement similaire à celui dans lequel il pénètre (*Freter, 1974*).

Par ailleurs, la flore commensale stimule l'immunité de l'hôte. Les animaux élevés dans des environnements axéniques ont des densités de cellules lymphoïdes faibles, de petites structures folliculaires, et des concentrations circulantes d'immunoglobulines dans le sang très faibles. Après colonisation microbienne, le nombre de lymphocytes intra-épithéliaux et de la *lamina propria* augmente considérablement, ainsi que les concentrations circulantes d'immunoglobulines (*Guarner et Malagelada, 2003*). Cette flore stimule également la diversification du répertoire des anticorps chez le lapin (*Lanning et al., 2000b*) et est nécessaire à la mise en place du phénomène de tolérance orale (*cf. page 57*).

III.A.2. Barrières physiques et chimiques

L'acidité gastrique est néfaste au développement d'agents indésirables (*Martinsen et al., 2005*), et constitue une première barrière limitant leur passage vers l'intestin grêle. D'autres barrières défavorables à l'entrée d'agents indésirables sont disséminées tout au long du tractus digestif. Ainsi, les jonctions serrées des cellules épithéliales préviennent le passage intercellulaire de substances potentiellement néfastes, le péristaltisme intestinal réduit le contact des agents pathogènes avec les cellules épithéliales et le renouvellement cellulaire permet l'élimination des agents indésirables éventuellement attachés aux cellules épithéliales (*Fortun-Lamothe et Boullier, 2004*). Différentes substances chimiques sécrétées au niveau du tractus digestif présentent des propriétés antimicrobiennes : le lysozyme et les α -défensines sécrétés par les cellules de Paneth de l'intestin grêle de l'homme et de la souris (*Cunliffe, 2003*), la lactoferrine des sécrétions pancréatiques et salivaires de l'homme (*Caccavo et al., 2002*), les mucines de l'intestin grêle (*Montagne et al., 2004*).

III.B. DES MOYENS IMMUNITAIRES SPECIFIQUES

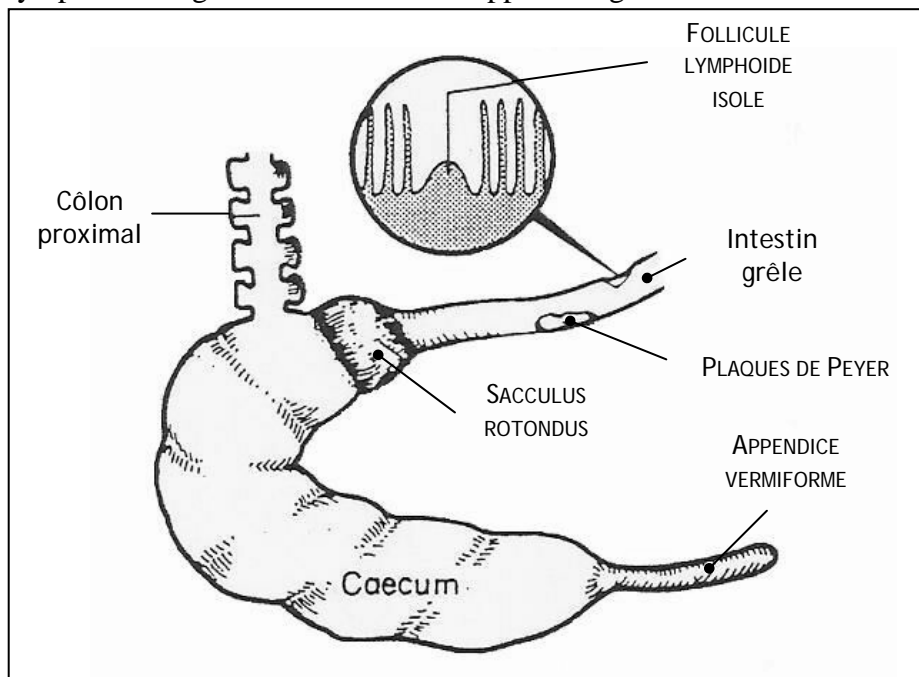
Le système immunitaire mucosal digestif des lagomorphes présente plusieurs fonctions. Comme pour tout mammifère, il est impliqué dans la réponse immunitaire locale face aux stimulations antigéniques de l'environnement (bactéries, virus, protozoaires, antigènes alimentaires...) faisant intervenir les lymphocytes B et T localisés notamment dans les plaques de Peyer. De plus, il joue un rôle fondamental dans la genèse du répertoire des anticorps. En effet, contrairement à d'autres espèces, telles que l'homme, la souris ou le rat, les recombinaisons somatiques des gènes V-D-J participant à la diversité de la région variable des anticorps sont limitées dans la moelle osseuse. Ces réarrangements ont lieu dans l'appendice

cæcal entre 3 et 8 semaines d'âge, de façon similaire à ce qui est observé dans la bourse de Fabricius des oiseaux (Mage, 1998).

III.B.1. Le tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT) : structure

Les tissus lymphoïdes associés à l'intestin (GALT : Gut Associated Lymphoid Tissue) sont particulièrement nombreux chez le lapin (Figure 10). En plus des plaques de Peyer, similaires à celles des autres mammifères, deux organes lymphoïdes sont spécifiques au lapin : le *sacculus rotundus* à la jonction iléo-cæcale et l'appendice vermiforme à l'extrémité distale du cæcum (Lanning et al., 2000b). Par ailleurs, des follicules lymphoïdes isolés, ressemblant à de microscopiques plaques de Peyer, sont disséminés dans la paroi de l'intestin grêle et du gros intestin.

Figure 10 Représentation schématique des différentes structures lymphoïdes organisées associées à l'appareil digestif



D'après Mage, 1998.

Les plaques de Peyer résultent d'une agrégation de follicules lymphoïdes en dôme faisant saillie dans la *lamina propria*. Un épithélium spécifique recouvre la zone du dôme : le FAE (Follicle Associated Epithelium). Ce FAE diffère de l'épithélium des villosités par des activités enzymatiques plus faibles, une bordure en brosse moins prononcée, une large infiltration par des lymphocytes, macrophages et cellules dendritiques. Par ailleurs, il contient un nombre conséquent de cellules épithéliales spécialisées, les cellules M (Mowat, 2003). Ces

cellules ne présentent pas de bordure en brosse à leur pôle apical, mais de nombreuses invaginations parcourent leur membrane basolatérale, où viennent se loger les lymphocytes et les macrophages. Chez l'adulte, l'organisation de l'appendice vermiforme et du *sacculus rotundus* est analogue à celle des plaques de Peyer (Mage, 1998).

En plus de ce tissu lymphoïde organisé, de nombreuses cellules lymphoïdes ainsi que des cellules de la défense non spécifique (granulocytes et macrophages) sont disséminées dans la paroi digestive. Quelques lymphocytes, principalement des lymphocytes T (80 à 90%), sont dispersés entre les cellules épithéliales intestinales. D'autres lymphocytes se situent dans la *lamina propria* : majoritairement des lymphocytes T (40 à 90%), mais également des lymphocytes B qui deviendront pour la plupart des plasmocytes sécréteurs d'IgA (Fortun-Lamothe et Boullier, 2004).

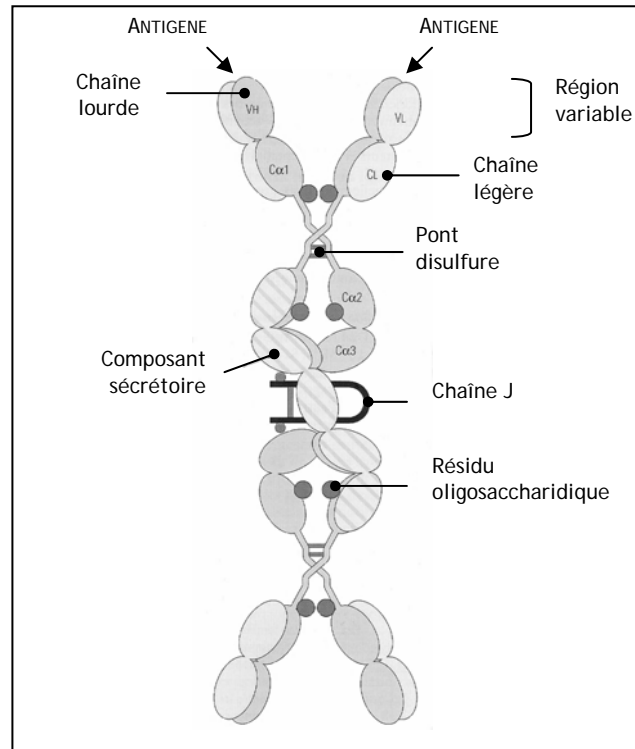
III.B.2. Réponse immunitaire intestinale : rôle des IgA

Les cellules M sont la principale, voire l'unique, voie de passage pour les antigènes luminaux vers le système immunitaire. En revanche, n'exprimant pas les molécules de classe II du CMH, elles sont incapables de présenter ces antigènes. Elles les transmettraient ensuite à des cellules présentatrices d'antigènes (CPA), dans l'épithélium ou dans la région du dôme. Ensuite, ces CPA, probablement des cellules dendritiques, migrent vers l'aire de cellules T ou vers les follicules de cellules B où elles interagissent avec des lymphocytes naïfs. Les cellules B subissent alors une commutation isotypique de IgM à IgG ou IgA, sous l'influence de facteurs locaux (TGF- β (Transforming Growth Factor), IL-5 et IL-10 (Interleukines)) et de signaux cellulaires délivrés par les cellules dendritiques et les cellules T. Ces lymphocytes B suivent la voie lymphatique jusqu'aux nœuds lymphatiques mésentériques, où ils demeurent un certain temps pour maturation et prolifération, avant de migrer par voie sanguine, *via* le canal thoracique pour finalement s'accumuler dans la muqueuse (Mage, 1998).

Ces lymphocytes qui pénètrent la muqueuse sont ensuite redistribués dans deux compartiments distincts : la *lamina propria* ou l'épithélium. Les plasmocytes matures sécréteurs d'IgA restent dans la *lamina propria*. Ces IgA sont organisées en dimères et sont associées à deux chaînes polypeptidiques, l'ensemble portant le nom d'IgA sécrétoire (Figure 11). La première chaîne polypeptidique, appelée chaîne J, intervient dans l'oligomérisation des immunoglobulines. La deuxième chaîne polypeptidique est nommée composant sécrétoire. Elle correspond à la partie extracellulaire d'une protéine transmembranaire exprimée à la surface basolatérale des cellules épithéliales : le récepteur polyimmunoglobuline (Mage, 1998). Les IgA se lient de manière covalente à ce récepteur, puis sont internalisées dans une

vésicule d'endocytose qui transite vers la membrane apicale des cellules épithéliales. A la surface apicale, les IgA sont libérées par protéolyse du récepteur, dont une partie (le composant sécrétoire) reste attachée à l'IgA libre (Macpherson et al., 2001). Ce composant sécrétoire stabilise les molécules d'anticorps et masque les sites de clivage par les protéases.

Figure 11 Structure d'une IgA sécrétoire humaine



D'après Roitt et al., 1997.

La fonction de ces IgA sécrétoires est de prévenir la colonisation et l'invasion bactérienne ou virale des muqueuses, par leur capacité de fixation aux antigènes. La plupart des IgA sont dirigées contre des composés de surface des bactéries. Elles induisent peu ou pas de réaction inflammatoire, qui pourrait occasionner des dommages aux surfaces mucosales. En fait, les mécanismes de neutralisation des microorganismes par les IgA sécrétoires sont encore méconnus, et ne correspondent pas à ceux classiquement décrits pour les IgG : elles n'induisent pas d'opsonisation par les macrophages, n'activent pas la voie classique du complément, et donc n'aboutissent pas à la lyse des bactéries (Corthesy et Kraehenbuhl, 1999). Il est alors très probable que des phénomènes immunitaires à médiation cellulaire prennent le relais lorsqu'un agent pathogène parvient à franchir la barrière épithéliale.

Par ailleurs, les rongeurs et lagomorphes sont dotés d'un système original : la pompe hépatique permettant à des IgA sériques de se retrouver dans la lumière intestinale. Elles sont éliminées par transport actif depuis le sérum vers la bile par le biais des hépatocytes disposant de récepteurs polyimmunoglobulines. Ces IgA d'origine sérique ont une structure semblable

aux IgA sécrétoires (Bouvet et Fischetti, 1999). Les relations entre IgA sécrétoires et IgA sériques ne sont pas encore établies chez le lapin. Des essais chez la souris appuient l'existence d'une corrélation mais qui serait antigène type- et dose-dépendante (Externest et al., 2000).

Les cellules T CD4⁺ restent également dans la *lamina propria*. Les cellules T CD8⁺ migrent préférentiellement dans l'épithélium, bien que 40% de ces cellules se retrouvent dans la *lamina propria*. Le rôle des cellules T de la muqueuse est encore incertain, mais les cellules ayant un phénotype "mémoire" prédominant. Elles pourraient aider les plasmocytes à produire des IgA. Les cellules T CD4⁺ pourraient être des cellules régulatrices intervenant dans le maintien de la tolérance locale aux antigènes environnementaux (Mowat, 2003).

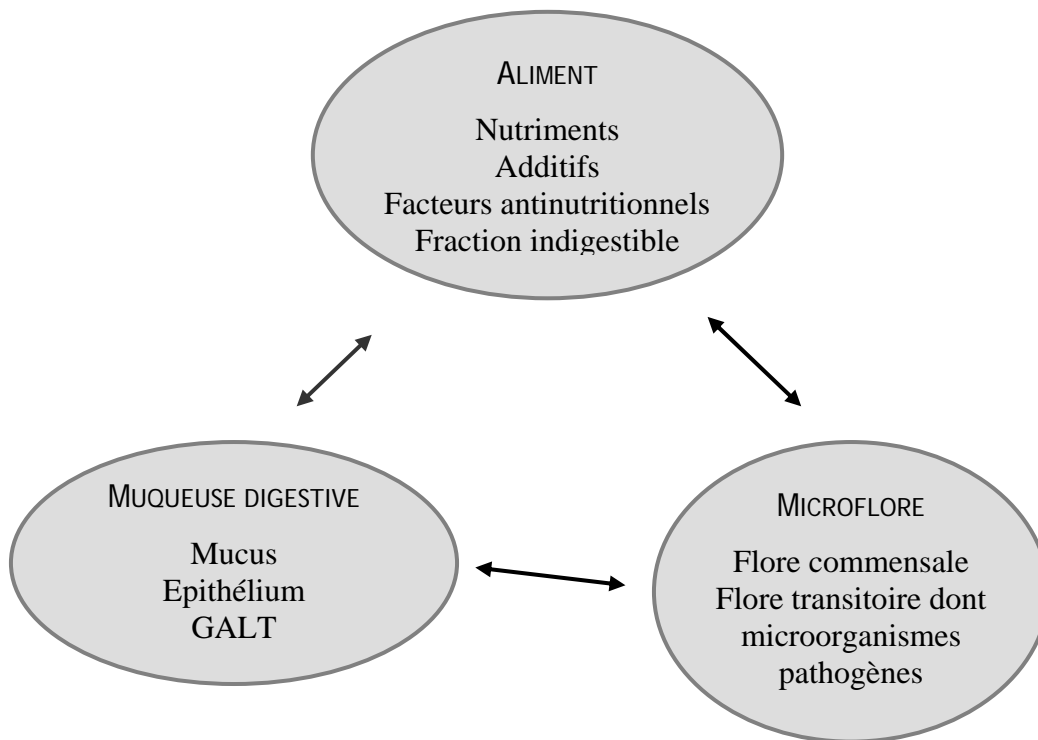
III.B.3. Tolérance orale

La muqueuse intestinale est naturellement en contact avec de nombreux antigènes de l'environnement (flore et aliment). Or, il serait préjudiciable pour l'hôte de répondre systématiquement aux stimulations antigéniques multiples. Ceci a conduit les chercheurs à émettre l'hypothèse de l'existence probable d'une régulation des réponses immunitaires systémiques. En effet, une réponse immunitaire dirigée contre une flore intestinale "normale" conduirait à des troubles inflammatoires chroniques, et une réponse vis-à-vis des antigènes de l'aliment pourrait être à l'origine de phénomènes allergiques (Simecka, 1998). Ainsi, la tolérance orale est définie comme la capacité décroissante de la stimulation d'une réponse immunitaire systémique en réponse à des antigènes rencontrés antérieurement dans l'intestin (Kagnoff, 1993). Cette réponse immunitaire potentiellement néfaste est ainsi prévenue, supprimée ou modifiée de manière à rentrer dans la classe des réponses non nuisibles à l'organisme (autrement dit non inflammatoires) (Weiner, 2001). Les mécanismes de la tolérance orale sont encore méconnus et aucune donnée n'est disponible pour le lapin. Les différents mécanismes identifiés seraient la délétion clonale, l'anergie ou encore la suppression active de la réponse immunitaire. L'anergie correspond à l'inactivation de cellules face à une stimulation antigénique, et pourrait résulter aussi bien de l'absence de molécules inflammatoires ou co-stimulantes, que de la délétion de certaines populations de cellules antigène-spécifiques (apoptose). La réponse immunitaire pourrait également être supprimée, *via* des facteurs produits par les lymphocytes T : intervention des lymphocytes T régulateurs CD4⁺ et CD8⁺, des cytokines (TGF- β , IL-4 et IL-10) (Simecka, 1998).

IV. L'ECOSYSTEME INTESTINAL : UN EQUILIBRE DYNAMIQUE ET FRAGILE

La Figure 12 représente schématiquement les différents éléments intervenant dans le fonctionnement de l'appareil digestif et leurs interactions afin de maintenir un équilibre dynamique, garant de la bonne santé intestinale (*Montagne et al., 2003*).

Figure 12 Représentation schématique des interactions aliment/hôte/flore au sein de l'écosystème intestinal
(D'après *Montagne et al., 2003*)



Nombre de ces interactions, précédemment évoquées, ne seront pas redécrites. La disponibilité des nutriments (acides aminés, glucose, acides gras, vitamines et minéraux) peut réguler la réponse immunitaire. En effet, ces nutriments sont indispensables pour la multiplication cellulaire au cours de la réponse immunitaire (phagocytes et lymphocytes) ainsi que pour la synthèse de molécules effectrices (anticorps, complément, lysozyme, oxyde nitrique) ou informatives (cytokines, médiateurs de l'inflammation) (*Klasing et Leshchinsky, 2000*). Certains nutriments agissent en modifiant la communication intra- et extracellulaire et jouent ainsi un rôle essentiel dans la régulation de la réponse immunitaire : c'est le cas des acides gras à longues chaînes poly-insaturés ou de la vitamine E. De plus, le système immunitaire est régulé par de nombreuses hormones, dont le niveau de sécrétion est sous la dépendance de facteurs nutritionnels (insuline, glucagon, et glucocorticoïdes) (*Klasing et Leshchinsky, 2000*).

Inversement, la réponse immunitaire peut influencer le fonctionnement du tractus digestif. En effet, les agents cytotoxiques (oxyde nitrique, enzymes cataboliques...) synthétisés par les macrophages et les neutrophiles afin de tuer les bactéries, virus et cellules infectées, peuvent également affecter les cellules normales de l'hôte. De même, les cytokines inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-8 et TNF- α (Tumor Necrosis Factor)) libérées au cours d'une réponse immunitaire peuvent exercer un effet délétère sur les tissus : troubles hémodynamiques, cytotoxicité directe sur les cellules (*Klasing et Leshchinsky, 2000*). Si leur action est en premier lieu locale, elle peut également se généraliser car presque tous les tissus possèdent des récepteurs à ces molécules, notamment le système endocrine et le système nerveux central. Ainsi, elles sont capables de moduler les métabolismes glucidique, lipidique et protéique, de réguler les flux de l'axe hypothalamo-hypophysaire, et d'agir sur le système nerveux central en provoquant anorexie et léthargie (*Johnson, 1997*).

Ainsi, l'aliment et l'alimentation doivent être choisis afin de permettre un équilibre stable entre l'hôte, la microflore et l'environnement nutritionnel. Ceci pourra permettre de prévenir toute perturbation structurale et/ou fonctionnelle de l'appareil digestif. Si chez l'adulte, le but est le maintien de cet équilibre, chez le jeune il doit en premier lieu se créer. C'est ce point que nous allons développer dans la deuxième partie.

CHAPITRE 2 - LE SEVRAGE DU LAPEREAU : VERS UN EQUILIBRE DES FONCTIONS INTESTINALES

Chez le jeune, l'équilibre entre les fonctions de digestion et de défense contre les agents indésirables doit se mettre en place. Ainsi, la période entourant le sevrage est une période tumultueuse et ce, pour plusieurs raisons. Les organes intervenant dans les phénomènes digestifs ou immunitaires sont en développement, aussi bien dans leur structure que dans leur fonction. La microflore intestinale ne commencerait à se stabiliser que vers 30 ou 40 jours d'âge. Toutes les compétences immunitaires ne sont pas acquises, et la diversification du répertoire des anticorps n'apparaît que tardivement dans cette espèce.

D'autre part, d'importants bouleversements alimentaires ont lieu autour du sevrage en terme de composition de la ration et de comportement alimentaire. Une transition plus ou moins progressive du lait maternel à l'aliment végétal solide est observée selon l'âge auquel le sevrage est réalisé. Cette période de déséquilibre pourrait expliquer la sensibilité du jeune aux affections du système digestif.

Aussi, nous nous attacherons à décrire dans cette partie le développement post-natal du système digestif du lapereau, en insistant sur le rôle des facteurs exogènes, notamment l'alimentation.

I. CHANGEMENTS NUTRITIONNELS AUTOUR DU SEVRAGE

I.A. MODALITES DE REALISATION

Dans la plupart des élevages cynicoles français, le sevrage des lapereaux est réalisé entre 28 et 35 jours d'âge. Chez le lapin sauvage, le sevrage peut avoir lieu dès 25 jours d'âge (voire 21 jours), en fonction des ressources alimentaires du milieu et du stade physiologique de la lapine (gestante ou non). Néanmoins, les études publiées sur ce point restent très rares.

En élevage, la lapine est séparée de ses lapereaux au moment du sevrage selon deux modalités : déplacement de la mère ou alors des lapereaux dans de nouvelles cages. Le premier système, dit "en tout plein tout vide", tend à se généraliser car il permet la réalisation d'un nettoyage, d'une désinfection et d'un vide sanitaire entre deux cycles de reproduction. De plus, il limite le stress des lapereaux lié au changement de cage et au mélange avec des animaux d'origines différentes.

I.B. CHANGEMENT D'ALIMENTATION : DU LAIT MATERNEL A L'ALIMENT SOLIDE VEGETAL

La réalisation d'un sevrage entre 28 et 35 jours permet au lapereau une transition progressive du lait maternel à l'aliment granulé. En effet, le lapereau commence à ingérer de l'aliment solide vers 18 jours d'âge. Ainsi, la ration alimentaire évolue progressivement quantitativement et qualitativement.

I.B.1. Du lait de lapine...

Le lait de lapine est très concentré, comparativement aux autres espèces domestiques, avec une teneur en matière sèche d'environ 30% (Tableau 8). Les composants majeurs sont les matières grasses et protéiques, représentant chacune de 40 à 50% de la matière sèche en fonction des différentes études. Les sucres sont minoritaires, et le lactose en est le principal représentant.

Tableau 8 Composition chimique du lait de lapine

	Valeurs mini-maxi
En % de la Matière sèche	
Matière Azotée Totale	34,5 - 51,3
Matière grasse	38,9 - 56,1
Lactose	0,7 - 7,6
Cendres	5,3 - 8,3
Energie (kCal/kg)	6313 - 6881
Matière sèche (g.100g ⁻¹)	27,0 - 44,2

D'après *Davies et al., 1964; Lebas, 1971; Anderson et al., 1975; Fonty et al., 1979; El-Sayiad et al., 1994; Pascual et al., 1999a; Kráčmar et al., 2001; Debray, 2002.*

Les protéines du lait sont composées majoritairement de caséines (α , β et κ) et de protéines sériques, incluant l' α -lactalbumine et la transferrine (*Grabowski et al., 1991; Baranyi et al., 1995*). La composition en acides aminés des protéines du lait de lapine (*Kračmar et al., 2001*) semble relativement stable au cours de la lactation, et les principaux acides aminés sont : l'acide glutamique (18%), la leucine (11%), la lysine, la sérine et la proline (6%), l'isoleucine, la thréonine, l'acide aspartique et la valine (5%).

Les lipides du lait sont à 98% constitués de triglycérides, composés majoritairement d'acides gras à chaînes moyennes (*Smith et al., 1968; Demarne et al., 1978; Perret, 1980; Pascual et al., 1999a*) (Tableau 9) : les acides caprylique (C8:0) et caprique (C10:0) représentent environ 65% des acides gras en % molaire. Ces très fortes concentrations en acides caprylique et caprique ne sont pas retrouvées chez la hase (29%; *Demarne et al., 1978*) ou la ratte (22%; *Fernando-Warnakulasuriya et al., 1981*). Ils sont en concentration beaucoup plus faible pour la plupart des espèces : 5% chez la vache, 17% et 18% chez la brebis et la chèvre, et 2,5% chez l'homme (*Freeman et al., 1965*). Pour d'autres espèces, telles que le

cobaye et la souris, ils sont seulement présents sous forme de traces (*Smith et al., 1968*). Les acides gras à chaînes moyennes tendent à se positionner préférentiellement en positions *sn-2* et *sn-3* du glycérol tandis que les acides gras à chaînes plus longues se répartissent plutôt en position *sn-1* et *sn-2* (*Christie, 1985*).

Tableau 9 Composition en acides gras du lait de lapine

	<i>Smith et al., 1968</i> % molaire	<i>Demarne et al., 1978</i> % molaire	<i>Perret, 1980</i> % pondéral
C6:0	0,5	traces	0,5
C8:0	37,1	35,8	18,2
C10:0	27,4	31,9	19,7
C12:0	2,9	5,3	3,3
C14:0	1,1	1,5	2,0
C15:0	-	0,2	-
C16:0	8,0	7,1	17,2
C16:1	0,8	1,0	2,5
C17:0	-	0,1	-
C18:0	1,7	1,4	3,8
C18:1	9,2	6,6	13,6
C18:2	10,4	7,5	12,9
C18:3	0,9	1,6	3,2
C20:4	-	-	1,9

La race et le statut physiologique (gestation simultanée ou non) semblent avoir peu d'influence sur la composition chimique du lait de lapine (*El-Sayiad et al., 1994*). En revanche, celle-ci varie en fonction du stade de lactation : le lait tend à se concentrer (*Lebas, 1971; Pascual et al., 1999a; Debray, 2002*), le lactose tend à disparaître (*Lebas, 1971; Debray, 2002*) et la proportion relative de la matière grasse augmenterait légèrement en fin de lactation (*Lebas, 1971; Pascual et al., 1999a*). La qualité des lipides incorporés dans l'aliment influencerait également la composition en acides gras du lait de lapine (*Christ et al., 1996*), alors que leur quantité n'aurait que peu d'incidence (*Pascual et al., 1999a*).

La production quotidienne de lait augmente les premiers jours de lactation pour aboutir à un pic en fin de troisième semaine de lactation. Puis la production laitière décroît, plus ou moins rapidement selon le statut physiologique de la lapine (*Lebas, 1972*). En effet, la gestation peut interférer avec la production laitière selon l'âge auquel est réalisée la saillie ou l'insémination artificielle.

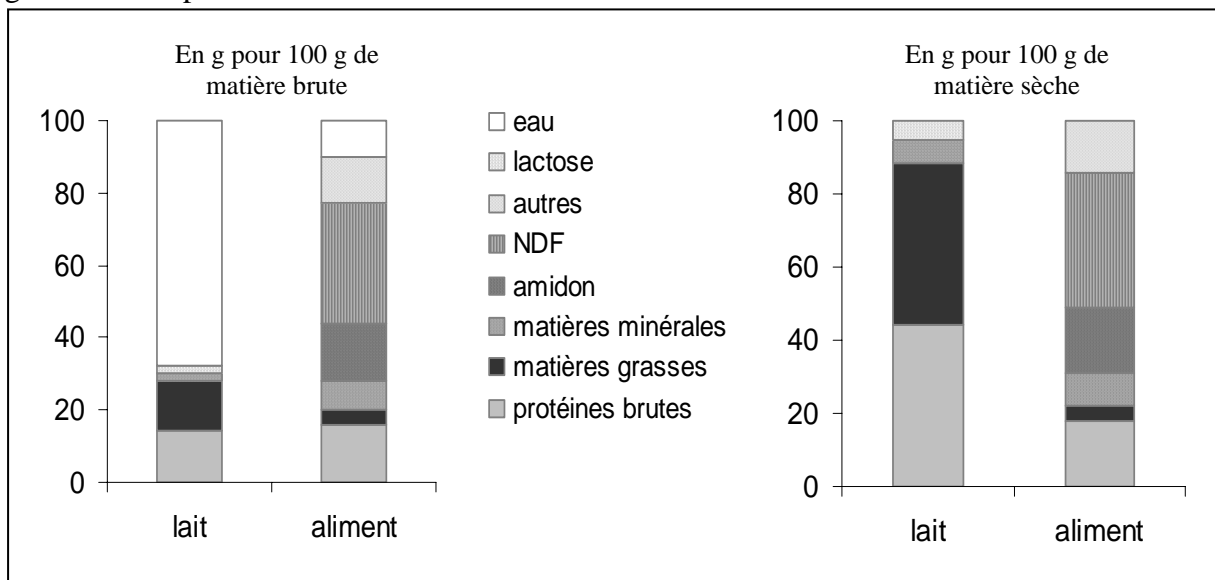
Le comportement d'allaitement est très controversé dans la littérature. La plupart des auteurs défendent l'existence d'un allaitement quotidien unique, mais certains évoquent l'existence de plusieurs repas lactés par 24 heures (*Hoy et al., 2000*). Celui-ci dure de 3 à 4 minutes. En général, il a lieu de nuit, avec une préférence pour les premières heures du matin, au moins pour ce qui concerne les 2 premières semaines de lactation (*Jilge, 1993*).

I.B.2. ...à un aliment granulé

Au cours de la deuxième semaine de lactation, les lapereaux commenceraient à consommer les crottes dures que la lapine dépose dans le nid, ainsi que le matériel végétal présent dans celui-ci (Hudson *et al.*, 2000). L'ingestion d'aliment solide par les lapereaux débute vers 18 jours. En effet, ils commencent à quitter le nid entre 13 et 18 jours d'âge lorsqu'ils sont capables de maintenir une température corporelle stable et possèdent une meilleure coordination motrice. Ce phénomène est très variable selon les portées, probablement dépendant de la quantité de lait disponible pour les lapereaux. En effet, une réduction de la taille de portée de 10 à 4 lapereaux retarde l'ingestion d'aliment solide (Gidenne *et Fortun-Lamothe*, 2002).

D'un unique repas lacté, le lapereau évolue alors vers de multiples petites prises d'aliment solide et d'eau au cours de la journée (Prud'hon *et al.*, 1975). Assez rapidement après le sevrage, les différentes activités des lapereaux vont devenir essentiellement nocturnes : activité, excrétion de fèces et d'urine, alimentation et boisson (Jilge, 1993). Bien que la mise en place du comportement de cæcotrophie n'ait, à notre connaissance, jamais été étudiée, celle-ci est souvent reliée au début de l'ingestion d'aliment solide (Gidenne *et al.*, 2002).

Figure 13 Comparaison de la composition chimique moyenne du lait maternel et de l'aliment granulé des lapines



En plus d'une évolution d'un unique repas liquide à de multiples repas solides, la composition nutritionnelle de la ration change progressivement. En effet, l'aliment végétal mis à la disposition de la lapine et de ses lapereaux contient des fibres, de l'amidon et des sucres non familiers au lapereau (Figure 13).

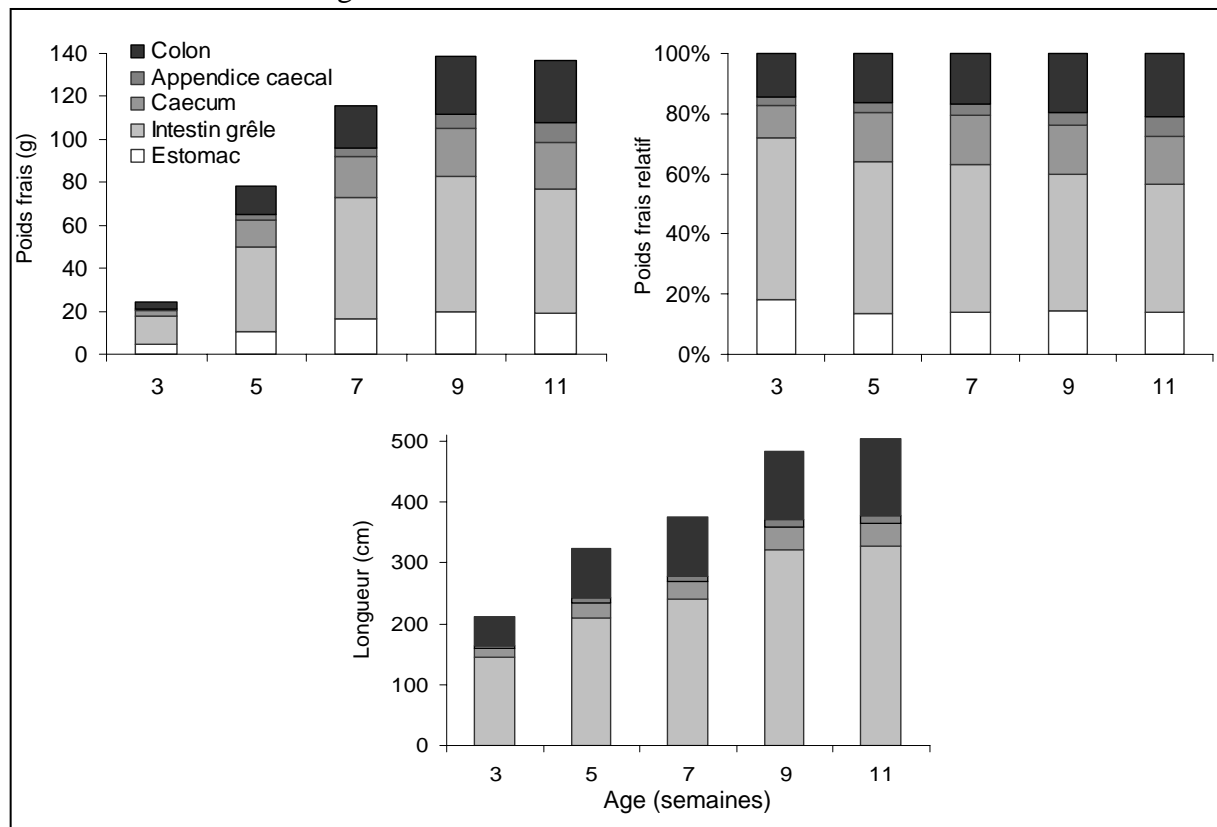
II. LES CHANGEMENTS STRUCTURAUX ET FONCTIONNELS DE L'APPAREIL DIGESTIF AUTOUR DU SEVRAGE

II.A. DEVELOPPEMENT DES SEGMENTS DIGESTIFS

II.A.1. Evolution post-natale

Excepté l'appendice cæcal qui poursuit sa croissance pondérale jusqu'à 11 semaines, la croissance des segments digestifs semble stabilisée à partir de 9 semaines (Figure 14). Ainsi, entre 3 et 11 semaines, le poids frais est multiplié par 4 pour l'estomac et l'intestin grêle, par 8 pour le cæcum et le côlon et par 15 pour l'appendice cæcal. Le gros intestin présente une évolution pondérale plus importante relativement aux segments antérieurs, représentant 28% de l'ensemble du tractus digestif à 3 semaines et 44% à 11 semaines. Pour l'ensemble des segments digestifs considérés, les longueurs sont multipliées par 2 à 3 entre 3 et 11 semaines d'âge (*Lebas et Laplace, 1972*).

Figure 14 Evolution du poids frais et de la longueur des segments digestifs chez le lapin entre 3 et 11 semaines d'âge



D'après *Lebas et Laplace, 1972*.

Lorsque ces données sont rapportées au poids vif des lapereaux, la masse intestinale globale est stable entre 3 et 7 semaines, et décroît ensuite. Entre 3 et 5 semaines, alors que les masses relatives de l'intestin grêle et de l'estomac décroissent, celle du territoire cæco-colique

augmente (*Laplace et Lebas, 1972*). Des travaux plus récents ne confirment pas ces observations : la masse des différents segments digestifs relativement au poids vif des lapereaux augmenterait régulièrement entre 3 et 8 semaines (*Xiccato et al., 2001*).

II.A.2. Influence de l'alimentation

L'âge au sevrage influencerait le développement du tractus digestif. Ainsi, plus les lapereaux sont sevrés précocement (21 vs. 25 vs. 28 jours), plus leur masse intestinale relative serait importante. Ce phénomène est principalement expliqué par un développement plus important de l'ensemble côlon-rectum à 32 jours. Mais, plus les lapereaux sont sevrés précocement, plus leur poids vif est faible ce qui pourrait expliquer en partie les différences observées (*Xiccato et al., 2001*). Cependant, *Gyarmati et al. (2000b)*, ayant comparé des animaux sevrés à 23 et à 35 jours, confirme cette observation sur les poids frais absolus des différents segments. Le sevrage précoce stimulerait le développement de l'intestin grêle, du cæcum et du côlon jusqu'à 6 semaines d'âge. Cette différence persisterait uniquement pour l'intestin grêle à 10 semaines. Un développement plus important de l'estomac des lapereaux sevrés précocement a été observé uniquement à 5 semaines d'âge. L'augmentation de l'ingéré d'aliment solide stimulerait donc le développement pondéral des segments digestifs.

La composition de l'aliment pourrait également influencer le développement du cæcum. *Gutiérrez et al. (2002a)* ont montré chez des lapereaux sevrés à 25 jours qu'une substitution de 50% de l'amidon par du lactose conduisait à un développement pondéral relatif du cæcum supérieur à 35 jours, sans que le poids vif des lapereaux ne soit modifié. Le développement de l'estomac ne serait pas affecté.

II.B. DEVELOPPEMENT DE LA MUQUEUSE INTESTINALE

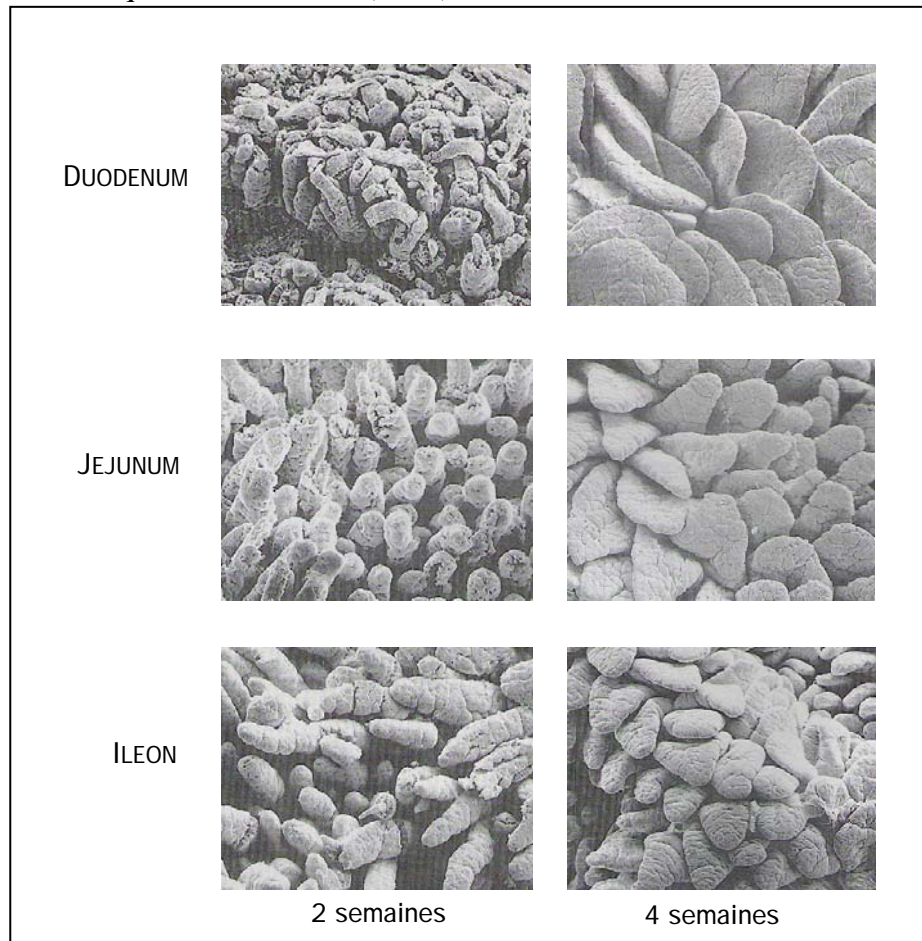
II.B.1. Evolution post-natale

Au cours des premières semaines suivant la naissance, les villosités intestinales sont fines et allongées (en forme de doigt), avec de très courtes villosités dispersées parmi elles (*Sabatakou et al., 1999*). L'hétérogénéité de longueur tend à décroître avec le temps. Ainsi, les très courtes villosités disparaissent après la première semaine de vie des lapereaux dans le duodénum, la troisième semaine dans le jéjunum et la cinquième semaine dans l'iléon (*Van der Hage, 1988*). Ces très courtes villosités seraient des bourgeons de nouvelles villosités, et leur disparition signifierait que le nombre final de villosités par unité de surface a été atteint. De forme fine et allongée, les villosités tendent à s'élargir en forme de langue, dans un premier temps au niveau duodénal, et pour finir dans l'iléon (Photo 1). Au cours de la

septième semaine, des villosités en forme de feuille et de crête apparaissent au niveau duodénal. Des villosités en forme de feuille pourront également être retrouvées au niveau jéjunal, mais pas au niveau iléal (*Van der Hage, 1988*). La maturation histologique de la muqueuse intestinale est incomplète jusqu'au 20^{ème} jour de vie (*Toofanian et Targowski, 1982*), et suivrait un gradient proximo-distal le long de l'intestin grêle. Selon *Yu et Chiou (1997)*, ayant effectué des mesures sur des lapins âgés de 2, 4, 8 et 16 semaines, les villosités s'allongent jusqu'à 8 semaines quel que soit le segment de l'intestin grêle considéré.

Il a été établi chez la souris que le nombre de cryptes augmente également avec l'âge, par fission des cryptes déjà existantes (*Cairnie et Millen, 1975*).

Photo 1 Evolution des villosités intestinales au microscope électronique à transmission (×100)



D'après *Yu et Chiou, 1997*.

II.B.2. Influence de l'alimentation

Si il est manifeste que le sevrage provoque une importante atrophie des villosités intestinales du porcelet (jusqu'à 50% et jusqu'à 5 jours après le sevrage) (*Pluske et al., 1997*), *l'impact de facteurs exogènes sur le développement de la muqueuse intestinale du lapin a*

fait l'objet de peu d'études. Gutiérrez et al. (2002a) ont observé sur des lapereaux de 5 semaines des villosités plus courtes et des cryptes plus profondes dans le jéjunum de ceux sevrés depuis 10 jours comparativement à ceux encore allaités. La composition en fibres de l'aliment aurait un impact sur le développement des villosités intestinales : un apport accru de lignine provoquerait un raccourcissement des villosités jéjunales chez des lapereaux de 9 semaines, mais serait sans conséquences sur les villosités duodénales et iléales (Chiou et al., 1994). Cependant, dans cette étude, la consommation de l'aliment riche en lignine est diminuée de moitié, comparativement aux aliments contenant de la cellulose ou des pectines.

II.C. DEVELOPPEMENT DES SECRETIONS ENDOGENES

II.C.1. Enzymes gastriques

L'activité protéolytique gastrique du lapereau à la naissance est dévolue à la rennine (Henschel, 1973). Puis, à partir de deux (Dojană et al., 1998) ou cinq (Bernadac et al., 1991) semaines, les sécrétions de pepsines s'accroissent et prennent le relais de la rennine.

L'activité lipasique dans la zone cardiaque de la muqueuse gastrique augmente jusqu'au sevrage (Bernadac et al., 1991), puis décroît progressivement. Exprimée relativement au contenu protéique (activité spécifique), son activité dans la muqueuse gastrique décroît entre 15 et 43 jours (Dojană et al., 1998). Dans ce dernier cas, le lieu de prélèvement n'est pas précisé. Chez le jeune, la lipolyse gastrique libère essentiellement des acides gras en C8:0 et C10:0, composants majeurs du lait de lapine. Ces acides gras, notamment l'acide caprylique, seraient en partie absorbés par la muqueuse gastrique (Perret, 1980).

Aucune étude, à notre connaissance, ne s'est intéressée à l'impact de l'alimentation sur le développement des enzymes gastriques chez le jeune.

II.C.2. Enzymes pancréatiques

◦ Evolution post-natale

La fonction pancréatique exocrine a essentiellement été étudiée en mesurant les différentes activités enzymatiques sur broyat de pancréas. Or, ces enzymes synthétisées dans le tissu sont progressivement sécrétées dans la lumière de l'intestin grêle. L'activité tissulaire résulte donc à la fois des processus de synthèses protéiques, mais également de leur sécrétion dans la lumière intestinale. Il convient donc d'être prudent quant à l'interprétation des données concernant les activités des enzymes pancréatiques.

Dosées directement sur broyat de pancréas, les activités totales de l'amylase et de la lipase sont quasi-nulles jusqu'à 21 jours (Lebas et al., 1971; Corring et al., 1972), puis augmentent

rapidement (Lebas et al., 1971; Corring et al., 1972; Gutiérrez et al., 2002a; Debray et al., 2003). Les activités pancréatiques totales de la trypsine et de la chymotrypsine ont, quant à elles, tendance à être stables (Lebas et al., 1971) ou à décroître jusqu'à 21-24 jours (Corring et al., 1972), puis à augmenter (Corring et al., 1972; Debray et al., 2003). Pour Dojană et al. (1998), les activités pancréatiques spécifiques de ces deux enzymes atteignent leur niveau maximal à 43 jours.

- Influence de l'alimentation

Les données existantes concernant l'influence de l'alimentation sur les activités enzymatiques pancréatiques sont contradictoires. Certains auteurs émettent l'hypothèse que le développement des activités pancréatiques lipasique et amylolytique serait sous la dépendance stricte de facteurs ontogéniques. En effet, les proportions d'amidon et de matières grasses incorporées dans l'aliment de péri-sevrage des lapereaux (aliment 1 : 21,2% et 2,7%, et aliment 2 : 10,4% et 4,9%, respectivement) n'influencent pas l'activité pancréatique ou intraluminale des enzymes impliquées dans leur digestion à 25, 32 ou 42 jours d'âge (Debray et al., 2003). De même, le ratio d'ingestion lait/aliment, modulé par la taille de la portée (4 vs. 10 lapereaux) ne modifie pas l'activité amylolytique mesurée dans le contenu intestinal à 32 ou à 42 jours (Scapinello et al., 1999). Jusqu'à 30 jours d'âge, les activités de la trypsine et de la chymotrypsine ne semblent pas affectées par le statut nutritionnel des lapereaux : les niveaux d'activité pancréatique sont similaires que les lapereaux soient sevrés ou en allaitement maternel exclusif (Corring et al., 1972).

Cependant, l'âge au sevrage semble exercer une influence sur le développement de l'activité amylolytique détectée sur broyat de pancréas. A 35 jours, les lapereaux sevrés depuis 10 jours, donc présentant *a priori* une ingestion d'amidon accrue, montrent une activité amylolytique 1,6 fois supérieure à celle des lapereaux encore allaités (Gutiérrez et al., 2002a).

II.C.3. Enzymes de la muqueuse intestinale

- Evolution post-natale

L'activité spécifique de la maltase augmenterait avec l'âge (Toofanian, 1984a; Debray et al., 2003). Cependant, Dojană et al. (1998) ayant étudié l'évolution de cette activité dans les trois segments de l'intestin grêle, relatent une évolution différentielle de celle-ci selon le site considéré : à 15 jours d'âge, l'activité maltasique est plus intense dans les segments antérieurs, puis celle-ci devient prépondérante dans les segments postérieurs avec l'âge. Ainsi, à 180 jours

d'âge, l'activité maltasique serait plus intense dans le jéjunum. L'activité spécifique de la saccharase (Toofanian, 1984a) augmenterait également avec l'âge.

La lactase, une β -galactosidase, hydrolyse le lactose du lait. Elle présente donc une activité spécifique importante pendant la lactation, qui décroît fortement après le sevrage (Gutiérrez et al., 2002a ; Toofanian, 1984a). D'autres β -galactosidases ont été isolées dans la muqueuse intestinale du jeune, sans que leurs rôles physiologiques n'aient été identifiés (Toofanian, 1984a; Toofanian, 1984b).

A notre connaissance, aucune donnée n'est disponible sur le développement des activités peptidasiques de la muqueuse intestinale du lapin.

◦ Influence de l'alimentation

La proportion d'amidon incorporée dans l'aliment de péri-sevrage des lapereaux (21,2% vs. 10,4%) n'influence pas l'activité spécifique de la maltase intestinale à 25, à 32 ou à 42 jours d'âge (Debray et al., 2003). Une stimulation précoce de l'ingestion d'aliment solide serait même néfaste au développement des enzymes de la bordure en brosse intestinale. Ainsi, à 35 jours, les lapereaux sevrés depuis 10 jours, donc présentant un ingéré d'aliment solide accru, présentent des activités spécifiques de la maltase et de la saccharase plus faibles de 30% et 48%, respectivement, à celles des lapereaux encore allaités (Gutiérrez et al., 2002a).

II.D. COLONISATION MICROBIENNE

II.D.1. Evolution post-natale

L'estomac du lapereau est presque stérile durant sa première semaine de vie. Puis sa population bactérienne augmente de façon très variable selon les individus, et se stabilise après le sevrage à des valeurs comprises entre 10^4 et 10^6 bactéries par gramme de contenu. La colonisation de l'intestin grêle est plus rapide et plus intense, avec de fortes variabilités individuelles notamment avant le sevrage. Ensuite, le nombre de bactéries cultivables se maintient entre 10^6 et 10^8 bactéries par gramme de contenu (Gouet et Fonty, 1979).

Dès la première semaine de vie des lapereaux, une flore abondante peuple le cæcum et le côlon (Gouet et Fonty, 1979). Au cours des deux premières semaines suivant leur naissance, les lapereaux hébergent dans leur cæcum des proportions similaires de microorganismes anaérobies stricts et aéro-anaérobies facultatifs. La flore totale augmente progressivement. A 15 jours, la flore anaérobie est déjà majoritairement composée de *Bacteroides*, et son dénombrement est équivalent à celui de l'adulte : de 10^{10} à 10^{11} bactéries par gramme de contenu cæcal (Padilha et al., 1995; Zomborszky-Kovács et al., 2000). En revanche, la flore

aéro-anaérobie facultative commence à décroître de manière importante (*Gouet et Fonty, 1979*). Ainsi, entre 15 et 29 jours, la flore colibacillaire décline de 10^8 à 10^3 - 10^5 bactéries par gramme de contenu cæcal (*Padilha et al., 1995*).

L'activité cellulolytique bactérienne est non détectable dans le cæcum de lapereaux de 2 semaines. Elle augmente ensuite jusqu'à atteindre un seuil à environ 35 jours, puis reste stable (*Padilha et al., 1995*). Entre 6 et 10 semaines d'âge, les activités fibrolytiques bactériennes ne semblent pas varier. En revanche, entre 10 et 24 semaines, les activités de la xylanase et de la pectinase augmenteraient (*Pinheiro et al., 2001*). La flore amylolytique cæcale, déjà active à 15 jours, semble stable entre 15 et 49 jours d'âge (*Padilha et al., 1995*).

Parallèlement, les concentrations des produits issus des fermentations cæcales augmentent. La concentration en acides gras volatils totaux croît de 15 à 25 jours, simultanément à l'ingestion d'aliment granulé, puis demeure relativement stable. La production d'acide acétique suit une évolution similaire, tandis que celle de l'acide butyrique augmente progressivement jusqu'à 49 jours (*Padilha et al., 1995*). La concentration en propionate, après avoir augmenté de 15 à 22 jours, décroît lentement mais régulièrement jusqu'à 49 jours. Ceci aboutit à une inversion du ratio propionate/butyrate (<1) autour de 25-30 jours d'âge des lapereaux (*Padilha et al., 1995; Zomborszky-Kovács et al., 2000; Gidenne et al., 2002*).

II.D.2. Influence de l'alimentation

La nature du lait distribué aux lapereaux semble importante dans le développement de leur microflore digestive. Ainsi, des lapereaux alimentés avec un substitut de lait de vache présentent des perturbations quantitatives et qualitatives de leur microflore digestive : entre la naissance et 14 jours, l'établissement de la microflore bactérienne est plus rapide et plus intense comparativement à celui de lapereaux recevant du lait de lapine, notamment dans l'estomac et l'intestin grêle, et les organismes aéro-anaérobies facultatifs dominant dans tous les compartiments digestifs (*Fonty et al., 1979*). Par ailleurs, le dénombrement des coliformes est plus important chez les animaux allaités deux fois par jour par 2 mères différentes, comparativement aux lapereaux en simple allaitement quotidien bénéficiant d'un accès à l'aliment solide (*Zomborszky-Kovács et al., 2000*).

Les travaux concernant l'influence de l'aliment solide sur le développement des fermentations cæcales sont nombreux. Le lien entre l'augmentation de l'ingestion d'aliment granulé et le développement des activités fermentaires cæcales chez le jeune est maintenant bien établi. Ainsi, une ingestion d'aliment granulé accrue, modulée par l'âge au sevrage ou par

la taille de portée, conduit à des concentrations en acides gras volatils plus importantes et à une chute du pH plus rapide au niveau du cæcum (*Piattoni et al., 1999; Di Meo et al., 2003; Xiccato et al., 2003*). Ces modifications seraient à relier à l'augmentation de l'ingestion de fibres (*Gidenne et al., 2000*).

III. D'UNE IMMUNITE PASSIVE, VIA LA LAPINE, A UNE IMMUNITE ACTIVE DU LAPEREAU

III.A. IMMUNITE PASSIVE TRANSMISE PAR LA MERE

Le lapereau, comme l'enfant ou le jeune singe, naît avec un équipement important d'immunoglobulines transmises par la mère au cours de la gestation (*Brambell, 1966*). A la naissance, le colostrum et le lait maternel viennent compléter ce pool d'anticorps, même si leur rôle est probablement moins déterminant que pour certaines espèces telles que le cheval, le porc, les bovins ou ovins qui naissent dépourvus ou presque d'anticorps, et pour lesquels la prise de colostrum est alors une question de survie (*Brambell, 1969*). Outre sa richesse en nutriments hautement énergétiques et en facteurs de croissance (Epidermal Growth Factor, Insulin-like Growth Factors 1 et 2, Transforming Growth Factors α et β), le colostrum contient de nombreux anticorps mais également des cellules impliquées dans la défense immunitaire, telles que des macrophages, leucocytes, lymphocytes B et T. Ces macrophages sont capables de produire du lysozyme, des composants du complément et des interférons. Le lait maternel transmet également le même type de cellules et des anticorps (*Uruakpa et al., 2002*). Si le profil des immunoglobulines des sécrétions mammaires est bien identifié chez la vache et la truie, celui de la lapine reste relativement méconnu : le colostrum et le lait de lapine contiendraient des IgG et des IgA (*Godzińska et al., 1970*). Chez la truie, les IgG prédominent dans le colostrum, tandis que les IgA sécrétoires vont dominer dans le lait. Pour la vache, les IgG1 prédominantes dans le colostrum, vont persister à un très haut niveau dans le lait (*Salmon, 1999*).

De nombreux facteurs antimicrobiens non spécifiques sont également transmis par le lait maternel : les caséines, des glycolipides et des oligosaccharides (*Kolb, 2001*).

III.B. DEVELOPPEMENT DE L'IMMUNITE ACTIVE

Parallèlement à la protection passive conférée par la lapine, l'immunité propre, active, du lapereau doit se mettre en place. A la naissance, le développement du système immunitaire humoral du lapin n'est pas achevé : les structures histologiques des tissus lymphoïdes périphériques sont immatures, et la production d'anticorps n'a pas encore débuté. Du GALT, le

premier organe lymphoïde à se développer est l'appendice cæcal, avec un début de colonisation par les lymphocytes à environ une semaine d'âge. Les follicules lymphoïdes se développent alors jusqu'à 5 ou 6 semaines. Les immunoglobulines sont détectables dans le sérum et l'appendice cæcal dès 1 à 2 semaines après la naissance, mais la réponse humorale aux antigènes reste minimale jusqu'à 2 ou 3 semaines d'âge (*Knight et Winstead, 1997*).

Parallèlement au développement de la capacité des lapereaux à synthétiser des immunoglobulines, le répertoire des anticorps doit se diversifier afin de reconnaître un très grand nombre d'antigènes de l'environnement. Cette diversification est réalisée en 3 étapes. Un premier répertoire néonatal résulte d'un réarrangement combinatoire des gènes VDJ au cours de la lymphopoïèse de la lignée B dans le foie du fœtus et dans la moelle osseuse. Ce répertoire est relativement limité. Puis entre 3 et 8 semaines d'âge, une diversification importante du répertoire a lieu dans le GALT, notamment dans l'appendice cæcal : conversion et hypermutation de séquences des gènes VDJ s'associent à une prolifération importante des cellules B (*Knight et Winstead, 1997*). Cette diversification est tardive chez le lapin, contrairement aux volailles, ovins et bovins, pour lesquels elle est amorcée avant la naissance. Cette observation a conduit des chercheurs à émettre l'hypothèse que cette diversification ne serait pas régulée uniquement par des facteurs ontogéniques, mais que des facteurs exogènes, tels que la microflore, pourraient exercer un rôle essentiel. Aussi, il a été montré sur des lapins ayant un appendice cæcal ligaturé à la naissance, donc non au contact du contenu intestinal, que la diversification des gènes VDJ était presque nulle à 12 semaines d'âge. La genèse de ce répertoire primaire serait donc sous la dépendance de facteurs exogènes, notamment des microorganismes (*Lanning et al., 2000a*). Ce répertoire primaire confère au lapin une collection diversifiée d'anticorps qui vont pouvoir interagir avec des agents infectieux potentiels. Ensuite, ce répertoire peut encore être modifié au cours d'une réponse immunitaire spécifique à une stimulation antigénique. On parle alors de répertoire d'anticorps secondaire. Des hypermutations et des conversions géniques permettront alors d'accroître la spécificité des anticorps à l'antigène rencontré (*Lanning et al., 2000a*).

IV. LE SEVRAGE : UNE TRANSITION NON MAITRISEE EN ELEVAGE CUNICOLE

IV.A. UNE SITUATION SANITAIRE INSTABLE EN FRANCE

IV.A.1. Fréquence des affections du système digestif

Les taux de mortalité affectant les lapereaux avant et après sevrage sont importants en élevage cunicole. Ainsi, les données regroupées au plan national par l'ITAVI pour l'année 2003, et représentant plus de la moitié du cheptel des reproductrices des élevages professionnels (plus de 20 lapines en reproduction) révèlent des taux de mortalité avoisinant 15% avant le sevrage, et 10 à 14% en engraissement (*Cuniculture magazine*, 2005, vol. 32). Les maladies du système digestif sont responsables de la plupart de ces pertes. Elles vont être sommairement détaillées ci-après.

IV.A.2. Complexité de l'étiopathogénie des affections du système digestif

Les étiologies des maladies du tractus digestif sont nombreuses et souvent mal identifiées. En effet, si parfois un agent pathogène spécifique peut être identifié comme cause primaire, il en découle bien souvent un déséquilibre de la flore et des conséquences secondaires. Aussi, plusieurs agents pathogènes peuvent être isolés sur un même animal et parfois même, aucune cause infectieuse connue n'est identifiée.

Ainsi, deux types d'agents infectieux sont classiquement définis : les agents pathogènes spécifiques et les agents opportunistes. Les premiers sont normalement absents d'un individu sain et capables de provoquer une pathologie chez ce même individu lorsqu'ils le contaminent. L'expression clinique de la maladie dépend alors de la charge microbienne, des facteurs de virulence du micro-organisme, de la réponse immunitaire de l'hôte... Les germes opportunistes peuvent en revanche être des contaminants de la flore commensale d'un individu sain. Leur développement est normalement contrôlé mais dans certaines conditions, ils deviennent capables de se multiplier en grand nombre et de provoquer une maladie (immunodépression permanente ou transitoire, inoculation accidentelle au travers d'une barrière naturelle...). Aussi, pour certains auteurs, la limite entre flore "normale" et "pathogène" est floue. Pour *Falk et al. (1998)*, l'existence et le développement de microorganismes de l'écosystème intestinal aura un impact sur l'hôte dépendant de facteurs exprimés soit par la bactérie, soit par l'hôte, ou encore par les deux protagonistes. Ces propriétés peuvent être intrinsèques ou sous l'influence de l'environnement. Ainsi, la maladie ne sera initiée et ne progressera qu'en conséquence d'un mécanisme combinant un certain nombre de facteurs de l'hôte et du microorganisme.

Le rôle de facteurs favorisants dans la sensibilité des lapereaux à un agent pathogène ne doit alors pas être négligé : stress, traitement antibiotique, environnement nutritionnel...

IV.A.3. Revue des principales maladies digestives

Marlier et al. (2003) ont récemment recensé et décrit les principales étiologies des maladies du système digestif chez le lapin européen.

Les causes bactériennes sont dominées par les *Escherichia coli* (*E. coli*) entéropathogènes qui seront décrits ci-après (cf. page 76). Les *Clostridium* des espèces *piliforme* et *spiroforme* peuvent également être responsables de maladies digestives. La maladie de Tyzzer (*C. piliforme*) occasionne dans sa forme aiguë des diarrhées chez les lapereaux, principalement au moment du sevrage. Dans sa forme chronique, elle conduit à des retards de croissance. Une typhlite pseudomembraneuse, associée à un œdème important de la paroi cœcale, est observée à l'autopsie. La clostridiose à *C. spiroforme* est également responsable d'une typhlite, parfois hémorragique, avec un contenu cœcal très liquide.

Différents virus sont régulièrement isolés sur des lapins morts suite à des troubles digestifs : parvovirus, rotavirus, coronavirus, adenovirus... Cependant, une intervention directe de ceux-ci dans la genèse des affections du système digestif n'est suspectée que pour les rotavirus, qui seraient à l'origine de désordres mineurs et temporaires.

De même de nombreux parasites, principalement les coccidies du genre *Eimeria*, sont isolés. Cependant, leur intervention primaire dans le syndrome diarrhéique n'est pas aisée à établir.

D'autres pathologies restent d'étiologie méconnue à ce jour. Parmi elles, l'entéropathie épizootique du lapin (EEL) a émergé en France en 1996, et est maintenant largement répandue en Europe. Cette maladie, d'apparition brutale, atteint des animaux de 6 à 14 semaines. Ceux-ci présentent une diarrhée aqueuse de faible intensité, un ballonnement abdominal considérable, conduisant en l'absence de traitement à un taux de mortalité très élevé (30 à 80%). A l'autopsie, tous les segments intestinaux présentent une dilatation importante avec présence d'un contenu très liquide, parfois gazeux. Une parésie cœcale et une hypersécrétion de mucus dans le côlon sont parfois mises en évidence. En l'absence de complications secondaires, cette maladie est caractérisée par l'absence de lésions inflammatoires. L'hypothèse d'une étiologie infectieuse est aujourd'hui privilégiée au vu des observations

épidémiologiques et expérimentales (reproduction expérimentale possible de la maladie avec différents inoculums). En 2003-2004, 61 éleveurs parmi un réseau national de 95 fermes cynicoles de référence déclaraient être confrontés à des problèmes d'entéropathie épizootique (Azard, 2005).

Une autre maladie du lapin, relativement proche, est l'entéropathie mucoïde. Ce syndrome présente des similitudes avec le précédent : distension abdominale, parésie cœcale et hypersécrétion de mucus dans le côlon, mortalité importante. Il s'en distingue, d'une part par l'absence de dilatation de l'estomac et de l'intestin grêle, et d'autre part par l'extension beaucoup plus sporadique de cette maladie dans les élevages. Son étiologie est inconnue, et contrairement à la précédente maladie, elle n'a jamais pu être reproduite expérimentalement par inoculation. Seule une ligature du cæcum ou du côlon a permis de reproduire les lésions observées lors de l'entéropathie mucoïde.

IV.A.4. Un exemple d'agent infectieux : les *Escherichia coli* entéropathogènes

Cet agent ayant été choisi comme modèle d'étude dans le travail expérimental, sa description sera plus détaillée.

° Description

L'accroissement de la population des *E. coli* est fréquent lors d'un épisode diarrhéique. Dans la plupart des cas, il témoigne seulement de modifications environnementales aboutissant à la croissance anarchique de la population colibacillaire. Mais parfois, certaines souches sont la cause primaire de la maladie : elles sont capables d'induire une colibacillose lorsqu'elles sont inoculées oralement à un animal sain (Milon *et al.*, 1999).

Les *E. coli* sont des bacilles gram négatifs mobiles ou immobiles, aéro-anaérobies facultatifs appartenant à la famille des entérobactéries. Leur structure est détaillée sur la Figure 15.

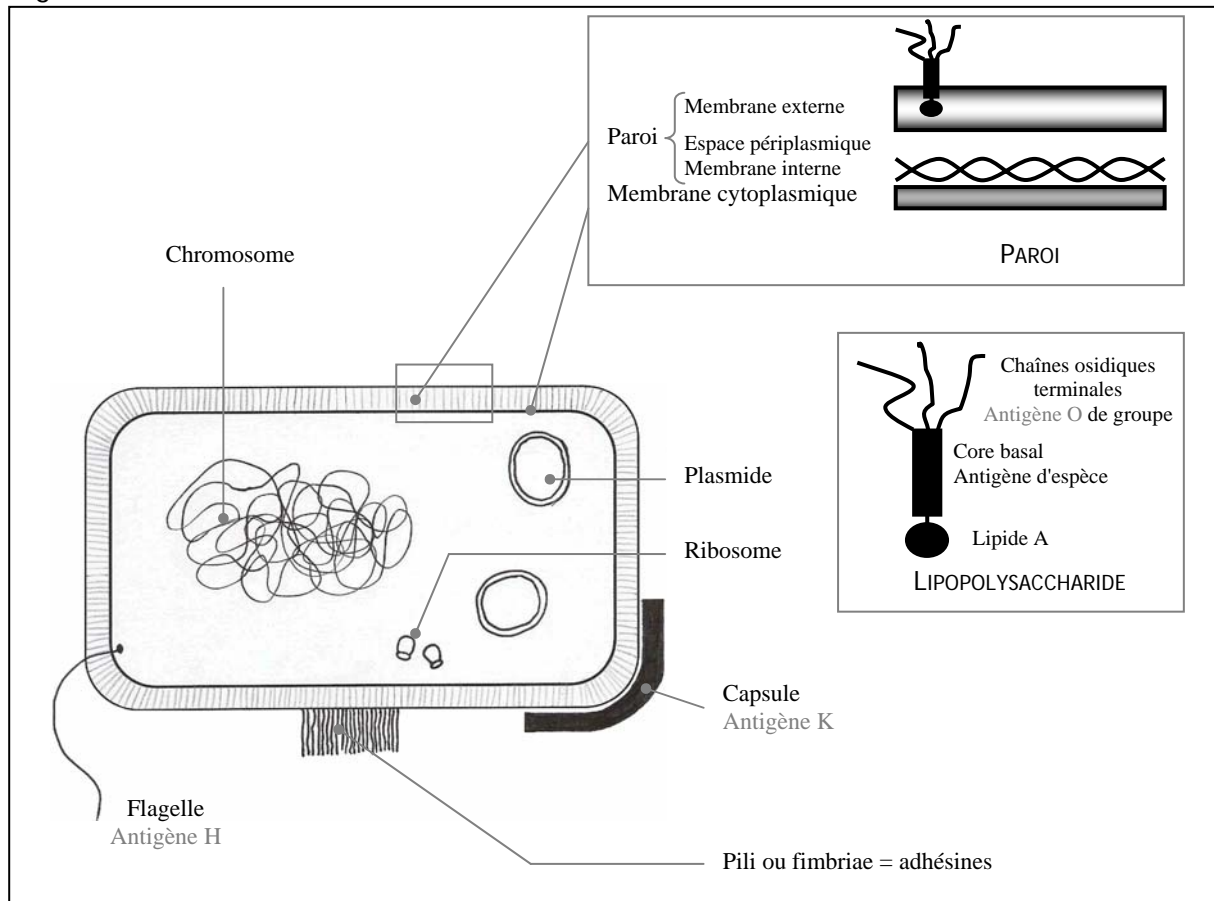
Le sérotypage des souches est basé sur 3 antigènes distincts :

- ✓ Antigène O ou de paroi : de nature lipopolysaccharidique, il est à la base du groupage sérologique des souches d'*E. coli*.
- ✓ Antigène H ou flagellaire : de nature protéique, il est présent chez les formes mobiles d'*E. coli*
- ✓ Antigène K ou de capsule, présent ou non.

° Pathogénie des *E. coli*

Les *E. coli* responsables de diarrhée chez l'homme sont classés en 5 groupes, ou pathovars, selon leur mécanisme pathogénique : entérotoxigène (ETEC), entéroinvasif (EIEC), entérohémorragique (EHEC), entéropathogène (EPEC) et entéroaggrégatif (EAEC) (Nataro et Kaper, 1998).

Figure 15 Structure des *Escherichia coli*



D'après Licois, 1990.

Chez le lapin, les souches d'*E. coli* reconnues pathogènes se rapprochent toutes du pathovar EPEC de l'homme. Elles s'en distinguent par la première étape d'adhésion lâche aux entérocytes, et sont donc classées dans le groupe des EPEC-like (*cf. infra*). La pathogénie fait intervenir trois étapes d'interaction avec la cellule-cible (Donnenberg et Kaper, 1992) :

✓ Un attachement lâche par différentes adhésines bactériennes (fimbriae AF/R1 ou AF/R2 identifiées chez le lapin). Celles-ci reconnaissent la fraction glucidique des glycolipides et glycoprotéines présents à la surface des cellules eucaryotes. Cette étape est réversible. Lorsqu'elle est étudiée *in vitro*, cette adhésion aux cellules épithéliales est généralement diffuse avec les souches du lapin (Milon *et al.*, 1990). En revanche, la

plupart des souches humaines provoquent une adhésion localisée, phénotype lié à une fimbriae appelée "bundle forming pili" (*Girón et al., 1993*).

✓ Un contact plus étroit nécessitant l'expression de protéines d'origine bactérienne (l'intimine et son récepteur Tir). Tir (Translocated Intimin Receptor) est transloqué dans la cellule hôte, *via* un système sécrétoire de type III, nécessitant au moins 3 effecteurs différents (EspA, EspB et EspD) (*Jarvis et al., 1995; Kenny et al., 1997*). L'intimine, une adhésine de la membrane externe de la bactérie, se fixe alors sur la protéine Tir insérée dans la membrane de la cellule épithéliale de l'hôte (*Marches et al., 2000*). Toutes ces protéines sont codées par des gènes situés dans une région du chromosome bactérien, appelée locus d'effacement des entérocytes (LEE) (*Zhu et al., 2001*).

✓ Cette interaction aboutit à une lésion microscopique appelée "attachement/effacement" des microvillosités de la cellule-hôte, lésion commune aux *E. coli* des pathovars EPEC et EHEC. Le cytosquelette de la cellule-hôte est réorganisé, conduisant à une structure en forme de piédestal en deçà du site d'attachement de la bactérie (*Heczko et al., 2000b*).

Le sort de la cellule cible est ensuite moins bien expliqué. Le signal pourrait être à l'origine de la mort de la cellule, ou au moins responsable de troubles hydroélectrolytiques (*Milon et al., 1999*). Ces *E. coli* ne produisent pas de toxines connues, et seraient non invasifs.

Les mécanismes conduisant à la diarrhée sont encore mal expliqués mais quelques hypothèses sont émises : diarrhée par malabsorption liée à la perte des microvillosités entérocytaires, mécanisme sécrétoire plus actif (perturbation des échanges ioniques), augmentation de la perméabilité intestinale, inflammation (*Nataro et Kaper, 1998*).

◦ Epidémiologie

En 2003-2004, 25 éleveurs parmi un réseau national de 95 fermes cunicoles de référence déclaraient rencontrer des problèmes de colibacillose dans leur élevage (*Azard, 2005*). Le sérotype le plus fréquemment incriminé dans les colibacilloses du lapin en France est sans conteste le O103. Les sérotypes O2, O68, O128 et O132 sont également rencontrés. La majorité des souches O103 entéropathogènes ne métabolisent pas le rhamnose. Elles sont dites rhamnose-négatives et représentent les souches les plus virulentes (*Camguilhem et Milon, 1989*). Ces différents sérotypes ont des préférences marquées pour certaines catégories d'animaux (allaités *vs.* sevrés) (*Peeters et al., 1984c*). Ainsi, les lapins âgés de 4 à 5 semaines seraient les plus sensibles à une infection par les *E. coli* du sérotype O103 (*Licois et al., 1990*). Toutes les classes d'âge peuvent cependant être touchées, et la transmission se fait par l'intermédiaire d'un animal porteur ou de l'environnement.

◦ Symptômes et lésions

Les signes cliniques ne sont pas pathognomoniques : prostration, diminution de l'ingestion et perte de poids, diarrhée, déshydratation et mort. Les lésions macroscopiques sont un contenu intestinal et cæcal liquide avec ou sans hémorragie, une congestion de l'intestin grêle et du cæcum avec parfois des traces hémorragiques dites "en coup de pinceau". Le cæcum peut contenir du gaz (*Peeters et al., 1984b*).

L'étude des lésions microscopiques révèle une abrasion des villosités de l'intestin grêle, avec de nombreuses bactéries attachées à l'épithélium. La lésion d'attachement/effacement sur les membranes entérocytaires est caractéristique, avec l'apparence d'une bactérie siégeant sur un piédestal (*Nataro et Kaper, 1998*). Des lésions inflammatoires sont également présentes (congestion des vaisseaux sanguins, œdème, extravasation de cellules de l'inflammation et d'érythrocytes) notamment au niveau du cæcum et du côlon proximal (*Peeters et al., 1984b*).

◦ Prophylaxie

Outre des cures médicamenteuses préventives et des mesures de prophylaxie sanitaire (procédés de désinfection, suppression des reproducteurs contaminés, stabilité de cheptel...), la vaccination est une piste intéressante. En effet, les colibacillooses représentent un problème majeur en élevage cunicole, d'une part par les pertes économiques engendrées (pertes d'animaux, non-valeurs économiques, coût des traitements), et d'autre part par l'émergence de souches antibiorésistantes. Deux équipes notamment, française et belge, travaillent à l'élaboration de vaccins contre les sérogroupes O103 (*Milon et al., 1992; Boullier et al., 2003a*) et O15 (*Bohez et al., 2004a; Bohez et al., 2004b*), respectivement.

IV.B. VOIES D'AMELIORATION DE LA TRANSITION AUTOUR DU SEVRAGE DES LAPEREAUX

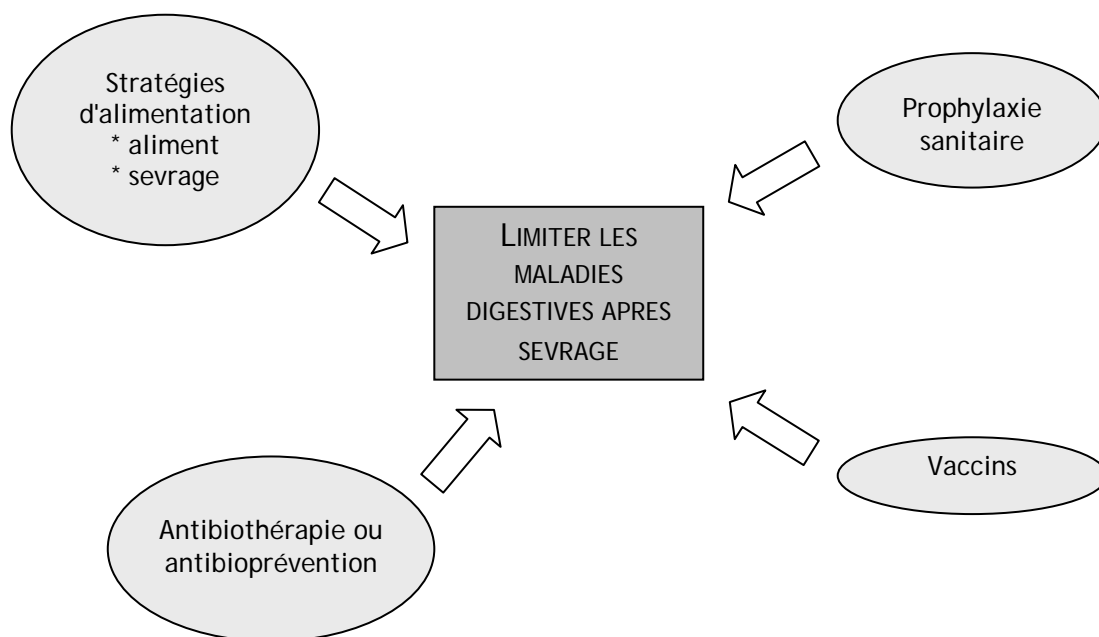
IV.B.1. Prophylaxies sanitaire et médicale, traitements

La question de la lutte contre les maladies digestives du lapereau après sevrage peut être abordée à différents niveaux (Figure 16). L'usage des traitements antibiotiques, préventifs et/ou curatifs, devrait être ponctuel. En effet, les coûts engendrés sont importants pour l'éleveur (frais de supplémentation et frais vétérinaires estimés à 0,16 euros par kg de poids vif en 2003, *Cuniculture magazine, 2005, vol. 32*) et le développement d'antibiorésistances tend à en diminuer l'efficacité, et devient une préoccupation de santé publique. Ainsi, la réglementation européenne tend à une limitation de leur usage à des fins strictement thérapeutiques (*Journal officiel de l'Union européenne du 14/03/2003, pp. C61/43 à C61/48*).

Les mesures de prophylaxie sanitaire ne sont pas à négliger. La conduite de l'élevage, notamment des reproducteurs (renouvellement, gestion des réformes), les protocoles de nettoyage et de désinfection sont des points à maîtriser afin de limiter les risques de développement de maladies.

La vaccination est une mesure de prévention de choix lorsque les agents pathogènes sont identifiés. Ainsi, à l'heure actuelle, seuls les vaccins contre la maladie hémorragique virale et la myxomatose sont commercialisés en élevage cynicole. Pour ce qui concerne les maladies digestives, aucun vaccin n'est encore disponible.

Figure 16 Stratégies de lutte contre les maladies digestives du lapereau après sevrage



IV.B.2. Adapter l'alimentation du jeune

° Intérêts

L'alimentation autour du sevrage nous semble digne d'intérêt car non encore maîtrisée : modalités de réalisation du sevrage, composition de l'aliment de péri-sevrage, modes de distribution de l'aliment. L'adaptation de l'alimentation du lapereau autour du sevrage nécessite que l'on s'intéresse d'un point de vue plus large à la nutrition du jeune. En effet, la compréhension des mécanismes de la mise en place des structures digestives et de leur fonctionnement, notamment l'implication des facteurs exogènes tels que l'aliment ou la flore, s'avère indispensable. Or, peu de données sont disponibles chez le lapereau, et certaines divergent. De plus, l'implication des facteurs exogènes dans la chronologie de la mise en place

de l'écosystème intestinal est souvent négligée. Ceci pourrait expliquer en partie les divergences observées entre les études.

Ainsi, des travaux d'adaptation de l'aliment péri-sevrage ont été réalisés ces dernières années, parfois élaborés à partir des données de physiologie, lorsqu'elles étaient disponibles, ou alors conçus de manière plus empirique. Les Tableau 10 et Tableau 11, non exhaustifs, présentent les conséquences de quelques stratégies d'alimentation autour ou après le sevrage sur la croissance et la mortalité des lapereaux.

- En modulant l'ingestion d'aliment solide avant le sevrage

Des auteurs ont suggéré qu'une augmentation substantielle de l'ingéré d'aliment solide avant le sevrage pourrait être bénéfique pour la viabilité des lapereaux après sevrage (*Maertens et De Groot, 1990*). Cependant, il semble d'après les données présentées dans le Tableau 10 que la modulation de l'ingestion avant sevrage, qu'elle soit augmentée ou diminuée, n'a aucune incidence sur la mortalité post-sevrage. Cependant, les taux de mortalité et/ou les effectifs sont souvent trop faibles pour pouvoir formuler des conclusions claires. En revanche, la croissance avant sevrage est ralentie si les apports d'aliment granulé sont limités ou si l'allaitement est arrêté précocement, mais sans conséquences en général sur les poids à l'abattage.

- En modulant la composition chimique des aliments

Peu d'études de modifications de la composition chimique de l'aliment concernent celui distribué avant sevrage (Tableau 11). En effet, cela nécessite soit 1) de séparer la mère de ses lapereaux et d'effectuer un allaitement contrôlé chaque matin 2) d'utiliser des cages permettant une alimentation séparée mère-lapereaux, ou 3) de soumettre la lapine au même régime alimentaire que sa portée. Par ailleurs, l'interprétation des études visant à moduler la composition de l'aliment doit être prudente. En effet, la modification quantitative d'un constituant de l'aliment entraîne une évolution contraire d'au moins un deuxième composant. Les effets observés sont alors davantage attribuables à un ratio de différents composants.

Tableau 10 Influence de la modulation du niveau d'ingestion d'aliment solide avant sevrage sur la croissance et la santé des lapereaux

		CARACTERISTIQUES		INGESTION		CROISSANCE		MORTALITE		REMARQUES	Référence
		Age sevrage (j)	Distribution aliment (j)	Avant S	Après S	Avant S	Après S	Avant S	Après S		
Taille de portée	L10 vs. L5 à J16	28	A16	↘	↘ _{J36} puis =	↗	=	ND	=	Mortalité = 17%	<i>Di Meo et al., 2003</i>
	L10 vs. L4 à J16	32	A16	↘	=	↗	=	=	=	Mortalité plus faible pour L4 entre J16 et J42 (17% vs. 29%)	<i>Fortun-Lamothe et Gidenne, 2000</i>
Age au sevrage	S32 vs. S28 vs. S25 vs. S21	-	A18	ND	=	↘	=	ND	ND		<i>Xiccato et al., 2000</i>
	S32 vs. S18	-	A18	↗	=	↘	=	=	=	3 portées / traitement Fin de l'étude à J56	<i>Piattoni et al., 1999</i>
Aliment distribué avant sevrage	Rationnement de 60% à partir de J25	35	A20	↘	↘	↘	=	ND	=	Mortalité < 6%	<i>Nizza et al., 2001</i>
Age distribution aliment	A18 vs. A22 vs. A25 vs. A28	32	-	↘	↘	↘	=	=	=	3 portées / traitement Fin de l'étude à J56 1 seul mort	<i>Piattoni et al., 1999</i>
Double allaitement	De J0 jusqu'à J35	35	A0 (aliment lapine)	↘	↗	↗	↗	=	=	Mortalité < 10% de 0 à 70j – Aliment médicamenteux de 18 à 70j	<i>Gyarmati et al., 2000a</i>

ND = non déterminé; S = sevrage; Lx = nombre de lapereaux par portée; Ax = âge de distribution de l'aliment; Sx = âge au sevrage.

Ces dernières années, de nombreuses études se sont intéressées au ratio fibres / amidon. Chez le jeune, une faible capacité à digérer l'amidon a été suspectée en raison d'une faible production d'amylase pancréatique avant sevrage. Des apports élevés d'amidon pourraient alors conduire à un déséquilibre de la flore cœcale, suite à un flux trop important d'amidon non digéré franchissant l'iléon terminal (*Cheeke et Patton, 1980*). D'après les données recensées dans le Tableau 11, les lapereaux sevrés semblent disposer d'un seuil de tolérance élevé à l'amidon, supérieur aux taux habituels d'incorporation dans l'aliment des lapines (>20%), et par conséquent toléreraient un faible apport en fibres. Une étude rapporte cependant qu'un aliment appauvri en fibres (ADF : 24 vs. 14%) et enrichi en amidon (12 vs. 34%) augmente la sensibilité des lapereaux à une colibacillose expérimentale dans les 20 jours suivant l'inoculation (35,3 vs. 16,6%) (*Gidenne et Licois, 2005*).

La croissance des lapereaux recevant un aliment avec un ratio fibres / amidon faible est souvent améliorée, résultant probablement d'un ingéré d'énergie digestible plus important, avec cependant un effet seuil pour une teneur en amidon de 30% de la matière sèche.

Peu d'études se sont intéressées à l'influence des taux de protéines ou de lipides incorporés dans la ration sur la croissance et la santé des lapereaux.

- En modulant la source de nutriments

Des études se sont appliquées à décrire l'influence de la source des nutriments sur la santé des lapereaux. Ainsi, les protéines de pommes de terre seraient assez mal tolérées par le lapereau, conduisant à des taux de mortalité importants lorsque incorporées à 3% dans l'aliment, comparativement à des sources protéiques comme les tourteaux de soja ou de tournesol (*Gutiérrez et al., 2003*). La source d'amidon, qu'elle soit de blé, d'orge, de maïs, de maïs extrudé ou de pomme de terre, n'aurait pas de conséquences sur la santé des lapereaux (*Pinheiro et Gidenne, 2000; Xiccato et al., 2002; Gidenne et al., 2005b*). En revanche, une substitution de 25 à 50% de l'amidon par du lactose dans un aliment starter distribué entre 25 et 39 jours est préjudiciable pour la santé des lapereaux après le sevrage (*Gutiérrez et al., 2002a*).

Tableau 11 Influence de la modulation de la composition de l'aliment sur la croissance et la santé des lapereaux

	CARACTERISTIQUES		INGESTION		CROISSANCE		MORTALITE		REMARQUES	Référence	
	Composition (% de MS)	Age sevrage (j)	Distribution aliment (j)	Avant S	Après S	Avant S	Après S	Avant S			Après S
	Amidon : 17- 21 NDF : 40-35	35	A35-A73	-	=	-	↗	-	=	Traitement AB eau de boisson de J39 à J45	<i>Xiccato et al., 2002</i>
	Amidon : 14-18-22-26 HC+pectines : 28-24-21-17	28	A28-A72	-	↘	-	=	-	↗ pour amidon >22		<i>Perez et al., 2000</i>
	Amidon : 12-25-34 ADF : 24-18-14	28	A28-A70	-	↘	-	=	-	=		<i>Gidenne et al., 2000</i>
↗ amidon ↘ fibres	Amidon : 3-11-22-31-41 ADF : 25-22-18-16-10	28	A28-A79	-	↘	-	↘ pour amidon=2,7 ↗ pour amidon=11 et 22	-	↗ pour amidon = 41		<i>Gidenne et al., 2004</i>
	Amidon : 17-23 NDF : 41-34	25	A25-A39	-	=	-	↗	-	↘	Aliment médicamenteux	<i>Gutiérrez et al., 2002a</i>
	Amidon : 14-17 ADF : 20-17	32	A18-A44 pour amidon 14 A18-A32 pour amidon 17	↗	↘	↗	↘	↘	=	Aliment finition (amidon=20, ADF=34)	<i>Debray et al., 2003</i>
↗ protéines ↘ fibres	Protéines : 16-17-18-19 HC+pectines : 24-23-22-21	28 à 37	Sevrage- Abattage	-	=	-	=	-	↗	Composition aliments approximative. Etude multi-sites : traitement AB eau de boisson dans 3/7 sites	<i>Gidenne et al., 2001b</i>
↗ cellulose ↘ ADL	Cellulose : 10-13-16 ADL : 8- 5,5-3	28 et 32	Sevrage- Abattage	-	=	-	↘	-	↘		<i>Gidenne et al., 2001a</i>

MS : matière sèche; S = sevrage; Ax = âge de distribution de l'aliment; HC = hémicelluloses; AB : antibiotique.

- En incorporant des additifs

Des essais d'incorporation de différents additifs dans l'aliment starter des lapereaux ont été réalisés. L'ajout d'extraits enzymatiques (amylase, pectinase, glucanase et xylanase) dans l'aliment, du sevrage à 25 jours jusqu'à l'âge de 39 jours, a donné des résultats intéressants : la mortalité post-sevrage était dans cette étude de 7% contre 14% pour les lapereaux recevant un aliment non supplémenté (Gutiérrez *et al.*, 2002b). L'effet bénéfique de ces extraits enzymatiques sur la santé des lapereaux est retrouvé en engraissement, avec une diminution de 7 à 12 points de la mortalité selon leur taux d'incorporation (Cachaldora *et al.*, 2004). La supplémentation avec une huile riche en triglycérides à chaînes moyennes (acides caprylique et caprique) à 10 g.kg⁻¹ dans l'aliment des lapereaux après le sevrage a permis de réduire le taux de mortalité en engraissement de 27,8% à 15,7% (Skřivanová *et al.*, 2004).

Les pré- et probiotiques, pour lesquels l'intérêt est croissant dans l'alimentation humaine, n'ont pas encore trouvé d'application en alimentation cunicole pour améliorer la santé des lapereaux, en raison probablement de résultats aléatoires.

Concernant les prébiotiques, différents oligosaccharides ont été testés sans résultats probants. Des lapins de 51 jours inoculés avec une souche d'*E. coli* O103 ont présenté un taux de mortalité d'environ 20%, que leur aliment soit supplémenté à 0,25% avec des fructo-oligosaccharides ou non (Morisse *et al.*, 1992). Les gluco-oligosaccharides incorporés à 1,5% dans l'aliment de croissance auraient même un effet négatif en doublant le taux de mortalité en engraissement (Gidenne, 1995).

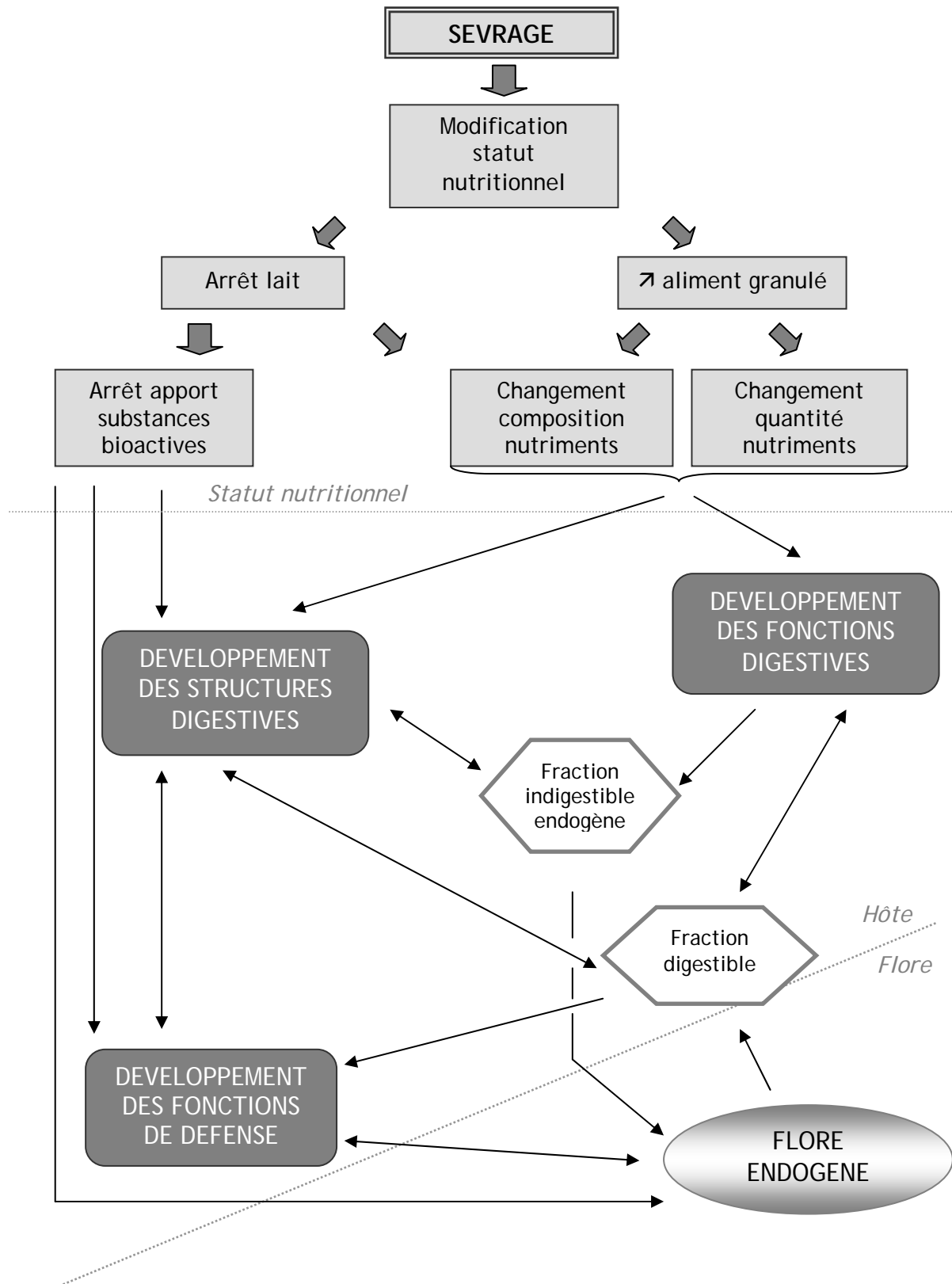
Des essais d'incorporation de probiotiques, visant à améliorer la santé des lapereaux après le sevrage, notamment des spores du genre *Bacillus* ne sont pas très concluants (De Blas *et al.*, 1991; Trocino *et al.*, 2005). Il en est de même pour des probiotiques à base de levures des genres *Saccharomyces* et *Aspergillus* ou d'un mélange de bactéries des genres *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Bacillus* incorporés dans l'aliment à 1 g.kg⁻¹ : les taux de mortalité des lapereaux de la naissance à l'abattage sont respectivement de 46 et 28%, vs. 42% pour le témoin (Hollister *et al.*, 1990).

CONCLUSIONS ET OBJECTIFS DE CE TRAVAIL DE THESE

La forte prévalence des affections du système digestif chez le lapin en croissance pourrait être le témoin d'une mauvaise préparation nutritionnelle du lapereau autour du sevrage. En effet, d'un aliment liquide, le lait, riche en protéines et en lipides hautement digestibles, le jeune lapereau doit s'adapter à un aliment granulé solide contenant des nutriments non familiers, tels l'amidon ou les fibres. Qui plus est, l'apport de nombreuses substances bioactives présentes dans le lait, très probablement impliquées dans les phénomènes de développement et de défense du lapereau, est stoppé. Ces phénomènes, plus ou moins progressifs selon l'âge auquel le sevrage est réalisé, suscitent des adaptations comportementales (plusieurs repas) et physiologiques alors que les organes impliqués dans les fonctions de digestion et de défense sont en cours de développement structural et fonctionnel. Par ailleurs, la flore commensale s'installe et subit, elle aussi, les modifications de l'environnement nutritionnel, directement conditionnées par les variations quantitatives et qualitatives des constituants alimentaires ingérés, mais également par les capacités du lapereau à les digérer. En effet, la fraction alimentaire indigestible par les sécrétions propres du lapereau va directement influencer le flux qualitatif et quantitatif de nutriments parvenant au cæcum, lieu de vie privilégié des microorganismes. Or, cette microflore jouera également un rôle important dans la fonction de défense des lapereaux contre les agents indésirables. C'est dans le cadre de cette complexité des différentes interactions au sein du système digestif, résumée sur la Figure 17, que nous avons abordé ce travail.

L'alimentation conditionne très probablement la maturation structurale et fonctionnelle du système digestif du lapereau. Cependant, l'intervention de celle-ci dans le développement du jeune, et son importance relative par rapport aux phénomènes ontogéniques, est relativement méconnue chez le lapereau. Or, la compréhension de l'implication des facteurs exogènes sur la maturation des fonctions de digestion et de défense face aux agents indésirables s'avère indispensable pour adapter au mieux l'alimentation autour du sevrage.

Figure 17 Complexité des interactions possibles entre les modifications de statut nutritionnel au sevrage, l'hôte et la flore microbienne au sein du tractus digestif



Par une approche assez fondamentale, nous avons choisi dans une première partie expérimentale (chapitre 1) de décrire dans quelle mesure le statut nutritionnel du lapereau autour du sevrage pouvait intervenir sur le développement des structures et des fonctions digestives. Pour cela, moduler l'âge au sevrage des lapereaux permet de modifier le statut nutritionnel non seulement quantitativement, mais également qualitativement par le biais du ratio ingéré lait / aliment. Nous nous sommes intéressés aux structures et aux fonctions digestives dans différents compartiments du tractus digestif, ainsi qu'aux bilans digestifs iléal et fécal nous permettant d'estimer les flux de nutriments au sein du tractus digestif. Ce dernier aspect a nécessité des adaptations méthodologiques afin de déterminer de manière plus précise la digestibilité des nutriments chez le jeune.

Nous avons ensuite étudié, dans une deuxième partie (chapitre 2), quelles pouvaient être les répercussions de cette variation de statut nutritionnel sur la fonction de défense du lapereau face aux agents indésirables. Ainsi, nous avons déséquilibré expérimentalement la flore intestinale des lapereaux, par l'inoculation orale d'un colibacille entéropathogène du sérotype O103.

D'après les résultats obtenus dans ces deux premières parties et les données disponibles dans la littérature, nous avons développé dans une troisième partie expérimentale (chapitre 3) une approche plus appliquée en proposant une stratégie alimentaire (modification de la composition de l'aliment de péri-sevrage) dans le but d'atténuer la sensibilité des lapereaux à une colibacillose expérimentale.

Ainsi, outre contribuer aux connaissances sur la dynamique du développement structural et fonctionnel du système digestif du lapin, ce travail intègre une démarche pluridisciplinaire, permettant une approche globale des interactions entre l'alimentation, la physiologie et la santé digestives du lapereau.

ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 1 - LE STATUT NUTRITIONNEL DU LAPEREAU, VIA LA MODULATION DE L'AGE AU SEVRAGE, INFLUENCE-T-IL LE DEVELOPPEMENT DE LA FONCTION DE DIGESTION ?

I. OBJECTIFS ET CHOIX DU MODELE

I.A. OBJECTIFS

Le développement de la fonction digestive chez le jeune est guidé par une programmation ontogénique mais d'autres facteurs, tels que l'aliment ou la microflore, sont susceptibles de l'influencer (*Kelly et Coutts, 2000*). Aussi, nous avons choisi d'étudier l'influence du statut nutritionnel sur la dynamique du développement des structures et des fonctions digestives chez le lapereau avant et après le sevrage, entre 2 et 7 semaines d'âge. Nous nous sommes intéressés :

- ✓ au développement anatomique et histologique de différentes structures impliquées dans la digestion
- ✓ au développement des activités des enzymes pancréatiques et de la bordure en brosse entérocytaire
- ✓ au développement de l'activité microbienne cæcale.

Nous nous sommes également intéressés à l'efficacité de la digestion "*in vivo*", endogène et totale, en mesurant respectivement les digestibilités iléale et fécale de l'aliment granulé. Leur estimation a permis d'effectuer un bilan de la digestion des différents nutriments.

I.B. CHOIX DU MODELE

Afin de faire varier le statut nutritionnel du lapereau, plusieurs possibilités s'offraient à nous. La première était de moduler la composition de l'aliment distribué aux lapereaux autour du sevrage. Cependant, un changement d'un des composants de l'aliment implique une modification contraire d'au moins un autre de ses constituants (formule fermée à 100%). Il est alors difficile d'identifier quelle modification est à l'origine des changements constatés sur les paramètres mesurés. De plus, au cours des 3 à 4 premières semaines de vie du lapereau, la consommation d'aliment est quantitativement faible, et la mise en évidence des phénomènes d'adaptation à la composition de l'aliment devient alors difficile à explorer. Une deuxième possibilité était de moduler la quantité d'aliment ingérée au cours de la période entourant le sevrage. Plusieurs méthodes permettent de faire varier l'ingestion : la diminuer en rationnant les lapereaux, la stimuler avant sevrage en modulant la taille de portée ou en sevrant les

lapereaux plus précocement. Notre but étant de comprendre l'influence de l'alimentation sur le développement de la fonction digestive, il nous importait de choisir un modèle qui produirait des "conditions extrêmes". Un sevrage précoce à 21 jours, comparé à un sevrage tardif à 35 jours des lapereaux, permettait de faire varier de manière significative, quantitativement et qualitativement (lait+aliment vs. aliment seul), la ration alimentaire du lapereau à partir de 3 semaines d'âge. De plus, une insémination tardive des lapines 25 jours après la mise-bas a été associée au sevrage tardif, afin de permettre le maintien d'une production laitière conséquente entre 28 et 35 jours.

II. MOYENS EXPERIMENTAUX GENERAUX

Seuls les moyens expérimentaux généraux seront détaillés dans cette partie : schémas expérimentaux, animaux et logement, mesures et prélèvements réalisés. Les méthodes utilisées pour évaluer différents paramètres de la maturation digestive, ainsi que l'analyse statistique des données, seront ensuite détaillées dans chacun des sous-chapitres.

II.A. SCHEMAS EXPERIMENTAUX

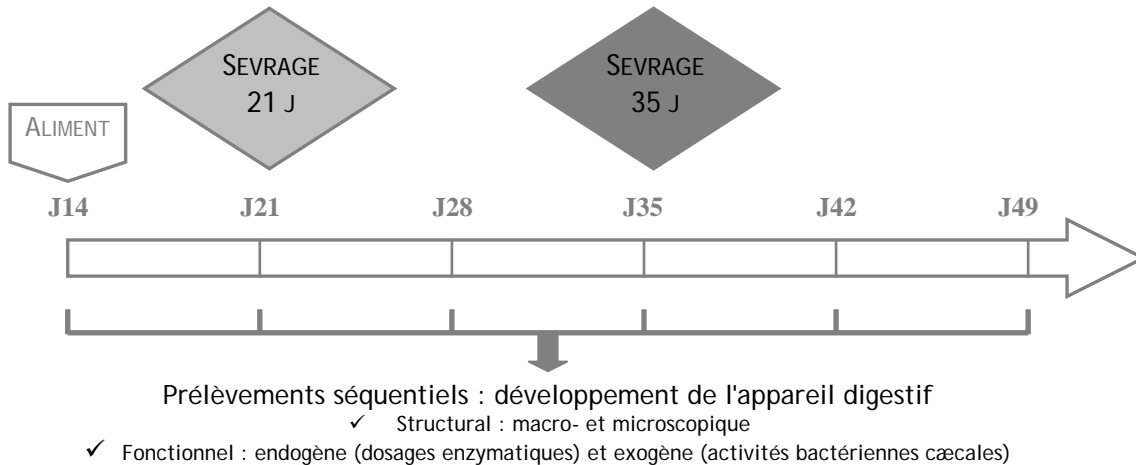
Deux études, basées sur le même schéma expérimental, ont été réalisées afin de déterminer l'influence de l'âge au sevrage sur le développement structural et fonctionnel de l'appareil digestif. Deux âges au sevrage ont été comparés : 21 vs. 35 jours (lots **S21** et **S35**, respectivement). Un aliment destiné spécifiquement aux lapereaux a été mis à leur disposition dès 14 jours.

La première étude, réalisée en février-mars 2003, avait pour but de décrire l'évolution de différents de critères structuraux (anatomie et histologie) et fonctionnels (enzymologie) du système digestif de 14 à 49 jours (Figure 18). La seconde, effectuée en mai-juin 2003, visait à évaluer les capacités de digestion endogène (digestibilité iléale) et totale (digestibilité fécale) des lapereaux au cours de 2 périodes : 24-28 jours et 38-42 jours (Figure 19).

Dans l'étude 1, des mesures directes du développement des organes (poids et longueurs des segments digestifs, pH stomacal et cæcal), ainsi que des prélèvements pour des analyses ultérieures ont été effectués à 14, 21, 28, 35, 42 et 49 jours (Figure 18). La muqueuse a ainsi été prélevée à différents niveaux de l'intestin grêle afin de réaliser des mesures morphométriques des villosités et des cryptes, et de doser des activités enzymatiques mucosales (disaccharidases, aminopeptidase N). Le contenu intestinal a également été prélevé afin de mesurer les activités de plusieurs enzymes d'origine pancréatique (lipase, trypsine,

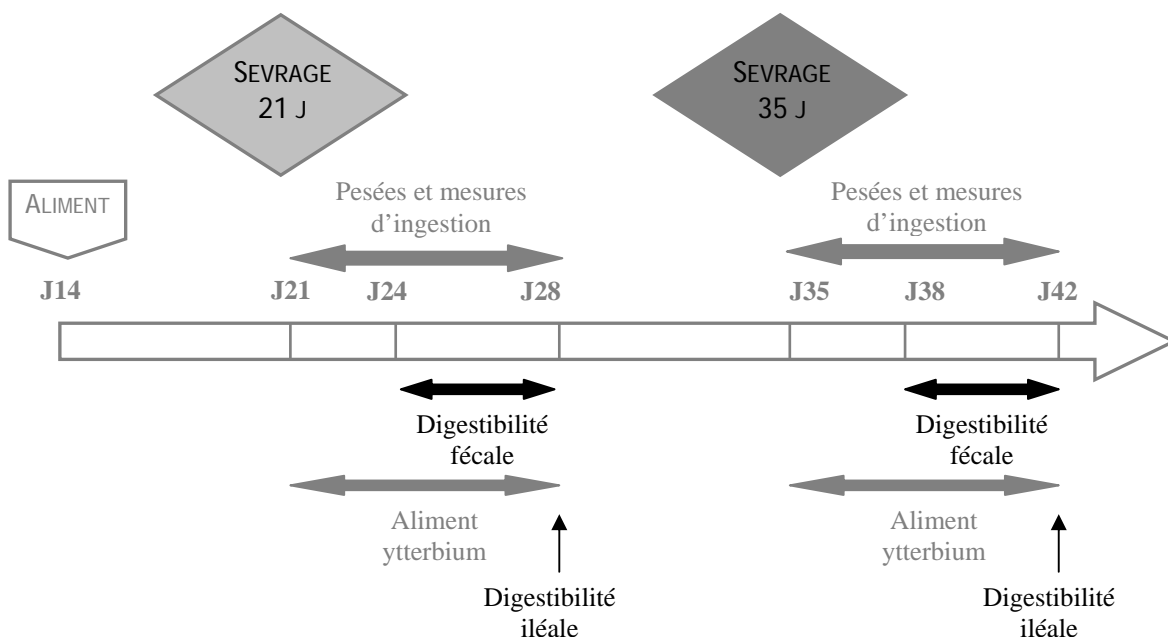
amylase). Différents paramètres relatifs à l'activité microbienne ont été évalués dans le contenu cæcal : activités enzymatiques (pectinolytique, xylanolytique, cellulolytique), et concentrations en ammoniacque et en acides gras volatils.

Figure 18 Schéma expérimental de l'étude 1



Dans l'étude 2, deux périodes ont été choisies afin d'évaluer l'influence de l'âge au sevrage sur les capacités digestives des lapereaux : (1) une première période de 24 à 28 jours où les différences de statut nutritionnel sont les plus marquées entre les 2 lots (lait + aliment dans le lot S35 vs. aliment seul dans le lot S21), et (2) une deuxième période de 38 à 42 jours où les animaux bénéficient d'un régime alimentaire équivalent afin d'évaluer de potentiels effets à moyen terme de l'âge au sevrage (Figure 19).

Figure 19 Schéma expérimental de l'étude 2



L'estimation de la digestibilité iléale permet d'évaluer l'efficacité de la digestion essentiellement endogène des lapereaux, tandis que la digestibilité fécale reflète l'efficacité digestive totale du lapereau (endogène + microbienne). Cependant, les deux périodes d'étude choisies posent des problèmes méthodologiques pour l'évaluation de la digestibilité des aliments. La méthode européenne d'évaluation de la digestibilité fécale des aliments mise au point par le groupe EGRAN (European Group on Rabbit Nutrition), basée sur le bilan (ingéré-excrété)/ingéré sur une période de 4 jours, s'applique à des lapereaux âgés de plus de 49 jours (*Perez et al., 1995*). En effet, aux périodes que nous avons choisies, les lapereaux ne sont pas stables sur le plan alimentaire : sevrés ou non, l'ingestion d'aliment granulé est croissante. Ainsi, l'application de la méthode de référence EGRAN conduit à des valeurs de digestibilité élevées chez le jeune lapereau (*Debray et al., 2003*). Nous avons donc réalisé des adaptations méthodologiques afin d'obtenir une meilleure estimation de l'efficacité de la digestion du lapereau avant 49 jours.

Pour l'évaluation de la digestibilité iléale, nous avons utilisé un aliment marqué à l'ytterbium, distribué durant une semaine avant l'abattage.

II.B. ANIMAUX, LOGEMENT ET ALIMENTATION

II.B.1. Animaux et logement

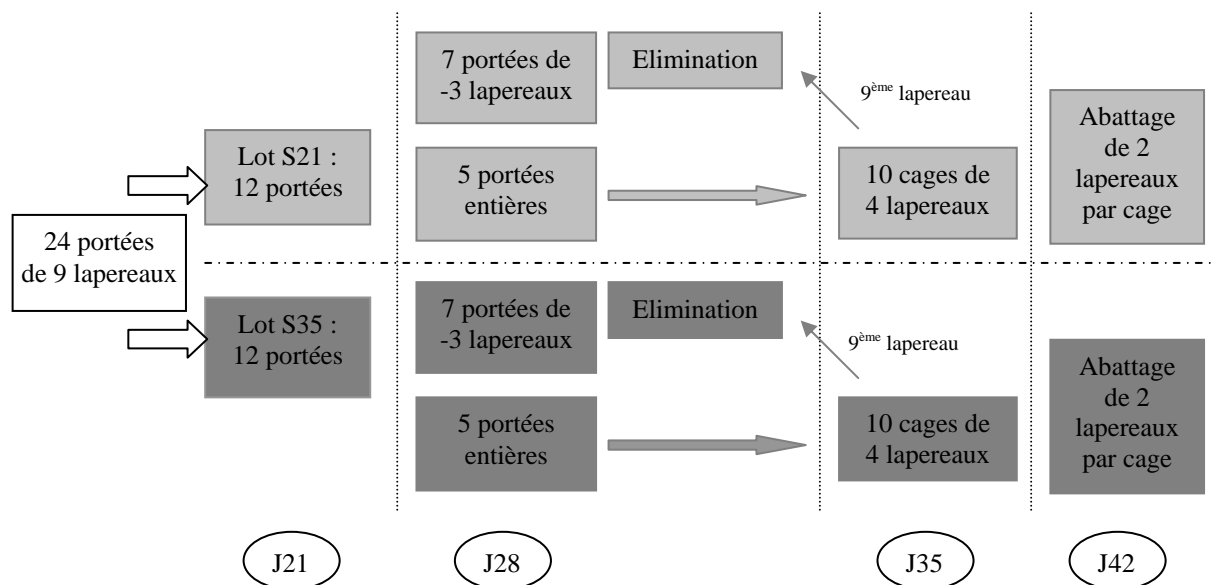
Dans les 2 études, 24 portées de lapereaux ont été utilisées : 12 portées sevrées à 21 jours (lot S21) et 12 sevrées à 35 jours (lot S35). Ces lapereaux étaient issus de femelles de souche INRA 1067, inséminées avec la semence de mâles PS Hyplus 39 (Groupe Grimaud). A la mise-bas, les portées ont été égalisées à 9 ou 10 lapereaux, et des adoptions ont été réalisées afin de maintenir l'effectif à 9 lapereaux jusqu'à la mise en lot : à 11 jours dans l'étude 1 et à 18 jours dans l'étude 2. Les mises en lot ont été effectuées selon les critères suivants : rang de lactation des lapines, poids des lapines à la mise-bas, poids des lapereaux à la mise-bas et le jour de la mise en lot. Les rangs de lactation des lapines de ces 2 études s'échelonnaient de 1 à 12 (3 en moyenne dans l'étude 1, et 5 dans l'étude 2 dans chaque lot âge au sevrage). Les lapines ont été réinséminées 25 jours après la mise-bas.

L'étude 1 a été réalisée dans des cages permettant une alimentation différenciée mère-lapereaux, ainsi qu'une séparation transitoire de la mère et de sa portée (*Fortun-Lamothe et al., 2000*). Les lapines ont été retirées des cages le jour du sevrage. Les lapereaux sont donc restés dans la même cage jusqu'à la fin de l'expérimentation. Un lapereau par portée a été sacrifié chaque semaine de 14 à 49 jours. Aussi, afin de ne pas modifier les conditions d'allaitement et de densité par cage, des portées de remplacement (même âge au sevrage,

logement, alimentation...) étaient prévues jusqu'à 28 jours afin de maintenir la taille de portée. Un lapereau de poids équivalent à celui abattu était alors introduit dans la portée. Les lapereaux sont restés dans la cage de mise-bas jusqu'à 49 jours.

L'étude 2 a été réalisée dans une salle munie de cages à métabolisme permettant la récolte des fèces excrétées. Cependant, ces cages ne permettent pas la séparation mère-lapereau, que ce soit pour contrôler l'ingestion de lait ou d'aliment. Ainsi, dès 14 jours les lapines ont été placées dans des cages différentes. Un allaitement contrôlé a alors été réalisé chaque matin en plaçant la lapine avec sa portée pendant 5 à 10 minutes. A 28 jours, 3 lapereaux de 7 portées par lot ont été sacrifiés, et leur contenu iléal prélevé afin d'évaluer la digestibilité iléale de l'aliment. Les lapereaux non sacrifiés issus de ces portées ont été exclus pour la suite de l'étude. Les 5 portées restantes de chaque lot ont été divisées dans 2 cages : 4 lapereaux par cage en alternant les rangs de poids et en éliminant le 9^{ème} lapereau (le plus petit) : 10 cages par lot. A 42 jours, 2 lapereaux par cage ont été sacrifiés afin de prélever les contenus iléaux. La Figure 20 résume les mouvements d'animaux ayant eu lieu dans cette étude.

Figure 20 Effectifs et mouvements de lapereaux dans l'étude 2



II.B.2. Alimentation

- Méthode de détermination de la composition chimique des aliments et du lait

Les analyses présentées dans le Tableau 12 ont été réalisées sur les aliments des différentes études.

Tableau 12 Analyses chimiques effectuées sur les aliments

	METHODE	REFERENCE
Matière sèche	24h à l'étuve à 103°C	
Cendres brutes	5h à 550°C	
Protéines brutes	Méthode par combustion, avec utilisation d'un auto-analyseur LECO (modèle FP-428, Leco Corp., ST Joseph, MI, EU). La teneur en azote est convertie en protéines brutes par le coefficient multiplicateur 6,25.	<i>Dumas, 1831</i>
NDF ADF ADL	Méthode d'hydrolyse séquentielle avec des détergents : résidu NDF après action d'un détergent neutre (Lauryl Sulfate de Sodium) et amylase thermostable (Termamyl [®]), puis résidu ADF après action détergent acide (Bromure de N-céthyl Triméthylammonium) et résidu ADL après action de l'acide sulfurique à 72%.	<i>Van Soest et al., 1991</i>
Amidon	Solubilisation dans l'hydroxyde de potassium, hydrolyse enzymatique (amyloglucosidase), libération de D-glucose dosé selon la méthode à l'hexokinase (kit D-glucose [®] , Boehringer Mannheim)	<i>Edwards et al., 1996</i>
Matières grasses	Utilisation du système Soxtec : hydrolyse acide (HCl 3N) suivie d'une extraction dans de l'éther de pétrole	<i>Alstin et Nilsson, 1990</i>
Energie	Utilisation d'un calorimètre adiabatique PARR (Moline, IL, EU)	

NDF : Neutral Detergent Fiber, ADF : Acid Detergent Fiber, ADL : Acid Detergent Lignin

Ces mêmes analyses ont été effectuées sur le lait, lyophilisé au préalable, afin de déterminer la composition en cendres, protéines, énergie et matière sèche. La composition en lipides a en revanche été déterminée selon la méthode de *Folch et al. (1957)*.

- Composition analysée des aliments distribués au cours des 2 études

Dès 14 jours, les lapereaux S21 et S35 de l'étude 1 ont reçu *ad libitum* un aliment standard dont la composition figure dans le Tableau 13. Dans l'étude 2, les lapereaux ont reçu ce même aliment sauf la semaine précédant les abattages : de 21 à 28 jours et de 35 à 42 jours. Ils ont alors reçu l'aliment Yb, supplémenté en particules marquées à l'ytterbium, une terre rare permettant l'estimation de la digestibilité iléale (*cf.* description de la méthode page 144).

Tableau 13 Ingrédients et composition chimique des aliments distribués aux lapereaux dans les études 1 et 2

Ingrédients (g.kg ⁻¹)	Standard		Yb		Composition chimique (% du brut)	
	Standard	Yb	Standard	Yb	Standard	Yb
Pulpes de betteraves	130	127			Matière sèche	91,8 92,0
Luzerne 17 LP	250	244			Cendres brutes	7,8 7,4
Tourteau de soja 48 brésil	50	53			Protéines brutes	17,7 18,0
Blé 11,2% de protéines brutes		110			NDF	33,2 34,0
Graines de soja extrudées		40			ADF	18,9 19,3
Tourteau de tournesol 30/25	138	134			ADL	5,5 5,8
Son fin de blé	200	195			Amidon	9,8 10,4
Sucre		50			Matières grasses	3,6 3,5
Huile de tournesol		10			Energie brute (kcal.kg ⁻¹)	4106 4114
Particules marquées Yb	-	18			Ytterbium (mg.kg ⁻¹)	- 150
Minéraux et vitamines*	22	19				

*6 vs. 4 g.kg⁻¹ de sel (Standard vs. Yb), 5 vs. 4 g.kg⁻¹ de carbonate de calcium (Standard vs. Yb), 1 g.kg⁻¹ de DL-méthionine, 5 g.kg⁻¹ de premix (1,5 × 10⁶ UI.kg⁻¹ de vitamine A, 2 × 10⁵ UI.kg⁻¹ de vitamine D3, 3000 mg.kg⁻¹ de vitamine E, 200 mg.kg⁻¹ de vitamine B1), 5 g.kg⁻¹ de AL132[®](robénidine à 13200 mg.kg⁻¹)

◦ Composition du lait maternel

La composition du lait maternel a été déterminée sur un échantillon poolé de 7 lapines issues du même élevage (Tableau 14). Le lait a été collecté sur des lapines séparées depuis la veille de leurs lapereaux, puis mises à leur contact afin de stimuler l'éjection de lait. Ensuite, un tube collecteur relié à une pompe à vide a été appliqué sur les mamelles pour le prélèvement.

Tableau 14 Composition chimique du lait de lapine

Composition chimique (% du brut)	
Matière sèche	26,1
Cendres brutes	2,5
Protéines brutes	12,9
Matière grasse	8,8
Energie brute (kcal.kg ⁻¹)	1632

II.C. CONTROLE DE L'INGESTION ET DE LA CROISSANCE

Dans l'étude 1, les lapereaux ont été pesés avant l'allaitement et l'ingestion d'aliment a été mesurée à 14, 21, 28, 35, 42 et 49 jours. La production de lait a été évaluée par la différence de poids des lapines avant et après allaitement, à ces mêmes âges. Dans l'étude 2, en plus des contrôles hebdomadaires, les mesures d'ingestion d'aliment par les lapereaux et de production laitière des lapines ont été effectuées quotidiennement entre 21 et 28 jours, et entre 35 et 42 jours. Une pesée intermédiaire des lapereaux a également été réalisée à 24 et à 38 jours.

II.D. MESURES ET PRELEVEMENTS REALISES AU COURS DES ABATTAGES

II.D.1. Choix des lapereaux abattus et de l'heure d'abattage

Dans les deux études, les lapereaux abattus étaient cliniquement sains. Les animaux ont été sacrifiés par dislocation cervicale, en accord avec le rapport de l'AVMA sur l'euthanasie (*American Veterinary Medical Association, 2001*).

Dans l'étude 1, un lapereau par portée a été abattu à 28, 35, 42 et 49 jours. A 14 et 21 jours, un lapereau par portée a été sacrifié dans seulement 6 portées de chaque lot (même statut nutritionnel donc données regroupées pour chacun de ces deux âges). Ces lapereaux étaient choisis représentatifs du poids moyen de la portée et non issus des portées de remplacement. Ils ont été abattus entre 10 et 14 heures, 3 heures après mise à jeun de l'aliment granulé et 3 heures après réalisation de l'allaitement.

Dans l'étude 2, 3 lapereaux par portée (7 portées du lot S21 et 7 portées du lot S35 choisies au hasard) ont été sacrifiés à 28 jours : le plus léger, celui de poids moyen et le plus lourd. A 42 jours, 2 lapereaux par cage ont été abattus (10 cages du lot S21 et 10 cages du lot S35) : le plus léger et le plus lourd. Ces abattages ont été réalisés le soir entre 19 et 21 heures, sans mise à jeun, afin de maximiser la présence de contenus dans le tractus digestif.

II.D.2. Mesures et prélèvements réalisés

La Figure 21 décrit les mesures réalisées dans les différents segments digestifs au cours des abattages de l'étude 1.

Des prélèvements ont été réalisés au niveau de l'intestin grêle et du cæcum (Tableau 15). Le contenu de l'intestin grêle a été congelé, lyophilisé, puis conservé à -20°C. Les prélèvements de paroi digestive ont été effectués au milieu de chaque segment de l'intestin grêle, en considérant que le duodénum, le jéjunum et l'iléon représentaient respectivement les 1/5, 3/5 et 1/5 de la longueur totale de l'intestin grêle. Un segment d'environ 1 cm a été prélevé, ouvert dans le sens de la longueur, puis plongé pendant 12 à 24 heures dans une

solution de formol tamponnée à 4% afin de fixer les tissus. Les échantillons ont ensuite été conservés dans de l'éthanol à 90% jusqu'à la réalisation des analyses morphométriques.

Figure 21 Mesures effectuées dans l'appareil digestif au cours de l'étude 1

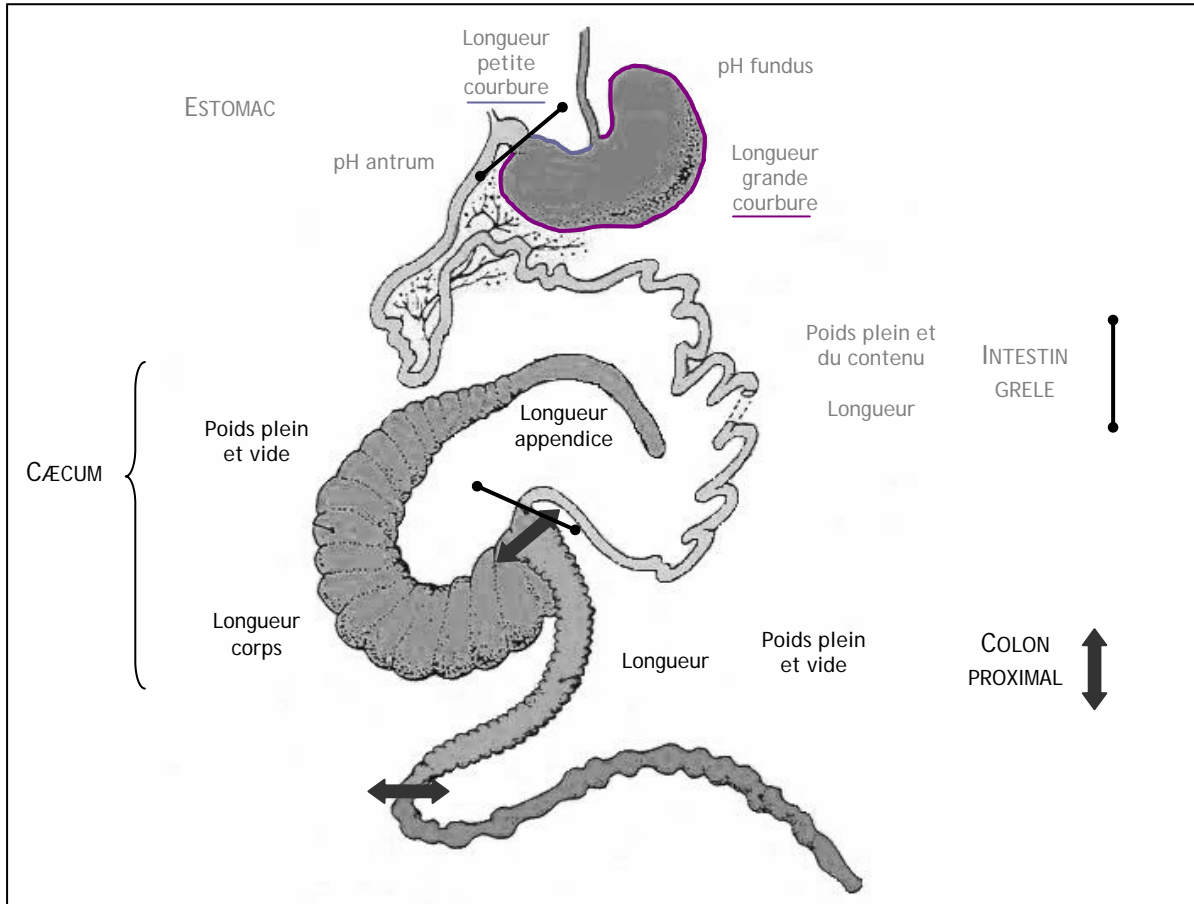


Tableau 15 Prélèvements intestinaux effectués au cours des études 1 et 2

SEGMENT DIGESTIF	PRELEVEMENT EFFECTUE	ANALYSE	ETUDE
Intestin grêle	Contenu intraluminal total	Enzymologie : trypsine, amylase et lipase	1
	Paroi digestive au niveau duodénal, jéjunal et iléal	Morphométrie villosités et cryptes	1
	20 à 30 cm de muqueuse duodénale et jéjunale	Enzymologie : maltase, saccharase, aminopeptidase N, phosphatase alcaline	1
	Contenu iléal à 28 jours (25 derniers cm de l'intestin grêle) et 42 jours (40 cm)	Digestibilité iléale	2
Cæcum	Contenu cæcal	Matière sèche, NH ₃ , AGV et AEB	1

Environ 20 cm de muqueuses duodénale et jéjunale ont été prélevés par grattage externe de la paroi digestive, sans ouverture préalable de l'intestin grêle. La muqueuse ainsi détachée

du reste de la paroi a été congelée à -20°C , jusqu'à la préparation des homogénats pour les dosages enzymatiques. La longueur et le poids du segment digestif (avant et après grattage de la muqueuse) ont été déterminés afin d'estimer le poids de la muqueuse par unité de longueur.

Trois à 5 g de contenu cæcal ont été prélevés de manière à déterminer sa teneur en matière sèche (24 heures à 103°C), 1 g de contenu a été dilué dans une solution de H_3PO_4 (2 mL, 2%) et 1 g dans une solution de H_2SO_4 (3 mL, 2%) afin de réaliser, respectivement, les analyses de concentrations en acides gras volatils (AGV) et en ammoniacque (NH_3). Ces deux derniers prélèvements ont été conservés à -20°C jusqu'aux analyses. Du contenu cæcal a été prélevé dans des tubes contenant une solution à 4°C de MES (2-N-Morpholino-Ethane-acide Sulfonique, $0,025 \text{ mol.L}^{-1}$) DTT (DiThioThrèitol, $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$), à la concentration de $0,25 \text{ g.mL}^{-1}$ pour la détermination des activités enzymatiques bactériennes (AEB). Ce prélèvement a ensuite été homogénéisé 30 secondes à $8000 \text{ trs.min}^{-1}$ (Ultra-Turrax, Janke et Kunkel, Staufen, Allemagne) sous flux de CO_2 , puis conservé à -80°C jusqu'à l'analyse.

Dans l'étude 2, les contenus iléaux de 3 lapereaux par portée à 28 jours et de 2 lapereaux par cage à 42 jours ont été prélevés, lyophilisés et conservés à -20°C jusqu'à l'analyse.

III. LES PERFORMANCES ZOOTECHNIQUES SONT AFFECTEES PAR L'AGE AU SEVRAGE

Dans ce sous-chapitre, les performances de croissance des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage (21 vs. 35 jours) vont être détaillées. De plus, une attention particulière sera portée à l'évolution du profil d'ingestion du lait et de l'aliment autour du sevrage. Les données obtenues au cours des études 1 et 2 seront présentées simultanément.

III.A. ANALYSE DES DONNEES

Les données des lapereaux de remplacement dans l'étude 1, et les données des animaux malades dans les deux études n'ont pas été prises en considération dans les analyses. Une analyse de variance (procédure GLM, SAS (1999)) dans un modèle incluant l'effet de l'âge au sevrage a été réalisée sur les différentes variables (ingestion, poids, croissance) pour chaque période ou pour chaque âge. Les données individuelles de poids et de gains moyens quotidiens ont été analysées en utilisant un modèle en split-plot : l'effet de l'âge au sevrage a été testé par rapport à la variabilité résiduelle entre portées.

Pour les deux études, des mouvements de lapereaux (retraits ou sacrifices) sont à considérer pour l'analyse et l'interprétation des résultats. Dans l'étude 1, chaque semaine, le lapereau de poids moyen de chaque portée a été sacrifié. Dans l'étude 2, 7 portées par lot ont

été retirées au hasard à 28 jours. A 35 jours, le lapereau le plus léger de chaque portée restante (5 par lot) a également été retiré. Ainsi le nombre de lapereaux a diminué au cours des deux études.

III.B. RESULTATS : POIDS ET VITESSES DE CROISSANCE

Le Tableau 16 présente l'évolution des poids vifs des lapereaux dans les 2 études, en fonction de l'âge au sevrage. Dans l'étude 1, les poids des lapereaux S21 ont été inférieurs de 9% en moyenne entre 28 et 49 jours, à ceux des lapereaux S35. Dans l'étude 2, même si les lapereaux S21 étaient également légèrement plus légers, aucune différence significative n'a été mise en évidence.

Tableau 16 Evolution du poids vif des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage

Poids (g)	Etude 1				Etude 2			
	S21	S35	CVr, %	Valeur de P^*	S21	S35	CVr, %	Valeur de P^*
14j	215 (108)	220 (108)	13	NS	-	-	-	-
21j	302 (100)	304 (101)	6	NS	344 (108)	336 (107)	12	NS
28j	480 (92)	514 (87)	10	*	518 (106)	542 (108)	12	NS
35j	713 (76)	812 (79)	10	***	786 (40)	810 (40)	7	NS
42j	1039 (50)	1155 (70)	10	**	1112 (39)	1175 (40)	8	NS
49j	1365 (33)	1490 (55)	10	*	-	-	-	-

----- Réduction d'effectif importante (cf. Figure 20); Moyennes arithmétiques; (n) : effectif; CVr : coefficient de variation résiduelle; * Effet de l'âge au sevrage : NS $P > 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

Le Tableau 17 décrit l'évolution du gain moyen quotidien des lapereaux dans les 2 études en fonction de l'âge au sevrage.

Dans les 2 études, la croissance des lapereaux S21 a été ralentie entre 21 et 28 jours (-16%, $P < 0,01$). Dans l'étude 2, où les poids vifs des lapereaux ont également été mesurés à 24 jours, il s'est avéré que ce ralentissement avait surtout lieu dans les quelques jours suivant le sevrage. En effet, entre 21 et 24 jours, le gain moyen quotidien des lapereaux S21 était de $14,0 \text{ g.j}^{-1}$ par lapereau vs. $21,9 \text{ g.j}^{-1}$ pour les lapereaux S35 ($P < 0,001$). Entre 24 et 28 jours, celui-ci était de $33,1 \text{ g.j}^{-1}$ par lapereau S21 vs. $35,4 \text{ g.j}^{-1}$ par lapereau S35 ($P = 0,17$). Entre 28 et 35 jours, et entre 35 et 42 jours, les vitesses de croissance des lapereaux S21 ont été plus faibles que celles des lapereaux S35 dans l'étude 1 (-22% et -12% respectivement, $P < 0,05$). Une même tendance a été observée dans l'étude 2 mais aucune différence significative n'a été

mise en évidence. D'après l'étude 1, entre 42 et 49 jours, le gain moyen quotidien des lapereaux était similaire entre les deux âges au sevrage.

Tableau 17 Evolution du gain moyen quotidien des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage

GMQ (g.j ⁻¹ .lap ⁻¹)	Etude 1				Etude 2			
	S21	S35	CVr, %	Valeur de P*	S21	S35	CVr, %	Valeur de P*
14-21j	12,3	11,9	22	NS	-	-	-	-
21-28j	25,2	30,1	22	**	24,9	29,5	19	**
28-35j	32,8	42,2	20	***	34,5	38,8	15	NS
35-42j	43,4	49,3	16	*	46,4	52,2	16	NS
42-49j	45,6	47,1	18	NS	-	-	-	-

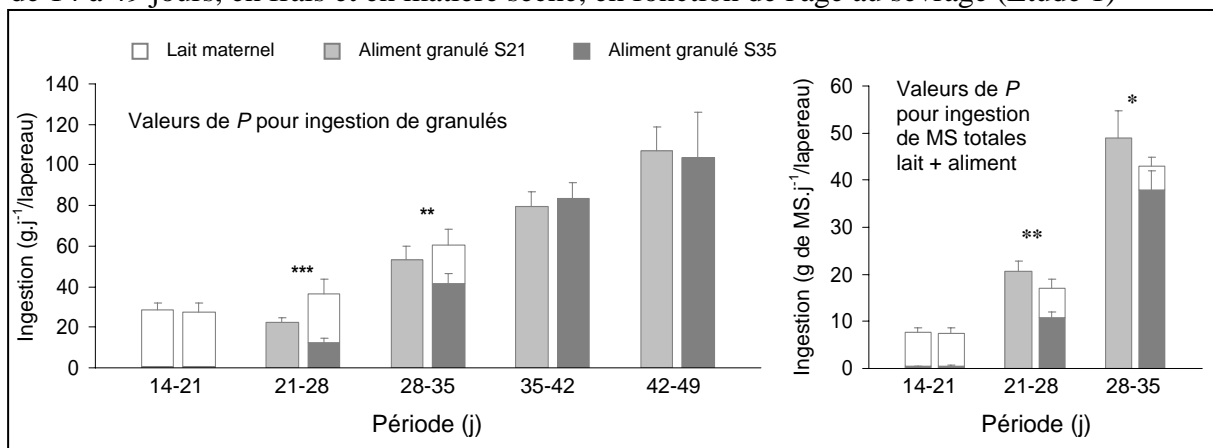
GMQ = Gain Moyen Quotidien; Réduction d'effectif importante (cf. Figure 20); Moyennes arithmétiques; CVr : coefficient de variation résiduelle; * Effet de l'âge au sevrage : NS $P > 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

III.C. RESULTATS : INGESTIONS D'ALIMENT ET DE LAIT

III.C.1. Evolution des profils d'ingestion lait / aliment granulé

L'étude 1 a permis l'analyse hebdomadaire des ingestions respectives de lait et d'aliment granulé (Figure 22). La quantité de lait ingérée sur une période correspond à la moyenne des mesures effectuées en début et en fin de période. La quantité de lait ingérée par les lapereaux S35 à 35 jours a été négligée dans le calcul de l'ingéré moyen pour la période comprise entre 35 et 42 jours.

Figure 22 Ingestion hebdomadaire par les lapereaux de l'aliment granulé et du lait maternel de 14 à 49 jours, en frais et en matière sèche, en fonction de l'âge au sevrage (Etude 1)



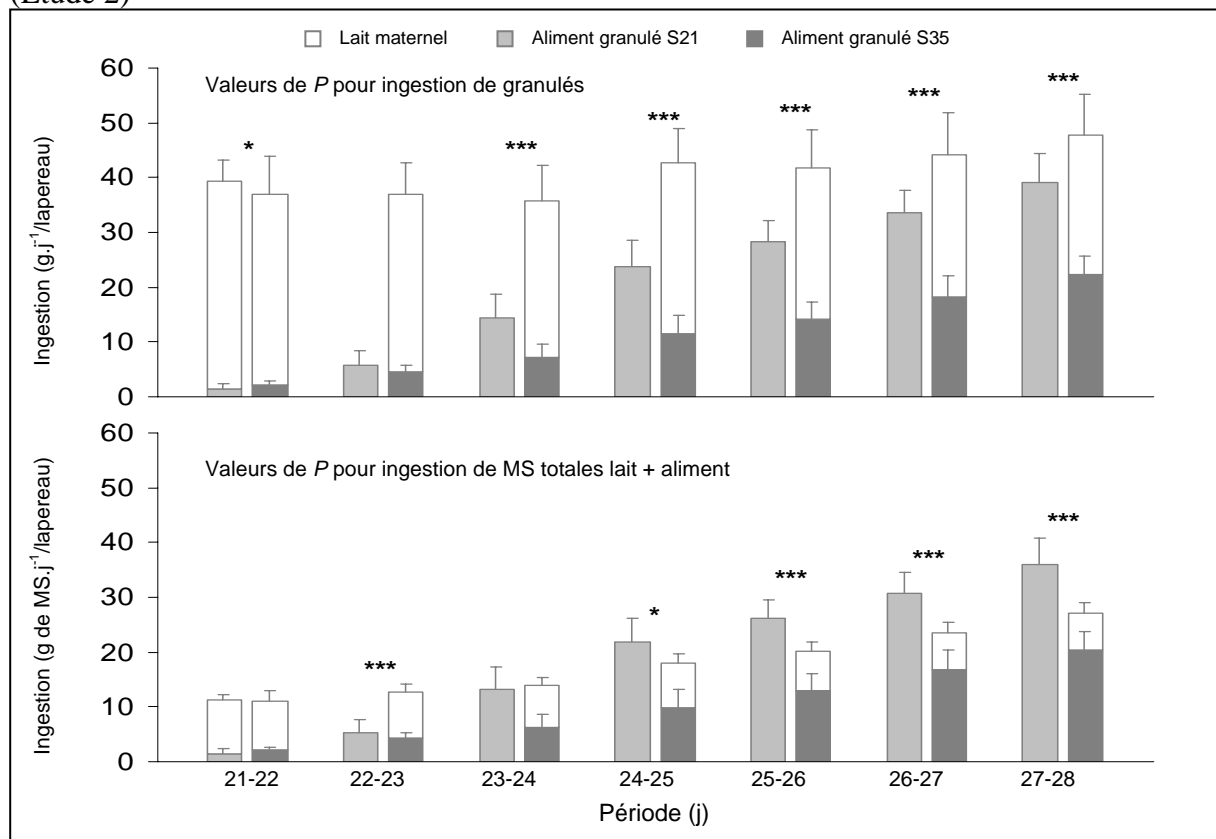
MS : matière sèche; Moyennes arithmétiques \pm ET; Pour chaque période, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

La Figure 22 met en évidence que l'ingestion d'aliment granulé par les lapereaux S21 a été supérieure de 57% à celle des lapereaux S35 entre 21 et 35 jours ($P < 0,01$). L'ingestion de

matière sèche totale (aliment + lait) par les lapereaux S21 a également été plus importante que celle des lapereaux S35 entre 21 et 35 jours d'âge ($P < 0,05$).

Les mesures quotidiennes d'ingestion d'aliment et de lait dans l'étude 2 pour les périodes comprises entre 21 et 28 jours et entre 35 et 42 jours a permis de préciser les profils d'ingestion au cours de la semaine suivant le sevrage pour les deux groupes de lapereaux (Figure 23). Pour chaque période, les mesures d'ingestion de lait et d'aliment ont été effectuées de la façon suivante : par exemple, pour la période 21-22 jours, la consommation de lait correspond à celle enregistrée à 21 jours au matin et la consommation d'aliment à celle mesurée entre 21 et 22 jours au matin.

Figure 23 Ingestion quotidienne par les lapereaux de l'aliment granulé et du lait maternel au cours de la période 21-28 jours, en frais et en matière sèche, en fonction de l'âge au sevrage (Etude 2)



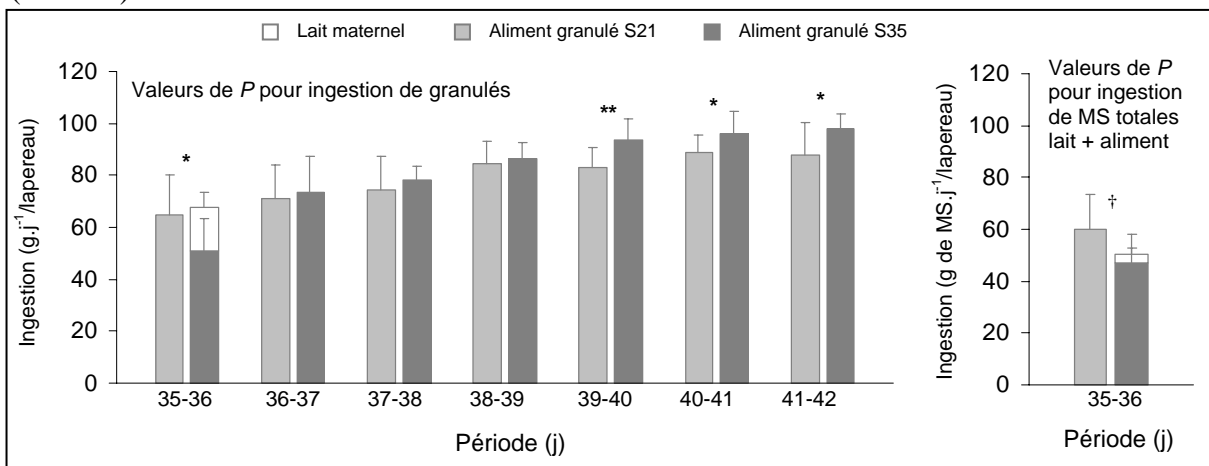
MS : matière sèche; Moyennes arithmétiques ± ET; Pour chaque période, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$: * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$.

La Figure 23 précise que l'ingestion d'aliment granulé des lapereaux S21 est devenue supérieure à celle des lapereaux S35, uniquement à partir de 23 jours. Entre 22 et 23 jours, l'ingestion d'aliment solide était similaire entre les 2 lots. En conséquence, la quantité de matière sèche totale (aliment + lait) ingérée par les lapereaux S21 a été 2,4 fois inférieure

($P < 0,001$) à celle ingérée par les lapereaux S35 entre 22 et 23 jours. Entre 23 et 24 jours, la quantité de matière sèche ingérée a été similaire entre les 2 lots. Entre 24 et 28 jours, les lapereaux S21 ont présenté une ingestion de matière sèche supérieure de 22 à 32% à celle des lapereaux S35 ($P < 0,05$).

Si l'ingestion moyenne d'aliment granulé n'a pas été significativement affectée par l'âge au sevrage entre 35 et 42 jours, l'évolution quotidienne de l'ingestion sur cette même période a révélé quelques variations entre les deux lots (Figure 24). En effet, entre 35 et 36 jours, l'ingestion de granulés par les lapereaux S21 a été supérieure de 28% à celle des lapereaux S35 qui recevaient leur dernier repas lacté ($P < 0,05$). De 36 à 39 jours, le niveau d'ingestion quotidien de granulés a été similaire entre les deux groupes de lapereaux. En revanche, entre 39 et 42 jours les lapereaux S35 ont présenté une ingestion de 8,5 à 12,9% supérieure à celle des lapereaux S21 ($P < 0,05$).

Figure 24 Ingestion quotidienne par les lapereaux de l'aliment granulé et du lait maternel au cours de la période 35-42 jours, en frais et en matière sèche, en fonction de l'âge au sevrage (Etude 2)

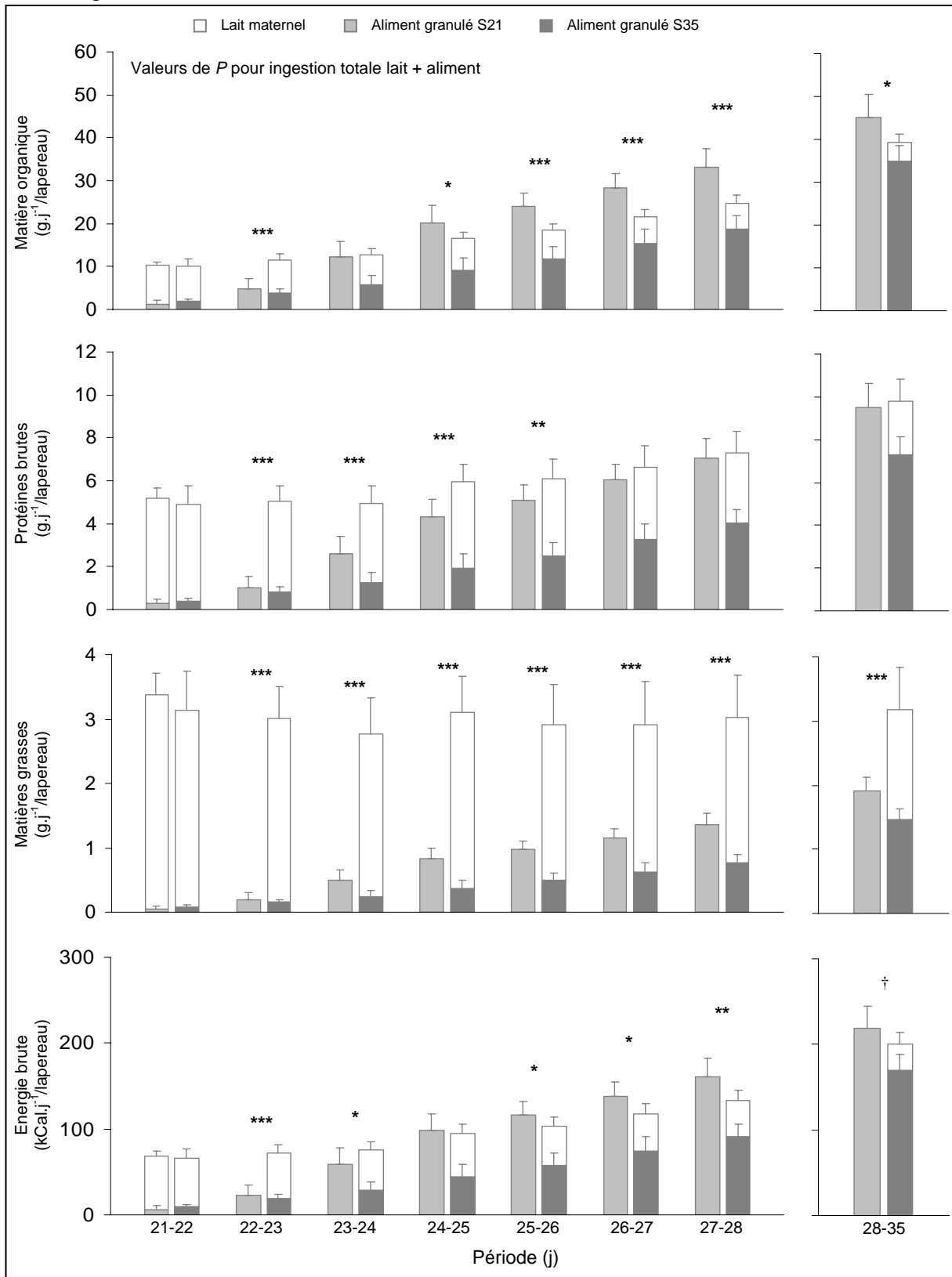


MS : matière sèche; Moyennes arithmétiques \pm ET; Pour chaque période, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$; † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$.

III.C.2. Evolution de l'ingestion de nutriments au cours de la période 21-35 jours

Etant donné que pour la période après 35 jours, l'ingestion de nutriments par les lapereaux est directement conditionnée par les quantités d'aliment granulé ingérées, seule la période 21-35 jours sera détaillée.

Figure 25 Ingestion de nutriments par les lapereaux entre 21 et 35 jours en fonction de l'âge au sevrage



Moyennes arithmétiques ± ET; Pour chaque période, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$: † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

La Figure 25 montre que l'ingestion de matière organique suit la même évolution que celle de la matière sèche, présentée précédemment. En revanche, pour les autres composants, des différences ont été soulignées. Dès le lendemain de leur sevrage, les lapereaux S21 ont présenté une ingestion de protéines brutes 4,9 fois inférieure à celle des lapereaux S35 ($P < 0,001$). Cette différence s'est progressivement estompée, et à partir de 26 jours, les niveaux d'ingestion de protéines sont devenus similaires entre les deux lots.

Les lapereaux S21 ont présenté une ingestion de lipides nettement inférieure à celle des lapereaux S35 tant que ceux-ci ont été allaités : de 15,4 à 2,2 fois inférieure entre 22 et 28 jours, et en moyenne 1,7 fois inférieure pour l'ensemble de la période 28-35 jours ($P < 0,001$).

Le niveau d'énergie brute ingérée, d'abord inférieur de 22 à 24 jours pour les lapereaux S21 (de -68 à -21%), est ensuite devenu similaire à celui des lapereaux S35 entre 24 et 25 jours, puis supérieur de 14 à 21% jusqu'à 28 jours ($P < 0,05$). Entre 28 et 35 jours, le niveau d'énergie brute consommé par les lapereaux S21 tendait à être supérieur à celui des lapereaux S35 (+9,2%, $P = 0,089$).

III.D. DISCUSSION

La croissance plus faible entre 21 et 28 jours des lapereaux sevrés à 21 jours, comparativement aux lapereaux sevrés à 35 jours, suggère que l'accroissement de leur ingéré d'aliment solide est insuffisant pour compenser l'arrêt de l'alimentation lactée, et donc pour couvrir leurs besoins nutritionnels. *Scapinello et al. (1999)* rapportent également qu'une diminution de l'ingestion de lait dans des portées de 10 vs. 4 lapereaux, stimule l'ingestion d'aliment granulé, mais conduit à des poids vifs plus faibles jusqu'à 42 jours. De même, *Xiccato et al. (2003)* ont montré que les poids vifs des lapereaux étaient positivement corrélés avec l'âge au sevrage (réalisé à 21, 25 ou 28 jours), mais devenaient similaires à partir de 56 jours. Certaines études ont montré qu'en cas de perturbations précoces de la croissance des lapereaux, *via* le ratio d'ingestion lait/aliment, une croissance compensatoire intervenait en fin d'engraissement et conduisait à des poids à l'abattage similaires (*Pascual et al., 2001; Di Meo et al., 2003*). Dans nos études, soit la croissance des lapereaux demeure affectée par le sevrage précoce après 28 jours (étude 1), soit celle-ci devient similaire dès 28 jours à celle des lapereaux sevrés plus tardivement (étude 2). Dans cette dernière étude, les lapereaux étaient plus lourds de 30 g environ à 21 jours que ceux de l'étude 1, et pourraient ainsi avoir éprouvé moins de difficultés lors du sevrage précoce à maintenir un poids corporel proche de celui des lapereaux sevrés plus tardivement.

Il semble que les lapereaux sevrés à 21 jours subissent un retard de croissance surtout dans les 3 à 4 jours qui suivent leur sevrage. La compensation de l'arrêt d'apport de lait

maternel par une ingestion accrue de granulés débute seulement au 23^{ème} jour. Si leur niveau d'ingéré énergétique rejoint celui des lapereaux sevrés à 35 jours à partir de 24-25 jours, et leur ingéré de protéines à partir de 26-27 jours, celui des lipides reste nettement inférieur jusqu'à 35 jours. Qui plus est, l'origine de ces nutriments diffère, et leur valorisation par les lapereaux en sera probablement affectée. En effet, les nutriments d'origine lactée sont probablement plus digestibles que ceux provenant de l'aliment granulé. Il est donc vraisemblable que ces compensations nutritionnelles par une ingestion accrue de granulés soient beaucoup plus tardives en réalité. Elles dépendront essentiellement des capacités adaptatives des lapereaux à répondre à cet accroissement d'ingestion d'aliment solide, et à l'arrêt de l'alimentation lactée.

IV. LE DEVELOPPEMENT STRUCTURAL DE L'APPAREIL DIGESTIF EST PEU INFLUENCE PAR L'AGE AU SEVRAGE

Dans ce sous-chapitre, l'évolution structurale (anatomique et histologique) du tube digestif des lapereaux âgés de 2 à 7 semaines, et sevrés soit à 21 soit à 35 jours, va être détaillée. Ces données sont issues des mesures et des prélèvements réalisés dans l'étude 1.

IV.A. EVOLUTION ANATOMIQUE DE L'APPAREIL DIGESTIF EN FONCTION DE L'AGE AU SEVRAGE

IV.A.1. Analyse des données

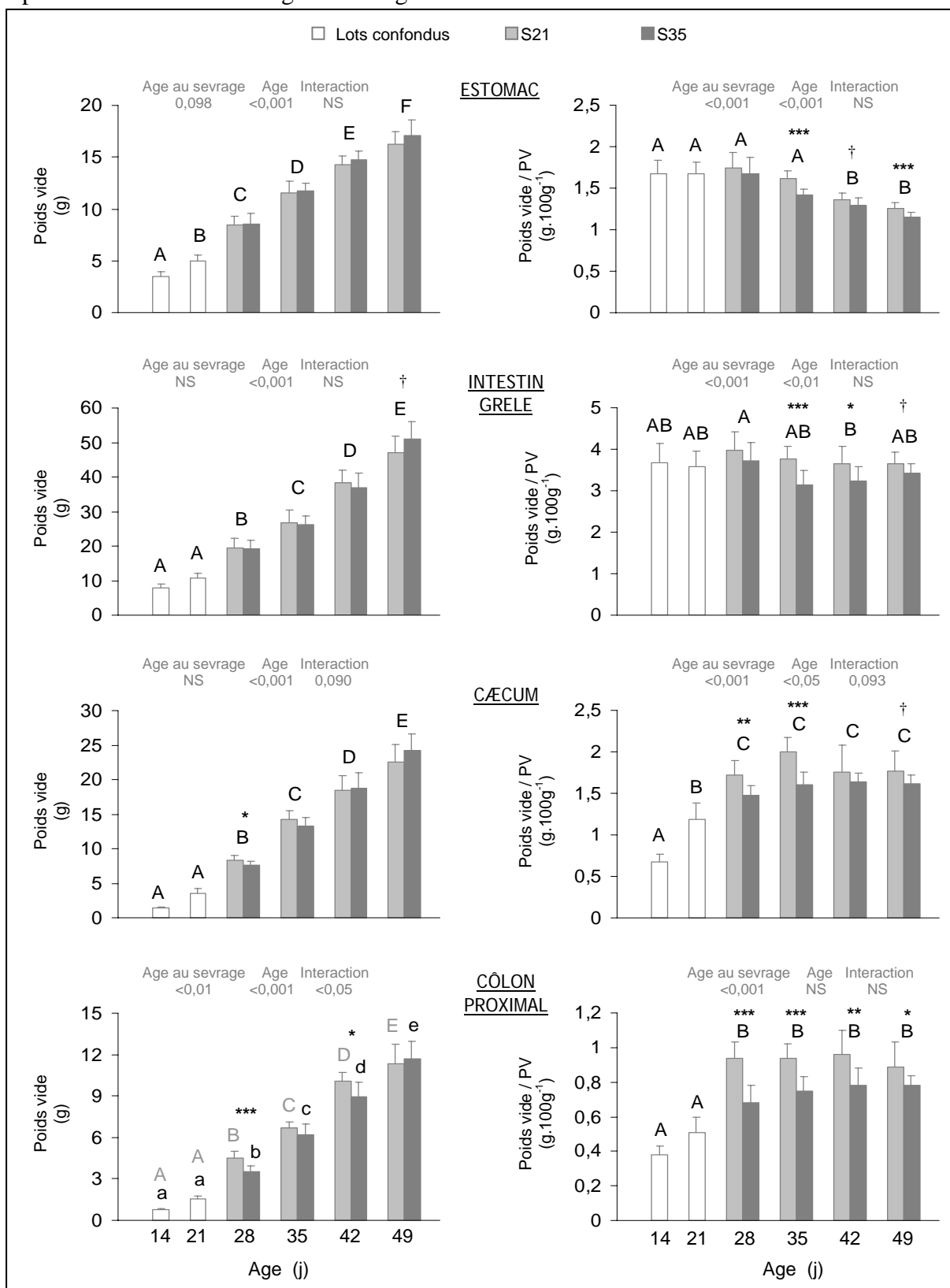
Les données de poids et de longueur des segments digestifs des lapereaux S21 et S35 obtenues à 14 et à 21 jours ont été regroupées dans la classe "lots confondus" car les lapereaux bénéficiaient encore du même régime alimentaire.

Les données ont été analysées au moyen de la procédure GLM (SAS, 1999). Les effets de l'âge au sevrage, de l'âge et de leur interaction ont été introduits dans un modèle général de 28 à 49 jours. Puis pour chaque âge, l'effet de l'âge au sevrage a été analysé. De 14 à 49 jours, l'effet de l'âge a été testé pour chaque lot âge au sevrage si une interaction significative était mise en évidence dans le modèle général, ou lots S21 et S35 confondus dans le cas contraire, et un test de comparaisons multiples entre les moyennes (test de Scheffé) a été effectué.

IV.A.2. Résultats : Poids des différents segments digestifs et de leurs contenus

Pour ce qui concerne l'effet de l'âge, les poids absolus des différents segments digestifs ont augmenté plus ou moins progressivement entre 14 et 49 jours : ×4,7 pour l'estomac, ×6,3 pour l'intestin grêle, ×16,6 pour le cæcum, et ×14,4 pour le côlon proximal (Figure 26).

Figure 26 Evolution du poids frais absolu et relatif des différents segments digestifs des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage



PV : poids vif; Moyennes \pm ET; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = $P > 0,10$); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P < 0,05$), avec lettres capitales grises pour S21 et minuscules pour S35 si interaction significative dans le modèle général; Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$; † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

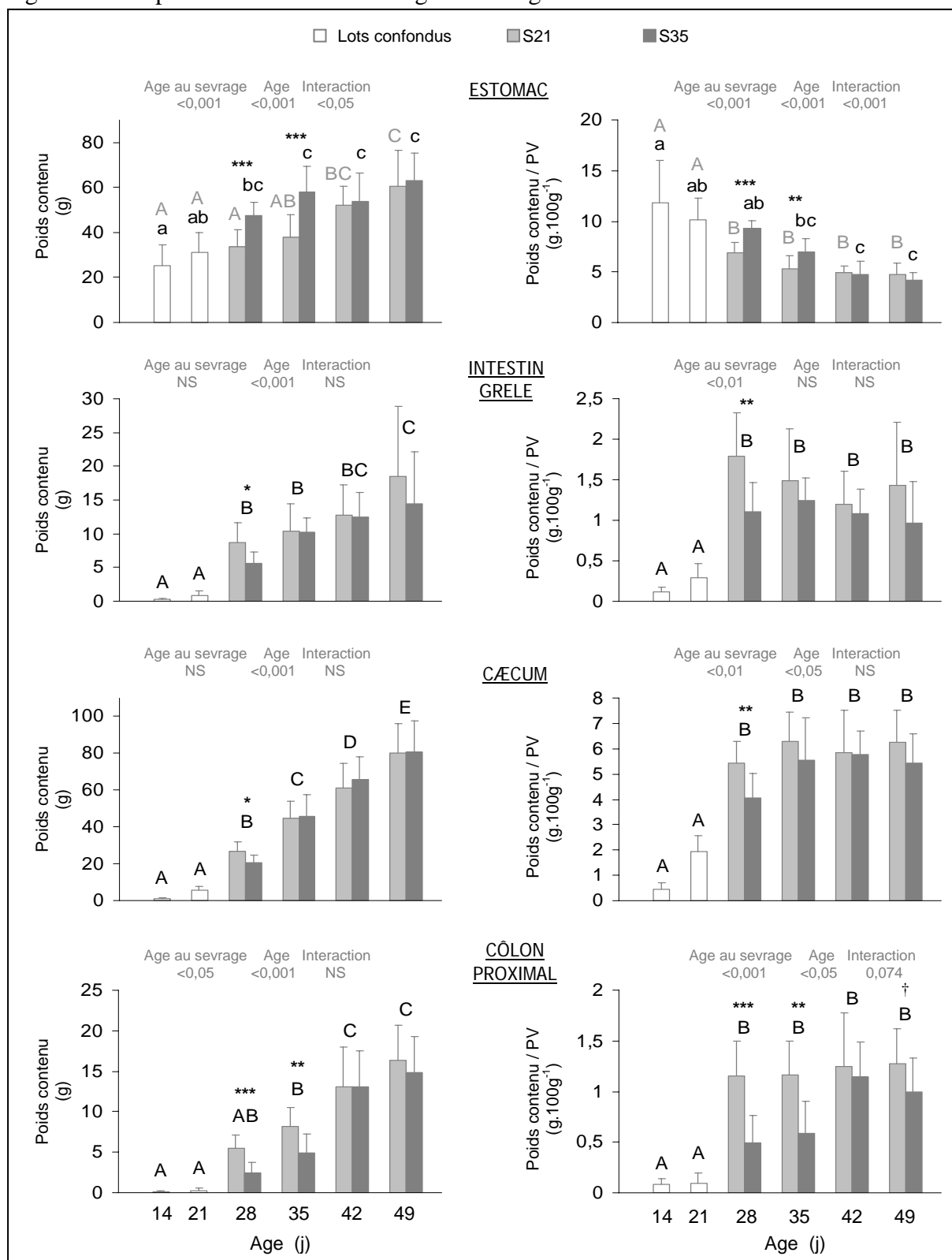
Les poids relatifs (rapportés au poids vif de l'animal) ont, quant à eux, présenté des évolutions différentes selon le segment considéré. Le poids relatif de l'estomac, stable de 14 à 35 jours, a décliné entre 42 et 49 jours. Le poids relatif de l'intestin grêle a oscillé entre des valeurs de 3 et 4%, la valeur la plus haute ayant été observée à 28 jours et la plus faible à 42 jours. Le poids relatif du cæcum a augmenté progressivement entre 14 et 28 jours, puis est resté stable de 35 à 49 jours. Le poids relatif du côlon proximal, stable entre 14 et 21 jours, s'est accru de 59% entre 21 et 28 jours, puis est demeuré stable jusqu'à 49 jours.

L'âge au sevrage des lapereaux n'a pas eu d'influence sur les valeurs absolues des poids vides de l'estomac et de l'intestin grêle, alors que les poids du cæcum et du côlon proximal des lapereaux S21 étaient supérieurs à ceux des lapereaux S35 à 28 jours (+10% et +30%, respectivement, $P < 0,05$). Le poids vide du côlon proximal des lapereaux S21 était également supérieur de 13% à celui des lapereaux S35 à 42 jours ($P < 0,05$). Exprimés relativement au poids vif de l'animal, les poids vides des différents segments digestifs ont été supérieurs dans le lot S21 comparativement au lot S35 ($P < 0,001$) entre 28 et 49 jours : en moyenne, +8% pour l'estomac, +11% pour l'intestin grêle, +14% pour le cæcum et +25% pour le côlon proximal.

Alors que les segments digestifs situés après l'estomac se remplissaient rapidement de matières entre 21 et 28 jours ($\times 7,9$ pour l'intestin grêle, $\times 4$ pour le cæcum et $\times 14,8$ pour le côlon proximal), puis progressivement jusqu'à 49 jours, l'estomac montrait une évolution du poids de son contenu différente selon l'âge au sevrage (Figure 27). Dans le lot S35, le poids du contenu stomacal n'a plus varié à partir de 28 jours, alors que celui des animaux S21 a augmenté lentement mais progressivement entre 14 et 49 jours ($\times 2,5$). Lorsque exprimés relativement au poids vif des animaux, les poids de contenu des différents segments digestifs présentent des évolutions différentes. Pour l'estomac, les poids de contenu ont décliné avec l'âge, mais de façon plus progressive pour les lapereaux S35. Pour les autres segments digestifs, les poids relatifs des contenus n'ont pas varié entre 14 et 21 jours, puis ont augmenté rapidement entre 21 et 28 jours, puis sont restés stables jusqu'à 49 jours.

Le poids des contenus digestifs absolu a varié selon l'âge au sevrage. Le poids du contenu stomacal des lapereaux sevrés était plus faible de 29% à 28 jours ($P < 0,001$) et de 35% à 35 jours ($P < 0,001$), comparativement à celui des lapereaux encore allaités. En revanche, le poids de contenu frais des trois autres segments digestifs était supérieur à 28 jours chez les lapereaux sevrés ($P < 0,05$). Cette différence a persisté jusqu'à 35 jours pour le côlon proximal (+69%, $P < 0,01$). Les mêmes observations ont été effectuées lorsque les poids de contenus ont été exprimés relativement au poids vif de l'animal. Aucune différence supplémentaire n'a été mise en évidence.

Figure 27 Evolution du poids frais absolu et relatif du contenu des différents segments digestifs des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage



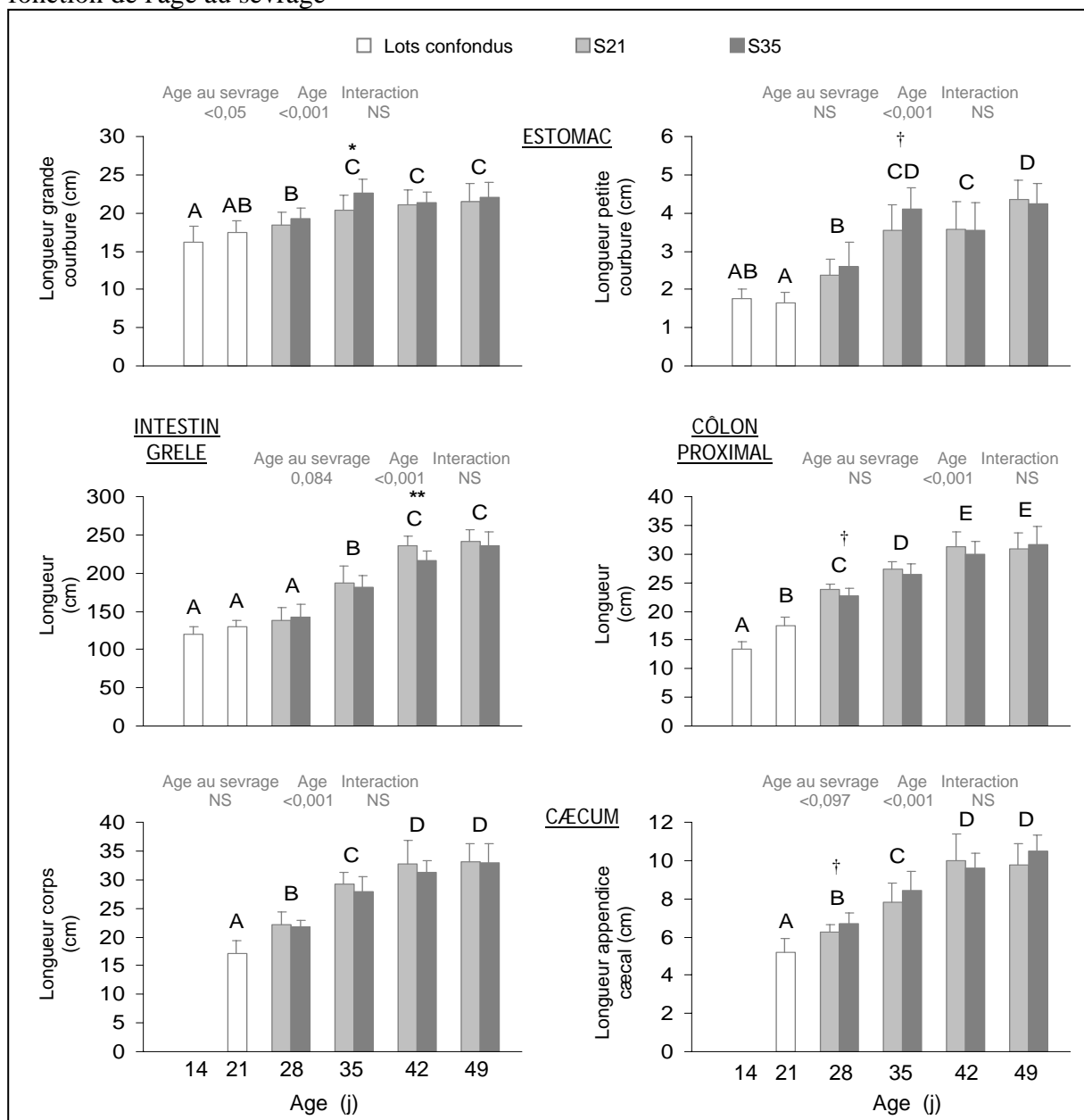
PV : poids vif; Moyennes arithmétiques ± ET; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = P>0,10); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes (P<0,05), avec lettres capitales grises pour S21 et minuscules pour S35 si interaction significative dans le modèle général; Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si P<0,10 ; † P<0,10, * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001.

IV.A.3. Résultats : Longueur des différents segments digestifs

Pour l'ensemble des segments digestifs, leur longueur a eu tendance à s'accroître avec l'âge, mais il semble que tous les organes avaient atteint leur longueur maximale à 42 jours, voire à 35 jours pour ce qui concerne l'estomac (Figure 28).

Peu de différences liées à l'âge au sevrage ont été mises en évidence. La grande courbure de l'estomac des lapereaux S21 était plus courte que celle des lapereaux S35 à 35 jours (-9,4%, $P < 0,05$). A 42 jours, l'intestin grêle des lapereaux S21 était plus long de 8,7% comparativement à celui des lapereaux S35 ($P < 0,01$).

Figure 28 Evolution des longueurs des différents segments digestifs des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage



Moyennes arithmétiques \pm ET; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = $P > 0,10$); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P < 0,05$); Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$; † $P < 0,10$, ** $P < 0,01$.

IV.A.4. Discussion

- Age et croissance des segments digestifs

Les poids de l'estomac et de l'intestin grêle, exprimés relativement au poids vif de l'animal, décroissent ou sont stables de 14 à 28 jours, alors que ceux du cæcum et du côlon proximal augmentent sur cette même période. Ceci démontre l'importance croissante du gros intestin, par rapport aux segments digestifs antérieurs en accord avec ce qui a été précédemment décrit (*Lebas et Laplace, 1972*). Pour ce qui concerne l'évolution des longueurs des différents segments digestifs, celles-ci augmentent jusqu'à 6 semaines, puis restent stables entre 6 et 7 semaines. Pourtant, il semble que cette croissance en longueur se poursuive au moins jusqu'à 9 semaines chez le lapin (*Lebas et Laplace, 1972*).

- Age au sevrage et croissance des segments digestifs

Le développement du tractus digestif, relativement au poids vif de l'animal, est stimulé de 28 à 49 jours lorsque les lapereaux sont sevrés à 21 jours. *Xiccato et al. (2001)* avaient également montré que plus les lapereaux étaient sevrés précocement, plus les poids relatifs vides et pleins des segments digestifs étaient importants. Ce phénomène pourrait être expliqué en partie par l'augmentation de l'ingestion d'aliment granulé, conduisant à une stimulation mécanique accrue et donc à un épaissement et une élongation de la paroi digestive. En effet, excepté pour l'estomac, les différents segments digestifs des lapereaux sevrés contiennent plus de matières fraîches à 28 jours que ceux des lapereaux allaités. Cependant, d'après *Laplace et Lebas (1972)*, le poids du lapereau au sein d'une population d'un âge donné n'est pas un facteur discriminant approprié pour l'étude de la croissance des organes digestifs. Aussi, lorsque l'on s'intéresse aux poids absolus des segments digestifs, il apparaît que seul le côlon proximal à 28 et 42 jours et le cæcum à 28 jours sont plus développés chez les lapereaux sevrés à 21 jours. Les différences observées lorsque les poids des différents segments digestifs sont exprimés par rapport au poids vif des lapereaux seraient alors une simple conséquence du poids vif plus faible des lapereaux abattus. Le développement des segments antérieurs serait alors indépendant de l'âge au sevrage, et donc sous l'influence majeure d'une programmation ontogénique. En revanche, le sevrage précoce conduit à un développement plus important du gros intestin à 28 jours, qui semble persister jusqu'à 42 jours dans le cas du côlon proximal. Le développement du gros intestin serait davantage dépendant du statut nutritionnel du lapereau, et notamment sous l'influence de son niveau d'ingestion de l'aliment solide.

IV.B. EVOLUTION HISTOLOGIQUE DE L'INTESTIN GRELE EN FONCTION DE L'AGE AU SEVRAGE

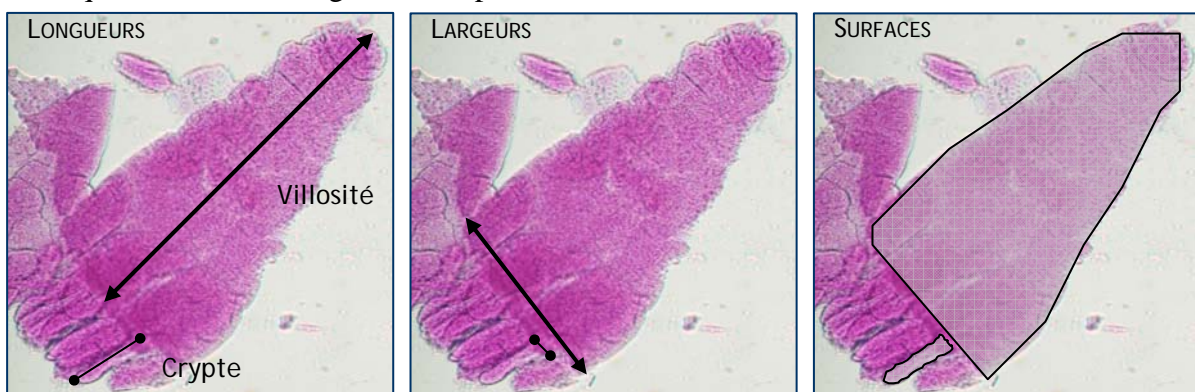
IV.B.1. Méthode

◦ Description de la méthode

Dans cette étude, une méthode de microdissection a été choisie afin d'étudier la morphométrie de la muqueuse de l'intestin grêle. Dans ce procédé, après fixation et coloration de la paroi digestive, les villosités et les cryptes intestinales sont disséquées sous loupe binoculaire, puis leur morphométrie étudiée en microscopie optique après montage entre lame et lamelle.

Les échantillons ont été analysés selon la procédure décrite par *Goodlad et al. (1991)*. Après une réhydratation progressive des échantillons de parois d'intestin grêle dans deux bains d'éthanol à 75 et 50%, et dans de l'eau distillée, ceux-ci ont été colorés par la réaction de Feulgen : une hydrolyse acide (HCl 1N) à 60°C pendant 6 minutes, suivie d'une immersion de 30 minutes dans du réactif de Schiff. L'ADN se colore alors en rose-violet. Après un rinçage dans de l'eau distillée, les échantillons ont été conservés dans de l'acide acétique à 45% jusqu'à l'analyse morphométrique. Sous loupe binoculaire, les villosités et les cryptes intestinales ont été précautionneusement disséquées à l'aide de deux aiguilles montées sur des seringues à insuline (séparation progressive en amas de 1 à 5 villosités) sur une lame de microscope. Ensuite les préparations ont été montées entre lame et lamelle, avec éventuellement un agent de montage en milieu aqueux (Aquamount improved "gurr"[®], VWR) si l'analyse morphométrique n'était pas immédiate (cas des échantillons jéjunaux et iléaux).

Figure 29 Mesures morphologiques effectuées sur les villosités et les cryptes intestinales de la muqueuse de l'intestin grêle des lapereaux



Ainsi, 20 villosités (grossissement, $\times 40$) et 10 cryptes de Lieberkühn ($\times 100$) ont été mesurées par échantillon à l'aide d'un microscope optique (Nikon Eclipse E600), une caméra (Sony XC77E) et un logiciel d'analyse d'image (Visilog 5.2[®], Noesis). La longueur, la largeur

à la jonction crypte/villosité et la surface des villosités et des cryptes ont été mesurées et le ratio hauteur/largeur des villosités calculé (Figure 29).

◦ Analyse des données

A 14 et 21 jours, seuls 5 échantillons de chaque segment intestinal ont été analysés. A 28, 35, 42 et 49 jours, 5 échantillons par lot ont été examinés.

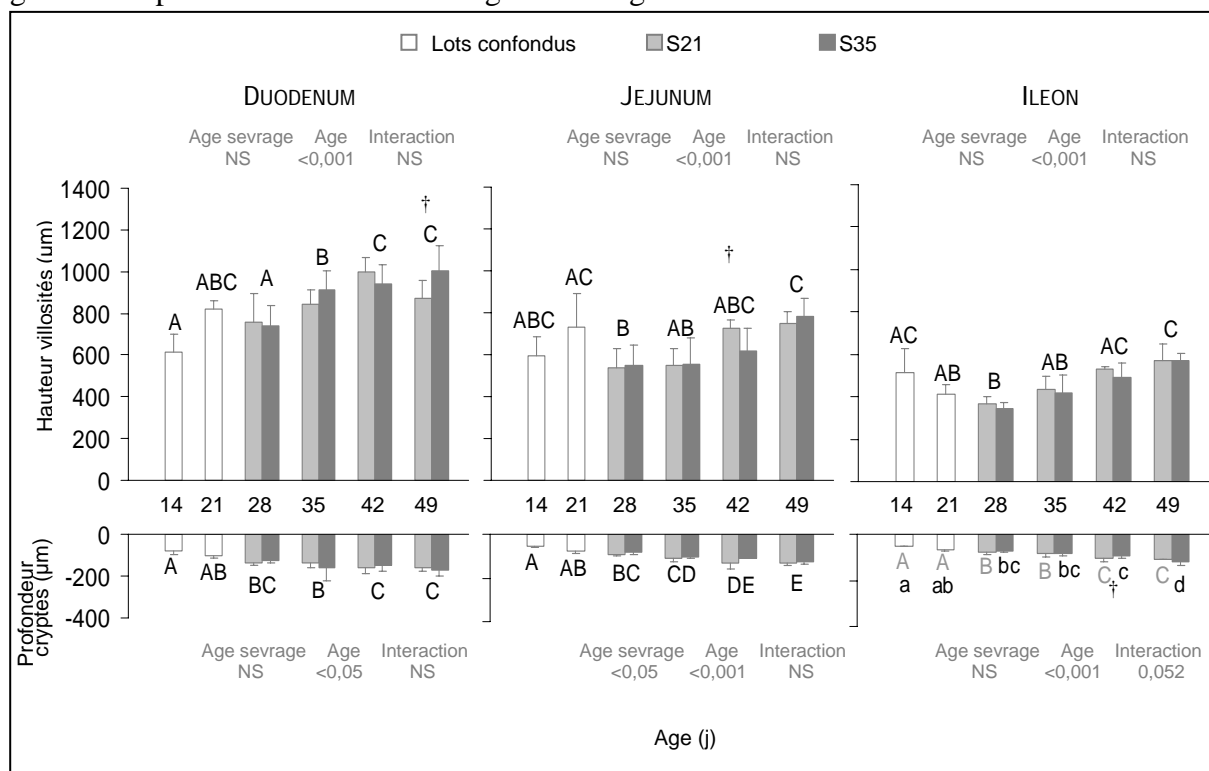
Les données morphométriques des villosités et des cryptes ont été analysées au moyen de la procédure GLM (SAS, 1999). Les effets de l'âge au sevrage, de l'âge et leur interaction ont été introduits dans un modèle général de 28 à 49 jours. Puis pour chaque âge, l'effet de l'âge au sevrage a été analysé. De 14 à 49 jours, l'effet de l'âge a été testé pour chaque lot âge au sevrage si une interaction significative était mise en évidence dans le modèle général, ou lots S21 et S35 confondus dans le cas contraire, et un test de comparaisons multiples de moyennes (test de Scheffé) a été effectué.

IV.B.2. Résultats : Evolution morphométrique des villosités et des cryptes intestinales

Quel que soit le segment de l'intestin grêle considéré, les hauteurs de villosités n'ont pas été affectées par l'âge au sevrage (Figure 30). En revanche, elles ont augmenté de taille entre 28 et 49 jours : 746 vs. 940 μm pour le duodénum, 544 vs. 766 μm pour le jéjunum et 357 vs. 570 μm pour l'iléon. Pour le duodénum et le jéjunum, les villosités se sont allongées entre 14 et 21 jours, puis raccourcies à 28 jours (de manière non significative pour le duodénum) avant de s'accroître de nouveau en longueur. Les villosités iléales ont, quant à elles, diminué de longueur entre 14 et 28 jours, puis se sont allongées entre 28 et 49 jours. Alors que les villosités jéjunales et iléales ont poursuivi leur allongement entre 42 et 49 jours, la croissance des villosités duodénales semblait terminée à 42 jours.

L'âge au sevrage n'a pas eu d'incidence sur la profondeur des cryptes, excepté au niveau jéjunal, où les cryptes des lapereaux S21 ont été plus profondes de 10% en moyenne de 28 à 49 jours ($P < 0,05$), comparativement à celles des lapereaux S35. Avec l'âge, la profondeur des cryptes des différents segments de l'intestin grêle s'est accrue. Cet approfondissement a semblé plus progressif dans l'iléon des lapereaux S35, que dans celui des lapereaux S21 (interaction âge \times âge au sevrage, $P = 0,052$).

Figure 30 Evolution des hauteurs de villosités et profondeurs de cryptes le long de l'intestin grêle des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage



Moyennes arithmétiques \pm ET; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = $P > 0,10$); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P < 0,05$), avec lettres capitales grises pour S21 et minuscules pour S35 si interaction significative dans le modèle général; Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$; † $P < 0,10$.

Le ratio hauteur / base des villosités renseigne sur la forme des villosités (Figure 31, Photo 2). Entre 14 et 28 jours, des changements de forme des villosités ont pu être notés : de fines à 14 et 21 jours, les villosités se sont élargies à partir de 28 jours dans tous les segments de l'intestin grêle (diminution du ratio entre 14 et 28 jours). De 28 à 49 jours, quel que soit le segment de l'intestin grêle considéré, ni l'âge au sevrage, ni l'âge des animaux n'a eu d'incidence significative sur ce ratio. Les villosités étaient environ 2 fois plus longues que larges (en moyenne de 28 à 49 jours, $\times 2,2$, $\times 2,1$ et $\times 2,5$ respectivement pour le duodénum, le jéjunum et l'iléon). Cependant, à 49 jours, les villosités duodénales des lapereaux S21 sont apparues proportionnellement plus longues que larges comparées à celles des lapereaux S35 ($P < 0,01$).

Photo 2 Evolution morphologique des villosités duodénales avec l'âge

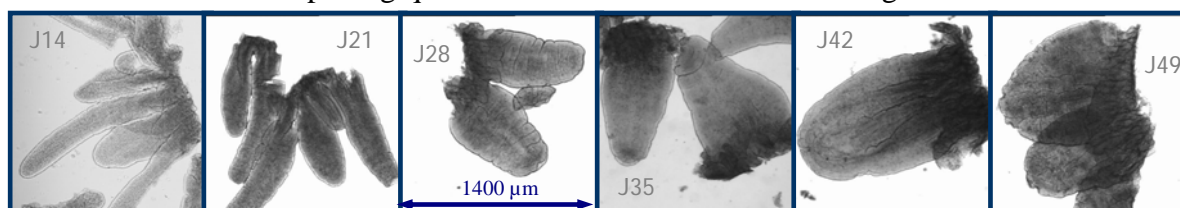
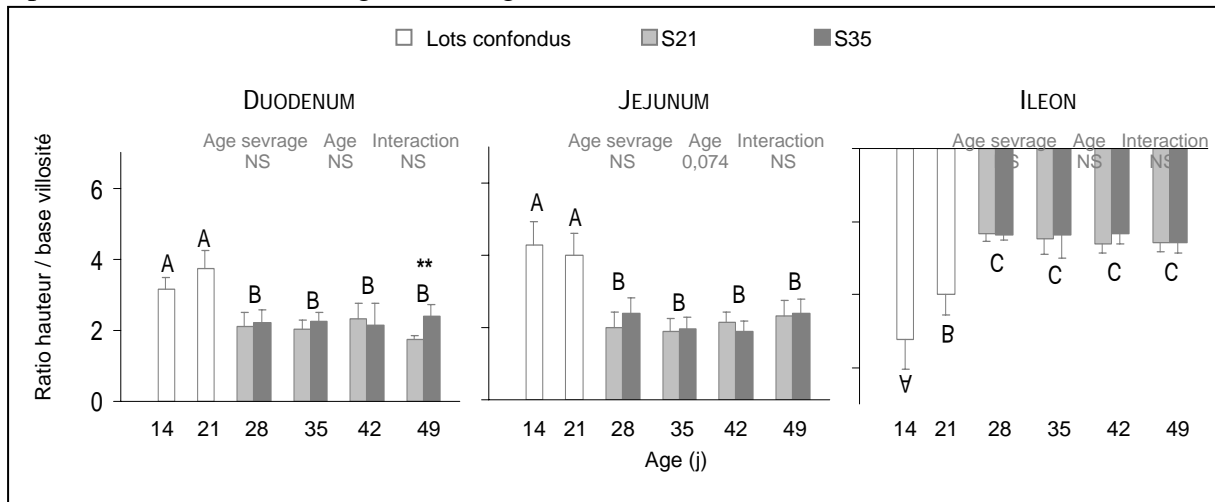


Figure 31 Evolution du ratio hauteur / base des villosités le long de l'intestin grêle des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage

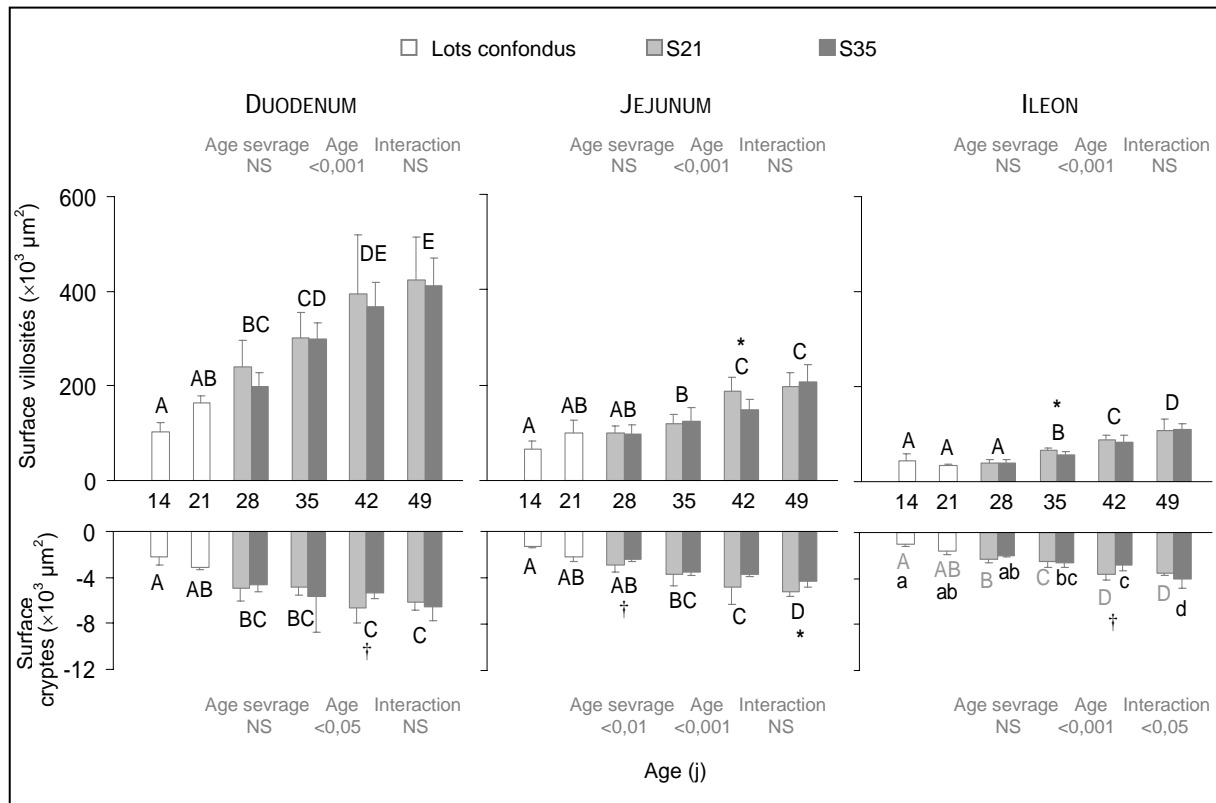


Moyennes arithmétiques \pm ET; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = $P > 0,10$); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P < 0,05$); Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$: ** $P < 0,01$.

La surface des villosités a augmenté avec l'âge indépendamment de l'âge au sevrage (Figure 32), excepté à 42 jours pour le jéjunum et à 35 jours pour l'iléon, âges auxquels les surfaces villositaires des lapereaux S21 étaient supérieures à celles des lapereaux S35 (+26% et +18%, respectivement, $P < 0,05$).

L'évolution de la surface des cryptes duodénales a été similaire entre les 2 âges au sevrage : leurs surfaces se sont accrues entre 14 et 42 jours, puis sont restées stables entre 42 et 49 jours. A 42 jours, cependant, la surface des cryptes duodénales des lapereaux S21 tendait à être supérieure à celle des lapereaux S35 (+23%, $P < 0,10$). Pour le jéjunum, la surface des cryptes des lapereaux S21 a été supérieure de 19% en moyenne à celle des lapereaux S35 pour l'ensemble de la période 28-49 jours ($P < 0,01$). Les cryptes iléales ont présenté une évolution de leur surface différente selon l'âge au sevrage : les cryptes des lapereaux S21 semblaient avoir atteint leur surface maximale à 42 jours, alors que la surface des cryptes des lapereaux S35 a augmenté progressivement jusqu'à 49 jours. La surface des cryptes a augmenté avec l'âge à partir de 14 jours et jusqu'à 42 et 49 jours, respectivement pour le duodénum et le jéjunum.

Figure 32 Evolution des surfaces des villosités et des cryptes le long de l'intestin grêle des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage



Moyennes arithmétiques ± ET; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = $P > 0,10$); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P < 0,05$), avec lettres capitales grises pour S21 et minuscules pour S35 si interaction significative dans le modèle général; Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$; † $P < 0,10$, * $P < 0,05$.

Indépendamment de l'âge au sevrage, un gradient proximo-distal décroissant a été mis en évidence le long de la muqueuse intestinale pour les paramètres de longueur et de surface. Aux différents âges étudiés, les paramètres de morphométrie mesurés étaient significativement supérieurs dans le duodénum, inférieurs dans l'iléon, intermédiaires mais différents dans le jéjunum ($P < 0,05$). Seules les différences suivantes n'ont pas été mises en évidence. Aucune différence entre les sites n'a été soulignée à 14 jours pour les hauteurs de villosités, et à 21 jours les villosités duodénales et jéjunales étaient plus longues que les villosités iléales, mais sans différence significative entre les deux premiers sites. Les valeurs duodénales ont été supérieures aux valeurs jéjunales et iléales, sans différence significative entre ces deux derniers sites pour les paramètres suivants : surface villositaire à 14 jours et profondeur de cryptes à 14, 35 et 49 jours. Les cryptes tendaient seulement à être plus profondes dans le jéjunum, comparativement à l'iléon à 21 et à 42 jours ($P = 0,093$ et $P = 0,089$, respectivement).

IV.B.3. Discussion

- Aspects méthodologiques

Cette technique de microdissection de la muqueuse intestinale est peu employée par rapport à la méthode plus classique, de coupe de paroi digestive après inclusion en paraffine et coloration à l'hématoxyline/éosine. Cette méthode offre pourtant des possibilités intéressantes d'étude de la morphologie de la muqueuse. En effet, elle permet d'apprécier la forme des villosités et des cryptes et une estimation plus précise de leur morphométrie. Lors de coupes histologiques, la décision de l'orientation de la coupe par rapport à chaque villosité revient à l'expérimentateur. Or, il est parfois difficile d'estimer si celle-ci est centrée sur l'apex des villosités. Une étude récente chez le lapin a d'ailleurs mis en évidence que la microdissection donne des valeurs numériques supérieures à celles obtenues lors de coupes (*Alves et al., 2004*) : les hauteurs de villosités sont supérieures de 40 à 51% à celles mesurées lors de coupes en paraffine. Une rétraction observée lors de l'inclusion en paraffine, due à une déshydratation des tissus, pourrait également contribuer à ces mesures plus faibles. Par ailleurs, la méthode de microdissection permet l'estimation des surfaces.

Cependant, cette méthode a de nombreuses limites dans le diagnostic pathologique, et ne permet pas l'étude des autres composants de la paroi digestive, à savoir la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse.

- Age et morphométrie de la muqueuse intestinale

De 14 à 49 jours, les évolutions divergentes entre l'estimation des surfaces (augmentation) et des hauteurs (d'abord une diminution suivie d'une augmentation) des villosités intestinales suggèrent que ce dernier paramètre serait insuffisant pour estimer les structures villositaires de la muqueuse. En effet, comme rapporté par *Wiese et al. (2003)*, les hauteurs de villosités ne sont pas représentatives de la surface d'absorption, en raison des différences de forme entre villosités. Une villosité courte mais large pourra ainsi présenter une surface d'absorption supérieure à une villosité haute mais fine. Les résultats présents montrent un élargissement important des villosités sans augmentation importante de leur longueur au moins jusqu'à 28 jours. Ainsi, de fines et en forme de doigts, les villosités évoluent vers des formes plus larges de feuilles ou de langues, comme déjà montré dans différentes études (*Van der Hage, 1988; Yu et Chiou, 1997*). Ce changement de forme pourrait participer à l'augmentation de la résistance de la muqueuse intestinale à l'aliment solide, plus abrasif que le lait maternel.

Ainsi, la surface des villosités augmente avec l'âge. Cependant, les valeurs absolues de ce critère doivent être considérées avec prudence car la surface représentée par les

microvillosités, l'épaisseur des villosités et la densité de villosités par unité de surface de muqueuse sont autant de paramètres non pris en compte et importants dans l'estimation des capacités d'absorption du lapereau. Ainsi, *Keelan et al. (1985)* ont rapporté qu'entre des lapins de 6 semaines et des lapins adultes, les villosités devenaient plus courtes mais aussi plus épaisses, ce qui conduisaient à des surfaces similaires. Malgré ces limites, nous pensons tout de même pouvoir attribuer l'augmentation de surface observée avec l'âge à une augmentation des capacités de digestion et d'absorption de la muqueuse de l'intestin grêle des lapereaux.

D'après *Goodlad et al. (1991)*, la surface des cryptes est corrélée avec le nombre de mitoses. En partant d'une telle hypothèse, l'accroissement de surface des villosités pourrait résulter en partie d'une augmentation de la production de cellules par les cryptes, et donc être liée à l'augmentation de surface de ces cryptes. En effet, d'après *Keelan et al. (1985)*, la taille des cellules n'étant pas modifiée avec l'âge, l'accroissement de surface des villosités serait une résultante de l'augmentation du nombre d'entérocytes. Le nombre de cryptes par villosité, non évalué dans notre étude, pourrait également évoluer avec l'âge et être en partie responsable de l'accroissement de la surface des villosités.

Dans cette étude, plus le segment d'intestin grêle était éloigné de l'estomac, plus la hauteur et la surface des villosités et des cryptes intestinales étaient faibles. Les données de la littérature sont controversées pour ce qui concerne le lapin (*Chiou et al., 1994; Yu et Chiou, 1997*). Les modalités d'échantillonnage le long de l'intestin grêle et les procédures analytiques non homogènes entre les études pourraient expliquer ces désaccords. Cependant, une étude récente (*Takeuchi et Gonda, 2004*) montre l'existence de ce même gradient de hauteur de villosités chez le lapin adulte, mais avec des différences moindres entre segments : environ 100 µm entre 2 segments consécutifs. Dans notre étude, l'allongement des villosités semble stoppé à partir de 42 jours dans le duodénum, contrairement aux deux autres segments, suggérant que les différences entre segments pourraient s'estomper après 7 semaines d'âge. Cette observation serait en accord avec des études antérieures ayant démontré l'existence d'un gradient proximo-distal de maturation de l'intestin grêle chez le lapereau (*Toofanian et Targovski, 1982; Van der Hage, 1988*).

◦ Age au sevrage et morphométrie de la muqueuse intestinale

Dans cette étude, l'âge au sevrage a eu une influence très modeste sur la morphométrie de la muqueuse intestinale. Pourtant, *Gutiérrez et al. (2002a)* avaient observé à 35 jours des villosités plus courtes et des cryptes plus profondes dans le jéjunum de lapereaux sevrés

depuis 10 jours comparativement à des lapereaux encore allaités. Chez le porcelet, le sevrage semble plus stressant pour la muqueuse intestinale. Une atrophie des villosités est classiquement observée dans les quelques jours qui suivent leur sevrage. Contrairement au lapin, le sevrage est beaucoup plus brutal dans cette espèce. En effet, il est actuellement pratiqué entre 21 et 28 jours, alors que les porcelets semblent n'être en mesure d'augmenter significativement leur prise d'aliment solide qu'à partir de l'âge de 6 semaines (*Aumaître et Salmon-Legagneur, 1961*). L'hypothèse que cette atrophie pouvait être causée par le stress occasionné par le sevrage a été formulée. Cependant, aucun lien entre le sevrage et les sécrétions de corticoïdes et d'adrénaline n'a pu être établi pour appuyer cette théorie (*Albinsson et Andersson, 1990*). Il a également été supposé que des facteurs présents dans le lait, tels que l'EGF (Epidermal Growth Factor), l'insuline ou les IGF (Insulin-like Growth Factor), ou des polyamines pourraient exercer une action positive sur la croissance des villosités (*Grant et al., 1990; Odle et al., 1996; Marion et al., 2002a*). Dans notre étude, l'ingestion de lait n'a pas semblé essentielle à la croissance des villosités : les villosités des lapereaux sevrés ou encore allaités ont évolué de façon similaire avec l'âge. La sous-consommation transitoire occasionnée par le sevrage du porcelet est sans doute un facteur déterminant de l'atrophie villositaire, qui serait alors essentiellement expliquée par un ingéré énergétique insuffisant (*Spreeuwenberg et al., 2001; Marion et al., 2002b*). Dans notre étude, le raccourcissement des villosités observé à 28 jours apparaît après le début d'une ingestion significative d'aliment granulé que les animaux soient sevrés ou encore allaités. Ainsi, chez le lapin, cette décroissance en hauteur des villosités pourrait être davantage liée au début de l'ingestion d'aliment solide, indépendamment de la quantité ingérée. Ce raccourcissement pourrait être consécutif à une abrasion des villosités par l'aliment solide : action mécanique, hypersensibilité transitoire à certains composants, présence de facteurs anti-nutritionnels (*Pluske et al., 1997*). Cependant, un échantillonnage plus fréquent entre 21 et 28 jours aurait permis d'étudier si l'évolution de la hauteur des villosités était tout à fait similaire entre les lapereaux des deux âges au sevrage. En effet, les villosités des lapereaux sevrés ou allaités auraient pu subir une évolution différentielle après 21 jours, mais conduisant à des valeurs similaires à 28 jours.

Dans notre étude, les cryptes jéjunales des lapereaux sevrés précocement étaient plus profondes comparativement au sevrage à 35 jours de 28 à 49 jours, mais sans incidence sur la morphométrie des villosités. Ainsi, la perte d'entérocytes à l'apex des villosités jéjunales des lapereaux sevrés à 21 jours pourrait être accrue (sollicitation pour la digestion et l'absorption des nutriments, élimination de micro-organismes, abrasion par des composants d'origine végétale), et compensée par une augmentation de la production d'entérocytes par les cryptes.

V. LES CAPACITES DE DIGESTION DES LAPEREAX SONT MODULABLES EN FONCTION DE L'AGE AU SEVRAGE

Dans ce sous-chapitre, le développement du potentiel enzymatique des lapereaux âgés de 2 à 7 semaines sera décrit en fonction de l'âge auquel ils ont été sevrés (21 vs. 35 jours). Puis le développement des activités fermentaires cœcales sera étudié. Les données sont issues des mesures et prélèvements effectués au cours de l'étude 1.

Puis, l'efficacité de la digestion de l'aliment granulé sera déterminée en deux temps : une première étape au cours de laquelle la digestibilité de l'aliment sera déterminée aux niveaux iléal et fécal, puis une deuxième étape où un bilan de la digestion endogène (fin de l'iléon) et totale (endogène + microbienne) des différents nutriments sera effectué pour chaque période d'étude. Ces données sont issues des mesures et prélèvements réalisés dans l'étude 2.

V.A. DEVELOPPEMENT DU POTENTIEL ENZYMATIQUE ENDOGENE

V.A.1. Méthodes

- Dosage des activités des enzymes d'origine pancréatique dans le contenu intestinal

Le contenu intestinal lyophilisé a été remis en suspension dans de l'eau distillée à la concentration de $66,67 \text{ mg.mL}^{-1}$. Après mélange, cette suspension a été homogénéisée 2 fois 15 secondes à $8000 \text{ trs.min}^{-1}$ (Ultra-Turrax, Janke et Kunkel, Staufen, Allemagne) puis centrifugée 12 minutes à 1000 g à 4°C . Le surnageant a été aliquoté dans des eppendorfs, conservés à -20°C jusqu'au jour du dosage. L'activité de l'amylase a été déterminée en accord avec la procédure de *Corring et Saucier (1972)* : dosage de la quantité d'amidon hydrolysé en 30 minutes à 37°C en milieu tamponné ($\text{pH} = 7,15$). La quantité d'amidon non hydrolysée en fin de réaction est révélée par dosage colorimétrique (solution d'iode/iodure, 580 nm). L'activité de la lipase a été déterminée par une méthode titrimétrique, utilisant le tributylglycérol comme substrat en présence de sels biliaires (*Rathelot et al., 1975*) : les fonctions acides des acides gras libérés au cours de la réaction enzymatique sont titrées à l'aide d'un pH-mètre enregistreur (25°C , $\text{pH} = 7,5$). L'activité de la trypsine a été mesurée par spectrophotométrie en utilisant le N- α -benzoyl L-arginine p-nitroanilide comme substrat dans un milieu réactionnel de pH égal à $7,9$ (*Lainé et al., 1993*). L'absorbance de la para-nitroaniline libérée est lue à 405 nm . Les mesures d'activité ayant été réalisées sur les contenus intestinaux, la colipase n'a pas été ajoutée pour le dosage de l'activité lipasique et aucune activation n'a été nécessaire pour le dosage de la trypsine. Les activités des enzymes dans le contenu intestinal (UI) sont exprimées en mg d'amidon dégradé par minute pour l'amylase, en

μmoles de substrat dégradé par minute pour la trypsine, et en μmoles de fonctions acides libérées par minute pour la lipase.

◦ Dosage des activités des enzymes de la muqueuse intestinale

Après décongélation dans la glace, les muqueuses intestinales ont été homogénéisées 2 fois 15 secondes à 8000 trs.min⁻¹ (Ultra-Turrax, Janke et Kunkel, Staufen, Allemagne), à raison de 1 g de muqueuse dans 5 mL d'eau distillée. Ces homogénats ont ensuite été aliquotés dans des eppendorfs, puis conservés à -20°C jusqu'à l'analyse enzymatique. Dans les homogénats complets de muqueuses duodénale et jéjunale, les activités de la maltase et de la saccharase ont été déterminées selon la méthode de *Dahlqvist (1964)*, en utilisant respectivement le maltose et le saccharose comme substrats. Le glucose libéré après 1 heure d'incubation à 37°C a alors été révélé en utilisant l'enzyme glucose oxydase-peroxydase (RTU[®] kit, bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). La lecture de la densité optique du produit formé a été réalisée à 490 nm. La cinétique de libération de la para-nitroaniline à partir de la leucine-p-nitroanilide, mesurée spectrophotométriquement à 410 nm a permis de déterminer l'activité de l'aminopeptidase N (*Maroux et al., 1973*). Cette activité a été déterminée dans le surnageant après 5 minutes de centrifugation (1000 g à 4°C). La concentration en protéines des muqueuses a été déterminée par réaction colorimétrique (562 nm) selon *Pierce et Suelter (1977)* sur les homogénats complets. Les activités des enzymes de la muqueuse ont été exprimées en nmoles de substrats hydrolysés par minute (UI).

◦ Analyse des données

Les activités enzymatiques du contenu intestinal ont été exprimées selon 2 modalités : l'activité relative par gramme de lyophilisat, reflétant la disponibilité de l'enzyme vis-à-vis du substrat, et l'activité totale rapportée au contenu intestinal total, probablement plus représentative du niveau de production et de sécrétion de l'enzyme par le pancréas (*Debray et al., 2003*). Les faibles quantités de contenus intestinaux sur les très jeunes animaux n'ont pas permis d'obtenir les résultats pour l'ensemble des enzymes : à 14 jours, seule l'activité de l'amylase a été déterminée. Par ailleurs, les activités enzymatiques n'ont pas été exprimées en activité totale à 14 et à 21 jours, du fait d'une mauvaise estimation de la quantité de contenu intraluminal total lyophilisé pour de nombreux échantillons.

Les activités enzymatiques de la muqueuse intestinale ont été exprimées selon 3 modalités : l'activité relative par gramme de muqueuse fraîche permettant d'évaluer les variations de disponibilité de l'enzyme pour son substrat, l'activité spécifique rapportée au contenu protéique de la muqueuse reflétant la spécificité d'adaptation de la muqueuse

intestinale, et l'activité totale pour l'ensemble du segment digestif considéré permettant d'estimer le potentiel digestif total.

Les données ont été analysées au moyen de la procédure GLM (SAS, 1999). Les effets de l'âge au sevrage, de l'âge et de leur interaction ont été introduits dans un modèle général de 28 à 49 jours. Puis pour chaque âge, l'effet de l'âge au sevrage a été analysé. De 14 à 49 jours, l'effet de l'âge a été testé pour chaque lot âge au sevrage si une interaction significative était mise en évidence dans le modèle général, ou lots S21 et S35 confondus dans le cas contraire, et un test de comparaisons multiples de moyennes (test de Scheffé) a été effectué.

V.A.2. Résultats : Evolution des activités des enzymes de l'intestin grêle

◦ Caractéristiques de l'intestin grêle

La quantité de contenu intestinal lyophilisé a augmenté avec l'âge (Tableau 18). A 28 jours, l'intestin grêle des lapereaux S21 contenait 58% de matière sèche en plus que celui des lapereaux S35 ($P < 0,05$).

Tableau 18 Caractéristiques du contenu et de la muqueuse de l'intestin grêle des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage

Caractéristique	Age (j)						Valeurs de P^*			
	14	21	28	35	42	49	Age au sevrage	Age	Inter-action	
Contenu lyophilisé, dg	S21	-	10,0 ^a ± 3,6	13,1 ± 5,3	15,4 ± 6,3	25,4 ± 21,2	NS	***	NS	
	S35	-	6,3 ^b ± 2,2	14,0 ± 4,8	15,6 ± 5,2	16,7 ± 10,9				
Muqueuse duodénale										
Densité, g.m ⁻¹	S21	3,2 ± 0,4	5,7 ± 0,9	8,8 ^a ± 1,4	7,4 ± 1,6	7,4 ± 3,2	8,9 ^a ± 2,4	NS	**	*
	S35			7,5 ^b ± 1,1	7,8 ± 1,3	9,0 ± 1,9	10,9 ^b ± 1,7			
Concentration en protéines, mg.g ⁻¹	S21	77,9 ± 11,7	100,0 ± 13,6	113,8 ± 14,7	113,8 ± 12,5	103,5 ± 15,1	116,4 ± 8,4	NS	NS	NS
	S35			111,9 ± 13,2	108,3 ± 6,8	116,1 ± 25,2	121,7 ± 9,4			
Muqueuse jéjunale										
Densité, g.m ⁻¹	S21	3,7 ± 0,8	4,5 ± 1,2	5,8 ± 1,5	6,3 ± 0,9	7,7 ^a ± 1,1	9,8 ^a ± 1,2	***	***	NS
	S35			6,3 ± 2,1	7,2 ± 1,3	9,3 ^b ± 0,8	11,9 ^b ± 1,6			
Concentration en protéines, mg.g ⁻¹	S21	108,3 ± 7,7	109,4 ± 11,4	101,0 ± 8,7	96,1 ± 16,9	108,1 ± 17,5	100,0 ± 13,9	NS	†	NS
	S35			95,2 ± 15,2	103,8 ± 15,8	110,9 ± 14,8	101,3 ± 13,3			

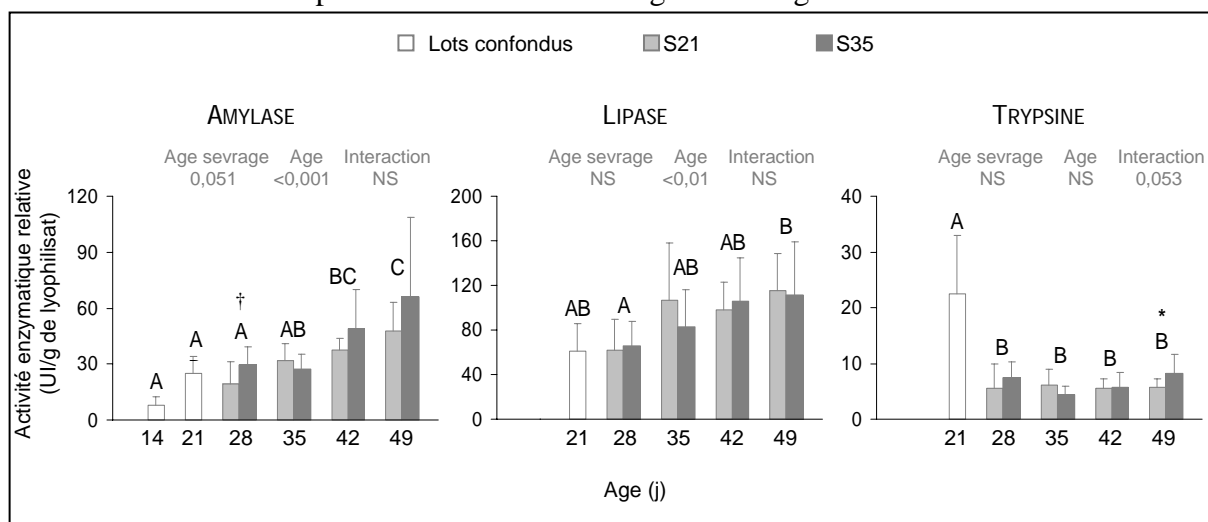
Moyennes arithmétiques ± ET; * Valeurs du modèle général de 28 à 49 jours : † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$; Pour un paramètre donné et au sein d'une même colonne, les lettres a et b signalent des moyennes différentes entre les 2 âges au sevrage ($P < 0,05$).

Le développement du poids de la muqueuse duodénale par unité de longueur (densité) a différé selon l'âge au sevrage : alors qu'il a augmenté de 14 à 49 jours pour les lapereaux S35, celui des lapereaux S21 s'est accru de 14 à 28 jours puis est resté stable. Ainsi, la densité de la muqueuse des lapereaux S21 était supérieure de 18% à 28 jours ($P<0,05$) et inférieure de 19% à 49 jours ($P<0,05$) à celle des lapereaux S35. Pour le jéjunum, le poids de la muqueuse a augmenté avec l'âge, mais celui des lapereaux S21 a été inférieur de 14% en moyenne de 28 à 49 jours ($P<0,001$) à celui des lapereaux S35. Les concentrations protéiques des muqueuses duodénale et jéjunale sont demeurées stables de 14 à 49 jours, et indépendantes de l'âge au sevrage.

◦ Activités enzymatiques dans le contenu intestinal

Les activités relatives de la lipase et de l'amylase ont augmenté avec l'âge, alors que l'activité de la trypsine, après avoir fortement décliné entre 21 et 28 jours ($\div 3,7$), est restée stable de 28 à 49 jours (Figure 33). Lorsque exprimées par rapport au contenu total présent dans l'intestin grêle (activités relatives \times contenu intestinal lyophilisé), les activités de ces enzymes ont présenté une évolution avec l'âge légèrement différente (Figure 34). Alors que l'activité de l'amylase a augmenté progressivement entre 28 et 49 jours, l'activité de la lipase s'est accrue entre 28 et 35 jours, puis est restée stable jusqu'à 49 jours. L'activité totale de la trypsine, stable entre 28 et 35 jours, a quant à elle progressivement augmenté de 35 à 49 jours.

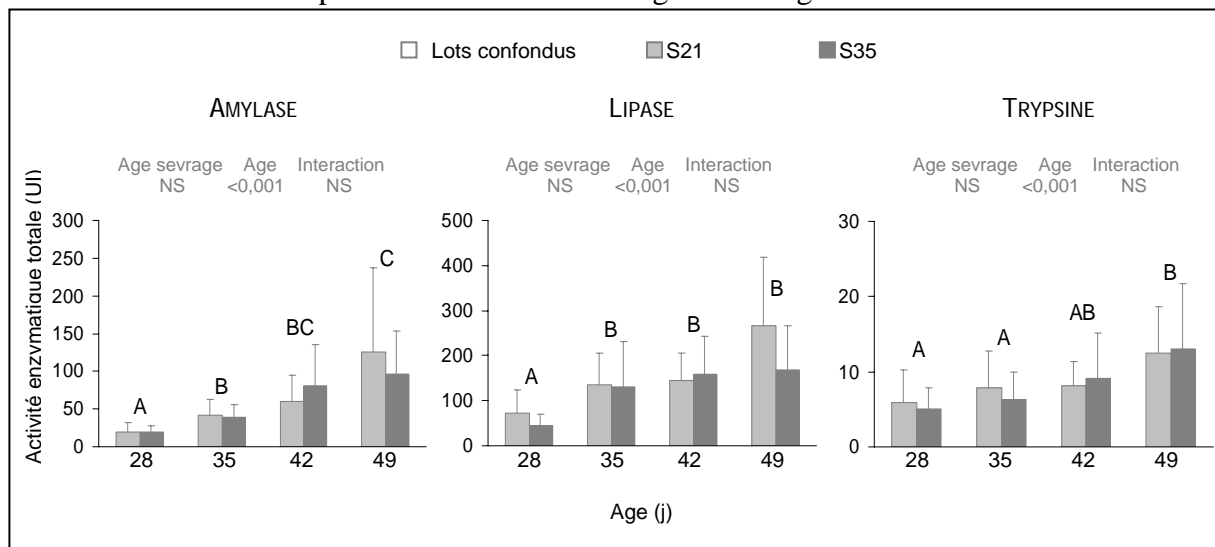
Figure 33 Evolution des activités relatives de l'amylase, de la lipase et de la trypsine dans le contenu intestinal des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage



UI = mg d'amidon dégradé / minute pour l'amylase, UI = μ moles de fonctions acides libérées / minute pour la lipase, UI = μ moles de substrat dégradé / minute pour la trypsine; Moyennes arithmétiques \pm ET; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = $P>0,10$); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P<0,05$); Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P<0,10$; † $P<0,10$, * $P<0,05$.

L'âge au sevrage n'a pas affecté l'activité relative de la lipase (Figure 33). En revanche, l'activité relative amylolytique tendait à être inférieure dans le contenu des lapereaux S21 de 28 à 49 jours (-18%, $P=0,051$). L'activité relative de la trypsine des lapereaux S21 a été inférieure de 31% à celle des lapereaux S35, mais uniquement à 49 jours ($P<0,05$). Lorsque les activités totales de ces enzymes ont été comparées, aucune différence liée à l'âge au sevrage n'a été soulignée (Figure 34).

Figure 34 Evolution des activités totales de l'amylase, de la lipase et de la trypsine dans le contenu intestinal des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage

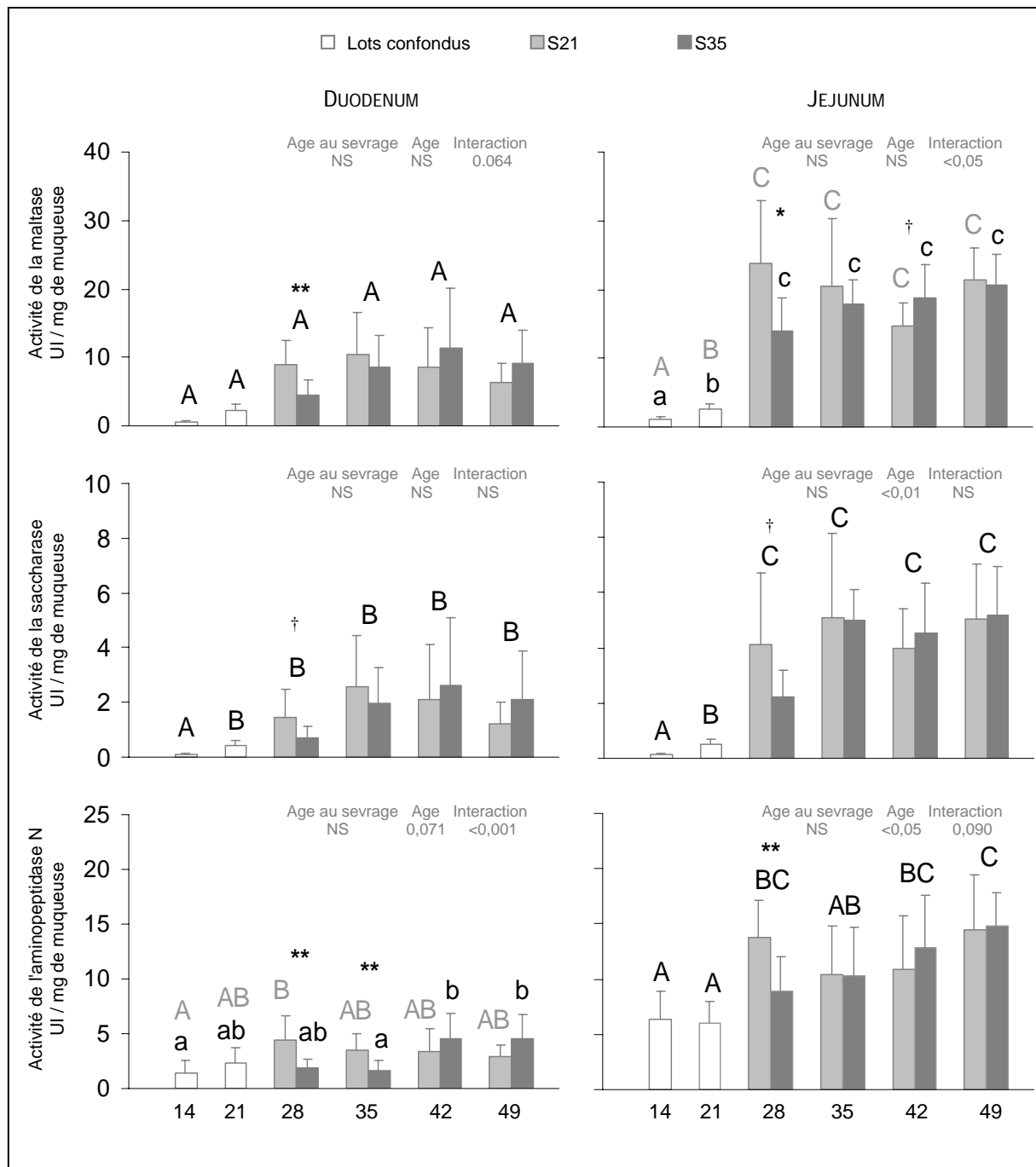


Moyennes arithmétiques \pm ET; UI = mg d'amidon dégradé / minute pour l'amylase, UI = μ moles de fonctions acides libérées / minute pour la lipase, UI = μ moles de substrat dégradé / minute pour la trypsine; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = $P>0,10$); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P<0,05$); Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage non significatif : $P>0,10$.

◦ Activités enzymatiques de la muqueuse de l'intestin grêle

L'activité de la maltase duodénale n'a pas significativement varié avec l'âge, tandis que celle de la saccharase a augmenté entre 14 et 21 jours, puis est demeurée à un niveau stable jusqu'à 49 jours dans le duodénum. Les activités relatives de la maltase et de la saccharase jéjunales, faibles à 14 et 21 jours, ont fortement augmenté entre 21 et 28 jours, puis sont restées stables jusqu'à 49 jours (Figure 35). Alors que l'activité de l'aminopeptidase N duodénale des lapereaux S21 augmentait entre 14 et 28 jours, puis restait stable jusqu'à 49 jours, celle des lapereaux S35 subissait une évolution différente : son activité, stable entre 14 et 35 jours, a augmenté à 42 et 49 jours. Dans le jéjunum, son activité relative n'a pas varié entre 14 et 21 jours, a augmenté entre 21 et 28 jours puis est demeurée relativement constante jusqu'à 49 jours.

Figure 35 Evolution des activités relatives des enzymes de la muqueuse intestinale des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage

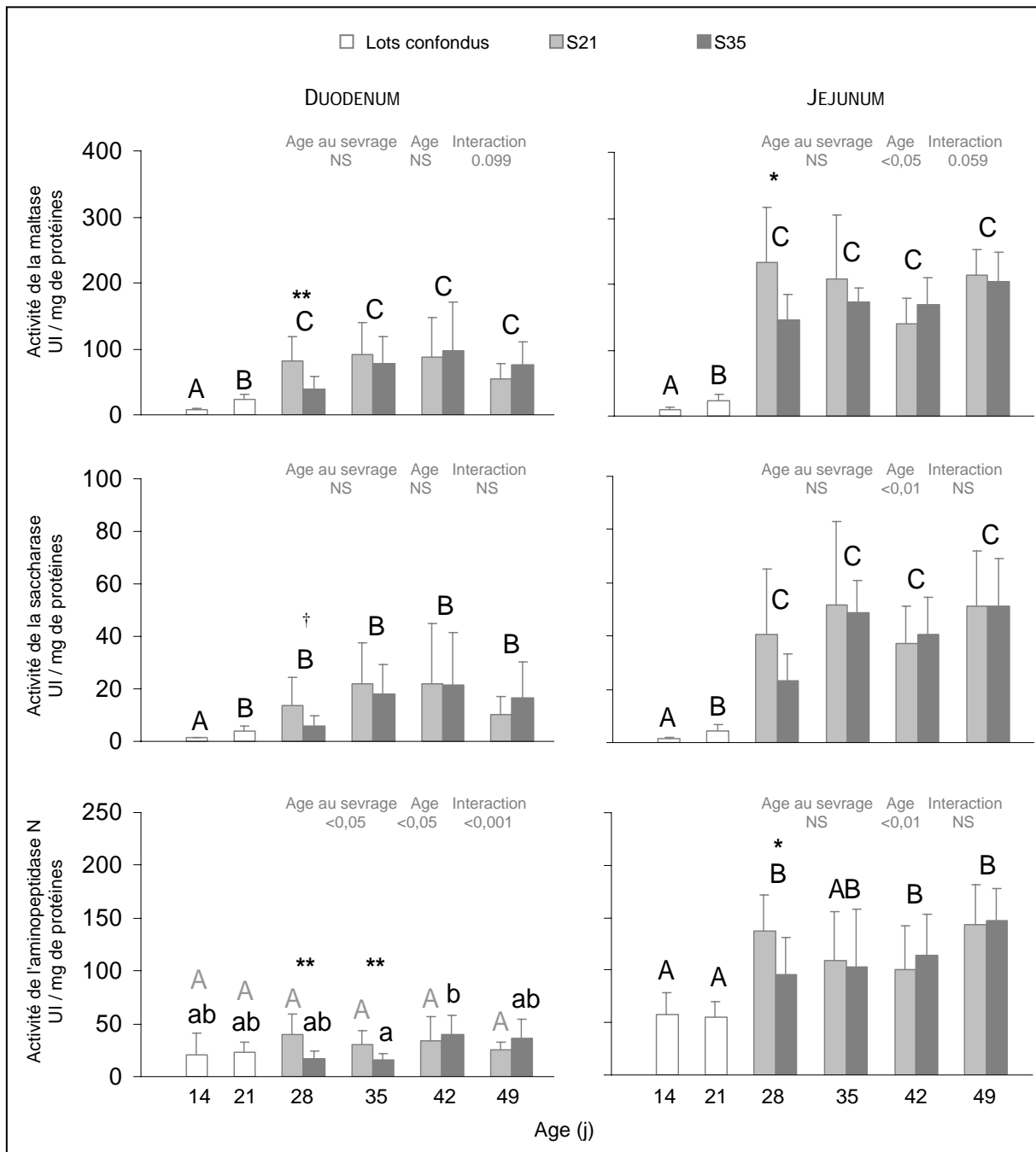


Moyennes arithmétiques \pm ET; UI = nmoles de substrat dégradé par minute; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = $P > 0,10$); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P < 0,05$), avec lettres capitales grises pour S21 et minuscules pour S35 si interaction significative dans le modèle général; Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$; † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$.

A 28 jours et pour les deux segments intestinaux étudiés, l'activité relative de la maltase des lapereaux S21 était supérieure à celle des lapereaux S35 ($\times 2,0$ et $P < 0,01$, $\times 1,7$ et $P < 0,05$, respectivement pour le duodénum et le jéjunum). Une même tendance a été observée pour la saccharase duodénale ($\times 2,1$, $P = 0,077$) et jéjunale ($\times 1,9$, $P = 0,085$) à 28 jours. De même, l'activité de l'aminopeptidase N des lapereaux S21 était considérablement plus importante que

celle des lapereaux S35 à 28 et 35 jours au niveau duodénal ($\times 2,5$ et $\times 2,1$ respectivement, $P < 0,01$), et à 28 jours au niveau jéjunale ($\times 1,5$, $P < 0,01$). En revanche, à 42 jours, l'activité maltasique jéjunale tendait à être inférieure à 42 jours dans le lot S21 comparativement au lot S35 (-21%, $P = 0,058$).

Figure 36 Evolution des activités spécifiques des enzymes de la muqueuse intestinale des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage



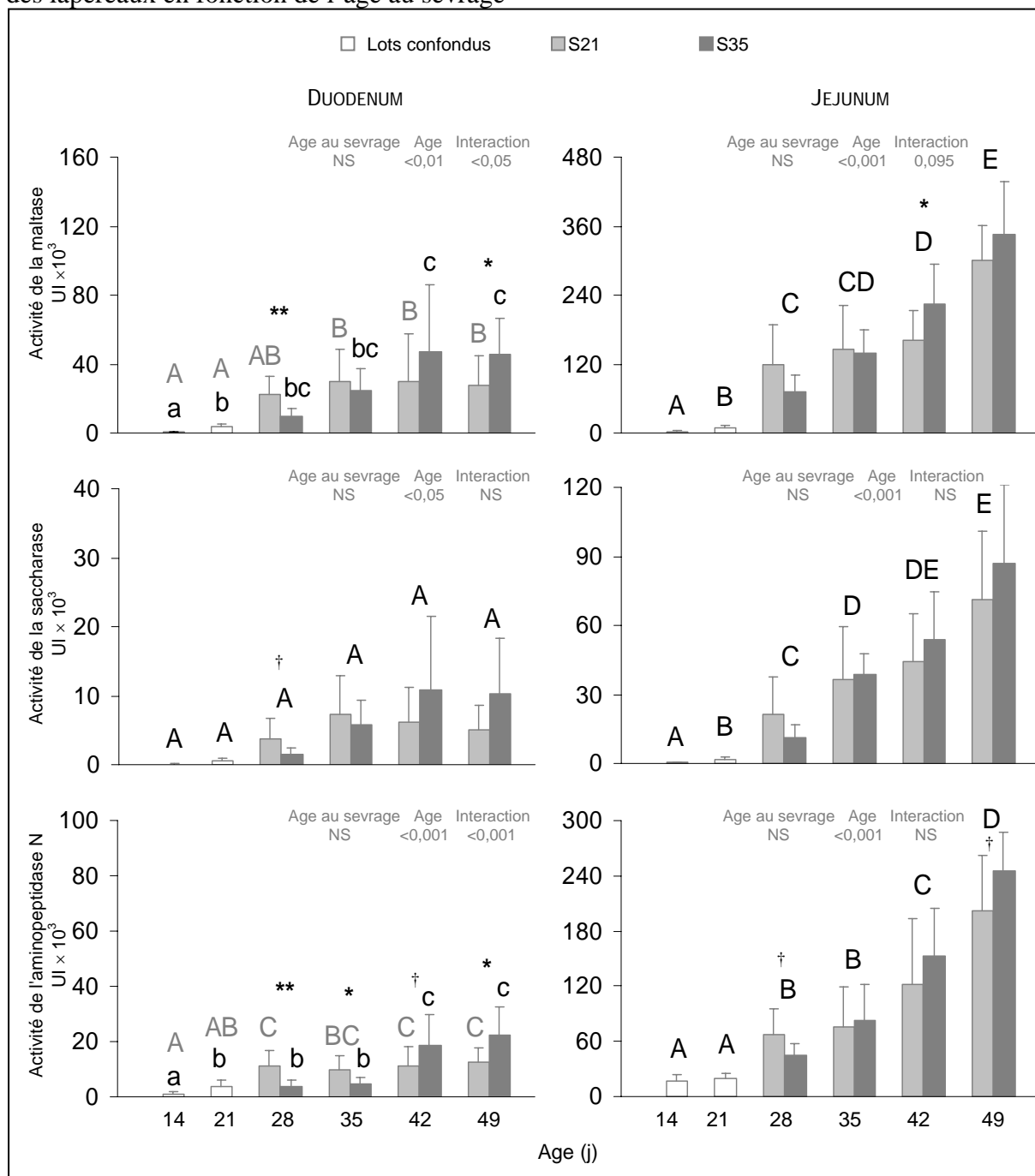
Moyennes arithmétiques \pm ET; UI = nmoles de substrat dégradé par minute; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P , NS = $P > 0,10$; Effets âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P < 0,05$), avec lettres capitales grises pour S21 et minuscules pour S35 si interaction significative dans le modèle général; Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$; † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$.

L'évolution des activités spécifiques des enzymes de la muqueuse intestinale (Figure 36) est assez similaire à celle décrite précédemment pour les activités relatives. Concernant les évolutions avec l'âge, les différences majeures concernent la maltase duodénale, dont l'activité a augmenté progressivement jusqu'à 28 jours, puis est restée stable jusqu'à 49 jours, lorsque exprimée relativement au contenu protéique de la muqueuse. L'activité spécifique de l'aminopeptidase N duodénale a également présenté quelques variations par rapport à l'activité relative : l'activité spécifique est demeurée stable entre 14 et 49 jours dans le lot S21. En revanche, dans le lot S35, cette activité a augmenté de la valeur la plus basse à 35 jours à la valeur la plus haute à 42 jours ($\times 2,6$) pour l'ensemble de la période étudiée.

D'une manière générale, l'évolution avec l'âge des activités enzymatiques totales (pour l'ensemble des portions duodénale et jéjunale, donc 1/5 et 3/5 de l'intestin grêle, respectivement) a différé selon le segment intestinal considéré : alors que les activités enzymatiques n'ont plus varié après le sevrage dans le duodénum (à partir de 28 jours pour les lapereaux S21 et à partir de 42 jours pour les lapereaux S35), celles-ci ont continué à augmenter dans le jéjunum (Figure 37).

Les activités enzymatiques totales de la muqueuse duodénale et de la muqueuse jéjunale, en plus de souligner les différences entre les deux âges au sevrage déjà observées pour les activités spécifiques et relatives, ont révélé des différences au cours des derniers stades étudiés (Figure 37). Ainsi, l'activité maltasique totale des lapereaux S21 était de 28% inférieure à 42 jours ($P < 0,05$) et l'activité de l'aminopeptidase N tendait à être inférieure de 44% à 49 jours ($P = 0,071$) à celles des lapereaux S35.

Figure 37 Evolution des activités totales des enzymes des muqueuses duodénale et jéjunale des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage



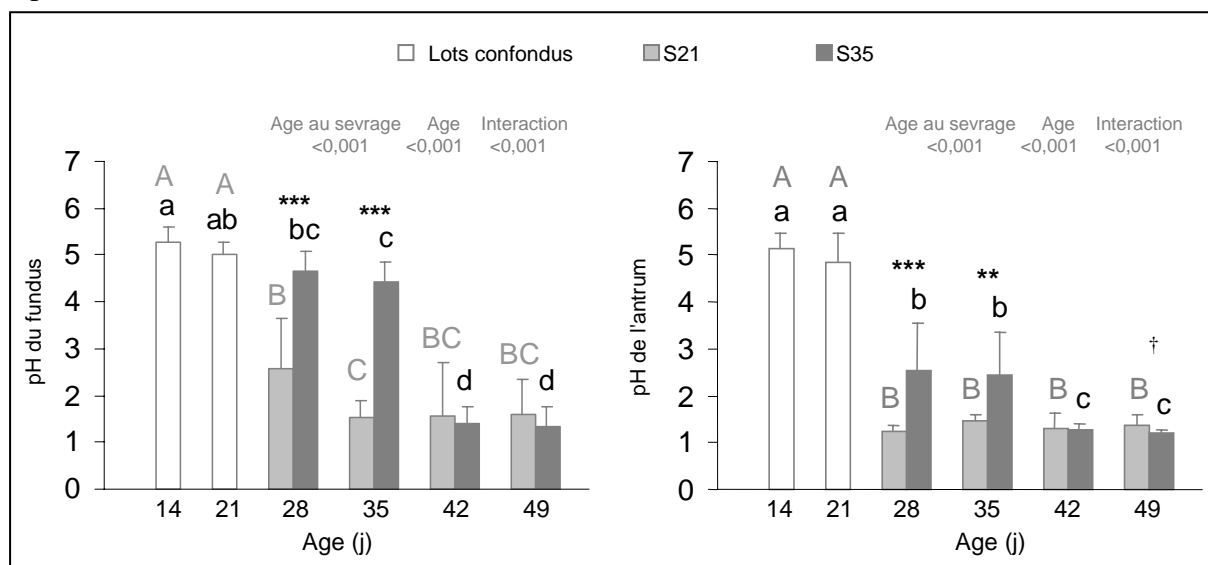
Moyennes arithmétiques ± ET; UI = nmoles de substrat dégradé par minute; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = $P > 0,10$); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P < 0,05$), avec lettres capitales grises pour S21 et minuscules pour S35 si interaction significative dans le modèle général; Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$: † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$.

V.A.3. Résultats : Un milieu d'action de l'équipement enzymatique différent, évolution du pH stomacal en fonction de l'âge au sevrage

Le pH de l'estomac a présenté une évolution avec l'âge très différente selon l'âge au sevrage des lapereaux (Figure 38).

A 14 et 21 jours, les valeurs de pH étaient comprises entre 4,9 et 5,3 dans le fundus et l'antrum. Ensuite, le pH fundique des lapereaux S21 a décru de plus de 2 unités puis atteint une valeur stable à partir de 35 jours autour de 1,5-1,6. En revanche, celui des lapereaux S35 a décru lentement jusqu'à 35 jours en se maintenant à des valeurs supérieures à 4, puis a chuté à 42 jours à des valeurs similaires à celles des lapereaux S21. Au niveau de l'antrum, le pH des lapereaux S21 s'est stabilisé dès 28 jours à des valeurs comprises entre 1,2 et 1,5. Celui des lapereaux S35 a chuté entre 21 et 28 jours à un premier pallier autour de 2,5, puis atteint à 42 jours les valeurs de pH de l'estomac des lapereaux S21.

Figure 38 Evolution du pH stomacal, fundique et antral, en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux



Moyennes arithmétiques \pm ET; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = $P > 0,10$); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P < 0,05$), avec lettres capitales grises pour S21 et minuscules pour S35 si interaction significative dans le modèle général; Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$: † $P < 0,10$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

V.A.4. Discussion

◦ Age et activités enzymatiques dans l'intestin grêle

L'augmentation avec l'âge de l'activité de l'amylase, qu'elle soit exprimée en activité relative ou totale, est parallèle à l'ingestion croissante d'amidon (Marounek *et al.*, 1995; Scapinello *et al.*, 1999). Cette activité accrue pourrait résulter d'une production/sécrétion plus importante d'amylase par le pancréas (Corring *et al.*, 1972; Dojană *et al.*, 1998; Debray *et al.*,

2003). De même, l'augmentation avec l'âge de l'activité lipasique dans l'intestin grêle, quoique moins importante, pourrait découler d'une production/sécrétion accrue de lipase par le pancréas (Corring *et al.*, 1972; Debray *et al.*, 2003). Cependant, il est surprenant de ne pas avoir noté de chute après sevrage de l'activité de la lipase, comme l'avaient observé Dojană *et al.* (1998) : en effet, d'un lait riche en lipides, le lapereau évolue vers une ration solide beaucoup moins riche en matières grasses. Ce phénomène pourrait être expliqué par le fait que la digestion des lipides du lait est déjà amorcée dans l'estomac sous l'action de la lipase gastrique (Perret, 1980). Cette enzyme, qui présente la particularité d'être très active chez le lapin, hydrolyse préférentiellement les acides gras à chaînes courtes et moyennes (Perret, 1982; DeNigris *et al.*, 1988; Moreau *et al.*, 1988a; Rogalska *et al.*, 1990), composés majoritaires du lait de lapine (Smith *et al.*, 1968; Demarne *et al.*, 1978). Ainsi, la lipase pancréatique pourrait prendre le relais de la lipase gastrique lorsque le régime alimentaire du lapereau évolue du lait vers l'aliment granulé, dont les lipides sont essentiellement composés d'acides gras à longues chaînes. En effet, l'activité de la lipase gastrique décroît avec l'âge (Bernadac *et al.*, 1991; Dojană *et al.*, 1998). La chute de l'activité relative de la trypsine observée entre 21 et 28 jours dans notre étude pourrait correspondre à la diminution de l'activité de la trypsine dans le pancréas que Corring *et al.* (1972) avaient observée entre 7 et 28 jours. Par la suite, cette production/sécrétion pancréatique semble accrue (Corring *et al.*, 1972; Debray *et al.*, 2003), ce qui est en accord avec nos résultats montrant une augmentation avec l'âge de l'activité totale de la trypsine dans le contenu luminal.

Dans notre étude, les activités spécifiques des disaccharidases ont augmenté chez le jeune, jusqu'à atteindre un plateau à 28 jours. Peu d'études ont été consacrées au développement post-natal des activités enzymatiques de la muqueuse de l'intestin grêle chez le lapin, et les conclusions sont assez divergentes. Alors que Dojană *et al.* (1998) rapportent une diminution de l'activité maltasique entre 15 et 43 jours, aussi bien au niveau duodénal que jéjunal, Debray *et al.* (2003) démontrent un accroissement entre 25, 32 et 42 jours de cette activité dans le jéjunum. Concernant la saccharase, Keelan *et al.* (1985) ont observé un accroissement de ses activités spécifiques jéjunale et iléale entre 21 et 42 jours, âge auquel les niveaux d'activité de l'adulte semblent atteints. Ces activités disaccharadiques étant dirigées contre des composés fournis par l'aliment granulé (hydrolyse du maltose, issu de la digestion de l'amidon, et du saccharose), il n'est pas incohérent que leurs activités deviennent quantitativement importantes parallèlement à une ingestion significative d'aliment granulé solide. Après 28 jours, l'augmentation des activités enzymatiques totales, et donc du potentiel de digestion global, serait principalement due à l'allongement de l'intestin grêle et à la

densification de la muqueuse (stagnation des activités spécifiques et relatives, et accroissement des activités enzymatiques totales).

A notre connaissance, aucune étude ne rapporte l'évolution post-natale de l'activité de l'aminopeptidase N chez le lapin. L'augmentation de son activité à partir de 28 jours pourrait suggérer que cette enzyme est plutôt impliquée dans la digestion de protéines d'origine végétale. Son activité se développe considérablement dans le jéjunum, contrairement au duodénum où elle stagne. Dans le duodénum, les protéines sont soumises en premier lieu à l'action des sécrétions pancréatiques. Les peptides alors libérés pourraient être hydrolysés dans un deuxième temps dans les parties plus postérieures de l'intestin grêle par les enzymes de la muqueuse.

◦ Age au sevrage et activités enzymatiques dans l'intestin grêle

L'âge au sevrage n'a pas influencé le développement des activités enzymatiques d'origine pancréatique dans le contenu intestinal. Pourtant, des études antérieures avaient montré une activité inconstamment accrue de la lipase, de la trypsine (*Corring et al., 1972*) et de l'amylase (*Gutiérrez et al., 2002a*) dans le pancréas de lapereaux sevrés plus précocement. Cependant, cet accroissement des activités enzymatiques dans le pancréas n'implique pas que celles du contenu intestinal augmentent. En effet, la concentration d'enzymes dans le contenu intestinal à un moment de la journée va dépendre en outre de la cinétique de libération de celles-ci par le pancréas dans le duodénum, de la quantité de matières présentes dans l'intestin grêle et de leur inactivation par les protéases intestinales. La cinétique de libération des enzymes a peut-être différé entre les deux groupes d'animaux, certains ayant reçu du lait maternel 3 heures avant l'abattage, les autres ayant ingéré de l'aliment granulé depuis plus de 3 heures et de façon probablement plus étendue dans le temps.

En revanche, les activités enzymatiques de la muqueuse intestinale ont été fortement influencées par l'âge au sevrage, et stimulées, au moins à 28 jours, par une augmentation de l'ingestion d'aliment solide. Cette stimulation est certainement le fruit d'un apport accru de substrats par l'aliment. Pourtant, *Gutiérrez et al. (2002a)* avaient observé des activités spécifiques maltasique et saccharasique plus faibles à 35 jours sur des lapereaux sevrés depuis 10 jours, comparativement à des lapereaux encore allaités. L'activité accrue de l'aminopeptidase N pourrait résulter davantage de la qualité des protéines et/ou peptides à digérer que de leur quantité. En effet, à 28 jours, l'ingéré de protéines brutes est similaire que les lapereaux soient sevrés ou encore allaités. Comme les enzymes d'origine pancréatique ne semblent pas très stimulées par une augmentation de l'ingestion d'aliment granulé, les enzymes de la muqueuse intestinale pourraient exercer un effet compensateur. Ainsi, *Catala*

(1980) avait observé un accroissement des activités de la maltase et de la glucoamylase de la muqueuse digestive, lorsque le canal pancréatique des lapins était ligaturé. Cependant, cet accroissement était très variable dans le temps, et selon le segment intestinal considéré, et le délai entre la ligature du canal et la première mesure réalisée était de 2 semaines. Il est également possible que la détermination des activités des enzymes d'origine pancréatique dans le contenu intestinal soit soumise à davantage de variations que les enzymes de la muqueuse, car plus sensibles au flux de nutriments (donc à l'heure de l'abattage par exemple), aux phénomènes de digestion et d'inactivation par les protéases intestinales.

Cette réponse fonctionnelle précoce de la muqueuse digestive semble sans répercussions sur les activités enzymatiques ultérieures, excepté pour les activités totales. En effet, les activités totales des enzymes de la bordure en brosse intestinale semblent négativement affectées à 49 jours par un sevrage précoce. Ce phénomène est essentiellement expliqué par une densité plus faible de la muqueuse duodénale et jéjunale des lapereaux sevrés à 21 jours. Ainsi, le développement de la muqueuse intestinale pourrait être affecté par l'âge au sevrage, même si nous n'avons pas souligné de différences, liées à l'âge au sevrage, dans le développement morphologique des villosités et des cryptes intestinales à 49 jours. Cependant, la densité des villosités et des cryptes par unité de surface, le développement de la *lamina propria* pourraient avoir influencé le poids de la muqueuse par unité de longueur.

° Limites

L'évaluation des activités enzymatiques dans différents compartiments digestifs est seulement un indicateur des capacités de digestion, et de l'adaptation de celles-ci à l'environnement alimentaire. En effet, l'activité réelle des hydrolases va dépendre de nombreux facteurs : conditions environnementales (température, pH...), leur propre digestion et donc inactivation par des protéases, l'accès au substrat (concentration de celui-ci, vitesse de transit du contenu digestif...)...

Ainsi, le pH stomacal à 28 et 35 jours est très fortement conditionné par le statut nutritionnel. Pour des lapereaux sevrés à 35 jours, le pH avoisine la valeur de 5 chez le jeune, commence à décroître dès 28 jours, puis chute fortement après le sevrage. Lorsque les lapereaux sont sevrés précocement, cette chute de pH est induite dès le sevrage, de manière cependant un peu plus progressive au niveau du fundus. *Zomborszky-Kovács et al. (2000)* ont montré cette même évolution avec l'âge du pH gastrique. Le lait maternel exercerait ainsi un pouvoir tampon au niveau de l'estomac. En effet, les travaux de *Perret (1982)* montrent que le pH du contenu gastrique des lapereaux s'acidifie lentement après une chute rapide de 7,15 (pH moyen du lait de lapine) à 5,5 en 90 min après la tétée. Ainsi, huit heures après l'allaitement,

le pH est encore supérieur à 5,2, puis atteint 24 heures après une valeur de 2,25. Il est très probable que d'autres caractéristiques environnementales à divers niveaux du tractus digestif soient modifiées par le statut nutritionnel des lapereaux, et puissent ainsi influencer l'activité hydrolytique des enzymes digestives.

La détermination des capacités de digestion de l'aliment par les lapereaux devrait nous permettre de relier ces différents éléments et d'argumenter nos hypothèses.

V.B. DEVELOPPEMENT DU POTENTIEL ENZYMATIQUE BACTERIEN ET DE L'ACTIVITE FERMENTAIRE DANS LE CÆCUM

V.B.1. Méthodes

◦ Dosage des activités fibrolytiques bactériennes

Les activités fibrolytiques des bactéries cœcales ont été déterminées selon une procédure précédemment décrite (*Jehl et al., 1996*) : extraction des enzymes bactériennes et dosage des activités des polysaccharidases.

Deux cycles de congélation/décongélation du prélèvement cœcal conservé dans un tampon MES-DTT (*cf. page 100*) ont été réalisés afin de fragiliser les parois bactériennes. Puis la solution de contenu cœcal a été soumise à des ultrasons avec un désintégrateur MSE Sonirep 150 (MSE instruments, Crawley) de manière à libérer les enzymes associées aux parois des microorganismes (4 cycles de 30 secondes séparés de 30 secondes sous flux de dioxyde de carbone, à 4°C). Après centrifugation (15 minutes, 20000 g, 4°C), le surnageant a été aliquoté sous atmosphère de CO₂ et conservé à -80°C.

Les activités cellulolytique, pectinolytique et xylanolytique ont ensuite été déterminées en dosant la quantité de sucres réducteurs libérés après incubation des extraits enzymatiques avec, respectivement, des substrats de carboxyméthylcellulose, de pectine d'agrumes et de xylane de bouleau (60 minutes, 39°C, pH 6,5). Les quantités de sucres réducteurs libérés ont été dosées suivant la méthode de *Lever (1977)* : dosage colorimétrique à 410 nm du complexe coloré formé entre les sucres réducteurs et l'acide hydrazide p-hydroxybenzoïque. Les activités cellulolytique, pectinolytique et xylanolytique ont été exprimées par rapport au contenu cœcal sec, en µmoles de glucose, d'acide galacturonique et de xylose libérés par heure (UI).

◦ Détermination des activités fermentaires de la flore cœcale

Les produits issus des fermentations bactériennes ont été dosés dans le contenu cœcal : ammoniacal et acides gras volatils. Le pH cœcal a de plus été mesuré.

Les concentrations en acides gras volatils ont été déterminées par chromatographie en phase gazeuse (CP9000, Chrompack, Middleburg, Pays-Bas) selon la méthode décrite par *Jouany (1982)* adaptée à une colonne semi-capillaire de diamètre 0,53 mm et de 25 m de long (étalon interne : acide 4-méthyl valérique). Les concentrations en acétate, propionate, butyrate et en acides gras volatils mineurs (valérate, isobutyrate et isovalérate) ont été déterminées.

La concentration en azote ammoniacal a été mesurée à l'aide d'un auto-analyseur (Technicon, Dumont, France). Après centrifugation du prélèvement cæcal, une dialyse placée en début de chaîne permet une bonne séparation de l'ammoniaque des contaminants éventuellement présents dans le surnageant. L'ammoniaque est ensuite dosée selon la procédure de *Verdouw et al. (1978)*, basée sur la formation d'un indophénol entre l'ion ammonium et le salicylate de sodium en milieu alcalin, et en présence de l'ion chlorure (dichloroisocyanurate de sodium). La quantité de complexe formée est alors mesurée par colorimétrie à 660 nm.

° Analyse des données

Ces dosages n'ont pas été réalisés à 14 jours, faute de contenu cæcal en quantité suffisante. Les activités enzymatiques bactériennes cæcales ont été exprimées selon 2 modalités : l'activité relative par gramme de contenu sec, reflétant la disponibilité de l'enzyme vis-à-vis du substrat, et l'activité totale rapportée au contenu cæcal sec total, plus représentative des capacités de digestion bactériennes globales. Les concentrations en acides gras volatils et en ammoniaque ont été exprimées en mmol.L^{-1} de la phase aqueuse du contenu cæcal.

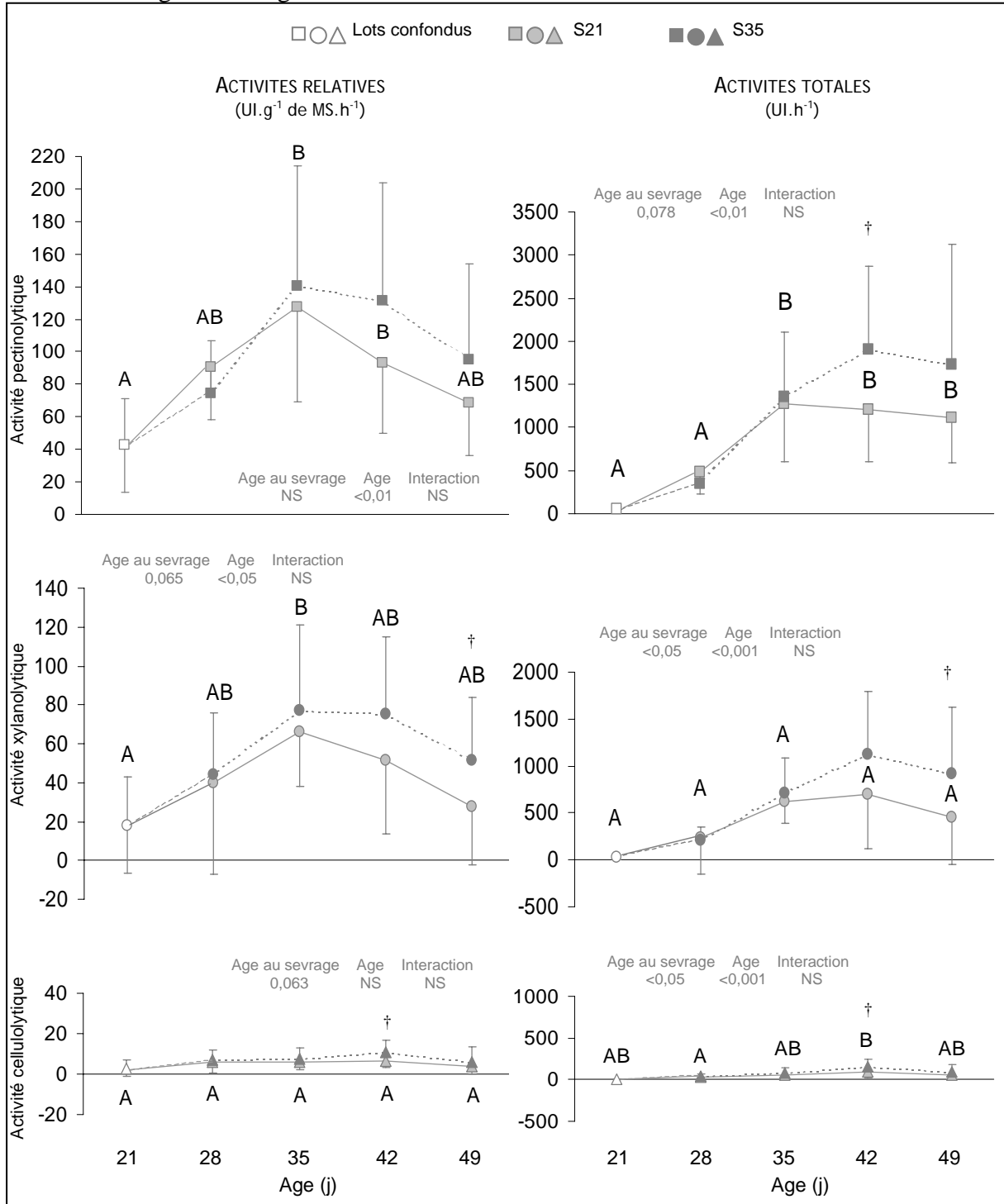
Les données ont été analysées au moyen de la procédure GLM (*SAS, 1999*). Les effets de l'âge au sevrage, de l'âge et leur interaction ont été introduits dans un modèle général de 28 à 49 jours. Puis pour chaque âge, l'effet de l'âge au sevrage a été analysé. De 21 à 49 jours, l'effet de l'âge a été testé pour chaque lot âge au sevrage si une interaction significative était mise en évidence dans le modèle général, ou lots S21 et S35 confondus dans le cas contraire, et un test de comparaisons multiples de moyennes (test de Scheffé) a été effectué.

V.B.2. Résultats : Evolution des activités fibrolytiques bactériennes

Les activités fibrolytiques bactériennes ont présenté une variabilité très importante (Figure 39). En effet, les coefficients de variations étaient en moyenne de 72% pour les activités relatives et de 75% pour les activités totales, et se sont échelonnés de 36 à 165% selon l'âge et l'âge au sevrage considérés. Quelques individus ont de plus présenté des activités xylanolytique et cellulolytique nulles. L'absence d'activité xylanolytique a été observée à 21

jours (1 lapereau/lot), puis à 49 jours (2 lapereaux S21). L'absence d'activité cellulolytique a été observée à tous les âges, mais plus particulièrement à 21 jours (3 lapereaux S21 et 2 lapereaux S35) et à 49 jours (3 lapereaux S21 et 1 lapereau S35).

Figure 39 Activités enzymatiques bactériennes dans le contenu cæcal des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage



UI = μ moles de galacturonate, xylose et glucose libérés respectivement pour les activités pectinolytique, xylanolytique et cellulolytique; Moyennes arithmétiques \pm ET; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = $P > 0,10$); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P < 0,05$); Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$; † $P < 0,10$.

Contrairement à l'activité relative cellulolytique, dont le niveau est resté stable et faible entre 14 et 49 jours, les activités relatives pectinolytique et xylanolytique ont évolué avec l'âge : après un accroissement de 21 à 35 jours, celles-ci se sont stabilisées jusqu'à 49 jours (Figure 39). Les activités relatives cellulolytique et xylanolytique tendaient à être inférieures de 28 à 49 jours chez les lapereaux S21, comparativement aux lapereaux S35 (-27% et -26%, $P=0,063$ et $P=0,065$, respectivement). L'activité pectinolytique, en revanche, n'a pas été affectée par l'âge au sevrage.

Pour ce qui concerne les activités totales (rapportées au contenu sec total du cæcum), l'activité pectinolytique a évolué significativement avec l'âge : dans les 2 lots, elle a augmenté entre 21 et 35 jours ($\times 23,5$), puis est demeurée stable jusqu'à 49 jours. L'activité de la xylanase a montré une évolution similaire, mais aucune différence significative entre les différents âges de prélèvements n'a été mise en évidence. L'activité cellulolytique a augmenté entre 21 et 42 jours ($\times 7,7$, $P<0,05$), puis est restée stable jusqu'à 49 jours. Entre 28 et 49 jours, les activités totales cellulolytique et xylanolytique des lapereaux S21 ont été inférieures en moyenne de 28 et 22% ($P<0,05$), respectivement, par rapport à celles des lapereaux S35. L'activité pectinolytique totale dans le cæcum des lapereaux S21 tendait à être inférieure à celle des lapereaux S35 à 42 jours (-37%, $P=0,074$).

V.B.3. Résultats : Evolution des activités fermentaires cæcales

◦ Acides gras volatils

La concentration totale en acides gras volatils a augmenté de 47% entre 21 et 28 jours ($P<0,05$), puis est demeurée stable jusqu'à 49 jours (Tableau 19). Concernant les 3 acides gras volatils majeurs, la proportion d'acétate a augmenté de 5% entre 21 et 28 jours, puis oscillé entre les valeurs de ces deux âges (Figure 40). La proportion de propionate, forte à 21 jours, a ensuite chuté jusqu'à 42 jours, alors que la proportion de butyrate suivait l'évolution contraire : faible à 21 jours, sa proportion a ensuite augmenté pour atteindre les plus fortes valeurs à 42 et 49 jours. Ainsi, le ratio propionate/butyrate s'est inversé entre 21 et 28 jours (2,25 vs. 0,63, respectivement, $P<0,001$). La concentration cæcale en acides gras volatils mineurs (valérate, isobutyrate et isovalérate) a décliné de 53% entre 21 et 28 jours pour les deux âges au sevrage ($P<0,05$), puis s'est stabilisée (Tableau 19).

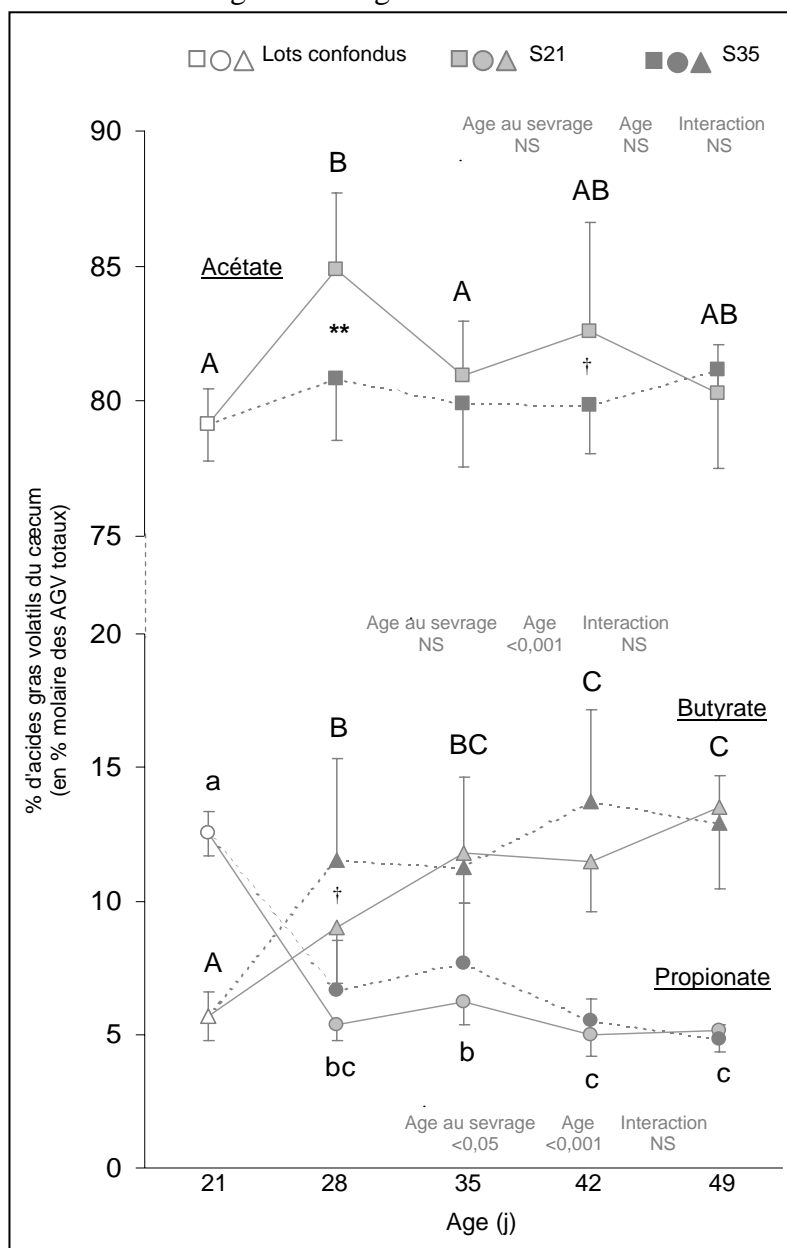
Tableau 19 Evolution des caractéristiques du contenu cœcal des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage

Caractéristique		Age (j)					Valeurs de P*		
		21	28	35	42	49	Age au sevrage	Age	Inter-action
Matière sèche, %	S21	21,8 ± 4,7	19,7 ^a ± 2,5	21,9 ± 2,2	21,3 ± 2,2	20,9 ± 1,1	**	NS	*
	S35		23,9 ^b ± 2,9	22,1 ± 2,8	22,8 ± 1,9	21,6 ± 1,3			
AGV totaux, mmol.L ⁻¹ de la phase aqueuse	S21	51,5 ± 16,9	72,8 ± 13,0	61,2 ± 14,4	71,1 ± 16,6	69,2 ± 19,0	NS	NS	NS
	S35		81,0 ± 21,5	74,2 ± 19,2	64,3 ± 12,4	67,2 ± 11,5			
AGV mineurs, mmol.L ⁻¹ de la phase aqueuse	S21	1,3 ± 0,4	0,5 ^a ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,1	*	NS	*
	S35		0,7 ^b ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1			
Ratio propionate / butyrate	S21	2,25 ± 0,36	0,62 ± 0,13	0,54 ± 0,12	0,45 ± 0,11	0,40 ± 0,09	NS	NS	NS
	S35		0,65 ± 0,32	0,82 ± 0,55	0,42 ± 0,10	0,38 ± 0,07			

* Valeurs du modèle général de 28 à 49 jours : NS $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$; Moyennes arithmétiques ± ET; Pour un paramètre donné et au sein d'une même colonne, les lettres a et b signalent des moyennes différentes entre les 2 âges au sevrage ($P < 0,05$).

La concentration en acides gras volatils totaux n'a pas été affectée par l'âge au sevrage (Tableau 19). En revanche, la proportion d'acétate a été supérieure dans le cœcum des lapereaux S21 à 28 jours (+4 pts, $P < 0,01$), et tendait également à être supérieure à 42 jours (+2,7 pts, $P = 0,079$) (Figure 40). La proportion de propionate dans le contenu cœcal des lapereaux S21 a été plus faible de 10% à celle des lapereaux S35 de 28 à 49 jours ($P < 0,05$), tandis que la proportion de butyrate tendait seulement à être plus faible à 28 jours (-22%, $P = 0,077$). Aucun effet de l'âge au sevrage sur le ratio propionate/butyrate n'a été constaté. La concentration cœcale en acides gras volatils mineurs des lapereaux S21 était inférieure à 28 et à 35 jours à celle des lapereaux S35 (-26% et -25% respectivement, $P < 0,05$), puis similaire entre les deux lots à 42 et 49 jours.

Figure 40 Evolution des proportions molaires de l'acétate, du propionate et du butyrate du contenu cæcal des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage



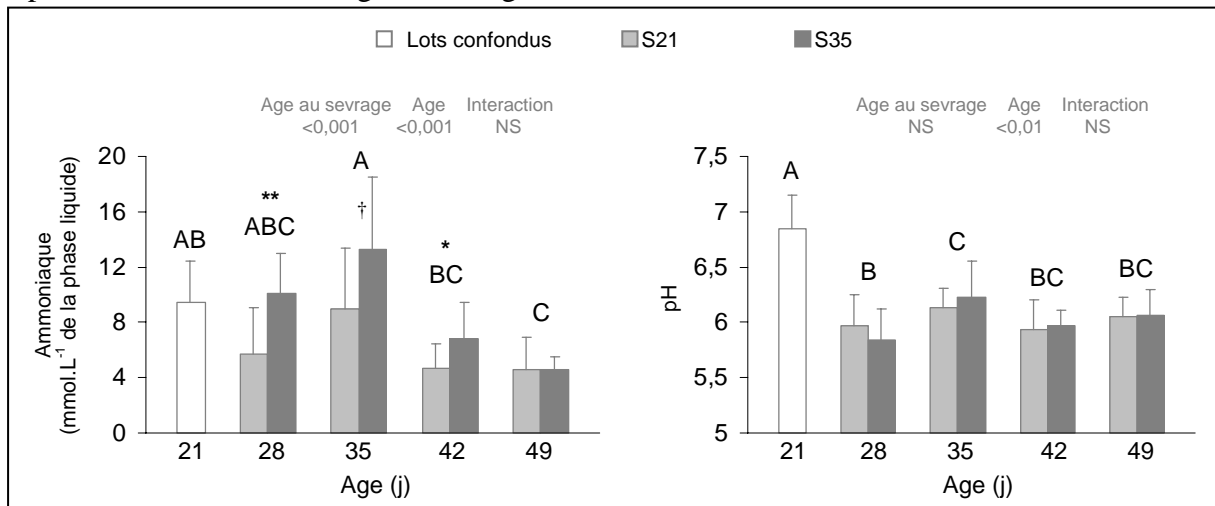
Moyennes arithmétiques ± ET; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = $P > 0,10$); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes pour un acide gras donné ($P < 0,05$); Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$; † $P < 0,10$, ** $P < 0,01$.

° Ammoniaque et pH cæcal

La concentration en ammoniaque, stable de 21 à 35 jours, a ensuite progressivement décliné jusqu'à 49 jours. Entre 21 et 28 jours d'âge, le pH du cæcum a chuté de 6,8 à 5,9, puis a augmenté de 0,3 unités à 35 jours avant d'osciller entre les valeurs de 5,9 et 6,1 (Figure 41).

L'âge au sevrage n'a eu aucune incidence sur le pH du cæcum. En revanche, les concentrations en ammoniacque du contenu cæcal des lapereaux S21 étaient inférieures à celles des lapereaux S35 entre 28 et 42 jours, et particulièrement à 28 et à 42 jours (-43% et -32%, $P < 0,01$ et $P < 0,05$, respectivement).

Figure 41 Evolution de la concentration en ammoniacque et du pH du contenu cæcal des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage



Moyennes arithmétiques \pm ET; Modèle statistique général de 28 à 49 jours : valeurs de P (NS = $P > 0,10$); Effets de l'âge : les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P < 0,05$). Pour chaque âge, effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$: † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$.

V.B.4. Discussion

◦ Age et activités bactériennes cæcales

La plupart des changements dans le cæcum ont eu lieu entre 21 et 28 jours, en lien probablement avec l'augmentation substantielle des quantités d'aliment solide ingérées. Ces changements sont en accord avec ce qui est classiquement décrit dans la littérature : une augmentation de la concentration en acides gras volatils totaux suivie d'une stabilisation (Padilha *et al.*, 1995; Gidenne *et al.*, 2002), une inversion du ratio propionate/butyrate (Padilha *et al.*, 1995; Piattoni *et al.*, 1995; Gidenne *et al.*, 2002), une diminution de la concentration en acides gras volatils mineurs (Padilha *et al.*, 1995), et une décroissance du pH (Padilha *et al.*, 1995; Piattoni *et al.*, 1995; Gidenne *et al.*, 2002). Pour l'ammoniacque, la réduction de sa concentration semble davantage liée au sevrage des lapereaux (Padilha *et al.*, 1995).

Pour ce qui concerne les activités fibrolytiques bactériennes exprimées par gramme de contenu cæcal, nous avons observé un pic d'activité pour la pectinase et la xylanase à 35 jours, alors que l'activité cellulolytique est restée stable entre 21 et 49 jours. Les résultats antérieurs

sont contrastés à propos de l'effet de l'âge sur le développement du potentiel fibrolytique bactérien. *Pinheiro et al. (2001)* ont montré des activités fibrolytiques relatives stables entre 6 et 10 semaines, puis un accroissement de celles-ci entre 10 et 24 semaines d'âge. *Debray (2002)* a observé une diminution de ces activités relatives entre 25 et 32 jours, suivie d'une stabilisation, alors que *Gidenne et al. (2002)* ont en premier lieu observé une augmentation entre 25 et 34 jours avant une stabilisation entre 34 et 44 jours.

◦ Age au sevrage et activités bactériennes cœcales

L'âge au sevrage a modifié quelques paramètres de l'activité microbienne. Ainsi, la concentration en ammoniacque a diminué plus tôt chez les lapereaux sevrés à 21 jours, phénomène pouvant être expliqué par différents mécanismes : flux cœcal de protéines plus faible, meilleure digestion des protéines et de l'absorption des produits d'hydrolyse, et/ou utilisation plus importante de l'ammoniacque par la microflore cœcale. *Padilha et al., (1995)* avaient également constaté une diminution de la concentration cœcale en ammoniacque après le sevrage. En revanche, d'autres auteurs n'ont observé aucune évolution de la concentration en ammoniacque après le sevrage des lapereaux (*Debray, 2002; Gidenne et al., 2002*).

Contrairement à la concentration en acides gras volatils totaux, le profil fermentaire a été affecté par l'âge au sevrage. Les proportions de propionate et les concentrations en acides gras volatils mineurs étaient plus faibles à 28 et 35 jours dans le cœcum des lapereaux sevrés à 21 jours, en accord avec ce que *Xiccato et al. (2003)* ont précédemment décrit. La proportion en acétate a, quant à elle, été plus importante chez ces mêmes animaux. Contrairement à nos résultats, une diminution plus rapide du ratio propionate/butyrate, liée à une proportion plus faible du propionate parmi les AGV totaux, avait été rapportée par ces mêmes auteurs, quand l'ingestion d'aliment granulé par les lapereaux était stimulée.

Certaines études ont montré une chute du pH cœcal plus rapide pour des lapins dont l'ingestion d'aliment granulé était stimulée (*Piattoni et al., 1999; Di Meo et al., 2003; Xiccato et al., 2003*), probablement expliquée, du moins en partie, par une concentration accrue en acides gras volatils (*Di Meo et al., 2003; Xiccato et al., 2003*).

Dans notre étude, les activités cellulolytique et xylanolytique relatives tendaient à être inférieures de 28 à 49 jours lorsque les lapereaux étaient sevrés à 21 jours. Quand elles ont été exprimées par rapport au contenu cœcal total, plus représentatif du potentiel fibrolytique, ces activités tendaient également à être abaissées. Ainsi, les potentialités des lapereaux sevrés à 21 jours à digérer les fibres pourraient être amoindries.

Ces différences induites par l'âge au sevrage suggèrent que les populations constitutives de la microflore cæcale seraient différentes pour un âge donné entre des lapereaux allaités et des lapereaux sevrés, probablement dans leur composition mais sûrement dans leur dénombrement et leurs proportions relatives. En effet, *Padilha et al. (1995)* avaient établi une relation étroite entre la composition de la microflore et les paramètres de fermentation avant et après le sevrage des lapereaux. La quantité et la nature des substrats parvenant au cæcum, probablement différentes selon l'âge au sevrage, pourraient influencer la composition de la flore et les fermentations microbiennes.

V.C. EVALUATION DE L'EFFICACITE DE LA DIGESTION : DIGESTIBILITES ILEALE ET FECALE

L'estimation de l'efficacité de la digestion de l'aliment granulé par les lapereaux a été réalisée en deux étapes. Au cours de la première étape, la digestibilité des différents composants de l'aliment a été évaluée : digestibilité iléale permettant d'estimer le rendement de la digestion de l'aliment par les sécrétions endogènes de l'animal principalement (essentiellement enzymatiques), et digestibilité fécale permettant d'évaluer le rendement total de la digestion de l'aliment (action conjointe de la digestion endogène de l'animal et de la digestion microbienne principalement cæcale). Dans un deuxième temps, la réalisation de bilans digestifs, par la détermination des quantités de nutriments ingérées et digérées par le lapereau en fonction de son statut nutritionnel, a permis d'évaluer les capacités de digestion des lapereaux. Deux périodes ont été étudiées : 24-28 jours, et 38-42 jours (correspondant aux périodes de collecte des fèces).

Les analyses de composition chimique réalisées sur le contenu iléal ou les fèces sont celles précédemment décrites pour l'analyse des aliments (*cf. page 98*). Le prétraitement amylolytique pour le dosage des fibres par la méthode séquentielle de *Van Soest et al. (1991)* n'a cependant pas été effectué dans les contenus.

V.C.1. Méthodes

◦ Evaluation de la digestibilité iléale

(a) Principe

Pour estimer la digestibilité iléale, un marqueur inerte a été incorporé à une concentration connue dans l'aliment. Nous avons choisi l'ytterbium, une terre rare de la famille des lanthanides (*Bernard et Doreau, 2000*). En effet, il semble que son emploi chez le lapin soit beaucoup plus approprié que celui du Cr_2O_3 (*Blas et al., 2000*).

Ce marqueur, non absorbé dans le tractus digestif, permet après détermination de sa concentration dans le contenu iléal d'estimer la digestibilité des différents composants de l'aliment selon la formule suivante, en prenant l'amidon pour exemple (i : concentration dans l'iléon, a : concentration dans l'aliment) :

$$\text{Digestibilité iléale}_{\text{amidon}} = 1 - \frac{[\text{amidon}]_i * [\text{ytterbium}]_a}{[\text{amidon}]_a * [\text{ytterbium}]_i}$$

(b) Incorporation de l'ytterbium dans l'aliment

L'ytterbium a été incorporé dans l'aliment selon la procédure détaillée par *García et al.* (1999). La préparation des particules marquées a été effectuée à partir de l'aliment granulé standard issu de l'étude 1. Les lipides et l'amidon ont été éliminés par des opérations de lavage à ébullition avec une lessive en poudre du commerce et de l'amylase thermostable (Termamyl®). Les particules ont été récupérées après tamisage (0,1 mm de diamètre). Le marquage a ensuite été effectué en plongeant ces particules de fibres dans une solution d'oxyde d'ytterbium (Yb₂O₃, 56 g.L⁻¹ d'HCl 1M) à un pH de 3,75. Puis l'immersion des particules marquées dans une solution d'acide citrique à pH 2,5 (1,2 g d'acide citrique pour 100 g de particules de fibres) a permis d'éliminer le marqueur lié à des sites de faible affinité. Après rinçage puis séchage à 50°C, les particules de fibres marquées ont été incorporées dans l'aliment destiné aux lapereaux (*cf.* composition page 99).

(c) Dosage de l'ytterbium dans l'aliment et les contenus

Au cours des abattages, les contenus iléaux ont été prélevés puis lyophilisés. A 28 jours, le prélèvement iléal représente un pool des échantillons de 3 lapereaux par portée, et à 42 jours de 2 lapereaux par cage (*cf.* page 100 pour la description des prélèvements). Après une minéralisation à 550°C, les échantillons d'aliment ou de contenus préalablement broyés ont été solubilisés dans une solution de HNO₃ 1,5N et de KCl à 2%, portés à ébullition pendant 3 minutes, puis filtrés. L'ytterbium a ensuite été dosé par spectrométrie d'absorption atomique (Solaar M S4, Thermo Electron, Waltham, MA), en référence à des gammes d'ytterbium réalisées sur des matrices identiques (aliment ou contenu).

Pour les analyses de composition chimique, seules les teneurs en amidon et en protéines brutes ont pu être déterminées dans les contenus iléaux en raison de faibles quantités de contenus.

- Evaluation de la digestibilité fécale apparente : problèmes méthodologiques chez le jeune

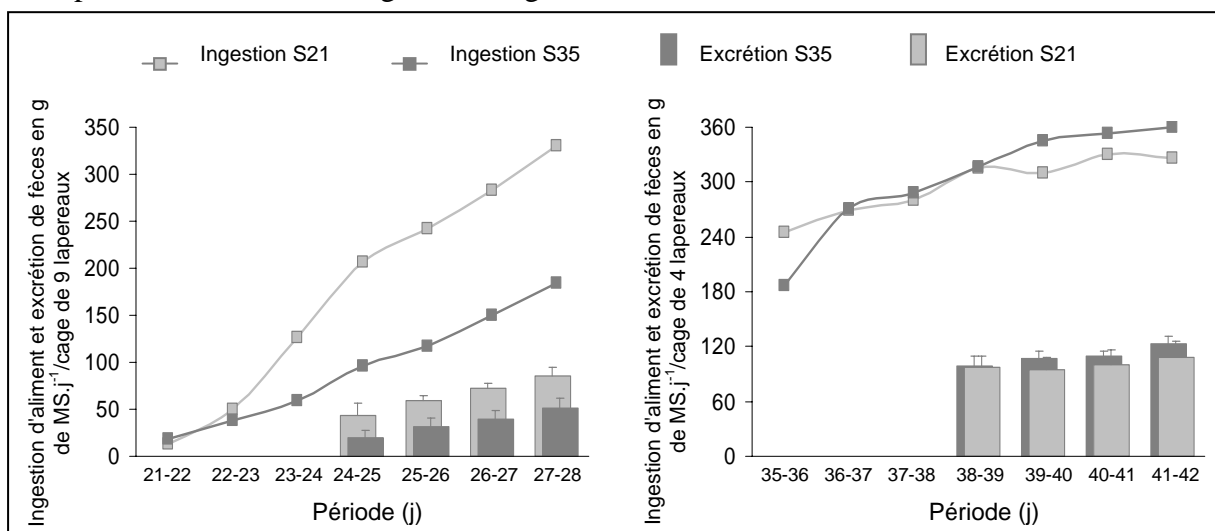
(a) Méthode européenne de référence pour évaluer la digestibilité des aliments

La méthode européenne de référence (Perez et al., 1995) évalue la digestibilité fécale des différents composants de l'aliment par le bilan (ingéré-excrété)/ingéré sur une période définie d'au moins 4 jours, suite à une période d'adaptation à l'aliment de 7 jours. Elle est raisonnée pour des lapereaux d'au moins 42 jours au début de la période d'adaptation. Cette méthode repose sur l'hypothèse que l'excrété de la période de collecte correspond à l'ingestion d'aliment sur cette même période. Elle suppose donc que l'ingestion des lapereaux est stable, ainsi que les phénomènes de digestion. Or, jusqu'à 49 jours d'âge, ces hypothèses ne sont pas vérifiées.

(b) Une situation instable : profils d'ingestion et d'excrétion

La Figure 42 met en évidence que l'ingestion d'aliment et l'excrétion de fèces que nous avons mesurées ne sont pas stables sur les périodes étudiées, et notamment entre 21 et 28 jours. Ainsi, pour cette première période, la consommation d'aliment augmente de 59,9% et de 92,6% entre 24 et 28 jours, alors que l'excrétion de fèces augmente de 95,5% et de 154,3%, respectivement pour les lots S21 et S35. Pour la deuxième période d'étude, alors que l'ingestion d'aliment augmente de 3,2% et de 13,3% entre 38 et 42 jours, l'excrétion de fèces augmente de 10,8% et de 23,7%, respectivement pour les lots S21 et S35.

Figure 42 Profils d'ingestion d'aliment et d'excrétion de fèces par les lapereaux en fonction de la période d'étude et de l'âge au sevrage

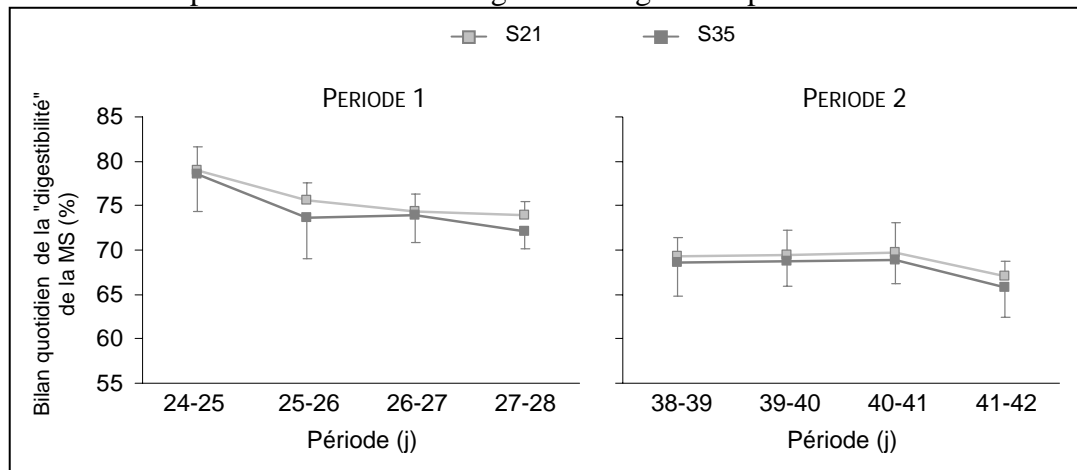


Moyennes arithmétiques ± ET.

L'ingestion calculée sur une période donnée ne correspond pas à l'excrété sur cette même période. En effet, l'aliment ingéré doit transiter par le tractus digestif, y subir les phénomènes digestifs, puis la fraction non absorbée sera alors excrétée. Ainsi, l'application de la méthode

européenne de référence chez le jeune conduit à des valeurs de digestibilités élevées par rapport à celles de l'adulte, en surestimant la quantité d'aliment ingérée par rapport à la quantité de fèces excrétée (Debray *et al.*, 2003). Alors que les valeurs quotidiennes de "digestibilité" de la matière sèche varient de 65 à 70% au cours de la période 38-42 jours, elles oscillent entre 72 et 80% entre 24 et 28 jours (Figure 43). De plus, ces valeurs diminuent en cours de période d'étude, phénomène en désaccord avec ce qui est classiquement observé chez les mammifères, qui développent progressivement leurs capacités à digérer l'aliment qui leur est distribué. La surestimation de l'ingéré ou la sous-estimation de l'excrété expliqueraient en partie ces valeurs élevées. Une prise en compte du temps de transit s'avère donc une correction indispensable chez le jeune.

Figure 43 Bilan quotidien de la "digestibilité" de la matière sèche de l'aliment en fonction de la période d'étude et de l'âge au sevrage des lapereaux



Moyennes arithmétiques \pm ET.

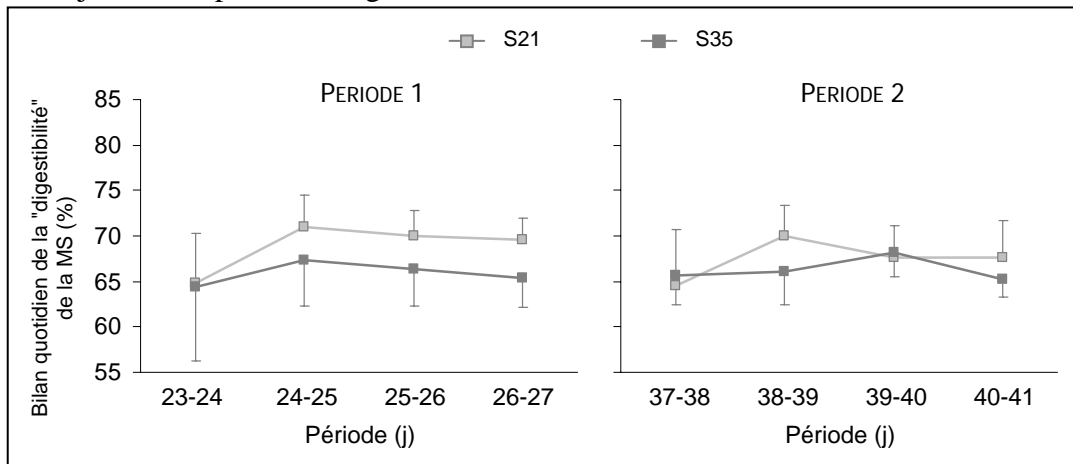
(c) Deux méthodes supplémentaires afin d'évaluer l'efficacité digestive

Décaler la période d'ingestion par rapport à la période d'excrétion

Afin de prendre en compte le temps de transit dans les calculs de digestibilité, nous avons choisi de décaler la période de mesure de l'ingestion d'aliment par rapport à celle de l'excrétion de fèces. Les mesures du temps de transit moyen chez le jeune faisant défaut à la littérature, nous avons pris pour référence les données du lapin adulte, établissant à environ 20 heures le temps de transit moyen. Nous avons donc décalé la période de mesure de l'ingestion de 24 heures par rapport à celle de la récolte de fèces. Par exemple, les fèces collectées entre 24 et 25 jours d'âge, ont correspondu à l'aliment ingéré entre 23 et 24 jours.

Ainsi, les valeurs de "digestibilité" de la matière sèche sur les deux périodes et pour les deux lots âge au sevrage ont oscillé entre 64 et 71% (Figure 44).

Figure 44 Bilan quotidien de la "digestibilité" de la matière sèche de l'aliment en fonction de la période d'étude et de l'âge au sevrage des lapereaux, en décalant d'une journée la période d'ingestion



Moyennes arithmétiques \pm ET.

Utiliser l'ytterbium comme marqueur inerte

Ayant réalisé le marquage de l'aliment avec de l'ytterbium afin de déterminer la digestibilité iléale de l'aliment, nous avons décidé d'appliquer cette même méthode pour l'évaluation de la digestibilité fécale. En effet, celle-ci permet de s'affranchir des quantités ingérées et excrétées, problème majeur dans l'évaluation de la digestibilité fécale chez le jeune. Ainsi, les concentrations d'ytterbium dans les fèces ont été mesurées, et la même formule que celle utilisée pour la digestibilité iléale a été appliquée (cf. page 144).

Prendre en compte le lait maternel

Un autre facteur méritait d'être considéré. En effet, les lapereaux du lot S35 ingéraient encore du lait maternel au cours de la période 24-28 jours. Il était donc possible qu'une fraction de la matière organique retrouvée dans les fèces soit d'origine lactée. Une seule étude, à notre connaissance, s'est intéressée à la digestibilité fécale du lait maternel chez le lapin (Parigi-Bini *et al.*, 1991). La matière organique, les protéines brutes, la matière grasse et l'énergie seraient digestibles à 98,6%, 97,3%, 101,3% et 99,7%, respectivement. Chez le veau de 3 à 8 semaines nourri à la poudre de lait écrémé séché par atomisation et enrichie notamment en suif, amidon et lactose, les valeurs de digestibilité fécale varient entre 92% et 96% pour la matière organique, les matières grasses et les protéines. Plus de 94% de ces matières sont digérées à la fin de l'iléon (Guilloteau *et al.*, 1986). Afin de prendre en compte une éventuelle fraction lactée indigestible dans les fèces, nous avons donc réestimé les valeurs de digestibilité des différents composants de l'aliment en émettant plusieurs hypothèses : une

digestibilité pour l'ensemble des composants du lait à 97%, 95% et 90% afin d'étudier l'évolution des valeurs de digestibilité de l'aliment dans le lot S35.

N'ayant pu effectuer cette même correction pour les digestibilités iléales, ce paramètre est donc à considérer avec prudence pour le lot S35 à 28 jours.

◦ Analyse des données

Pour chaque série d'abattage, à 28 et à 42 jours, une analyse de variance a été réalisée afin de tester l'effet de l'âge au sevrage sur les valeurs de digestibilité iléale (procédure GLM, SAS (1999)).

Pour chaque période d'étude de la digestibilité fécale, une analyse de variance (procédure GLM, SAS (1999)) a été réalisée avec un modèle incluant les effets de l'âge au sevrage, de la méthode utilisée et de leur interaction, ainsi qu'un effet de la cage intra-lot âge au sevrage. Les effets de l'âge au sevrage ont alors été testés par rapport à la variabilité résiduelle entre cages (modèle en split-plot). Des comparaisons multiples de moyennes ont été réalisées avec le test de Scheffé. Pour chaque méthode individuellement, l'effet de l'âge au sevrage a également été analysé.

V.C.2. Résultats : Digestibilité iléale de l'aliment à 28 et à 42 jours

Le Tableau 20 présente les valeurs de digestibilités iléales obtenues à 28 et à 42 jours en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux.

Tableau 20 Digestibilité iléale de l'aliment granulé à 28 et à 42 jours en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux

	A 28 jours				A 42 jours			
	S21	S35	CVr, %	Valeur de P	S21	S35	CVr, %	Valeur de P
Concentration iléale en MS								
Ytterbium (mg.g ⁻¹)	0,43	0,37	15,6	NS	0,41	0,48	20,8	NS
Amidon (g.100g ⁻¹)	1,5	1,6	24,3	NS	1,3	1,4	8,8	NS
Protéines brutes (g.100g ⁻¹)	13,8	14,9	8,8	NS	16,5	14,9	15,4	NS
Digestibilité iléale (%)								
Matière organique	61,8	55,9	10,6	NS	60,4	65,9	10,4	†
Amidon	94,8	93,4	2,0	NS	95,2	95,6	1,0	NS
Protéines brutes	72,6	65,6	8,3	†	65,3	70,9	12,6	NS

Moyennes arithmétiques; Effet de l'âge au sevrage : NS $P > 0,10$, † $P < 0,10$.

Aucune différence significative n'a été mise en évidence à 28 jours entre les deux âges au sevrage. Seule une tendance à une meilleure digestibilité des protéines de l'aliment par les lapereaux S21, comparativement aux lapereaux S35 (+10,7%, $P=0,085$), a été soulignée.

A 42 jours, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux lots, hormis une tendance des lapereaux S21 à présenter une digestibilité moindre de la matière organique (-8,4%, $P=0,097$).

V.C.3. Résultats : Digestibilité fécale de l'aliment entre 24 et 28 jours, et entre 38 et 42 jours

- ° Entre 24 et 28 jours

Le Tableau 21 reprend les caractéristiques des différentes méthodes employées afin d'estimer la digestibilité fécale apparente de l'aliment granulé.

Tableau 21 Caractéristiques des différentes méthodes d'évaluation de la digestibilité fécale apparente pour la période 24-28 jours, en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux

	Méthode référence (24-28j)*		Méthode décalée (23-27j)*		Méthode ytterbium	
	S21	S35	S21	S35	S21	S35
Nombre de lapins/cage	9	9	9	9	9	9
Ingéré sec d'aliment/cage (g)	1062	547	859	422	-	-
Excrété sec de fèces/cage (g)	261	142	261	142	-	-
Ytterbium (mg.g^{-1} de fèces secs)	-	-	-	-	0,53	0,51

* Période d'ingestion mesurée; Moyennes arithmétiques.

Aucune interaction entre la méthode utilisée et l'âge au sevrage n'a été mise en évidence, excepté pour les lipides (Tableau 22). Le test de comparaisons multiples de Scheffé a montré que la méthode de référence diffère des deux autres méthodes ($P<0,001$), qui sont semblables entre elles. Les valeurs de digestibilité estimées par la méthode européenne de référence sont supérieures à celles déterminées par la méthode décalée et la méthode ytterbium. Pour les lipides, les mêmes observations entre les différentes méthodes ont été effectuées, malgré l'interaction significative. Celle-ci est probablement consécutive à un effet très important de l'âge au sevrage sur la digestibilité des lipides, mais qui est plus ou moins marqué selon la méthode retenue.

Ainsi, le taux de récupération fécale de l'ytterbium avec la méthode de référence, théoriquement de 100%, est de 79,3% et de 80,5% pour les lots S21 et S35, respectivement, entre 24 et 28 jours. Avec la méthode décalée, ce pourcentage est de 98,3% et de 104,9% pour les lots S21 et S35, respectivement.

Lorsque l'effet de l'âge au sevrage est évalué indépendamment pour chaque méthode, la plupart des valeurs de digestibilité sont supérieures de 1 à 6 points pour les lapereaux sevrés à 21 jours, comparativement aux lapereaux sevrés à 35 jours. Cependant cette différence est significative ou non selon la méthode de détermination des valeurs de digestibilité. Les trois méthodes sont en accord sur la signification statistique de l'effet de l'âge au sevrage pour seulement deux paramètres : la digestibilité de l'amidon qui n'est pas significativement affectée par l'âge au sevrage, et la digestibilité des matières grasses de l'aliment qui est supérieure pour les lapereaux S21 à celle des lapereaux S35.

Tableau 22 Digestibilité fécale apparente des différents composants de l'aliment granulé de 24 à 28 jours en fonction de la méthode utilisée et de l'âge au sevrage des lapereaux

Dig. (%)	Méthode référence		Méthode décalée		Méthode ytterbium		CVr, %	Valeur de P		
	S21	S35	S21	S35	S21	S35		Age au sevrage	Méthode	Inter-action
MO	75,1	≈ 73,9	69,0	> 66,0	68,3	= 67,0	2,3	**	***	NS
PB	83,1	≈ 81,7	79,0	> 76,1	78,5	= 76,8	1,5	*	***	NS
MG	88,4 ^a	> 82,1 ^c	85,5 ^b	> 76,6 ^d	85,2 ^b	> 77,2 ^d	1,5	***	***	**
Amidon	98,5	= 98,5	98,1	= 98,0	98,1	= 98,1	0,1	NS	***	NS
NDF	48,6	= 47,5	36,2	> 31,5	34,8	= 33,6	8,3	†	***	NS
ADF	41,0	= 39,2	26,7	> 20,6	25,1	= 23,0	13,0	*	***	NS
Energie	74,2	> 72,7	68,0	> 64,4	67,3	= 65,5	2,4	**	***	NS

Moyennes arithmétiques; MO : matière organique, PB : protéines brutes, MG : matières grasses, NDF : neutral detergent fiber, ADF : acid detergent fiber. Effet de l'âge au sevrage pour chaque méthode : = $P > 0,10$, ≈ $P < 0,10$, < ou > $P < 0,05$; Valeurs de P modèle général : NS $P > 0,10$, † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$; Lors d'une interaction significative, les moyennes sans lettre en commun sur une même ligne sont différentes ($P < 0,05$).

En retirant les quantités de matière organique, de protéines, de matière grasse et d'énergie qui pourraient être d'origine lactée dans les fèces, et en fonction des valeurs de digestibilité attribuées au lait, nous avons réestimé la digestibilité des différents nutriments de l'aliment. Nous nous sommes basés sur les résultats obtenus avec la méthode décalée pour effectuer ces corrections. Le Tableau 23 décrit les caractéristiques de la méthode employée pour corriger les valeurs de digestibilité. L'ingéré sec de lait n'a pas été pris en compte en tant qu'ingéré, mais a permis l'estimation de la quantité de chaque nutriment d'origine lactée dans les fèces. Cette quantité a alors été soustraite de l'excrété des lapereaux puisque nous souhaitons mesurer la digestibilité de l'aliment granulé.

Tableau 23 Caractéristiques de la méthode employée pour corriger la digestibilité de l'aliment granulé en fonction de la digestibilité supposée du lait de lapine

	Méthode décalée	
	S21	S35
Nombre de lapins/cage	9	9
Ingéré sec d'aliment/cage (g)	859	422
Ingéré sec de lait/cage* (g)	-	258
Excrété sec de fèces/cage (g)	261	142

*Consommation : moyenne (J23+J24) + moyenne (J24+J25) + moyenne (J25+J26) + moyenne (J26+J27)

Plus la digestibilité supposée du lait augmentait, plus les valeurs de digestibilité des nutriments d'origine végétale étaient importantes dans le lot S35 (Tableau 24). Ainsi, de supérieures dans le lot S21 quand la digestibilité du lait était supposée de 100%, ces valeurs sont devenues similaires entre les 2 lots, puis supérieures dans le lot S35 parallèlement à la diminution de la digestibilité supposée du lait maternel. Cette inversion a été plus ou moins rapide selon le composant alimentaire considéré : pour l'énergie et la matière organique, l'inversion des conclusions concernant l'effet de l'âge au sevrage sur leur digestibilité s'est effectuée pour une estimation de la digestibilité du lait à 90%. Cette inversion a eu lieu pour une digestibilité du lait comprise entre 95 et 97% pour les protéines, et dès 97% pour les lipides.

Tableau 24 Digestibilité fécale apparente de l'aliment granulé de 24 à 28 jours par la méthode décalée selon la digestibilité supposée du lait et en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux

Dig. (%)	Digestibilité 100%			Digestibilité 97%			Digestibilité 95%			Digestibilité 90%		
	S21	S35	Cvr, %	S21	S35	Cvr, %	S21	S35	Cvr, %	S21	S35	Cvr, %
MO	69,0	> 66,0	2,8	69,0	= 67,9	2,9	69,0	= 69,2	3,2	69,0	< 72,4	4,0
PB	79,0	> 76,1	2,3	79,0	≈ 81,1	3,2	79,0	< 84,4	3,9	79,0	< 92,7	6,1
MG	85,5	> 76,6	4,3	85,5	< 94,3	4,5	85,5	< 106,0	7,3	85,5	< 135,4	13,7
Energie	68,0	> 64,4	2,8	68,0	= 67,1	3,1	68,0	= 69,0	3,5	68,0	< 73,6	4,8

Moyennes arithmétiques; MO : matière organique, PB : protéines brutes, MG : matières grasses; Effet de l'âge au sevrage pour chaque méthode : = $P > 0,10$; ≈ $P < 0,10$, < ou > $P < 0,05$.

Aussi, la digestibilité des matières grasses est celle ayant subi les plus fortes variations en fonction de la digestibilité supposée du lait, en raison d'une forte concentration de lipides dans le lait et d'une faible proportion de ceux-ci dans l'aliment granulé. Ainsi, pour une digestibilité du lait estimée à 95%, la digestibilité des lipides de l'aliment granulé serait supérieure à 100%. Ce résultat suggère que les lipides du lait sont très probablement digérés à plus de 95%.

- Entre 38 et 42 jours

Le Tableau 25 présente les caractéristiques des différentes méthodes utilisées afin d'évaluer la digestibilité fécale apparente de l'aliment granulé.

Tableau 25 Caractéristiques des différentes méthodes d'évaluation de la digestibilité fécale apparente pour la période 38-42 jours, en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux

	Méthode référence (38-42)*		Méthode décalée (37-41)*		Méthode ytterbium	
	S21	S35	S21	S35	S21	S35
Nombre de lapins/cage	4	4	4	4	4	4
Ingéré sec d'aliment/cage (g)	1282	1375	1236	1304	-	-
Excrété sec de fèces/cage (g)	400	438	400	438	-	-
Ytterbium (mg.g ⁻¹ de fèces secs)	-	-	-	-	0,52	0,58

* Période d'ingestion mesurée; Moyennes arithmétiques

Des interactions importantes entre la méthode et l'âge au sevrage ont été mises en évidence pour l'ensemble des valeurs de digestibilité fécale apparente obtenues entre 38 et 42 jours (Tableau 26).

Tableau 26 Digestibilité fécale apparente de l'aliment de 38 à 42 jours selon la méthode utilisée et en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux

Dig. (%)	Méthode référence		Méthode décalée		Méthode ytterbium		Valeur de P			
	S21	S35	S21	S35	S21	S35	Cvr, %	Age au sevrage	Méthode	Inter-action
MO	68,5 ^a	67,8 ^{ab}	67,3 ^a	66,0 ^b	68,3 ^a	71,4 ^c	1,7	NS	***	***
PB	78,8 ^{ad}	77,5 ^{bc}	78,0 ^{ab}	76,3 ^c	78,7 ^a	80,0 ^c	1,0	*	***	***
MG	83,8 ^a	85,7 ^b	83,2 ^a	84,9 ^c	83,8 ^a	87,3 ^d	0,6	**	***	***
Amidon	98,4 ^a	98,3 ^a	98,4 ^{ab}	98,3 ^b	98,4 ^a	98,5 ^c	0,1	NS	***	***
NDF	37,1 ^a	35,7 ^{ab}	34,7 ^a	32,2 ^b	36,8 ^a	43,0 ^c	6,1	NS	***	***
ADF	27,9 ^a	26,8 ^{ab}	25,1 ^{ab}	22,8 ^b	27,6 ^a	35,0 ^c	9,2	NS	***	***
Energie	67,5 ^a	66,8 ^{ab}	66,2 ^{ab}	65,0 ^b	67,3 ^a	70,5 ^c	1,7	NS	***	***

Moyennes arithmétiques; MO : matière organique, PB : protéines brutes, MG : matières grasses; Effet de l'âge au sevrage pour chaque méthode : = $P > 0,10$; $\approx P < 0,10$, < ou > $P < 0,05$; Valeurs de P modèle général : NS $P > 0,10$, † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$; Sur une même ligne, les moyennes sans lettre en commun sont différentes ($P < 0,05$).

Pour les lapereaux S21, les valeurs de digestibilité estimées par les trois méthodes ont été similaires. En revanche, pour les lapereaux S35, les méthodes de référence et décalée ont conduit à des valeurs de digestibilité proches, mais significativement plus faibles que celles déterminées avec la méthode ytterbium ($P < 0,05$). Selon la méthode de référence, le taux de récupération fécale de l'ytterbium était de 99,9% et de 113,1% dans les lots S21 et S35 respectivement, alors qu'il était de 103,7% et de 119,2% avec la méthode décalée.

Ainsi, il est difficile de conclure quant aux effets de l'âge au sevrage sur les valeurs de digestibilité des différents constituants de l'aliment granulé, car ces effets divergent selon la méthode retenue. Les trois méthodes considérées individuellement sont toutefois en accord pour les effets de l'âge au sevrage sur la digestibilité des lipides et de l'amidon. Ainsi, quelle que soit la méthode utilisée, la capacité des lapereaux S21 à digérer les lipides a été inférieure à celle des lapereaux S35 ($P < 0,05$), et la digestibilité de l'amidon non affectée par l'âge au sevrage. La digestibilité des protéines, en fonction de la méthode, a été supérieure pour les lapereaux S21 ou égale entre les 2 lots. Pour tous les autres composants, selon la méthode, les valeurs de digestibilité étaient soit similaires entre les deux âges au sevrage, soit supérieures pour les lapereaux S35 (Tableau 26).

V.C.4. Discussion des aspects méthodologiques

◦ Digestibilité iléale

Pour les lapereaux encore allaités, le lait n'a pas été pris en considération dans l'évaluation de la digestibilité iléale de l'aliment à 28 jours. Or il est probable que, dans le contenu des 25 derniers cm de l'iléon des lapereaux sevrés à 35 jours, des matières d'origine lactée soient présentes, même si les abattages ont été réalisés environ 10 heures après l'allaitement. En effet, du "lait" était encore visible dans le contenu stomacal au moment des prélèvements de contenus iléaux. Les valeurs de digestibilité pour ces animaux sont donc probablement sous-estimées à 28 jours. En revanche, à 42 jours les lapereaux ne reçoivent plus que de l'aliment granulé et ce problème méthodologique ne se pose plus.

◦ Digestibilité fécale

Pour la période 24-28 jours, la méthode décalée et la méthode ytterbium, deux méthodes très différentes, sont en accord sur l'ordre de grandeur des valeurs de digestibilité, et sur les conclusions entre les deux lots d'animaux. On peut ainsi considérer qu'elles donnent une estimation correcte de la digestibilité de l'aliment par des animaux de cet âge. En revanche, la méthode européenne de référence n'est pas adaptée pour de si jeunes animaux, car elle surestime le rendement de la digestion de l'aliment granulé : les matières ingérées et excrétées ne peuvent pas être évaluées sur une même période de temps. Ainsi, le décalage de la période d'ingestion par rapport à la période d'excrétion peut être retenu pour cette période, pour sa plus grande facilité de mise en œuvre que la méthode utilisant le marquage à l'ytterbium.

Pour la période 38-42 jours, davantage de problèmes méthodologiques se posent. En fait, si très peu de différences entre les méthodes ont été mises en évidence pour les animaux

sevrés à 21 jours, les valeurs de digestibilité des lapereaux sevrés à 35 jours ont varié de manière importante selon la méthode utilisée. Ainsi, si l'on effectue le bilan du devenir de l'ytterbium, les lapereaux sevrés à 35 jours en excrètent davantage qu'ils n'en ont ingéré, quelle que soit la période d'ingestion considérée (référence ou décalée). Pourtant, des auteurs avaient montré dans une étude comparative menée dans 4 laboratoires que la récupération fécale de l'ytterbium ingéré était incomplète chez le lapin adulte, variant de 83 à 95% selon le laboratoire (*Blas et al., 2000*). Dans notre étude, soit la concentration d'ytterbium dans les fèces est erronée, soit la quantité de fèces excrétée et mesurée est inappropriée pour la période d'ingestion considérée, voire les deux phénomènes se combinent. Si la quantité de fèces mesurée est non représentative, alors elle est surestimée par rapport à la période d'ingestion considérée. Ces effets sont donc exacerbés en décalant la période d'ingestion d'une journée. S'il s'agit d'une erreur sur les concentrations en ytterbium, elle peut être d'ordre méthodologique, ou encore physiologique. En effet, l'ytterbium est fixé sur les fibres alimentaires, et sensé être un composant inerte, *i.e.* insensible aux phénomènes digestifs et inversement ne modifiant pas la digestion de l'animal. Cependant, il semblerait que la microflore et les conditions de milieu, notamment l'acidité, soient capables d'induire des migrations des terres rares. Par ailleurs, il est possible que la digestibilité des fibres soit négativement affectée par leur présence (*Bernard et Doreau, 2000*). Cependant, ces phénomènes auraient également pu être observés pour les lapereaux sevrés à 21 jours. En revanche, des modifications du transit digestif occasionnées par le sevrage ne sont pas à exclure, ces lapereaux étant sevrés depuis moins d'une semaine lorsque les mesures ont été réalisées. Qui plus est, les modifications de transit pourraient subir une évolution différentielle selon les nutriments considérés, notamment les fibres sur lesquelles est fixé l'ytterbium. Aussi, il semble difficile avec les résultats obtenus de choisir la méthode à retenir pour évaluer la digestibilité de l'aliment à cette période, pour des animaux récemment sevrés. En revanche, pour des lapereaux sevrés depuis 2 à 3 semaines, les trois méthodes semblent adaptées et conduisent à des valeurs de digestibilité très proches.

V.D. EVALUATION DE L'EFFICACITE DE LA DIGESTION : BILANS DIGESTIFS

V.D.1. Méthodes

Afin de déterminer les capacités de digestion iléale et totale des lapereaux, nous avons établi le bilan de l'ingéré digestible (ou quantités "digérées") aux niveaux iléal et fécal sur une période déterminée.

Pour les bilans iléaux sur 24 heures, les abattages et prélèvements ayant eu lieu le soir à 19 heures à 28 et à 42 jours, nous avons choisi de prendre l'ingéré d'aliment mesuré entre 27 et 28 jours, et entre 41 à 42 jours au matin. Pour le bilan réalisé à 28 jours, nous avons considéré l'allaitement de 28 jours au matin pour les lapereaux encore allaités. Les nutriments lactés ingérés ont été considérés comme digérés à 100% au niveau iléal, et les valeurs de digestibilité iléale mesurées ont été appliquées à l'ingestion de nutriments d'origine végétale (protéines, amidon et matière organique). Nous avons également estimé la fraction des nutriments non digestibles, susceptibles de parvenir au cæcum.

Pour les bilans fécaux, nous avons choisi la méthode qui nous a semblé la plus adaptée pour chaque période. Nous avons choisi d'appliquer les valeurs de digestibilité déterminées par la méthode décalée à l'ingestion d'aliment entre 23 et 27 jours. Pour les lapereaux allaités, une digestibilité de 100% a été appliquée aux nutriments lactés ingérés pour déterminer les quantités totales de nutriments digestibles. Pour la deuxième période d'étude, nous avons retenu la méthode ytterbium et la méthode décalée appliquées à l'ingestion entre 37 et 41 jours.

Une analyse de variance a été réalisée afin de déterminer l'effet de l'âge au sevrage sur les quantités de nutriments ingérés et digestibles à chaque période d'étude (procédure GLM, SAS (1999)).

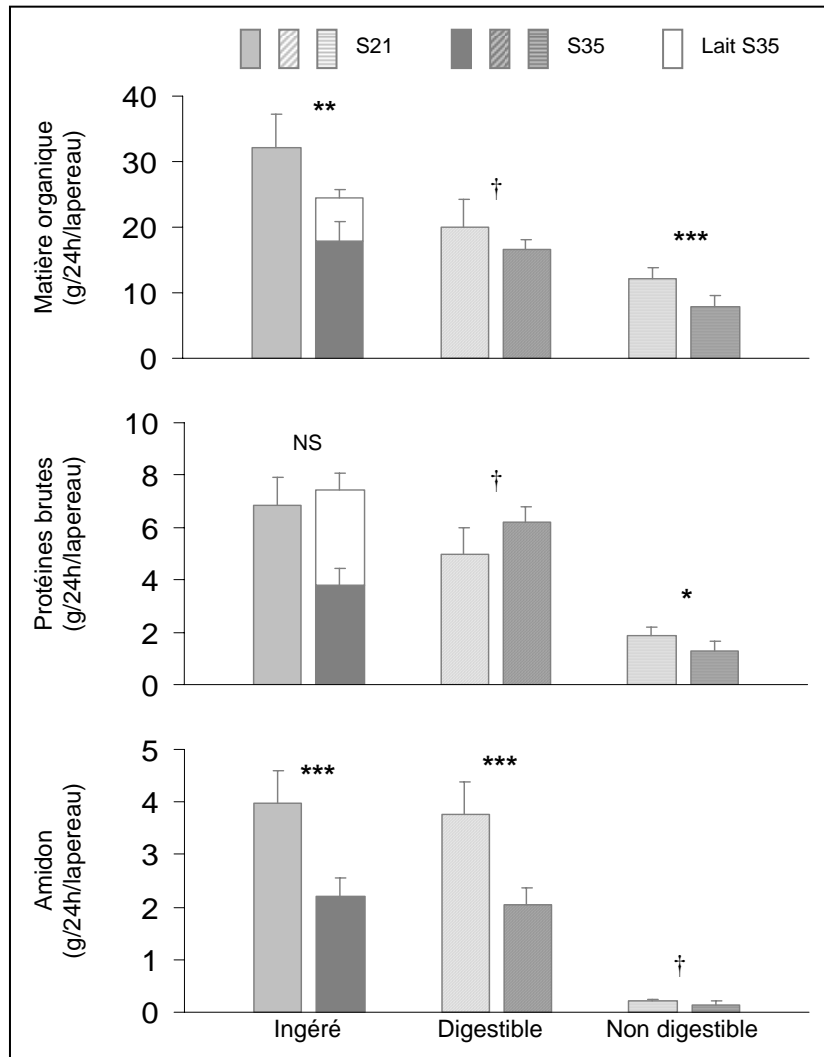
V.D.2. Résultats : Bilan digestif au cours de la période 24-28 jours

La Figure 45 montre l'évolution des quantités de matières ingérées et digestibles au niveau iléal et les matières non digestibles susceptibles de parvenir au cæcum entre 27 et 28 jours. Il est supposé pour ces calculs que le lait est digéré à 100% avant l'iléon.

Ainsi, les quantités ingérées de matière organique et d'amidon par les lapereaux S21 ont été supérieures de 32 et 81% respectivement à celles des lapereaux S35 ($P < 0,01$), alors que les quantités de protéines brutes ingérées étaient similaires. Les quantités d'amidon digestibles au niveau iléal étaient supérieures de 84% dans le lot S21, alors que les quantités de matière organique et de protéines brutes digérées par les lapereaux S21 tendaient respectivement à être supérieures (+20%, $P = 0,092$) et inférieures (-19%, $P = 0,060$) à celles des lapereaux S35.

Ainsi, les quantités de matière organique et de protéines brutes parvenant au cæcum sur une période de 24 heures ont été supérieures de 56% et 42% respectivement dans le lot S21 ($P<0,05$). La quantité d'amidon franchissant la frontière iléo-cæcale des lapereaux S21 tendait seulement à être supérieure à celle des lapereaux S35 (0,20 vs. 0,15 g d'amidon par 24 heures, $P=0,099$).

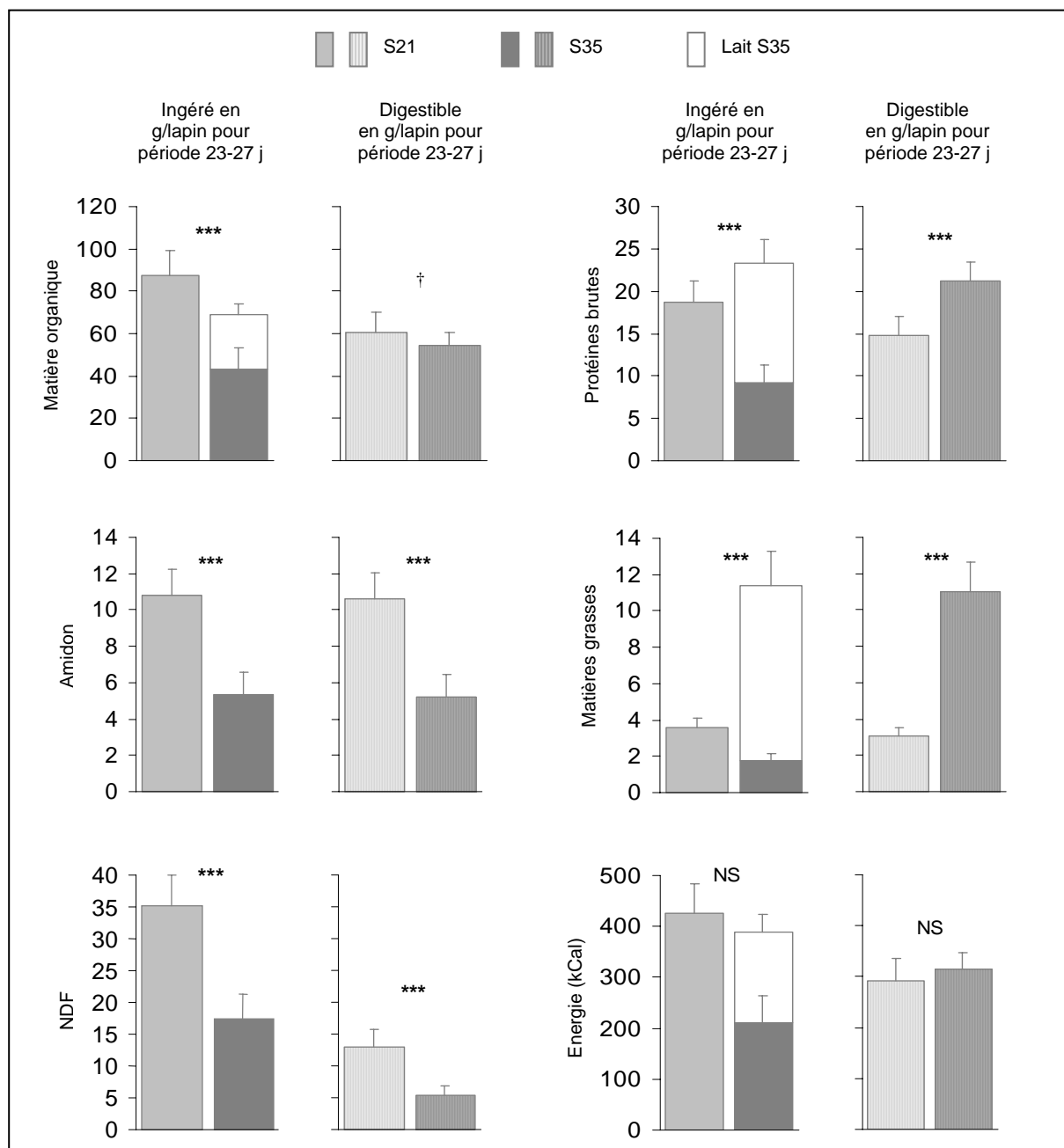
Figure 45 Bilan à 28 jours des matières ingérées, digérées ou non dans l'iléon par les lapereaux en fonction de l'âge au sevrage



Moyennes arithmétiques \pm ET; Effet de l'âge au sevrage : NS $P>0,10$, † $P<0,10$, * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.

Entre 23 et 27 jours, la quantité de matière organique ingérée par les lapereaux S21 a été supérieure de 27% à celle des lapereaux S35 (Figure 46), mais les quantités de matière organique digestibles tendaient seulement à être légèrement supérieures (+11,6%, $P=0,078$).

Figure 46 Bilan total des nutriments ingérés et digestibles entre 23 et 27 jours en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux



Moyennes arithmétiques ± ET; Effet de l'âge au sevrage : NS $P>0,10$, † $P<0,10$, *** $P<0,001$.

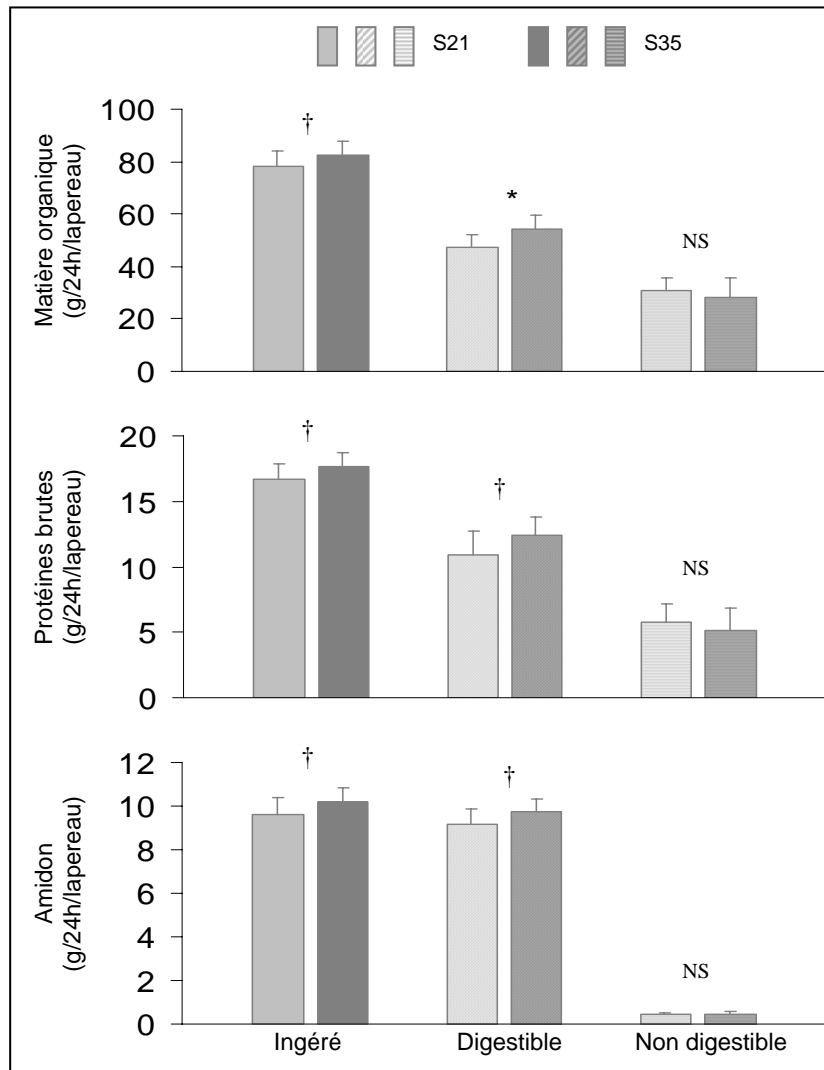
Ainsi, les lapereaux S21 ont ingéré et digéré des quantités d'amidon et de NDF de 103 à 137% supérieures à celle des lapereaux S35. En revanche, les quantités de protéines et de matières grasses ingérées et digestibles par les lapereaux S21 ont été inférieures de -20 à -72%

à celles des lapereaux S35. Les niveaux d'énergie brute ingérés et digestibles n'ont pas été affectés par l'âge au sevrage.

V.D.3. Résultats : Bilan digestif au cours de la période 38-42 jours

La Figure 47 montre les quantités de nutriments ingérées entre 41 et 42 jours en fonction de l'âge au sevrage, ainsi que les quantités digestibles et non digestibles au niveau iléal.

Figure 47 Bilan à 42 jours des matières ingérées, digérées ou non dans l'iléon par les lapereaux en fonction de l'âge au sevrage

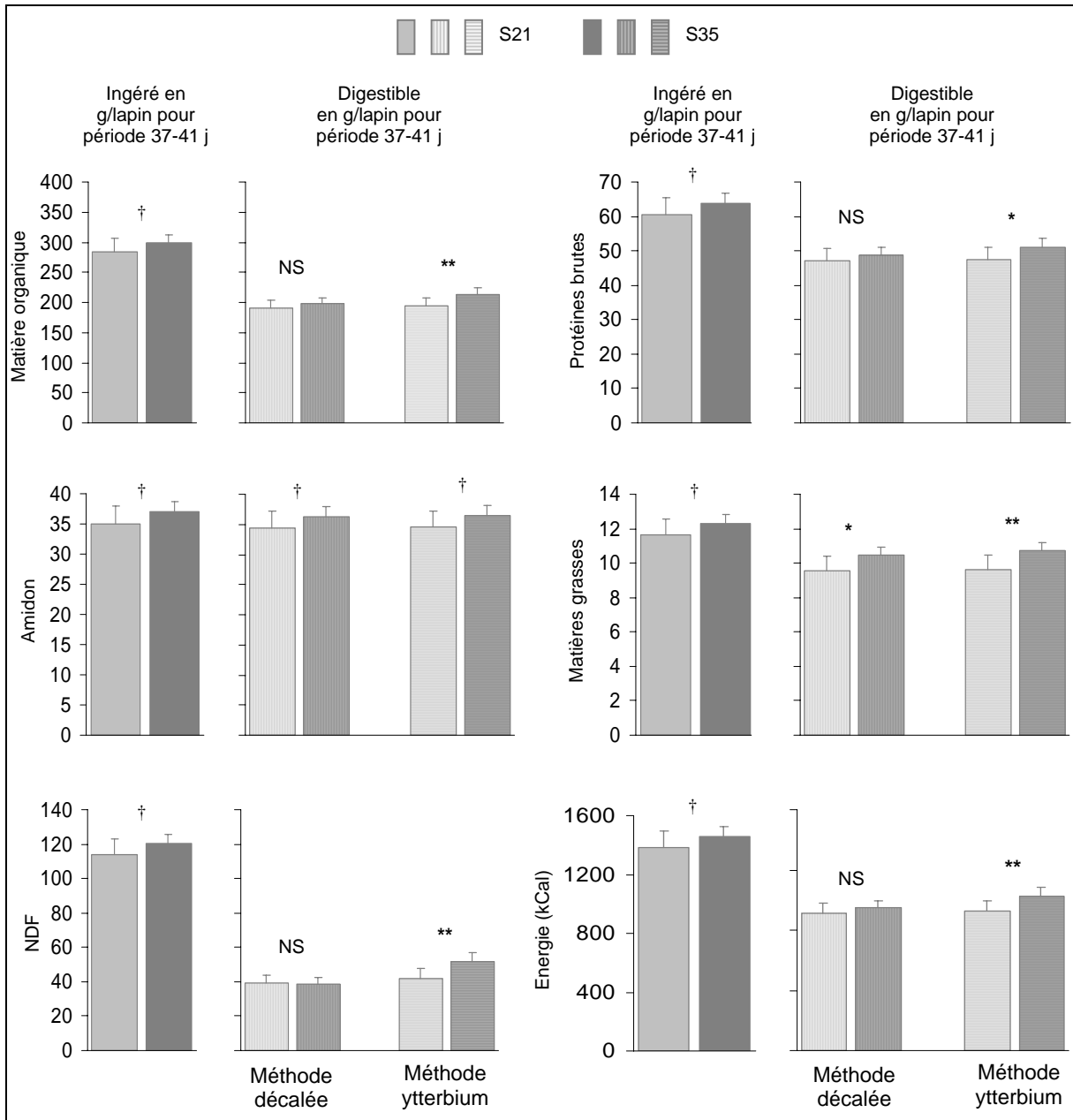


Moyennes arithmétiques ± ET; Effet de l'âge au sevrage : NS $P > 0,10$, † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

Les quantités de matière organique, de protéines brutes et d'amidon ingérées par les lapereaux S21 tendaient à être inférieures de 5% ($P=0,098$) à celles ingérées par les lapereaux S35. Les quantités de matières digérées par les lapereaux S21 tendaient à être ou étaient, elles aussi, plus faibles : -13% pour la matière organique ($P < 0,05$), -13% pour les protéines brutes

($P=0,053$) et -6% pour l'amidon ($P=0,069$). En revanche, les quantités de matière organique, d'amidon et de protéines parvenant au cæcum n'ont pas été affectées par l'âge au sevrage.

Figure 48 Bilan total de nutriments ingérés et digestibles entre 37 et 41 jours en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux



Moyennes arithmétiques ± ET; Effet de l'âge au sevrage : NS $P>0,10$, † $P<0,10$, ** $P<0,01$.

Pour la période comprise entre 37 et 41 jours (Figure 48), l'ingestion des différents nutriments a suivi l'ingestion de l'aliment sec : les différences observées entre les lots sont identiques pour tous les nutriments (aliment unique). Ainsi, le niveau d'ingestion de nutriments par les lapereaux S21 tendait à être inférieur à celui des lapereaux S35. Le bilan des nutriments ingérés digestibles dépendait, quant à lui, de la méthode retenue pour

l'évaluation de la digestibilité. Nous avons choisi les méthodes aboutissant aux différences extrêmes, à savoir la méthode décalée et la méthode ytterbium appliquées à l'ingestion d'aliment au cours de la période 37-41 jours. Si la méthode décalée est retenue, seule la quantité de matières grasses digérée a différencié entre les 2 lots : elle était plus faible de 9% pour les lapereaux S21 ($P < 0,05$). En revanche, en adoptant la méthode ytterbium, les quantités de nutriments digérées par les lapereaux S21 étaient toutes inférieures à celles digérées par les lapereaux S35, excepté l'amidon pour lequel seule une tendance a été observée (-5%, $P < 0,10$).

V.D.4. Discussion : Efficacité de la digestion en fonction de l'âge au sevrage

L'établissement des bilans digestifs iléaux a permis de mettre en évidence que les quantités d'amidon digérées par les lapereaux sevrés à 21 jours sont pratiquement doublées à 28 jours, comparativement aux lapereaux encore allaités. En revanche, les quantités non digérées parvenant au cæcum en 24 heures tendent seulement à être légèrement augmentées. Ceci est uniquement dû à l'augmentation de l'ingéré d'aliment et donc des quantités de contenus digestifs circulantes, car les concentrations iléales d'amidon sont similaires quel que soit l'âge au sevrage. Bien que la composition complète des contenus iléaux n'ait pu être établie (contenu en quantité insuffisante), il semble que la composition des matières parvenant au cæcum est similaire quel que soit l'âge au sevrage (concentrations analogues), mais que le flux est augmenté à 28 jours lorsque les lapereaux sont sevrés précocement : +4,4 g de matière organique/24 heures/lapereau.

A 42 jours, ni le flux de matières, ni la composition des digestas parvenant au cæcum ne semblent affectés par l'âge au sevrage. En revanche, les quantités d'amidon et de protéines digérées au niveau iléal tendent à être plus faibles lorsque les lapereaux sont sevrés précocement. Les valeurs de digestibilité iléale n'étant pas affectées par l'âge au sevrage, cette différence est essentiellement expliquée par un ingéré de nutriments par les lapereaux sevrés précocement 5% plus faible par rapport à celui des lapereaux sevrés à 35 jours.

Pour la période comprise entre 24 et 28 jours, la digestion totale (digestibilité fécale) des fibres alimentaires par les lapereaux sevrés précocement est similaire, voire légèrement supérieure à celle des lapereaux sevrés à 35 jours. L'amidon est déjà très bien valorisé (autour de 98% de digestibilité), et ce de manière identique quel que soit l'âge au sevrage. Pour tous les autres composants, si l'on suppose d'après *Parigi-Bini et al. (1991)* que la digestibilité des différents nutriments du lait de lapine n'est pas inférieure à 97%, les digestibilités de la matière organique, des protéines et de l'énergie fournies par l'aliment granulé, ne sont pas affectées par l'âge au sevrage. Cependant, la digestibilité des matières grasses d'origine

végétale varie très vite en fonction de la valeur de digestibilité attribuée aux lipides d'origine lactée. Il semble donc difficile de conclure quant à l'incidence de l'âge au sevrage sur la capacité des lapereaux à digérer les graisses d'origine végétale à cette période d'étude.

Pour la période comprise entre 38 et 42 jours, les divergences entre méthodes ne permettent pas de conclure formellement quant aux répercussions de l'âge au sevrage sur les digestibilités fécales de nombreux composants de l'aliment, exception faite de l'amidon et des matières grasses pour lesquels les 3 méthodes sont en accord. L'amidon est valorisé à plus de 98%, quel que soit l'âge au sevrage. En revanche, la valorisation des graisses végétales par les lapereaux sevrés à 21 jours est moindre que celle des lapereaux sevrés plus classiquement à 35 jours. *Debray et al. (2003)* avaient observé une diminution de la digestibilité des graisses d'origine végétale après le sevrage des lapereaux. Dans notre étude, les lapereaux sevrés depuis seulement 3 jours au début de la période de collecte pourraient être encore habitués à digérer un régime riche en graisses. En effet, *Fernández et al. (1994)* avaient montré que plus le taux de matières grasses incorporé dans l'aliment était élevé, plus leur valorisation par les lapins était importante.

Même si ces calculs reposent sur différentes hypothèses (choix de la méthode d'évaluation, digestibilité du lait de 100%, composition du lait établie sur un échantillon unique et moyen de lait...), ils permettent tout de même de souligner des différences importantes liées au statut nutritionnel, notamment pour la période comprise entre 23 et 27 jours. Ainsi, il semble qu'à cette période et dans nos conditions expérimentales, les capacités d'ingestion de matière sèche ne sont pas limitatives pour la croissance des lapereaux sevrés précocement. Par ailleurs, ils semblent compenser de manière efficace le déficit énergétique lié à l'arrêt d'apport du lait maternel, par des quantités de fibres et d'amidon ingérées accrues qui seront bien valorisées. Ainsi, les quantités de fibres et d'amidon digérées par les lapereaux sevrés à 21 jours sont 2 à 2,4 fois supérieures à celles des lapereaux sevrés à 35 jours pour la période comprise entre 23 et 27 jours. L'amidon est déjà très bien digéré en fin d'iléon : de 93% à 95%. Les lapereaux pourraient ainsi dès leur jeune âge réguler leur ingestion d'aliment sur le niveau d'énergie digestible de la ration, ce que *Lebas et al. (1982)* avaient observé sur des lapereaux âgés de 5 à 8 semaines. Cependant, dans nos conditions expérimentales, les lapereaux sevrés à 21 jours présentent un déficit d'apport en protéines digestibles par rapport aux lapereaux sevrés à 35 jours, qui pourrait être préjudiciable pour leur croissance et leur développement entre 23 et 27 jours. Ce déficit est lié à un niveau d'ingestion de protéines insuffisant, écart qui sera creusé par une digestibilité des protéines végétales moins efficace (79%) que celle des protéines lactées, hautement digestibles (digestibilité estimée à 100%). Les matières grasses représentent le paramètre le plus affecté par l'âge au sevrage, que l'on

considère les matières ingérées ou digérées : celles-ci sont 3,2 et 3,6 fois plus importantes, respectivement, lorsque les lapereaux sont encore allaités à 28 jours.

Pour la deuxième période étudiée, étant donné le dilemme quant au choix de la méthode appropriée pour évaluer la digestibilité, il est plus difficile de conclure. Seul un léger déficit des quantités de lipides digérées (au moins 9%) semble pouvoir être attribué au sevrage précoce, quelle que soit la méthode utilisée, reposant sur un ingéré brut et une valorisation moindres de celles-ci.

CHAPITRE 2 - LE STATUT NUTRITIONNEL DU LAPEREAU, VIA LA MODULATION DE L'AGE AU SEVRAGE, INFLUENCE-T-IL SA SENSIBILITE A UNE INFECTION EXPERIMENTALE PAR UNE SOUCHE ENTEROPATHOGENE D'*E. COLI*?

I. OBJECTIFS ET CHOIX DU MODELE

I.A. OBJECTIFS

Le péri-sevrage est une période critique de sensibilité des lapereaux aux désordres digestifs. D'une part, le changement d'alimentation (quantitatif et qualitatif) implique des modifications structurales, mais surtout fonctionnelles de l'appareil digestif développées dans le chapitre 1 du travail expérimental. D'autre part, la protection conférée par le lait maternel s'estompe. Aussi, nous avons choisi de déterminer si un changement précoce du statut nutritionnel, *via* l'âge au sevrage (21 vs. 35 jours), joue un rôle important dans la sensibilité du lapereau aux affections du système digestif.

I.B. CHOIX DU MODELE

Le modèle d'infection expérimentale avec une souche d'*E. coli* entéropathogène appartenant au séro groupe O103, a été choisi pour plusieurs raisons. La colibacillose est une maladie fréquente en élevage cunicole, et les *E. coli* entéropathogènes appartenant au séro groupe O103 sont très souvent isolés en France. Si l'agent étiologique et son mécanisme d'action sont maintenant bien identifiés, les facteurs permettant ou non l'expression de son pouvoir pathogène ont été peu étudiés. Depuis un peu plus de 15 ans, il a été montré que certaines souches n'exerçaient leur pouvoir pathogène que sur certains groupes d'âge. Des souches spécifiquement pathogènes pour les lapereaux allaités ou pour les lapereaux sevrés sont décrites (Peeters *et al.*, 1984a). Licois *et al.* (1990) ont montré un effet important de l'âge des lapereaux au moment de l'inoculation d'un colibacille O103:K-:H2 sur l'expression de la maladie. Ils ont montré que, lors d'un sevrage à 31 jours, les lapereaux âgés de 28 et 35 jours sont les plus sensibles à l'expression grave de la maladie (plus de 70 % de mortalité) que l'inoculation ait lieu à 21, 28 ou 35 jours, alors que les lapereaux inoculés à 42 et 56 jours seraient moins sensibles à la colibacillose. Les auteurs avaient alors formulé l'hypothèse de l'existence possible de récepteurs spécifiques à l'adhésion d'*E. coli* pendant une période déterminée de la vie de l'animal. Mais malgré la relation établie entre la souche d'*E. coli* et le statut des lapereaux (allaités vs. sevrés), aucune étude à notre connaissance n'a envisagé de vérifier si cette sensibilité n'était pas liée au sevrage en lui-même et non à l'âge des lapereaux.

En inoculant des lapereaux de même âge mais ayant été sevrés à des âges différents, il semble possible de comprendre si la maladie est âge- ou sevrage-dépendante. Cela permettra d'identifier si l'environnement nutritionnel (lait vs. lait + aliment solide) a un impact sur la sensibilité des lapereaux à la colibacillose.

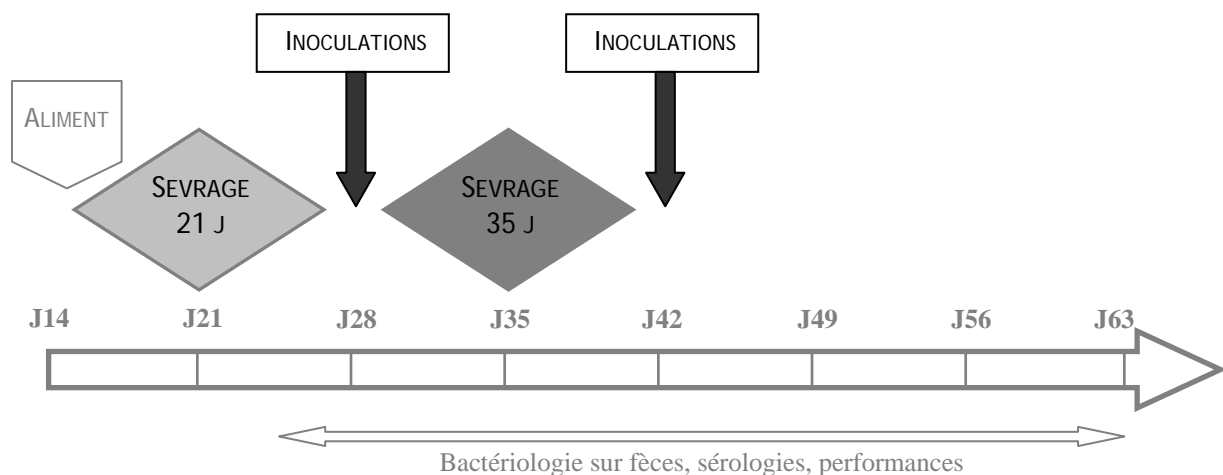
Cette étude a été menée en collaboration avec une équipe de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (l'UMR ENVT-INRA 1225 Interactions Hôtes-Agents Pathogènes), étudiant la physiopathologie des *E. coli* entéropathogènes (EPEC), et travaillant à l'élaboration de vaccins contre les colibacilloses du lapin.

II. MOYENS EXPERIMENTAUX

II.A. SCHEMA EXPERIMENTAL

Il a été choisi : 1) de réaliser les inoculations sur des animaux de même âge mais ayant été sevrés à des âges différents pour les raisons invoquées précédemment, 2) de maintenir le modèle sevrage à 21 jours comparé à un sevrage à 35 jours afin de mettre les résultats en relation avec ceux précédemment obtenus sur les interactions entre statut nutritionnel et mise en place des structures et des fonctions digestives. Deux âges ont été choisis pour les inoculations : (1) 28 jours, un âge où le statut nutritionnel est très différent entre les 2 âges au sevrage et où les différences anatomo-physiologiques du système digestif sont les plus marquées entre les 2 groupes d'animaux, et (2) 42 jours, un âge où les interférences entre protection conférée par le lait maternel et paramètres de maturation digestive devraient être limitées entre les 2 groupes d'animaux. Un avis favorable du comité régional d'éthique a été émis pour cette expérimentation (Annexe 1).

Figure 49 Schéma expérimental de l'étude 3



Douze portées ont été sevrées à 21 jours et 12 autres à 35 jours. L'aliment, de composition identique à celui distribué dans les études précédentes, a été mis à la disposition des lapereaux dès 14 jours. Trois groupes d'animaux, chacun constitué pour moitié de portées sevrées à 21 jours et pour autre moitié de portées sevrées à 35 jours, ont été répartis dans une salle unique : 1) un lot témoin T inoculé avec la souche non pathogène BM21, 2) un lot I28 infecté avec la souche pathogène E22 à 28 jours, et 3) un lot I42 infecté avec la souche pathogène E22 à 42 jours. Outre les suivis classiques de performances (poids, ingestion) et d'état sanitaire (examens cliniques, autopsies), des bactériologies sur fèces et des sérologies (Figure 49) ont été effectuées régulièrement afin de suivre, respectivement, l'excrétion de la souche entéropathogène d'*E. coli* inoculée et le développement de la réponse immunitaire spécifique vis-à-vis de ce colibacille.

Les inoculations réalisées sont décrites dans le Tableau 27, ainsi que les noms et le nombre de portées attribués aux différents lots. Les lots témoins ont également été inoculés, mais avec une souche non pathogène (BM21) afin de placer les animaux dans des conditions expérimentales analogues.

Tableau 27 Identification des lots, séquences d'inoculations réalisées et nombre de portées de l'étude 3

NOM DU LOT	SEQUENCE INOCULATION		NOMBRE DE PORTEES INITIAL
	J28	J42	
S21-T	BM21	BM21	3
S35-T	BM21	BM21	3
S21-I28	E22	-	5
S35-I28	E22	-	5
S21-I42	BM21	E22	4
S35-I42	BM21	E22	4

S21 : sevrage à 21 jours, S35 : sevrage à 35 jours, E22 : souche EPEC pathogène, BM21 : souche non pathogène, T : témoin, I28 : inoculation avec la souche E22 pathogène à 28 jours, I42 : inoculation avec la souche E22 pathogène à 42 jours.

Les lots S21-I42 et S35-I42 ont été considérés comme témoins jusqu'à leur infection avec la souche d'*E. coli* entéropathogène, soit jusqu'à 42 jours.

II. B. ANIMAUX, LOGEMENT ET ALIMENTATION

II. B. 1. Animaux et logement

Cette étude a été réalisée sur 24 portées de lapines de souche PS Hyplus 19, inséminées avec la semence de mâles PS Hyplus 39 (Groupe Grimaud) de rangs de lactation s'échelonnant de 1 à 3. Les animaux ont été logés dans une salle unique, dans des cages à métabolisme

permettant la collecte de fèces. Les portées ont été égalisées à 9 ou 10 lapereaux à la mise-bas. Un réajustement entre portées (adoptions) a été effectué jusqu'à 21 jours, de manière à égaliser l'ensemble des portées à 9 lapereaux à 21 jours. Les lapines n'ont pas été réinséminées. A partir de 14 jours, les lapines ont été séparées de leurs lapereaux (placées dans des cages à métabolisme individuelles) afin de permettre la distribution d'un aliment spécifique aux lapereaux. Un allaitement contrôlé a été réalisé chaque matin jusqu'à 21 jours dans les lots S21, et jusqu'à 35 jours dans les lots S35.

A 35 jours, les portées des lots I42 et T ont été séparées dans 2 cages pour des raisons de densité. Le lapereau le plus léger a été éliminé et les 8 lapereaux restants ont été séparés dans 2 cages à métabolisme collectives (les rangs de poids 1, 3, 5 et 7 dans une cage, et les rangs 2, 4, 6 et 8 dans une autre cage). Etant donné les forts taux de mortalité classiquement observés dès 4 jours suivant l'inoculation avec une souche EPEC du sérotype O103, il n'avait pas été initialement prévu de séparer les portées des lots I28. Cependant, en raison d'une évolution lente de la mortalité dans certaines cages, nous avons dû procéder à une séparation en 2 pour quelques portées (si plus de 5 lapereaux dans la cage). En alternant les rangs de poids, une partie des lapereaux a été placée dans les cages individuelles à métabolisme.

II.B.2. Alimentation

Les femelles ont reçu *ad libitum* un aliment commercial pour femelles reproductrices (Rablo[®] maternité). La composition de l'aliment distribué à volonté aux lapereaux figure dans le Tableau 28. Il est de composition analogue à celui distribué aux lapereaux des études 1 et 2.

Tableau 28 Ingrédients et composition chimique de l'aliment distribué aux lapereaux dans l'étude 3

Ingrédients (g.kg ⁻¹)		Composition chimique (% du brut)	
Pulpes de betteraves	130	Matière sèche	91,9
Luzerne 17 LP	250	Cendres brutes	8,1
Tourteau de soja 48 brésil	50	Protéines brutes	17,3
Blé 11,2 % de MAT	110	NDF	34,3
Graines de soja extrudées	40	ADF	18,7
Tourteau de tournesol 30/25	138	ADL	4,9
Son fin de blé	200	Amidon	9,1
Sucre	50	Matières grasses	2,1
Huile de tournesol	10	Energie brute (kcal.kg ⁻¹)	3994
Minéraux et vitamines	22		

* 6 g.kg⁻¹ de sel, 5 g.kg⁻¹ de carbonate de calcium, 1 g.kg⁻¹ de DL-méthionine, 5 g.kg⁻¹ de premix (1,5 × 10⁶ UI.kg⁻¹ de vitamine A, 2 × 10⁵ UI.kg⁻¹ de vitamine D3, 3000 mg.kg⁻¹ de vitamine E, 200 mg.kg⁻¹ de vitamine B1, 50 mg.kg⁻¹ de vitamine K3), 5 g.kg⁻¹ de AL132[®] (13200 mg.kg⁻¹ de robénidine)

II.C. INOCULATIONS EXPERIMENTALES

II.C.1. Description des souches bactériennes

Deux souches d'*E. coli* ont été utilisées dans cette expérimentation : BM21 et E22 dont les caractéristiques sont résumées dans le Tableau 29.

Tableau 29 Souches bactériennes utilisées dans l'étude 3

SOUCHE	DESCRIPTION	PATHOGENICITE	REFERENCES
BM21	O?:K12, pas de plasmide, résistante à l'acide nalidixique	Non pathogène	<i>Reynaud et al., 1991; Boullier et al., 2003a</i>
E22	REPEC O103:K-:H2, rhamnose -, AF/R2 positive	Diarrhée sévère, déshydratation, perte de poids, mortalité importante	<i>Camguilhem et al., 1989; Milon et al., 1990; Boullier et al., 2003a</i>

II.C.2. Préparation de l'inoculum

Deux jours avant l'inoculation, un milieu de culture contenant du rhamnose (gélose Phenol red agar base dehydrated) a étéensemencé avec la souche désirée puis placé 24 heures à l'étuve. Une colonie a ensuite été prélevée, puis placée 18 heures dans un bouillon de culture LB (Luria broth base) à 37°C. D'après les données de croissance exponentielle des bactéries, il est estimé qu'après 18 heures de mise en culture, une concentration de 10^9 bactéries par mL est obtenue. Des dilutions successives dans du sérum physiologique ont permis d'obtenir une solution de bactéries à la concentration souhaitée de 10^4 bactéries par mL.

II.C.3. Inoculations

Les inoculations ont consisté en l'administration *per os*, au moyen d'une seringue et d'une canule, de 1 à 2 mL de la solution contenant les bactéries (Photo 3). A 28 jours, les inoculations avec la souche d'*E. coli* E22 ont été réalisées environ 3 heures après l'allaitement (dans le cas des portées sevrées à 35 jours) afin de placer les lapereaux des portées allaitées dans des conditions physiologiques similaires (conditions du milieu stomacal, stade de digestion...).



Photo 3 Inoculation d'un lapereau

II.D. SUIVI SANITAIRE

II.D.1. Examens cliniques

De la mise-bas au jour de l'inoculation, un examen clinique bi-hebdomadaire a été effectué sur les lapereaux et les lapines. A partir de 28 jours, ces observations ont été effectuées quotidiennement.

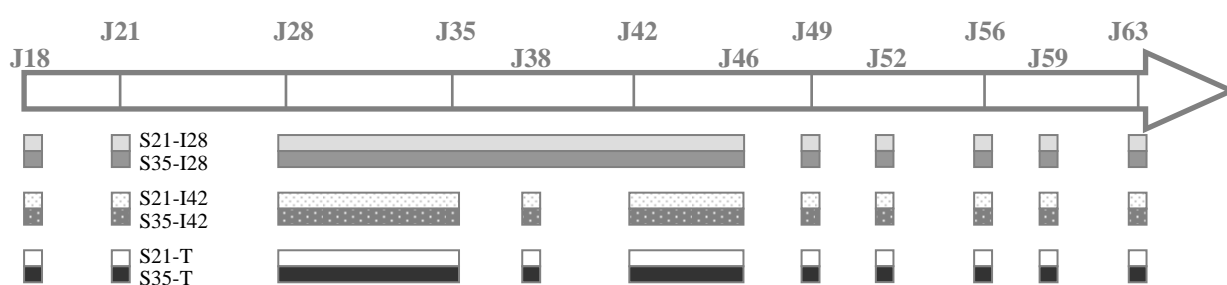
II.D.2. Autopsies

La mortalité a été contrôlée au minimum deux fois par jour. Des euthanasies (anesthésie à l'Imalgène®1000 en intramusculaire suivie d'une injection intracardiaque de T61®) ont été pratiquées sur les animaux à l'agonie afin d'abrégier leurs souffrances. Sur tout animal mort, une autopsie a été réalisée afin de décrire les lésions macroscopiques. Du contenu cæcal était alors prélevé pour effectuer une analyse bactériologique (cf. page 171). La combinaison de l'examen nécropsique et de l'analyse bactériologique a permis d'identifier les animaux morts de colibacillose.

II.E. EVALUATION DES PERFORMANCES

La Figure 50 reprend la séquence des mesures d'ingestion collective et de pesées individuelles des lapereaux en fonction des lots.

Figure 50 Chronologie des mesures effectuées dans l'étude 3



Dans le cas de mortalité d'un lapereau, la quantité d'aliment ingérée a été mesurée afin d'ajuster la mesure de l'ingestion au nombre de lapereaux présents dans la cage.

II.F. SUIVIS BACTERIOLOGIQUES ET SEROLOGIQUES

II.F.1. Bactériologies cæcales et fécales

° Prélèvements

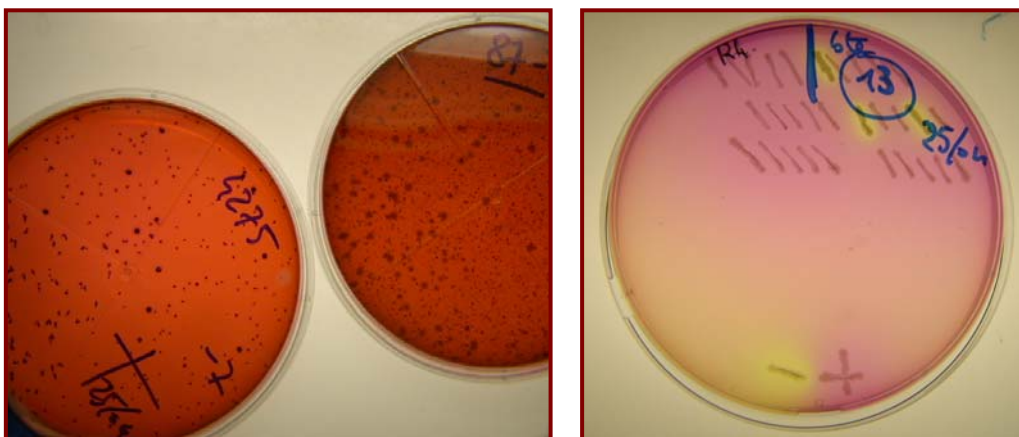
La veille du jour du prélèvement de fèces pour les analyses bactériologiques, des grilles de collecte ont été placées sous les cages. Environ 10 grammes ont été prélevés deux fois par semaine dans les lots inoculés avec la souche E22, et une fois par semaine dans les autres lots. Du contenu cæcal des animaux morts a été collecté systématiquement afin de réaliser l'analyse bactériologique.

A 63 jours, les contenus cæcaux des animaux survivants et infectés par la souche d'*E. coli* pathogène ont été prélevés afin de réaliser une analyse bactériologique individuelle.

° Analyses bactériologiques

Les fèces ont été diluées au $1/10^{\text{ème}}$ dans du sérum physiologique (4 g dans 36 mL jusqu'à la séparation en 2 des portées, puis 2 g dans 18 mL). A partir de cette dilution à 10^{-1} , 3 dilutions à 10^{-3} , 10^{-5} et 10^{-7} ont été réalisées en prélevant successivement 90 μL de la dilution précédente auxquels ont été ajoutés 9 mL de sérum physiologique. Un milieu EMB-D (gélose Eosine-Bleu de Méthylène) a ensuite été ensemencé avec 1 mL de ces différentes dilutions puis mis à l'étuve à 37°C durant 24 heures. Un comptage des colonies a alors été réalisé. Les colonies de colibacilles sont de couleur bleu sombre et en forme de fuseau lorsqu'elles se situent dans l'épaisseur de la gélose, ou en rond lorsqu'elles affleurent à la surface (Photo 4).

Photo 4 Colonies d'*E. coli* sur milieu EMB (photo de gauche), et colonies d'*E. coli* rhamnose \oplus et rhamnose \ominus sur milieu rhamnose (photo de droite)



Dix colonies ont ensuite été repiquées sur un milieu contenant du rhamnose (gélose Phenol red agar base dehydrated) puis placées 24 heures à l'étuve à 37°C . Si les colonies

dégradent le rhamnose, la gélose passe alors de la couleur rose à la couleur jaune : les colonies sont considérées rhamnose \oplus . Si la couleur de la gélose demeure inchangée, les colonies sont alors rhamnose \ominus et correspondent très probablement à la souche E22 (Photo 4).

En cas de doute (caractéristiques morphologiques des colonies douteuses, colonies rhamnose \ominus identifiées chez les témoins...), un test d'agglutination avec un sérum contenant des anticorps anti-LPS O103 a été effectué (Camguilhem *et al.*, 1986). Si les bactéries appartiennent au sérotype O103, des petits amas blancs visibles à l'œil nu se forment alors (Photo 5).

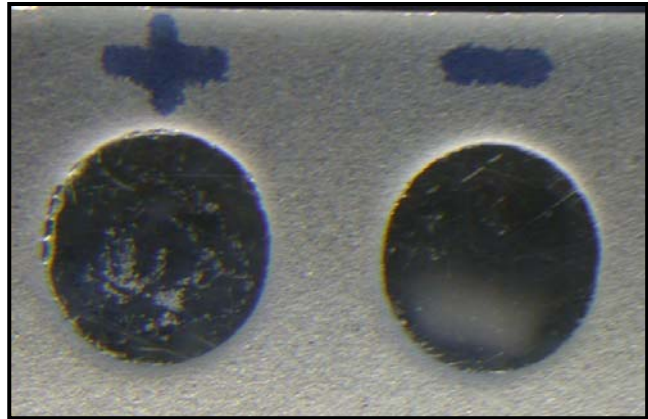


Photo 5 Agglutinations positive (gauche) et négative (droite) anti-LPS O103

Les contenus cœcaux des animaux morts ont été analysés de la même manière excepté pour la première étape de dilution : le contenu étant en général très liquide, 2 mL ont été dilués dans 18 mL de sérum physiologique.

II.F.2. Sérologies

° Prélèvements

Le prélèvement de sang sur les lapines a été effectué sur tube sec à l'artère auriculaire centrale. Etant données les difficultés de réalisation de cette technique de prélèvement chez le jeune (grand nombre d'individus, diamètre et débit sanguin de l'artère faibles), une technique dite "du buvard" a été utilisée pour les lapereaux. Elle consiste en l'imprégnation du sang par un papier buvard après ponction de l'artère auriculaire, puis séchage à l'air libre (Photo 6).



Photo 6 Prise de sang sur un lapereau avec la technique du "buvard"

° Analyses sérologiques

Les buvards ont été poinçonnés avec une perforieuse, puis les rondelles mises à éluer dans un tampon TBS Tween20 à 0,05% pendant une nuit à 4°C (1 rondelle pour 100 µL). L'exsudat ainsi obtenu a été soumis à un test ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Les antigènes LPS O103 dilués au 1/1000^{ème} dans du tampon Carb-Bicarb (pH=9,6) sont adsorbés sur une plaque ELISA (Sigma) pendant 24 heures. Les puits sont alors lavés (cycle de 3 lavages avec du tampon TBS Tween20 à 0,05% avec l'appareil Dynatech MRW), et le seront de la même façon à chaque étape. Les récepteurs non spécifiques éventuellement présents sont bloqués par un tampon Régilait à 5% / BSA à 1% pendant 30 minutes à 37°C. Puis les échantillons à tester (100 µL par puit) sont mis au contact des antigènes. Les anticorps sont ensuite révélés en plusieurs étapes. Des anticorps de chèvre anti-IgA de lapin (Sigma, réf. R9380) sont déposés dans les puits 30 minutes à 37°C : ils se fixent sur la partie constante des IgA de lapin. Puis des anticorps de lapin anti-IgG de chèvre couplés à l'enzyme phosphatase alcaline (Sigma, réf. A2168) sont placés dans les puits. Le substrat de cette enzyme, le p-nitrophénylphosphate (pastilles Sigma 104 dans un tampon diéthanolamine), est alors ajouté au milieu. Le produit de dégradation, de coloration jaune, est dosé par spectrophotométrie. Les résultats, semi-quantitatifs, sont exprimés en densité optique (DO).

Les analyses bactériologiques et sérologiques ont été réalisées à l'UMR ENVT-INRA 1225 Interactions Hôtes-Agents Pathogènes.

II.G. ANALYSE DES DONNEES

La mortalité a été analysée par l'expression du taux de survie : pourcentage d'animaux vivants par rapport à l'effectif de départ à un âge déterminé. A chaque âge, une note 0 ou 1, selon que l'animal était mort ou vivant, respectivement, a été attribuée à chaque lapereau. Ces données, considérées comme des variables de Bernoulli, ont été étudiées par une analyse de variance à un facteur (*International Rabbit Reproduction Group, 2005*) : effet de l'âge au sevrage sur la mortalité par colibacillose (procédure GLM, SAS (1999)).

Les performances des animaux ont été analysées avec la procédure GLM (SAS, 1999) dans un modèle prenant en compte l'effet de l'âge au sevrage, l'effet de la souche d'*E. coli* inoculée et l'interaction de ces deux effets. Le test de comparaisons multiples de Scheffé a été utilisé afin de comparer les moyennes. Pour ce qui concerne les données individuelles (croissance), un modèle en split-plot prenant en compte l'effet portée a été utilisé : ainsi, les effets précédemment cités ont été testés par rapport à la variabilité résiduelle entre portées.

Les données de comptages colibacillaires ont été exprimées en log décimal, et les moyennes et écart-types calculés sur cette base. L'excrétion de *E. coli* rhamnose \ominus a été calculée pour un lot en % de colonies formant unité (CFU) d'*E. coli* sur milieu rhamnose (nombre de colonies rhamnose \ominus * CFU sur milieu EMB / nombre de coloniesensemencées sur milieu rhamnose). Pour chaque âge de prélèvement, une analyse de variance a été réalisée afin de tester l'effet de l'âge au sevrage sur le niveau de l'excrétion colibacillaire des lapereaux infectés à 28 jours (procédure GLM, SAS (1999)).

III. DEROULEMENT GENERAL DE L'EXPERIMENTATION

III.A. VERIFICATIONS EXPERIMENTALES

Les sérologies des lapines 10 jours avant la mise-bas se sont avérées négatives vis-à-vis du LPS O103, témoignant très probablement de leur non-contamination antérieure par un *E. coli* du séro groupe O103. Les concentrations des inoculums utilisés au cours de cette étude figurent dans le Tableau 30.

Tableau 30 Concentrations des inoculums bactériens utilisés dans l'étude 3

	BM21	E22
J28	10^4	10^4
J42	3.10^4	6.10^3

Déterminées par ensemencement d'un milieu EMB le jour des inoculations expérimentales.

III.B. CONTAMINATION DES TEMOINS

Lors du contrôle bactériologique effectué à 36 jours, des *E. coli* O103 rhamnose négatifs ont été isolés sur une cage I42. L'hypothèse initiale d'une erreur ou d'une contamination de l'échantillon après le prélèvement a été infirmée lors du contrôle bactériologique suivant. A 42 jours, 11 autres cages T et I42 excrétaient le colibacille pathogène. La décision a alors été prise d'euthanasier les lapereaux des cages contaminées, y compris ceux issus des cages I42, donc inoculés 2 jours avant l'obtention des résultats de bactériologie. Il a tout de même été jugé intéressant de poursuivre l'étude sur les cages I42 indemnes ou présentant une faible excrétion de *E. coli* E22 à 42 jours ($<10^6$ CFU.g⁻¹ de fèces). A partir de ce jour, les contrôles bactériologiques sur les témoins ont été réalisés deux fois par semaine, afin de suivre l'évolution de la contamination. Malgré les mesures d'élimination des lapereaux des cages contaminées, la propagation du *E. coli* O103 dans les cages témoins s'est poursuivie. A 49 jours, seules 4 cages se sont avérées non infectées dans le lot T (sur 12 au départ) : 3 dans le lot S21 et 1 dans le lot S35. Il a tout de même été décidé de poursuivre l'étude jusqu'à 63 jours. Malgré ces contaminations, les données des lapereaux inoculés à 28 jours sont exploitables.

Pour ce qui concerne les lapereaux infectés à 42 jours, seule l'analyse du taux de survie sera présentée.

IV. RESULTATS : LES LAPEREAUX ALLAITES SONT PROTEGES CONTRE LA COLIBACILLOSE MAIS N'ELIMINENT PAS L'AGENT PATHOGENE

IV.A. SYMPTOMES ET LESIONS DE LA COLIBACILLOSE

Les symptômes observés au cours de cette étude ont été : prostration, perte de poids, anorexie, déshydratation, diarrhée importante.

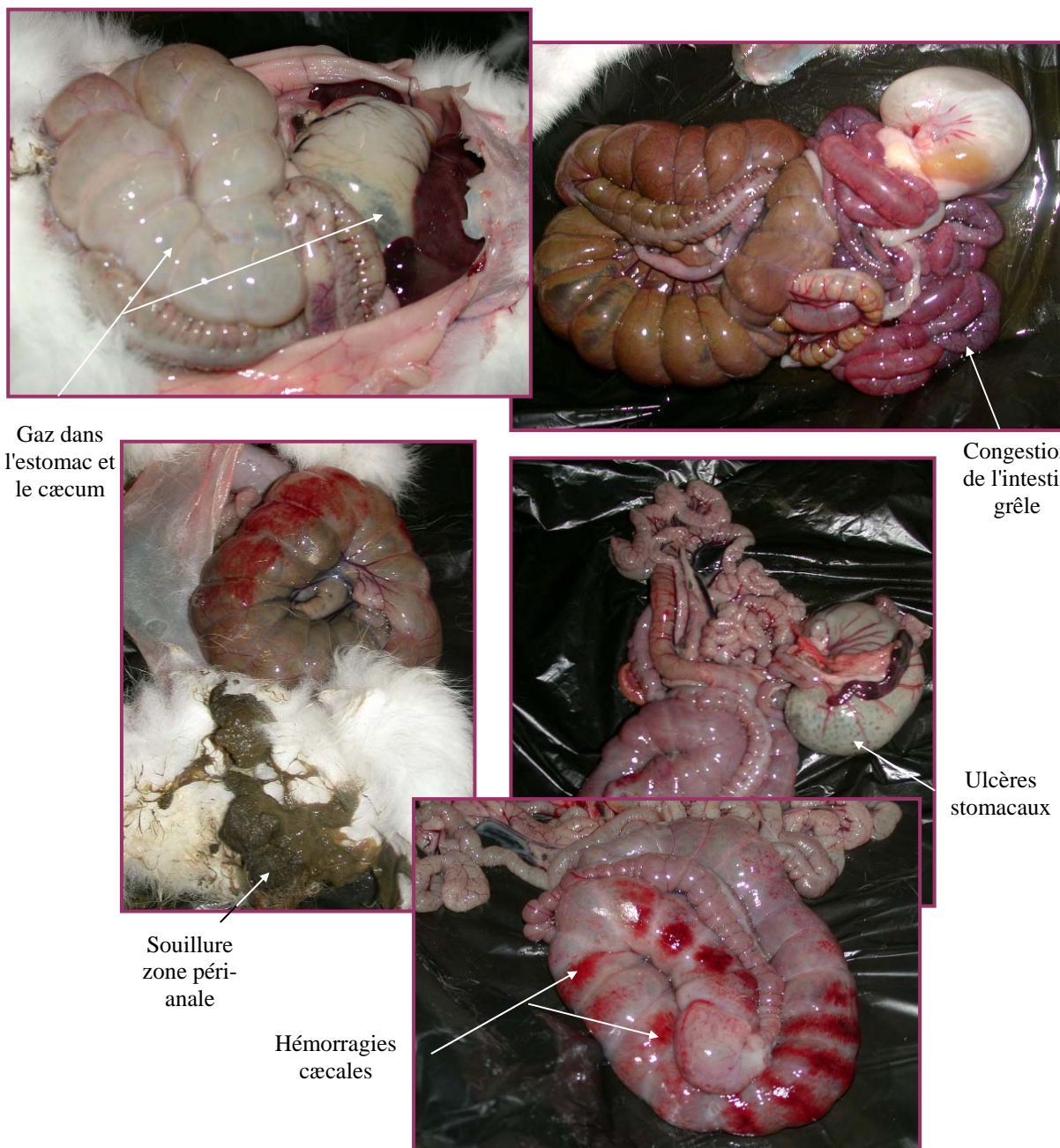
A l'examen extérieur du cadavre, un amaigrissement et une souillure de la zone péri-anale ont été retrouvées de façon quasi-constante. Les principales lésions observées au cours de l'autopsie sont illustrées par la Photo 7 et ont été recensées dans le Tableau 31.

Tableau 31 Principales lésions observées au cours des autopsies de lapereaux morts de colibacillose

ESTOMAC	INTESTIN GRELE	CÆCUM	COLON
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Peu ou pas de contenu ou contenu liquide avec présence de gaz ▪ Petits ulcères hémorragiques ▪ Paroi amincie voire perforation stomacale 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ PEU OU PAS DE CONTENU ▪ Congestion 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ CONTENU LIQUIDE et présence de GAZ ▪ CONGESTION et parfois hémorragies ▪ Paroi amincie 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ CONTENU LIQUIDE ▪ Congestion

LESIONS TRES FREQUENTES

Photo 7 Principales lésions observées au cours des autopsies de lapereaux morts de colibacillose



IV.B. ANALYSES DE MORBIDITE ET DE MORTALITE

Les données de mortalité ont été exploitées pour les deux stades d'inoculation. Cependant, pour les animaux I42, les cages excréant des *E. coli* O103 à 42 jours, même faiblement, ont été éliminées de l'analyse : seules ont été prises en compte 4 cages (sur 8) dans le lot S21, et 5 cages (sur 8) dans le lot S35. Les données de morbidité, exprimées en pourcentage des animaux vivants, n'ont pas été exploitées pour les animaux I42 en raison de l'effectif réduit.

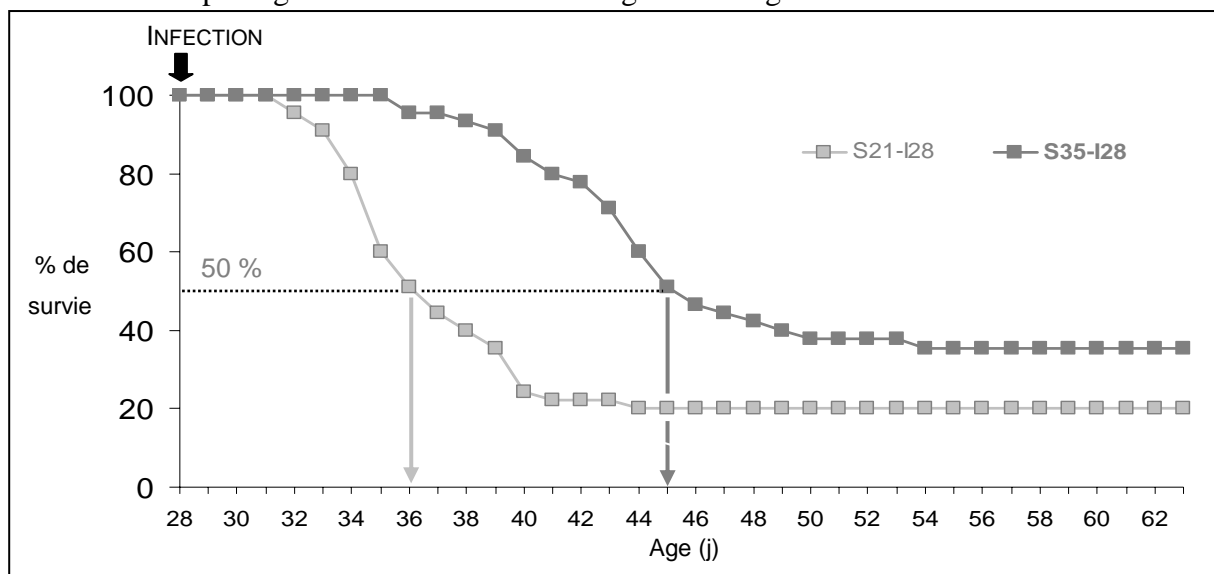
IV.B.1. Evolution de la mortalité et de la morbidité des lapereaux infectés à 28 jours

° Mortalité

La Figure 51 exprime le pourcentage de survie des lapereaux infectés à 28 jours en fonction de l'âge au sevrage. Ce pourcentage a été calculé pour la mortalité par colibacillose (autopsies et analyses bactériologiques concordantes). L'effectif de départ dans chaque lot était de 45 lapereaux. Le colibacille de souche E22 ne serait pas responsable de la mort de 6 lapereaux : 1 lapereau dans le lot S21 et 5 lapereaux dans le lot S35.

L'observation des courbes montre une évolution décalée selon l'âge au sevrage. Ainsi, à 36 jours, 50% des lapereaux S21-I28 étaient morts alors que seuls les deux premiers morts étaient constatés dans le lot S35-I28. Ce seuil de 50% a ainsi été atteint à 45 jours pour les lapereaux S35-I28, soit 9 jours plus tard. A partir de 44 jours, la mortalité des lapereaux S21-I28 n'a plus évolué, tandis que des mortalités de lapereaux S35-I28 ont été observées jusqu'à 54 jours. A 63 jours, 20% et 35,6% des lapereaux survivaient dans les lots S21-I28 et S35-I28, respectivement. Cette différence n'est cependant pas significative ($P=0,102$).

Figure 51 Courbe de survie à la colibacillose des lapereaux infectés à 28 jours par la souche d'*E. coli* entéropathogène E22 en fonction de l'âge au sevrage



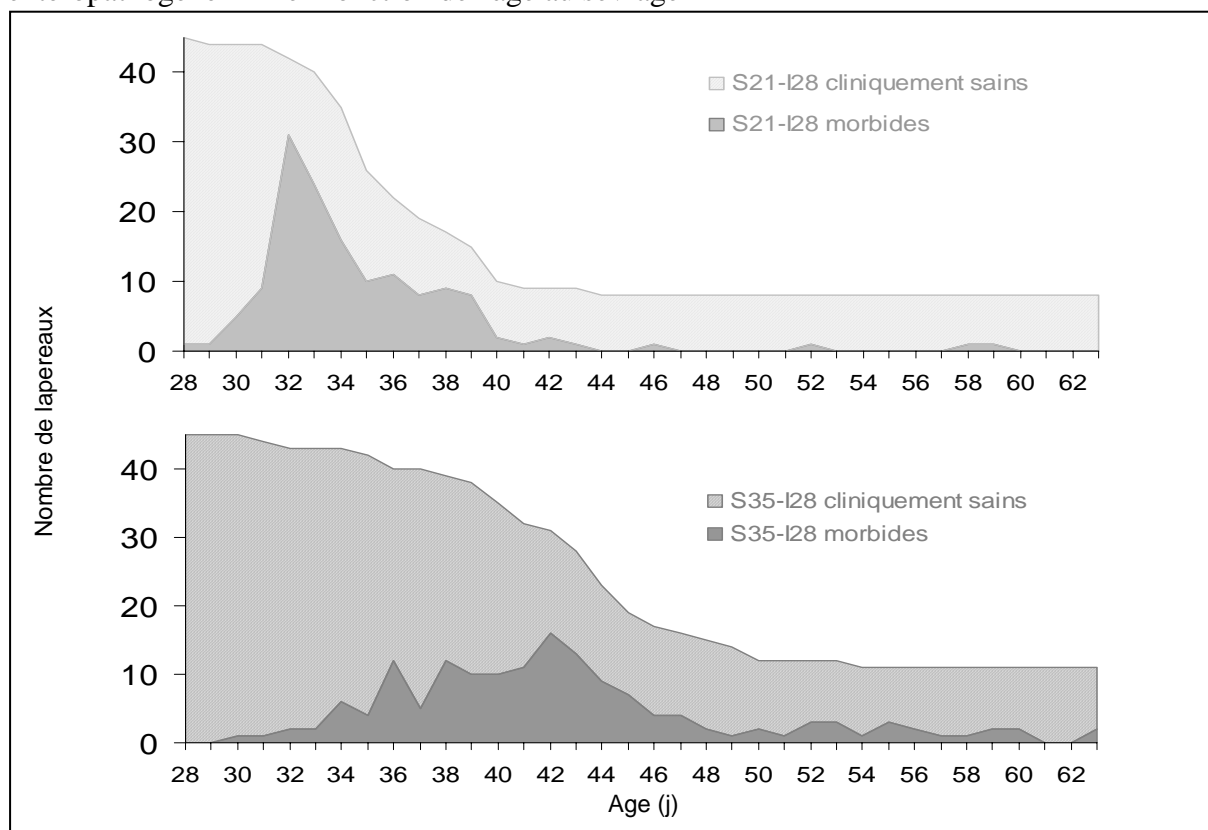
De plus, l'évolution a été plus brutale pour les animaux sevrés à 21 jours : le taux de mortalité final par colibacillose a été atteint en 12 jours dans ce groupe, tandis que la période de mortalité s'est étendue sur 18 jours pour les lapereaux S35-I28. Ainsi, de 33 à 49 jours, le pourcentage de survie à la colibacillose des lapereaux S35-I28 était supérieur à celui des lapereaux S21-I28 ($P<0,05$).

◦ Morbidité

Ce même décalage en fonction de l'âge au sevrage a été observé pour la morbidité (Figure 52). Le pic de morbidité pour les lapereaux S21-I28 s'est situé à 32 jours (près de 74% d'animaux morbides) alors qu'il a été observé à 42 jours pour les lapereaux S35-I28 (près de 52% d'animaux morbides). Comme pour la mortalité, l'évolution a été plus brutale pour les lapereaux S21-I28 que pour les lapereaux S35-I28. Des taux de morbidité supérieurs à 25% ont été observés de manière constante sur une période unique de 32 à 39 jours dans le lot S21-I28. Pour le lot S35-I28, des taux de morbidité supérieurs à 25% ont été enregistrés de manière discontinue au cours de la période comprise entre 36 et 55 jours.

Tous les lapereaux sans exception ont présenté des symptômes de diarrhée au moins à un contrôle sanitaire (100% de morbidité pour la période d'étude).

Figure 52 Evolution de la morbidité des lapereaux infectés à 28 jours par la souche d'*E. coli* entéropathogène E22 en fonction de l'âge au sevrage

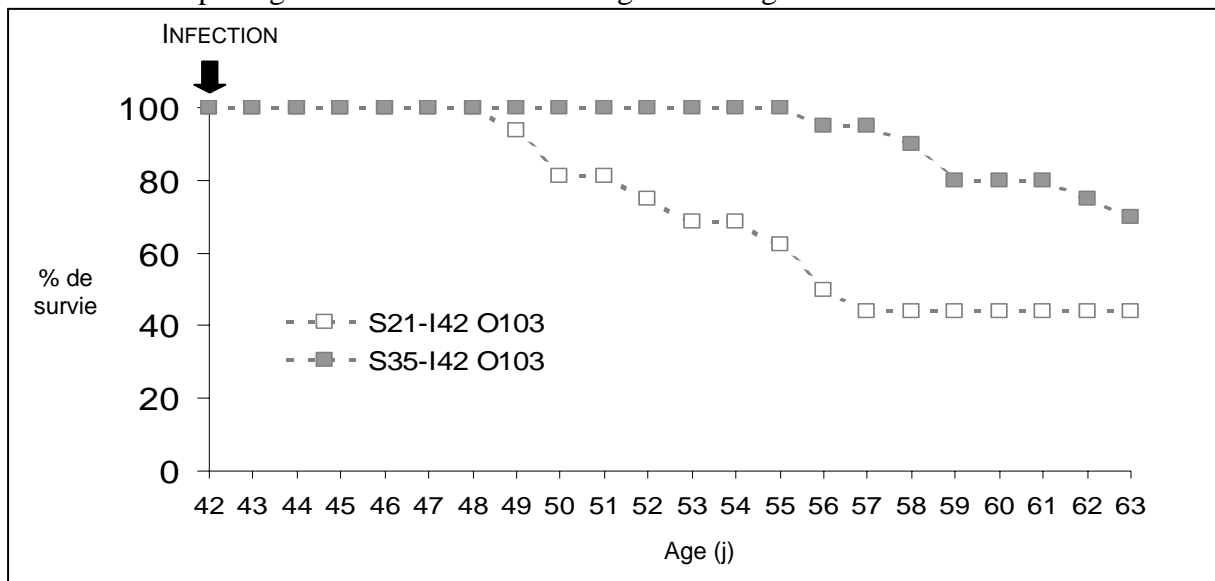


IV.B.2. Evolution de la mortalité des lapereaux infectés à 42 jours

La Figure 53 représente la courbe de survie des lapereaux inoculés à 42 jours en fonction de leur âge au sevrage. A 42 jours, 20 et 16 lapereaux non contaminés ont été considérés pour les analyses de mortalité dans les lots S35-I42 et S21-I42, respectivement. Seul un lapereau

S35-I42 n'est pas mort de colibacillose. L'observation des courbes montre une évolution décalée entre les lots S21-I42 et S35-I42. Ainsi, à 52 jours, 25% des lapereaux S21-I42 étaient morts alors que ce taux a été atteint à 62 jours pour les lapereaux S35-I42. De plus, à 57 jours la maladie sous sa forme létale semblait stabilisée pour les lapereaux S21-I42, tandis que ce plateau ne paraissait pas atteint à 63 jours pour les lapereaux S35-I42. A 63 jours, 56% des lapereaux S21-I42 et 30% des lapereaux S35-I42 étaient morts de colibacillose.

Figure 53 Courbe de survie à la colibacillose des lapereaux infectés à 42 jours par la souche d'*E. coli* entéropathogène E22 en fonction de l'âge au sevrage



IV.C. PERFORMANCES DE CROISSANCE ET D'INGESTION

Concernant les lots T et I42, seules les données de poids et d'ingestion jusqu'à 42 jours ont été exploitées du fait de l'élimination d'un grand nombre de cages contaminées, puis de la séparation en deux lots à 42 jours : cages témoins et cages inoculées à 42 jours. Ces données ont été regroupées sous la dénomination du lot témoin T. De plus, n'ont pas été prises en compte dans l'analyse de ces lots : 1) les données des animaux malades, 2) les données des animaux des cages contaminées (à partir du dernier contrôle bactériologique de fèces négatif).

IV.C.1. Evolution du poids et des vitesses de croissance

° Evolution du poids des lapereaux

D'après le Tableau 32, les différents lots avaient des poids homogènes à 21 et 28 jours. Dès 31 jours et jusqu'à 42 jours, un effet de la souche d'*E. coli* inoculée a été mis en évidence. Les animaux I28 étaient plus légers que leurs témoins. L'effet de l'âge au sevrage n'a été

significatif qu'à 35 et 38 jours : les lapereaux S21 présentaient un poids inférieur de 9% en moyenne à celui des lapereaux S35 ($P<0,01$).

Tableau 32 Evolution du poids vif des lapereaux en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'âge au sevrage

	Poids en g				CVr, %	Valeurs de <i>P</i>		
	Souche inoculée		Age au sevrage			Souche inoculée	Age au sevrage	Interaction
	I28	T	S21	S35				
J21	337 (90)	345 (126)	343 (108)	340 (108)	12	NS	NS	NS
J28	537 (89)	560 (125)	550 (107)	551 (107)	12	NS	NS	NS
J31	619 (88)	687 (121)	635 (106)	683 (103)	12	*	NS	NS
J35	733 (68)	866 (119)	776 (86)	854 (101)	13	***	**	NS
J38	841 (56)	1090 (65)	923 (50)	1011 (71)	15	***	**	NS
J42	944 (40)	1294 (50)	1153 (32)	1131 (58)	14	***	NS	NS

I28 : souche E22 inoculée à 28 jours, T : souche BM21 inoculée à 28 jours; Moyennes arithmétiques; CVr : coefficient de variation résiduelle; NS $P>0,10$, * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.

◦ Evolution de la croissance des lapereaux

Mais lorsque l'on s'intéresse aux données de gains moyens quotidiens (Tableau 33), des interactions entre la souche d'*E. coli* inoculée et l'âge au sevrage ont été mises en évidence : l'effet de l'infection était dépendant de l'âge au sevrage pour la période comprise entre 28 et 35 jours.

Tableau 33 Evolution du gain moyen quotidien des lapereaux en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'âge au sevrage

	Gain Moyen Quotidien en g.j ⁻¹				CVr, %	Valeurs de <i>P</i>		
	I28		T			Souche inoculée	Age au sevrage	Interaction
	S21	S35	S21	S35				
J21-J28	30,6 ^a (44)	26,5 ^a (45)	28,8 ^a (63)	32,7 ^a (62)	18	NS	NS	†
J28-J31	10,6 ^a (43)	43,2 ^b (44)	40,2 ^b (62)	45,3 ^b (58)	33	***	***	***
J31-J35	7,0 ^a (26)	35,6 ^b (42)	41,2 ^b (59)	47,0 ^b (59)	39	***	**	*
J35-J38	0,3 ^a (17)	34,4 ^{ab} (39)	60,9 ^{bc} (33)	74,1 ^c (32)	49	***	**	NS
J38-J42	23,8 ^{ab} (9)	5,0 ^a (31)	51,8 ^b (23)	52,9 ^b (27)	72	***	NS	NS

Les moyennes sans lettre en commun sur une même ligne sont différentes ($P<0,05$); Moyennes arithmétiques; (n) : effectif; CVr : coefficient de variation résiduelle; NS $P>0,10$, † $P<0,10$, * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.

La croissance des lapereaux S21-I28 a été beaucoup plus affectée que celle des lapereaux S35-I28 de 28 à 38 jours : de 74 à 100% inférieure à leur témoin S21-T ($P<0,01$). La croissance des lapereaux S35-I28 n'a été ralentie qu'à partir de 31 jours : de 24% entre 31 et 35 jours (non significatif), puis de 54% entre 35 et 38 jours ($P<0,01$). En revanche, entre 38 et 42 jours, la croissance des lapereaux S35-I28 était très affectée (-91% comparativement au lot S35-T, $P<0,001$) alors que celle des S21-I28 commençait à se rétablir (-54% comparativement au lot S21-T, non significatif).

Cependant, l'interprétation de l'évolution des courbes de poids absolus ou des gains moyens quotidiens s'avère difficile (cachexie des lapereaux malades conduisant à une augmentation du poids moyen des survivants lorsque les animaux morbides meurent). En effet, le nombre de données pour chaque âge a varié très vite en lien avec la mortalité des lapereaux. De plus, le gain moyen quotidien est une variable très liée au poids des lapereaux. En rapportant le gain de poids des lapereaux à leur poids au début de la période étudiée (gain de poids relatif), les capacités de croissance des lapereaux ont ainsi été estimées de manière plus précise.

Ainsi, le Tableau 34 présente le gain de poids relatif des lapereaux par période. Les interactions significatives entre 28 et 38 jours soulignent le fait que l'effet de la souche inoculée à 28 jours sur l'évolution de la croissance relative journalière a été dépendant de l'âge au sevrage des lapereaux. Ainsi, à partir de 28 jours les capacités de croissance des lapereaux S21-I28 ont diminué fortement puis ont de nouveau augmenté à partir de 38 jours. De 35 à 38 jours, ces lapereaux ont perdu du poids en moyenne. Les lapereaux S35-I28 ont présenté une croissance moindre que leurs témoins à partir de 35 jours. De 38 à 42 jours, ils ne gagnaient que 0,6 g par 100 g de poids vif par jour.

Tableau 34 Evolution de la croissance relative journalière des lapereaux en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'âge au sevrage

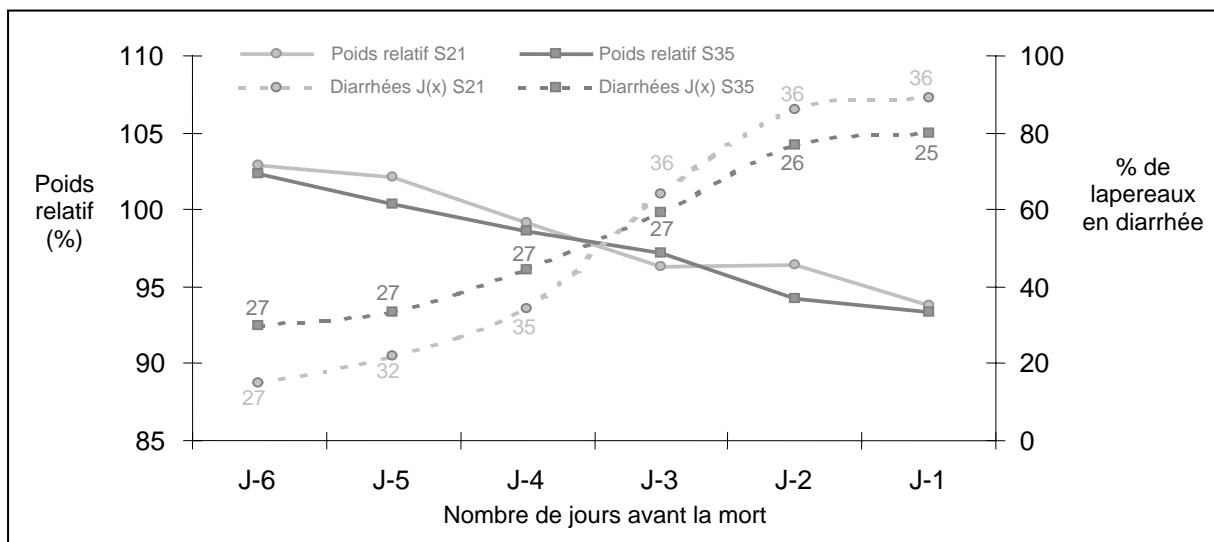
	Croissance relative journalière en %				CVr, %	Valeurs de <i>P</i>		
	I28		T			Souche inoculée	Age au sevrage	Interaction
	S21	S35	S21	S35				
J21-J28	9,1 ^a	7,9 ^a	8,4 ^a	9,6 ^a	18	NS	NS	†
J28-J31	2,0 ^a	8,3 ^b	7,4 ^b	8,0 ^b	34	***	***	***
J31-J35	1,3 ^a	5,5 ^b	6,2 ^b	6,8 ^b	39	**	**	*
J35-J38	-0,2 ^a	4,0 ^{ab}	7,1 ^{bc}	8,2 ^c	55	***	**	†
J38-J42	2,9 ^{ab}	0,6 ^a	5,0 ^b	4,7 ^b	85	***	NS	NS

Croissance relative journalière = gain moyen quotidien sur la période*100/poids en début de période; Moyennes arithmétiques; Les moyennes sans lettre en commun sur une même ligne sont différentes ($P<0,05$); CVr : coefficient de variation résiduelle; NS $P>0,10$, † $P<0,10$, * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.

- ° Relation perte de poids et évolution de la colibacillose

La Figure 54 montre l'évolution du poids des lapereaux, ainsi que le pourcentage de lapereaux en diarrhée, selon le nombre de jours avant leur mort par colibacillose. Les évolutions des courbes de poids et de morbidité ont été similaires entre les deux lots d'animaux, bien que les animaux S35-I28 ont été touchés plus tard par la colibacillose. Ainsi, la croissance des lapereaux était stoppée 4 jours avant leur mort, et plus de 50% des lapereaux étaient en diarrhée 3 jours avant de mourir. Seuls 15% à 20% des lapereaux ne présentaient pas de symptômes de "diarrhée apparente" la veille de leur mort.

Figure 54 Evolution du poids vif relatif des lapereaux et du pourcentage d'animaux présentant des signes cliniques de diarrhée selon le nombre de jours avant leur mort par colibacillose



Poids relatif = Poids J(x)*100 / Poids J(x-1); effectifs mentionnés sur la figure.

IV.C.2. Evolution de l'ingestion d'aliment

Entre 21 et 28 jours, la consommation d'aliment des lapereaux S21 était supérieure à celle des lapereaux S35 ($\times 2,2$, $P < 0,001$) ainsi qu'entre 28 et 31 jours (+48% en moyenne) (Tableau 35). Mais au cours de cette dernière période, la consommation des lapereaux infectés par la souche entéropathogène d'*E. coli* était inférieure de 28% à celle des lapereaux non infectés ($P < 0,01$).

Entre 31 et 35 jours, les lapereaux S21-I28 ont ingéré 2,9 fois moins d'aliment granulé que les lapereaux S21-T ($P < 0,001$), alors que l'ingestion des lapereaux S35-I28 n'était pas significativement différente de celle des lapereaux S35-T (Tableau 35). A partir de 35 jours, l'ingestion des lapereaux S35-I28 est devenue nettement inférieure (-39% et -53% de 35 à 38 jours et de 38 à 42 jours, respectivement, $P < 0,001$) à celle des lapereaux S35-T.

Tableau 35 Evolution de l'ingestion d'aliment par les lapereaux en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'âge au sevrage

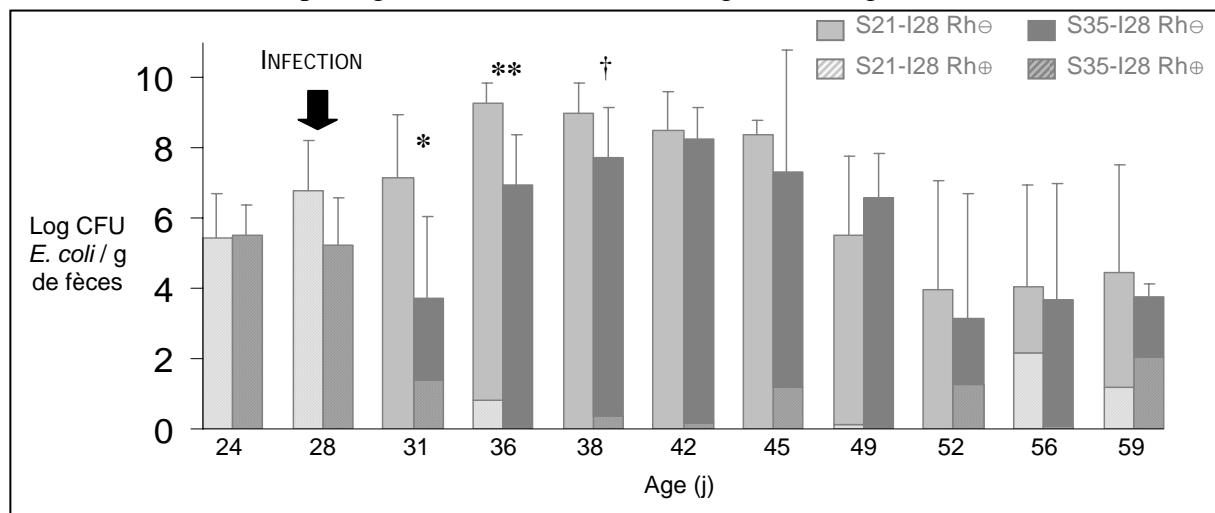
	Ingestion en g.j ⁻¹ /lapereau				CVr, %	Valeurs de P		
	I28		T			Inoculation	Age au sevrage	Interaction
	S21	S35	S21	S35				
J14-J21	1,0 ^a (5)	0,4 ^a (5)	0,6 ^a (7)	0,6 ^a (7)	61	NS	†	†
J21-J28	27,4 ^a (5)	8,7 ^b (5)	25,3 ^a (7)	14,1 ^b (6)	26	NS	***	†
J28-J31	41,6 ^a (5)	31,0 ^a (5)	59,7 ^b (7)	38,9 ^a (6)	20	**	***	NS
J31-J35	24,4 ^a (5)	40,2 ^b (5)	70,5 ^c (7)	53,8 ^b (6)	16	***	NS	***
J35-J38	38,1 ^a (7)	55,9 ^a (10)	92,5 ^b (9)	91,8 ^b (8)	23	***	NS	NS
J38-J42	52,9 ^a (4)	48,4 ^a (10)	102,6 ^b (6)	102,7 ^b (7)	22	***	NS	NS

Les moyennes sans lettre en commun sur une même ligne sont significativement différentes ($P < 0,05$); Moyennes arithmétiques; (n) : effectif; CVr : coefficient de variation résiduelle; NS $P > 0,10$, † $P < 0,10$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

IV.D. EVOLUTION DE L'EXCRETION COLIBACILLAIRE FECALE

La Figure 55 décrit l'évolution de l'excrétion colibacillaire des lapereaux infectés à 28 jours par la souche pathogène d'*E. coli* en fonction de leur âge au sevrage.

Figure 55 Evolution de l'excrétion colibacillaire des lapereaux infectés à 28 jours par la souche d'*E. coli* entéropathogène E22 en fonction de l'âge au sevrage



Moyennes arithmétiques ± ET; Rh : rhamnose; Effet de l'âge au sevrage mentionné si $P < 0,10$: † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$.

A 24 et 28 jours, aucune différence n'a été notée. A 31 et 36 jours, l'excrétion colibacillaire totale a été plus importante pour les lapereaux S21-I28 que pour les lapereaux S35-I28 ($P < 0,05$) et tendait également à être supérieure à 38 jours ($P = 0,053$). De plus, excepté à 36 jours, cette excrétion a été exclusivement constituée de colibacilles rhamnose \ominus dans le lot S21-I28. A partir de 42 jours, les excréments des 2 lots sont devenus semblables. En

observant l'allure générale du graphique, les augmentations d'excrétion de colibacilles totaux étaient décalées dans le temps : elle a été plus tardive pour les cages S35-I28. A partir de 45 jours, l'excrétion a décliné dans les deux lots. Entre 52 et 59 jours, la variabilité du niveau d'excrétion colibacillaire était très importante. Dans le lot S35-I28, cette variabilité peut s'expliquer par le fait que certaines cages n'excrétaient plus de colibacilles (J52 : 4 cages / 8, J56 et J59 : 3 cages / 8). Pour les cages S21-I28, cette variabilité pourrait s'expliquer en partie par le faible nombre de cages : en effet, à partir de 42 jours, les lapereaux survivants de ce groupe étaient répartis dans seulement 4 cages.

Environ la moitié des lapereaux étaient parvenus à éliminer le colibacille entéropathogène E22 à 63 jours (Tableau 36).

Tableau 36 Comptage colibacillaire cæcal à 63 jours des lapereaux infectés à 28 jours par la souche d'*E. coli* entéropathogène E22 en fonction de l'âge au sevrage des lapereaux

	S21-I28	S35-I28
Nombre d'animaux	8	11
Log CFU d' <i>E. coli</i> par g de contenu*	2,2 ± 2,4	3,4 ± 3,1
% de CFU rhamnose \ominus par rapport au nombre de coloniesensemencées	92	53
Nombre d'animaux n'excrétant pas de colibacilles	4	4
Nombre d'animaux n'excrétant pas d' <i>E. coli</i> O103	4	6

* Moyennes arithmétiques ± ET

IV.E. DEVELOPPEMENT DE LA REPOSE IMMUNITAIRE

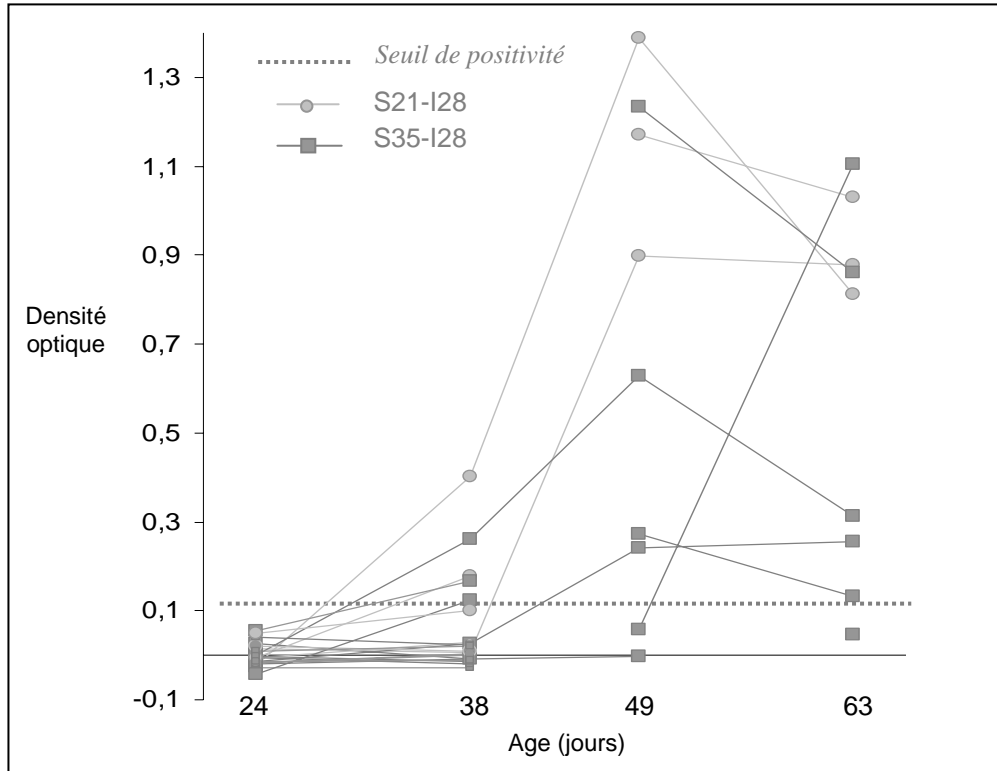
La Figure 56 montre l'évolution des sérologies individuelles des lapereaux en fonction de l'âge au sevrage.

Les données de densité optique obtenues sont semi-quantitatives. Aussi, les valeurs absolues et moyennes sont à interpréter avec prudence. Par ailleurs, du fait de prélever seulement 2 lapins par cage à partir de 38 jours et de l'évolution importante et brutale de la mortalité, peu d'animaux ont été suivis en cinétique. Aussi, seuls quelques buvards, choisis parmi des lapereaux pour lesquels au moins deux prélèvements avaient été réalisés, ont été analysés pour chaque âge et pour chaque lot. A défaut d'interprétation statistique possible de ces résultats, quelques informations pourront éventuellement guider les expérimentations ultérieures.

Le seuil de positivité a été calculé de la manière suivante : DO la plus élevée à 24 jours + 2 écarts-types des DO à 24 jours (*Seuil* = 0,104). A 38 jours, quelques lapereaux, minoritaires (5 sur 20), présentaient une séroconversion vis-à-vis du LPS O103, indépendamment *a priori* de l'âge au sevrage (2/6 pour les lapereaux S21-I28 et 3/14 pour les lapereaux S35-I28). En

revanche, à 49 et 63 jours, les survivants étaient presque tous séropositifs vis-à-vis du LPS O103 (3/3 lapereaux S21 et 5/6 lapereaux S35 à 63 jours).

Figure 56 Sérologies individuelles des lapereaux infectés à 28 jours par la souche d'*E. coli* entéropathogène E22 en fonction de l'âge au sevrage



V. DISCUSSION

V.A. DEROULEMENT GENERAL DE L'EXPERIMENTATION

La suppression des animaux issus des cages contaminées par la souche d'*E. coli* entéropathogène n'a pas suffi à enrayer l'extension de la contamination. Malgré des mesures prises afin de limiter la propagation du colibacille entéropathogène, de nombreux facteurs de risque se sont probablement combinés afin de permettre dans un premier temps la contamination des portées témoins, puis dans un deuxième temps la diffusion rapide de la souche pathogène entre les cages des lots témoins (Tableau 37).

Ainsi certains points non maîtrisés et d'autres non maîtrisables, car inhérents aux structures de l'élevage, ont concouru à la propagation de la contamination. De plus, la conception du protocole incluant 2 inoculations à 2 semaines d'intervalle a probablement

constitué une prise de risque importante : nombre de lots trop élevé, complexité de la mise en œuvre (changement de place des barrières sanitaires, changement de manipulateurs...).

Tableau 37 Explications plausibles de la propagation rapide de l'agent pathogène aux lapereaux témoins

	MESURES	FACTEURS DE RISQUE
Première contamination des témoins	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Séparation en 2 de la salle : manipulateurs différents affectés au côté témoin et au côté inoculé (ou intervention côté non infecté en premier) ▪ Lampes UV contre les insectes ▪ Pas de transfert de matériel du côté contaminé vers le côté témoin 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Souillure importante des grilles et cages ⇒ apparition de nombreux insectes <ul style="list-style-type: none"> ▪ Densité d'animaux importante ▪ Contamination par l'eau, le milieu (poils, poussières...) ▪ Durée importante de l'expérimentation
Diffusion de l'agent pathogène parmi les témoins	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Changements de gants, flambage des bacs de pesée entre chaque portée <ul style="list-style-type: none"> ▪ Elimination des portées contaminées ▪ Lampes UV contre les insectes 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Contamination du petit matériel (crayons, cahier de données) ▪ Manipulations très fréquentes des animaux <ul style="list-style-type: none"> ▪ Contamination par l'eau, le milieu (poils, poussières...), les insectes ▪ Délai entre excréation de la portée et résultat d'analyse bactériologique positif supérieur à 2 jours (jour de prélèvement + délai d'analyse)

Si d'autres expérimentations comprenant l'inoculation d'agents pathogènes doivent être conduites, des mesures supplémentaires devraient être mises en œuvre afin de limiter ces contaminations.

V.B. SENSIBILITE A LA COLIBACILLOSE EN FONCTION DE L'AGE AU SEVRAGE

Les résultats obtenus dans cette étude concernant la symptomatologie, le tableau lésionnel et les comptages bactériens lors d'une colibacillose sont similaires à ceux évoqués dans la littérature (*Peeters et al, 1984b*). La souche d'*E. coli* O103 utilisée dans cette étude présente un pouvoir pathogène extrêmement important, conduisant à 100% de morbidité et à plus de 60% de mortalité pour des animaux inoculés avec 10000 bactéries à 28 jours. Les symptômes classiquement observés sont une prostration, une dysorexie, une diarrhée importante accompagnée de déshydratation, puis souvent la mort de l'animal. A l'autopsie, le contenu cæcal est extrêmement liquide, parfois hémorragique, et une congestion intestinale, voire des hémorragies cæcales et coliques, sont souvent observées. Les lésions stomacales ne sont, en revanche, pas rapportées à notre connaissance dans la littérature.

V.C. LE LAIT DE LAPINE : UN ROLE FONDAMENTAL DANS LA RESISTANCE DES LAPEREAX A LA COLIBACILLOSE ?

Lors d'une inoculation à 28 jours, le décalage de l'évolution de la maladie entre les lapereaux sevrés depuis une semaine et les lapereaux allaités est net et suggère que la sensibilité à la colibacillose provoquée par l'inoculation d'une souche EPEC du sérotype O103 est davantage dépendante du sevrage que de l'âge des animaux. Cette constatation n'infirme pas pour autant l'existence d'une fenêtre d'âge où les lapereaux seraient plus sensibles à certaines souches de colibacilles.

L'évolution de la maladie chez les lapereaux sevrés à 35 jours semble retardée : les lapereaux allaités seraient protégés temporairement de la forme grave de la maladie. Nous pourrions considérer inversement que les lapereaux sevrés à 21 jours présentent une sensibilité accrue et développent précocement la maladie. Cependant, d'après la littérature, l'évolution de la maladie est rapide dans le cas d'une inoculation expérimentale avec une souche d'*E. coli* O103 entéropathogène réalisée entre 32 et 42 jours sur des lapereaux sevrés à un âge classique (entre 28 et 35 jours). Quelle que soit la dose inoculée, la mortalité s'échelonne sur une période de 3 à 14 jours post-infection (*Licois et al., 1982; Camguilhem et Milon, 1989; Boullier et al., 2003a*), ce qui correspond à l'évolution observée sur les lapereaux sevrés à 21 jours.

Aussi, l'hypothèse que les lapereaux sevrés à 35 jours présentent un profil de développement de la maladie atypique et que le lait maternel leur confère une protection temporaire à la colibacillose à O103 s'estompant rapidement après le sevrage est plus probable. Des études épidémiologiques chez l'homme montrent également que l'allaitement maternel est protecteur vis-à-vis des infections par des souches EPEC (*Blake et al., 1993*).

Les lapereaux allaités excrètent moins de colibacilles pathogènes que les lapereaux sevrés du même âge. En admettant que les comptages bactériens sur fèces reflètent la numération cæcale, ce résultat suggère que le moindre développement de la maladie chez les animaux encore allaités au cours de la période comprise entre 28 et 35 jours pourrait être lié, du moins en partie, à une inhibition partielle de la croissance des bactéries entéropathogènes. Une inhibition de la colonisation entérocytaire par les colibacilles n'est cependant pas à exclure, et les deux phénomènes pourraient parfaitement se combiner. La réalisation de prélèvements de muqueuse sur des lapereaux inoculés allaités aurait permis d'identifier si ce dernier mécanisme d'action était réel.

Les résultats préliminaires des inoculations à 42 jours souligneraient l'existence de ce même décalage dans l'évolution de la colibacillose en fonction de l'âge au sevrage des animaux. L'hypothèse de l'existence d'une flore commensale plus difficile à déstabiliser chez

des animaux sevrés tardivement pourrait être formulée. Cependant, ces observations mériteraient d'être confirmées.

V.D. SUBSTANCES BIOACTIVES DU LAIT ET MECANISMES D'ACTION POSSIBLES

Plusieurs mécanismes d'action (probablement combinés) aboutissant au non-développement transitoire de l'expression clinique de la colibacillose lors de l'allaitement peuvent être envisagés, dont :

- ✓ Un arrêt, ou du moins le ralentissement de la croissance des bactéries inoculées par un effet direct vis-à-vis de l'agent pathogène incriminé conduisant à sa lyse ou à un arrêt de sa croissance, et/ou un effet plus indirect avec création de conditions du milieu de vie défavorables à la croissance de la souche d'*E. coli* O103 inoculée (flore commensale, pH, substrats...).
- ✓ Une inhibition de l'adhésion aux cellules épithéliales des *E. coli* O103 : effet barrière de la flore commensale, masquage des sites de fixation des EPEC aux cellules de l'hôte, inactivation des systèmes de fixation de la bactérie aux cellules épithéliales
- ✓ Un effet modulateur des mécanismes impliqués dans la genèse de la diarrhée. Cependant, ces mécanismes sont encore méconnus pour les EPEC, mais plusieurs hypothèses sont émises : diarrhée par malabsorption occasionnée par la destruction des microvillosités entérocytaires, diarrhée sécrétoire par perturbation des échanges ioniques au niveau de la muqueuse digestive. L'augmentation de la perméabilité intestinale et la réponse inflammatoire constatées lors d'une infection à EPEC pourraient également être impliquées dans la genèse des troubles diarrhéiques (*Nataro et Kaper, 1998*).

De nombreuses substances du lait, spécifiques ou non, pourraient exercer de tels effets. Ainsi de nombreux composés antimicrobiens ont été décrits dans le lait maternel, et notamment les anticorps. Dans notre étude, la probabilité que les lapines aient pu avoir des anticorps spécifiquement dirigés contre différents effecteurs du pouvoir pathogène d'*E. coli* appartenant au sérotype O103 dans leur lait est minime : l'élevage n'a pas d'antécédents récents d'épisodes de colibacillose occasionnée par une souche d'*E. coli* O103, les lapines n'hébergeaient pas d'*E. coli* O103, et ne possédaient pas d'IgA anti-LPS O103 sériques au début de l'expérimentation. En revanche, l'hypothèse d'une protection croisée par des anticorps dirigés contre des effecteurs communs à différentes souches d'EPEC peut être envisagée. Cependant, les données disponibles concernant des challenges avec des souches hétérologues, ou les essais de vaccination contre différentes souches d'*E. coli* ne sont pas très en faveur de l'existence de protections croisées au sein du groupe des EPEC. Chez l'homme, une étude

montre que des volontaires, après un challenge initial avec une souche EPEC, ne sont pas protégés contre la colibacillose lorsqu'ils sont inoculés 27 jours plus tard avec une souche EPEC hétérologue (Donnenberg *et al.*, 1998). Cependant, les volontaires ne semblaient dans ce cas que partiellement protégés par une réinfection 70 jours après avec la souche homologe. Des auteurs évoquent chez le lapin l'existence de protection croisée entre certaines souches d'*E. coli* isolées en Belgique (Okerman *et al.*, 1988) : des lapereaux inoculés par voie orale avec une première souche, puis inoculés 25 à 30 jours après avec une souche de sérotype différent seraient protégés contre l'expression de la maladie (pas de symptômes et excrétion inexistante ou faible et transitoire). Cependant, cette étude a été menée sur très peu d'animaux et n'a, à notre connaissance, jamais été confirmée chez le lapin. Des essais de vaccination du lapin avec des souches hétérologues ont été menés, et n'ont pas été concluants. Ainsi la vaccination avec une souche C6 inactivée appartenant au sérotype O128 ayant en commun l'adhésine AF/R2 avec la souche B10 de sérotype O103 ne permet qu'une protection partielle des lapereaux lors d'un challenge avec cette même souche entérotoxigène d'*E. coli* O103 (Milon *et al.*, 1992). De même, une souche d'*E. coli* du sérotype O15 présentant une délétion d'un fragment du gène *eae* (intimine), ne confère pas de protection croisée vis-à-vis de colibacilles appartenant aux sérotypes O109 et O132 (Bohez *et al.*, 2004a). En revanche, une souche d'*E. coli* O132 déléetée d'un fragment du gène *Tir* a permis une protection convenable des lapereaux inoculés avec une souche de sérotype O15 entérotoxigène, mais la protection contre une souche d'*E. coli* O103 fut seulement partielle (Bohez *et al.*, 2004b). Par ailleurs, si l'implication des IgA du colostrum ou du lait dans l'inhibition d'adhésion des *E. coli* entérotoxigènes aux cellules épithéliales humaines a été montré *in vitro* (Cravioto *et al.*, 1991), ainsi que leur capacité à rompre les liaisons déjà existantes entre EPEC et bordure en brosse entérocytaire chez le lapin (Boedecker *et al.*, 1987), leur rôle dans l'inhibition de la croissance bactérienne est incertain.

De nombreuses substances lactées non spécifiques auraient des propriétés antimicrobiennes. La xanthine-oxydoréductase est un constituant majeur de la membrane des globules gras du lait. Cette enzyme complexe peut aboutir à la formation de peroxy-nitrite, à activité antimicrobienne (Martin *et al.*, 2004). La lactopéroxydase est une enzyme naturelle, dont la fonction primaire est de catalyser l'oxydation de certaines molécules, en présence du peroxyde d'hydrogène et de thiocyanate, et de générer des produits réactifs à large activité antimicrobienne, tel l'hypothiocyanate (Shin *et al.*, 2001). Le lysozyme est une enzyme hydrolysant les liaisons β_{1-4} entre l'acide N-acétylmuramique et les résidus 2-acétylamino-2-déoxy-D-glucose du peptidoglycane des parois des bactéries gram \oplus (Priyadarshini *et Kansal*, 2002). La lactoferrine est une glycoprotéine dont l'activité antibactérienne serait

due à sa capacité à se lier au lipopolysaccharide des gram-, à la partie N-terminale de la paroi bactérienne, ou en captant le fer et le rendant indisponible pour la flore (Van der Strate et al., 2001). La lactoferricine est un peptide cationique, libéré après clivage protéolytique (pepsine) de la partie N-terminale de la lactoferrine. Celui-ci, identique dans sa structure primaire à son précurseur dans la lactoferrine native, s'en distingue par sa conformation, potentiellement à l'origine de son activité antimicrobienne plus intense (Farnaud et al., 2004). D'autres protéines ou dérivés peptidiques du lait, tels que l'haptocorrine (Adkins et Lönnerdal, 2003), les peptides issus de la digestion des caséines (Lahov et Regelson, 1996; Baranyi et al., 2003) ou des β -défensines (Jia et al., 2001) possèderaient également une activité antimicrobienne. Ces derniers pourraient inhiber la croissance de nombreuses bactéries dont *E. coli* (Recio et Visser, 1999; Jia et al., 2001; Baranyi et al., 2003). Concernant les lipides, certains acides gras et monoglycérides seraient bactériostatiques. Parmi eux, les acides gras à chaînes moyennes (acides caprylique, caprique et laurique) seraient les plus actifs contre les bactéries (Cañas-Rodriguez et Smith, 1966; Isaacs et al., 1995; Marounek et al., 2002). Les monoglycérides semblent, par ailleurs, plus efficaces que leurs homologues non estérifiés (Kabara et al., 1972; Isaacs et al., 1995; Petschow et al., 1996). Les acides caprylique (C8:0) et caprique (C10:0), et principalement le premier cité, exerceraient une activité bactéricide et/ou bactériostatique vis-à-vis des coliformes (Cañas-Rodriguez et Smith, 1966; Sun et al., 2002; Marounek et al., 2003b).

Parmi ces substances non spécifiques, certaines seraient capables d'interférer plus spécifiquement avec l'expression du pouvoir pathogène de certains microorganismes. Les oligosaccharides fucosylés du lait de femme (Cravioto et al., 1991) pourraient inhiber *in vitro* l'adhésion localisée des EPEC à des cellules HEp-2. La lactoferrine du lait de femme serait également en mesure d'inhiber l'adhésion localisée des EPEC aux cellules HeLa (De Araújo et Giugliano, 2001), mais de plus interfèrerait avec le système sécrétoire de type III permettant aux EPEC l'attachement intime avec les entérocytes, en modulant la dégradation de l'EspB (Ochoa et al., 2003). Les acides gras à chaînes moyennes (de C6:0 à C10:0) seraient capables de diminuer le niveau de colonisation des cæca du poulet par *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis, ainsi que l'invasion *via* une suppression de l'expression du gène H1A (Van Immerseel et al., 2004).

Certaines substances du lait auraient également un rôle immunomodulateur (Kelly et Coutts, 2000), en favorisant la maturation du système immunitaire. A 28 jours, les lapereaux possèdent des structures immunitaires encore peu développées. Il est probable, que les lapereaux sevrés précocement aient eu un système de défense, spécifique ou non, incompetent pour lutter seuls contre l'introduction d'un agent pathogène à 28 jours. Les suivis sérologiques,

quantifiant la production d'IgA sériques, tentaient de répondre à ces interrogations. Cependant, des limites de connaissance et de techniques sont à considérer pour interpréter ces résultats. Aucune étude à l'heure actuelle n'a établi de corrélations entre la densité optique obtenue et la concentration réelle en IgA sériques (examen semi-quantitatif). De plus, aucune relation de proportionnalité entre IgA sériques et sécrétoires des différents sites mucosaux n'a encore été mise en évidence. Par ailleurs, ces anticorps dirigés contre le lipopolysaccharide témoignent d'une réponse immunitaire, mais n'ont probablement pas de rôle protecteur vis-à-vis de la colibacillose. Pour finir, le lien entre différents anticorps sériques dirigés contre divers marqueurs bactériens (intimine, adhésine, LPS) ne sont pas clairs. Malgré ces réserves et le fait que peu d'animaux ont été suivis en cinétique sérologique, la production d'IgA n'a pas semblé être liée à l'âge au sevrage des animaux. Ce résultat serait cependant à confirmer. Cette immunostimulation possible n'est peut-être pas le mode d'action le plus important à considérer en première intention et dans nos conditions expérimentales, car les lapereaux sevrés à 35 jours, donc ayant bénéficié plus tardivement des potentielles propriétés immunostimulatrices du lait maternel, ont tout de même été très sensibles à la colibacillose après leur sevrage.

Chez la femme, des propriétés anti-inflammatoires ont été attribuées à certains constituants du lait maternel, tels que l'IL10 et le TGF- β (*Kelly et Coutts, 2000*). Aussi, les lésions éventuellement occasionnées par les phénomènes inflammatoires pourraient être limitées chez les lapereaux allaités. Par ailleurs, différents facteurs de croissance tels que l'EGF et les IGF isolés dans le lait de différentes espèces animales, ainsi que diverses polyamines (putrescine, spermine, spermidine), pourraient contribuer à la restauration des épithéliums digestifs endommagés, par leurs effets stimulant la croissance et la différenciation cellulaires (*Odle et al., 1996; Löser, 2000*). Ces substances lactées pourraient donc également participer au contrôle du développement de la colibacillose chez les lapereaux allaités.

CHAPITRE 3 - LE STATUT NUTRITIONNEL DU LAPEREAU, VIA L'INCORPORATION DE TRIGLYCERIDES A CHAINES MOYENNES DANS L'ALIMENT DE PERI-SEVRAGE, REDUIT-IL SA SENSIBILITE A LA COLIBACILLOSE ?

I. OBJECTIFS ET CHOIX DU MODELE

I.A. OBJECTIFS

D'après les résultats obtenus au cours de l'étude 3, il apparaît que, à même âge, les lapereaux allaités sont moins sensibles à la colibacillose que les lapereaux sevrés. Par ailleurs, nous avons montré au cours des études 1 et 2 que les capacités digestives des lapereaux s'adaptent très précocement et rapidement à l'aliment solide. Il est donc peu probable que l'aliment solide en lui-même ait pu causer un déséquilibre du biotope digestif expliquant cette évolution différentielle de la colibacillose. De plus, cette moindre sensibilité des lapereaux allaités n'est que transitoire, et la colibacillose va se développer dès le sevrage de façon similaire à ce qui a été observé pour les lapereaux sevrés depuis une semaine au moment de l'inoculation. Cette évolution est toutefois plus progressive et un peu moins intense que celle observée pour les lapereaux sevrés précocement. Ces observations nous amènent à émettre l'hypothèse que le lait maternel joue un rôle important chez le jeune lapereau dans la lutte contre les infections digestives, du moins à EPEC.

De nombreuses substances lactées pourraient jouer un rôle dans la lutte contre les affections digestives chez le jeune et selon des mécanismes probablement très différents et complémentaires (*cf.* page 188). Les études réalisées *in vivo* sont rares et parfois discordantes. En effet, la physiologie de l'animal peut interagir avec les effets bénéfiques de certaines substances montrés *in vitro* : digestion des molécules (donc probable perte d'activité par inactivation), absorption (donc site d'action potentiel non atteint), concentration dans le site cible, interactions avec d'autres composants (antagonisme, synergie...), interactions avec le milieu (pH, température).

Par ailleurs, très peu d'études ont été effectuées chez le lapin. Nous avons donc choisi d'étudier *in vivo* les effets bénéfiques de substances lactées potentiellement antibactériennes sur la résistance des lapereaux à la colibacillose. Nous avons délibérément choisi de ne pas nous intéresser au rôle des facteurs spécifiques du lait, et notamment aux immunoglobulines. En effet, il est peu probable pour les raisons invoquées dans la précédente partie, qu'ils représentent, du moins dans nos conditions expérimentales, le mécanisme majeur de

protection vis-à-vis de l'expression de la colibacillose. Nous nous sommes donc intéressés dans cette dernière étude aux facteurs non spécifiques du lait, incorporables dans l'aliment destiné aux lapereaux, et pouvant éventuellement les soutenir dans la lutte contre les infections digestives.

I.B. CHOIX DU MODELE

I.B.1. Supplémentation alimentaire en acides gras à chaînes moyennes

La présence et les concentrations dans le lait de lapine de la plupart des substances à activité antimicrobienne sont relativement méconnues, notamment pour ce qui concerne les composés protéiques. Il semble cependant que le lait de lapine, tout comme celui du chien et du rat, est exempt de lactoferrine contrairement à la plupart des mammifères (*Masson et Heremans, 1971*). En revanche, la composition lipidique du lait de lapine est bien connue. Il est très riche en lipides (40 à 50% de la matière sèche). Ceux-ci sont à 98% constitués de triglycérides, dont la composition est dominée par certains acides gras à chaînes moyennes : les acides caprylique (C8:0) et caprique (C10:0) (*Smith et al., 1968; Demarne et al., 1978; Pascual et al., 1999a*). Ils représentent ainsi environ 65% des acides gras totaux (en % molaire), alors que pour la plupart des espèces ils sont beaucoup plus minoritaires : 5% chez la vache, 17% et 18% chez la brebis et la chèvre, et 2,5% chez l'homme (*Freeman et al., 1965*). Par ailleurs, ces acides gras sont retrouvés en faible quantité dans une ration alimentaire d'origine végétale où les acides gras à longues chaînes prédominent. Ils constituent donc une particularité alimentaire du lapereau allaité. Etant données les vertus bactériostatiques et/ou bactéricides qui ont été attribuées à ces acides gras à chaînes moyennes (*cf. page 188*), et leur forte représentation dans le lait de lapine, nous avons choisi d'étudier si leur incorporation (plus particulièrement en C8:0 et C10:0) dans la ration alimentaire permettait de réduire la sensibilité des lapereaux à une infection expérimentale d'*E. coli* E22 à 28 jours.

Nous avons fait le choix de distribuer ces acides gras à chaînes moyennes sous forme de triglycérides, plutôt que sous forme d'acides gras libres pour plusieurs raisons. Premièrement, il semble qu'une proportion importante de ces acides gras est digérée, voire absorbée, dès l'estomac (*Perret, 1980*). Or, il est primordial que ces acides gras ne soient pas digérés et absorbés trop rapidement pour qu'une part puisse parvenir aux différents sites d'action des *E. coli* entéropathogènes, notamment au niveau de l'iléon et du cæcum. Par ailleurs, les monoglycérides semblent exercer une activité antimicrobienne beaucoup plus intense que les acides gras libres correspondant (*Isaacs et al., 1995; Petschow et al., 1996*). En les distribuant sous forme de triglycérides, nous devrions permettre une absorption moins rapide de ces acides gras et la possibilité à leurs dérivés monoestérifiés de parvenir aux sites iléal et cæcal.

I.B.2. Age au sevrage

Dans cette étude, nous avons choisi de sevrer l'ensemble des lapereaux à 35 jours. Outre la diminution du nombre de lots expérimentaux, et donc du risque de contamination, cet âge au sevrage permet d'assurer un apport continu en TCM aux lapereaux. En effet, lors d'un sevrage à 21 jours, les lapereaux ingèrent peu d'aliment sec, donc peu de TCM, les 2 jours suivant leur sevrage. Même si un taux d'incorporation en TCM approprié dans l'aliment permet d'obtenir à 28 jours, au moment de l'inoculation, des niveaux d'ingestion de TCM comparables à ceux que l'on aurait en cas d'allaitement, il est difficile de prévoir les conséquences de cette moindre ingestion temporaire de TCM, notamment sur la microflore intestinale. Il nous semblait donc plus judicieux pour la compréhension des mécanismes de réaliser un sevrage à 35 jours et de maintenir après le sevrage un niveau d'ingestion de TCM équivalent à celui prodigué par l'allaitement.

II. MOYENS EXPERIMENTAUX

II.A. SCHEMA EXPERIMENTAL

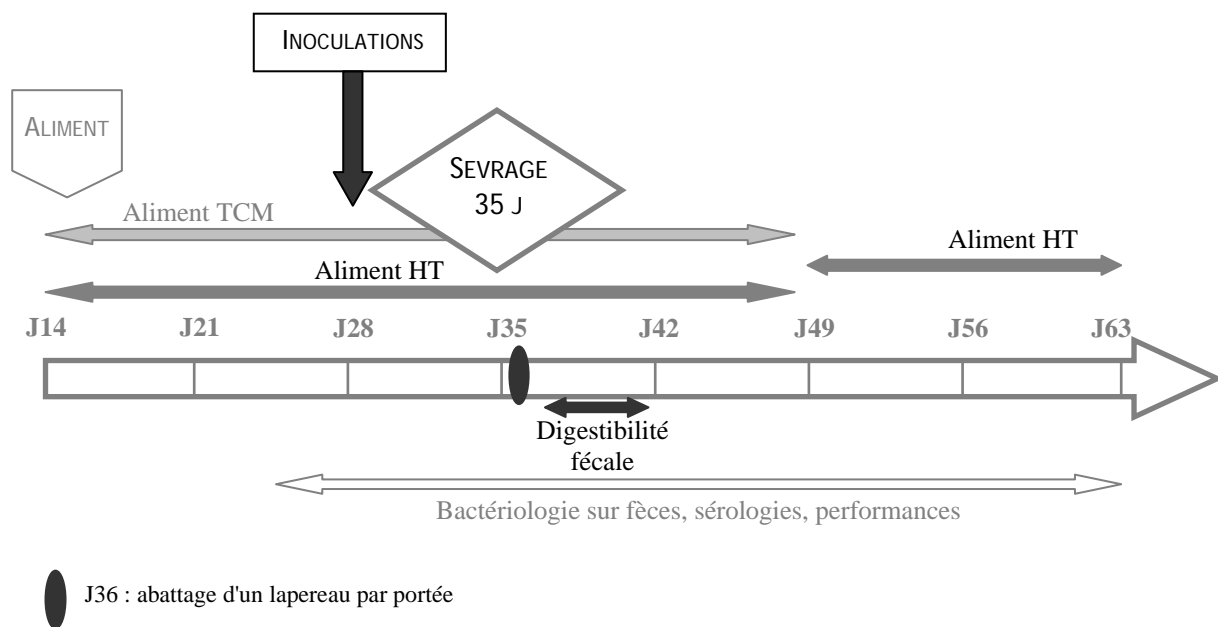
La sensibilité des lapereaux sevrés à 35 jours (dernier allaitement à 35 jours) à une infection expérimentale à 28 jours par la souche *E. coli* E22 (0103:K-:H2) a été évaluée. L'huile incorporée dans leur ration alimentaire était soit une huile de synthèse composée de triglycérides à chaînes moyennes (TCM), soit de l'huile de tournesol (HT). Les lapereaux ont été infectés par la souche E22 entéropathogène (I28) ou par la souche BM21 non pathogène (T) décrites dans l'étude 3 (*cf.* page 169). Quatre lots ont alors été constitués :

- o HT-T : huile de tournesol, inoculé avec la souche BM21 non pathogène à 28 jours
- o TCM-T : TCM, inoculé avec la souche BM21 non pathogène à 28 jours
- o HT-I28 : huile de tournesol, infecté avec la souche E22 pathogène à 28 jours
- o TCM-I28 : TCM, infecté avec la souche E22 pathogène à 28 jours

Cette étude a obtenu un avis favorable du comité régional d'éthique (Annexe 2). La sensibilité à la colibacillose des animaux a été évaluée par le suivi de la morbidité, de la mortalité, des poids et des niveaux d'ingestion d'aliment (Figure 57). L'excrétion colibacillaire et le statut immunitaire des lapereaux ont été étudiés : collecte de fèces 2 fois par semaine et prises de sang à 24, 38, 51 et 63 jours. Par ailleurs, afin de préciser le rôle éventuel du lait maternel dans l'évolution de la colibacillose, nous avons étudié la production laitière

individuelle des lapines de 28 à 35 jours. Pour déterminer les effets potentiels de l'incorporation de TCM dans l'aliment sur la physiologie digestive de l'hôte, la digestibilité fécale apparente des aliments par les lapereaux témoins a été déterminée entre 38 et 42 jours. Une attention particulière a été portée au devenir des acides gras ingérés dans le tractus digestif : un lapereau par portée a été sacrifié à 36 jours et des prélèvements de contenus stomacal et iléal ont été effectués pour déterminer les profils d'acides gras dans ces compartiments digestifs. Des prélèvements de contenus cœcaux ont également été effectués au cours de cet abattage afin d'évaluer les répercussions possibles de l'infection expérimentale et de l'ingestion de TCM sur les activités fermentaires de la flore cœcale (acides gras volatils, activités enzymatiques bactériennes, pH, flore colibacillaire).

Figure 57 Schéma expérimental de l'étude 4



II.B. ANIMAUX, LOGEMENT ET ALIMENTATION

II.B.1. Animaux et logement

Cette étude a été réalisée au printemps 2005 sur 32 portées réparties dans une salle unique munie de cages à métabolisme collectives et individuelles. Ces portées ont été également réparties dans les 4 lots (8 portées par lot) en fonction du poids des lapereaux et des lapines à 14 jours. Les lapines, toutes nullipares, de souche PS Hyplus 19 avaient été inséminées avec la semence de mâles de souche PS Hyplus 39 (Groupe Grimaud). A la mise bas, les portées ont été égalisées à 9 ou 10 lapereaux. En cas de mortalité, des réajustements entre portées ont été effectués au fur et à mesure (adoptions) afin de maintenir la taille de portée à 9 lapereaux

jusqu'à 28 jours. A partir de 14 jours, les lapines ont été séparées de leurs lapereaux et placées dans d'autres cages afin de permettre une alimentation séparée mère-lapereaux. Un allaitement contrôlé a donc été effectué chaque matin jusqu'à 35 jours. A 21 jours, les tailles de portées ont été ajustées à 9 lapereaux. A 36 jours, un lapereau par portée a été sacrifié. Ce lapereau a été choisi représentatif du poids moyen de la portée à 35 jours, et de plus cliniquement sain dans les portées T. Les 8 lapereaux restants ont été séparés dans 2 cages à 36 jours en fonction de leur poids à 35 jours : 5 lapereaux dans la cage d'origine (rangs de poids 1, 3, 5, 6 et 8) et 3 lapereaux placés dans la cage (rangs 2, 4, et 7) où se trouvait leur mère.

II.B.2. Alimentation

Les lapines ont reçu *ad libitum* un aliment commercial pour femelles reproductrices (Rablo[®] maternité).

Tableau 38 Ingrédients et composition chimique des aliments distribués aux lapereaux dans l'étude 4

Ingrédients (g.kg ⁻¹)	Composition chimique (% du brut)			
	HT	TCM		
Pulpes de betteraves [®]	130	Matière sèche	92,4	92,2
Luzerne 17 LP	250	Cendres brutes	7,8	7,8
Tourteau de soja 48 brésil	50	Protéines brutes	17,4	17,1
Blé 11,2 % de MAT	110	NDF	36,1	35,6
Graines de soja extrudées	40	ADF	19,0	18,6
Tourteau de tournesol 30/25	138	ADL	4,9	4,7
Son fin de blé	200	Amidon	9,2	9,5
Sucre	40	Matières grasses	4,4	4,4
Huile de tournesol	20	Energie brute (kcal.kg ⁻¹)	4161	4171
Huile TCM [†]	-	Acides Gras	4,8	5,2
Minéraux et vitamines*	22			

*6 g.kg⁻¹ de sel, 5 g.kg⁻¹ de carbonate de calcium, 1 g.kg⁻¹ de DL-méthionine, 5 g.kg⁻¹ de premix (1,5 × 10⁶ UI.kg⁻¹ de vitamine A, 2 × 10⁵ UI.kg⁻¹ de vitamine D3, 3000 mg.kg⁻¹ de vitamine E, 200 mg.kg⁻¹ de vitamine B1, 50 mg.kg⁻¹ de vitamine K3), 5 g.kg⁻¹ de AL132[®] (13200 mg.kg⁻¹ de robénidine); [†]Radia[®]7104 (Oléon France).

A partir de 14 jours, un aliment granulé comprenant 2% d'huile de tournesol ou 2% de triglycérides à chaînes moyennes a été distribué à volonté aux lapereaux. Les triglycérides à chaînes moyennes incorporés dans l'aliment TCM étaient une huile de synthèse (Radia[®]7104, Oléon France), obtenue après extraction de l'acide caprylique et de l'acide caprique des huiles de palmiste et/ou de coprah, puis estérification du glycérol. Ces triglycérides étaient composés à 55% de C8:0 et à 44% de C10:0 (en % pondéral).

Les compositions des 2 aliments sont présentées dans le Tableau 38. Un essai d'incorporation des TCM avait été effectué au préalable, afin de détecter d'éventuels

problèmes de fabrication et/ou d'ingestion par les lapereaux. Aucun problème technologique ou de refus de consommation n'avait alors été constaté.

A partir de 49 jours et jusqu'à la fin de l'expérimentation, les lapereaux ont reçu le même régime alimentaire, à savoir l'aliment HT.

II.C. INOCULATIONS EXPERIMENTALES

Les inoculations ont été réalisées à 28 jours selon le même protocole que celui défini dans l'étude 3 (*cf.* page 169). A 28 jours, les lapereaux T ont été inoculés avec $0,8 \times 10^4$ *E. coli* BM21 et les lapereaux I28 avec $2,8 \times 10^4$ *E. coli* E22 (concentrations déterminées par ensemencement d'un milieu EMB le jour des inoculations expérimentales).

II.D. SUIVI SANITAIRE

Dès la mise-bas, un contrôle de mortalité a été réalisé quotidiennement. A partir de 14 jours, un examen clinique des femelles et des lapereaux a été effectué 2 fois par semaine. Dès l'inoculation, les examens cliniques ont été réalisés quotidiennement et la mortalité suivie au moins 2 fois par jour.

II.E. EVALUATION DES PERFORMANCES

Dès 14 jours et jusqu'à la fin de l'expérimentation, la consommation d'aliment par les lapereaux et les lapines (jusqu'à 35 jours) a été mesurée 2 fois par semaine. Des pesées individuelles des lapereaux ont été réalisées ces mêmes jours, avant l'allaitement. Dans le cas de mortalité d'un lapereau, la quantité d'aliment ingérée était contrôlée afin d'ajuster les mesures au nombre de lapereaux présents dans la cage.

La consommation de lait des portées a été enregistrée 2 fois par semaine à partir de 14 jours, puis quotidiennement entre 28 et 35 jours. Celle-ci a été déterminée par pesée des lapines avant et après réalisation de l'allaitement.

II.F. MESURES, PRELEVEMENTS ET ANALYSES EFFECTUES

II.F.1. Bactériologies cœcales et fécales

Des prélèvements de fèces ont été effectués 2 fois par semaine afin de suivre l'excrétion colibacillaire des portées, et l'éventuelle contamination des portées témoins (analyses bactériologiques). De plus, des prélèvements du contenu cœcal ont été réalisés sur tout animal mort, de manière à relier l'examen lésionnel post-mortem au comptage colibacillaire cœcal.

Ces 2 éléments ont permis d'identifier les animaux morts de colibacillose. L'analyse bactériologique réalisée est détaillée dans le chapitre 2 de la partie expérimentale (cf. page 171).

II.F.2. Sérologies

Des prélèvements de sang sur buvard ont été effectués sur les lapereaux aux âges suivants : 24, 38, 51 et 63 jours. Les prises de sang ont été réalisées sur tous les animaux infectés, encore vivants le jour de prélèvement, et environ 4 lapereaux par portée T ont été prélevés au début de l'expérimentation afin d'obtenir au moins 2 représentants de chaque portée T en fin d'étude. Ceci nous a permis de suivre de nombreux animaux en cinétique, ce qui s'est avéré impossible dans l'étude précédente (chapitre 2) en raison des nombreux morts et de la sélection d'un pool de lapereaux à prélever en début d'expérimentation. La méthode utilisée pour la détection des anticorps anti-LPS O103 est détaillée dans le chapitre 2 du travail expérimental (cf. page 172).

Les prises de sang réalisées sur les lapines 10 jours avant la mise-bas ont révélé qu'elles étaient toutes séronégatives vis-à-vis du LPS O103.

II.F.3. Digestibilité fécale apparente des aliments

A 39, 40, 41 et 42 jours, les fèces fraîches de 16 cages à métabolisme (cages de 3 lapereaux) des lots témoins (T) ont été collectées afin de déterminer la digestibilité fécale apparente de la matière sèche, des protéines brutes, de l'énergie, des matières grasses et des fibres (analyse séquentielle de *Van Soest et al. (1991)*). Les méthodes décalée et de référence, décrites dans la première partie du travail expérimental, ont été appliquées pour l'évaluation de la digestibilité (cf. page 144).

II.F.4. Evaluation de différents paramètres physiologiques à 36 jours

Un lapereau par portée des différents lots a été sacrifié le soir (à partir de 18h) afin de maximiser la présence de contenus digestifs. Après anesthésie (Imalgène 1000[®] en intramusculaire), les lapereaux ont été euthanasiés (T61[®] en intracardiaque). Ces lapereaux étaient choisis représentatifs du poids moyen de leur portée dans les lots I28 et T, et cliniquement sains dans les lots T.

Le pH stomacal a été mesuré en 2 points : fundus et antrum. Son contenu, ainsi que celui de l'iléon (35 derniers cm de l'intestin grêle), ont été prélevés puis congelés à -20°C. Ils ont ensuite été lyophilisés puis conservés à -20°C jusqu'à l'analyse du profil des acides gras.

Le contenu du cæcum, après détermination du pH, a été prélevé afin de réaliser les dosages suivants : acides gras volatils, activités enzymatiques bactériennes (*cf.* chapitre 1 pour la description des méthodes, page 139). La concentration en ammoniacque a été déterminée, mais selon une technique différente de celle utilisée dans l'étude 1 : dosage colorimétrique (420 nm) du produit formé entre le réactif de Nessler et les ions NH_4^+ en milieu alcalin.

Les analyses bactériologiques ont été effectuées dans le contenu cæcal.

II.F.5. Analyse de la composition en acides gras des échantillons

La composition en acides gras des différents échantillons (lait, aliments, contenus de l'estomac et de l'iléon prélevés à 36 jours) a été déterminée selon la méthode développée par *Park et Goins (1994)* : méthode ISTE (*In Situ* TransEsterification). Celle-ci consiste en l'extraction et l'hydrolyse des lipides en acides gras, et la méthylation de ces derniers en une seule étape. Un étalon interne, le C19:0 est ajouté à une concentration connue (4 mg.mL^{-1} de dichlorométhane) aux échantillons lyophilisés (50 mg pour le lait, et 150 mg pour les aliments et contenus). La première hydrolyse-méthylation est basique (soude méthanolique à 0,5 M) et la seconde acide (acétyl chlorure méthanolique (1:10, v/v)). Chaque hydrolyse est réalisée à 90°C et dure 10 (aliment et contenus) ou 15 minutes (lait). Cette double méthylation permet l'estérification 1) des acides gras libres (impossible dans le cas d'une catalyse basique), et 2) des acides gras issus de lipides instables en milieu acide. Ces méthyls esters, solubilisés dans de l'hexane, sont ensuite analysés en chromatographie gazeuse (Dani GC 1000, Monza, Italie). La colonne utilisée est une colonne capillaire en silice fondue ($100 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm}$, film de $0,2 \mu\text{m}$ d'épaisseur, CP Sil 88, Chrompack-Varian, Middleburg, Pays-Bas). Le gaz porteur est l'hydrogène à une pression constante de 160kPa. Le détecteur de flamme à ionisation est maintenu à 260°C , et le ratio de séparation dans l'injecteur (255°C) est de 1/50 mL. Quatre paliers de température (cycle de 63 minutes) permettent une bonne séparation des isomères cis et trans du C18:1 sauf les isomères C18:1 t13 et t14 élués avec l'isomère C18:1 c9. De même, il y a coélution du C18:3 et du C20:1.

II.G. MESURES COMPLEMENTAIRES MISES EN ŒUVRE POUR LE CONTROLE DE LA CONTAMINATION DES TEMOINS

Les barrières installées entre les deux parties de la salle (T vs. I28) ont été doublées, de manière à proscrire tout contact (objet, manipulateurs) entre les animaux contaminés par la souche d'*E. coli* E22 et les témoins. De nombreux pièges à insectes ont été mis en place avant même l'inoculation des lapereaux (lampes UV, rubans adhésifs). Par ailleurs, du côté inoculé avec la souche d'*E. coli* entéropathogène, une fuite d'eau "contrôlée" a été organisée de

manière à assurer un écoulement permanent de l'eau depuis les témoins vers les lapereaux infectés.

III. LES TRIGLYCERIDES A CHAINES MOYENNES NE PROLONGENT PAS LA PROTECTION CONFEREE PAR LE LAIT MATERNEL LORS D'UN CHALLENGE AVEC UNE SOUCHE EPEC

III.A. DEROULEMENT GENERAL DE L'ETUDE ET ANALYSE DES DONNEES

Quelques contaminations de témoins ont été suspectées à 42 jours, puis infirmées par la suite. En effet, des colibacilles rhamnose-négatifs, et présentant une agglutination positive en présence d'anticorps anti-LPS O103 ont été isolés dans les fèces de six cages (4 TCM et 2HT). Les lapereaux de ces cages ont été éliminés dès le résultat d'analyse. Cependant, en raison du délai entre les prélèvements et les résultats des analyses, les fèces de ces lapereaux ont été prélevées à 45 jours et examinées. Or, aucun *E. coli* du sérotype O103 n'a été retrouvé. La contamination aurait donc eu lieu après le prélèvement des échantillons. Aucune autre contamination n'a été suspectée jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Les données de mortalité ont été exprimées en pourcentage de survie journalier. Cependant, l'effectif de lapereaux a varié au cours du temps. Pour l'ensemble des lots, un lapereau par portée a été sacrifié à 36 jours, soit 8 lapereaux par lot retirés du dénominateur. De plus, pour les lots T, les données des cages contaminées à 42 jours et euthanasiées n'ont pas été exploitées à partir du dernier contrôle bactériologique négatif (données de 16 lapereaux TCM-T et 6 lapereaux HT-T éliminées à partir de 38 jours). Aussi, les taux de mortalité finaux pour l'analyse statistique ont été corrigés, en faisant l'hypothèse que les lapereaux éliminés en cours d'étude (abattage ou contamination des témoins) auraient eu la même probabilité de mourir que les lapereaux appartenant au même lot. Ainsi, ces données ne pouvant être considérées comme des variables binaires suivant une loi de Bernoulli, elles n'ont pas pu être analysées selon la procédure GLM. Elles ont donc fait l'objet d'un test du χ^2 (procédure CATMOD, SAS (1999)).

L'influence du niveau de la production laitière des lapines entre 28 et 35 jours (3 classes) sur la mortalité par colibacillose des lapereaux I28 a été déterminée. Les données des animaux morts d'une étiologie autre que la colibacillose ou sacrifiés à 36 jours n'ont pas été prises en considération. A chaque âge, une note 0 ou 1, selon que l'animal était mort ou vivant, respectivement, a été attribuée à chaque lapereau. Ces données, considérées comme des variables de Bernoulli, ont été étudiées par une analyse de variance à un facteur (*International Rabbit Reproduction Group, 2005*) : effet de la production laitière sur la survie à la

colibacillose (procédure GLM, SAS (1999)), suivie du test de comparaisons multiples de Scheffé.

Les données de poids, de croissance, d'ingestion et d'excrétion colibacillaire ont été analysées avec la procédure GLM (SAS, 1999) prenant en compte l'effet de l'huile incorporée dans l'aliment, l'effet de la souche d'*E. coli* inoculée et l'interaction de ces deux effets. Les moyennes des 4 lots ont ensuite été comparées à l'aide du test de comparaisons multiples de Scheffé. Pour ce qui concerne les données individuelles des lapereaux (poids et croissance relative journalière), un modèle en split-plot prenant en compte l'effet portée a été utilisé : ainsi, les effets précédemment cités ont été testés par rapport à la variabilité résiduelle entre portées. Pour l'excrétion colibacillaire, l'effet de l'huile incorporée dans l'aliment a été testé pour chaque lot "souche d'*E. coli* inoculée" (T et I28) indépendamment (procédure GLM, SAS (1999)).

Les sérologies des lapereaux ont été analysées de la façon suivante : une note 1 a été attribuée au lapereau lorsqu'il présentait une sérologie positive, et une note 0 lorsque celle-ci était négative. Ces données, considérées comme des variables de Bernoulli (*International Rabbit Reproduction Group, 2005*), ont été étudiées par une analyse de variance à un facteur : effet de la nature de l'huile incorporée dans l'aliment (procédure GLM, SAS (1999)).

III.B. RESULTATS : SENSIBILITE A LA COLIBACILLOSE

III.B.1. Evolution de la mortalité

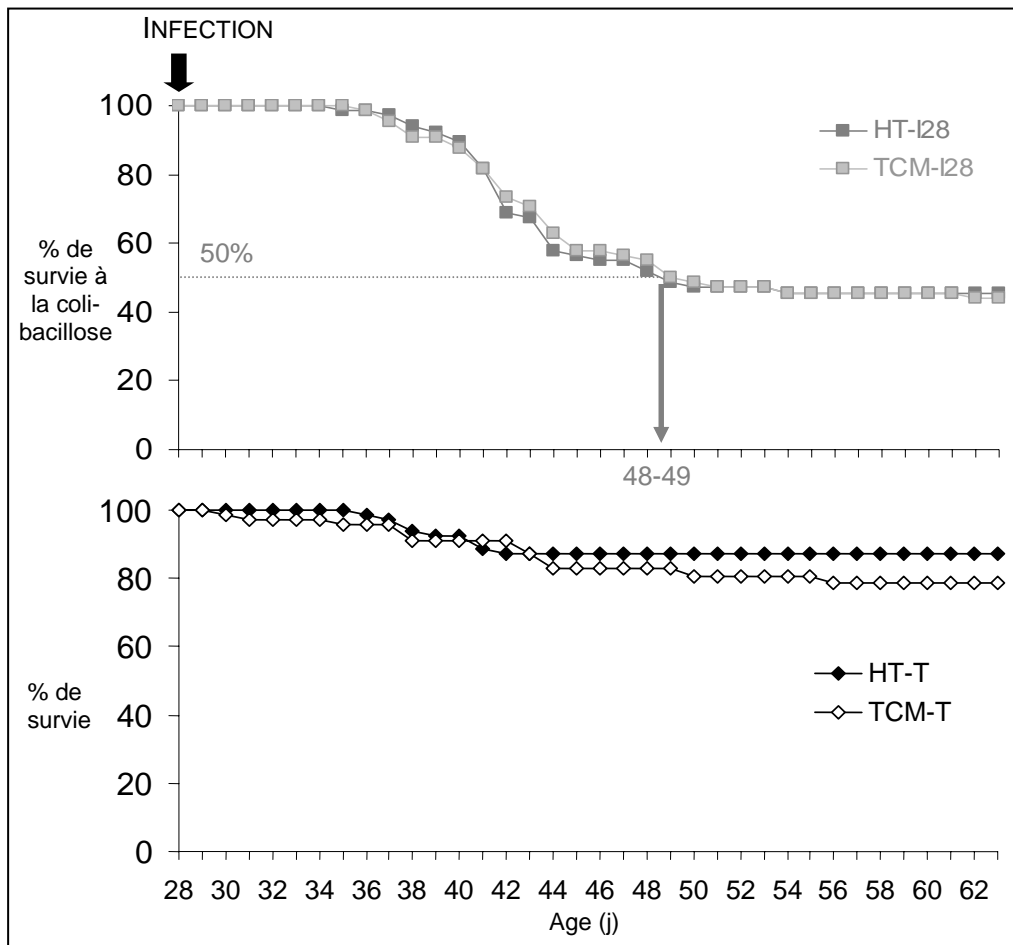
- Influence de la nature de l'huile incorporée dans l'aliment

La Figure 58 exprime le taux de survie journalier des lapereaux en fonction de l'huile incorporée dans l'aliment et de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours. Pour les lapereaux I28, il s'agit de la survie à la colibacillose. Ainsi, 4 animaux du lot TCM-I28 n'apparaissent pas sur cette figure, car la colibacillose ne semble pas à l'origine de leur mort : 2 animaux présentaient une parésie cæcale à 40 et à 41 jours, un lapereau a été euthanasié à 52 jours pour pyomètre, et le dernier est mort à 63 jours sans que la cause n'ait été identifiée.

La mortalité par colibacillose a débuté à 35 jours, puis évolué progressivement de façon similaire quelle que soit l'huile incorporée dans l'aliment : taux de 50% de mortalité atteint entre 48 et 49 jours. A 63 jours, 45,5% et 43,9% des lapereaux survivaient à la colibacillose respectivement dans les lots HT-I28 et TCM-I28 (Test du χ^2 , $P=0,85$).

La survie des lapereaux témoins n'a pas été significativement affectée par l'aliment distribué : 13% de mortalité à 63 jours dans le lot HT-T et 21,4% dans le lot TCM-T (Test du χ^2 , $P=0,19$).

Figure 58 Taux de survie des lapereaux en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment



- Influence de la production laitière des lapines entre 28 et 35 jours sur la mortalité par colibacillose

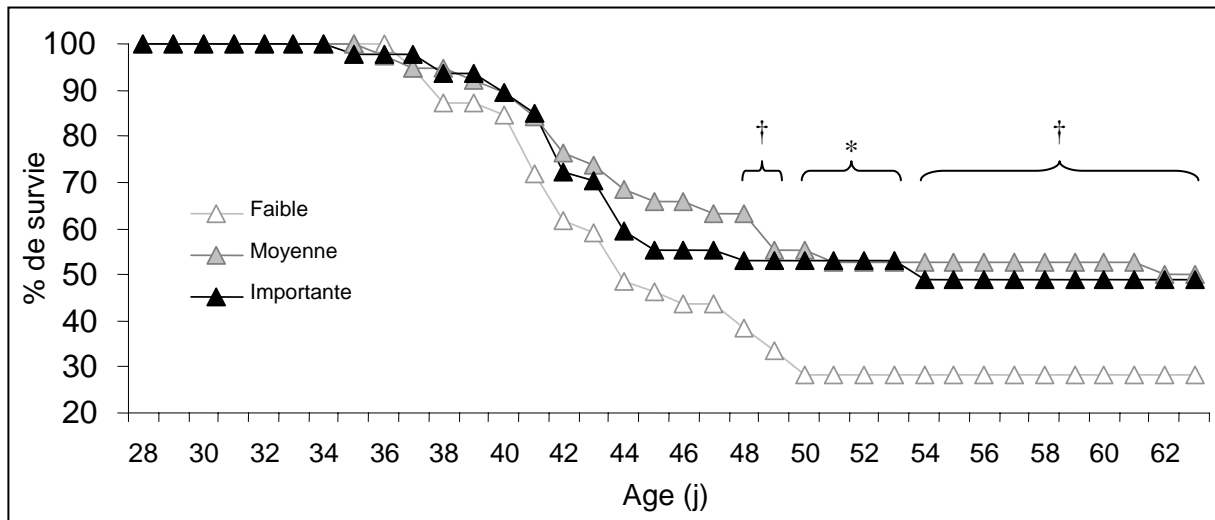
Trois classes ont été constituées en fonction de la production laitière de la lapine entre 28 et 35 jours :

- ✓ faible : production de lait entre 28 et 35 jours < 123 g/lapereau (5 portées (4 HT et 1 TCM), 39 lapereaux)
- ✓ moyenne : $123 \leq$ production de lait \leq 143 g/lapereau (5 portées (2 HT et 3 TCM), 38 lapereaux)
- ✓ importante : production de lait > 143 g/lapereau (6 portées (2 HT et 4 TCM), 47 lapereaux)

Un effet de l'ingestion de lait sur la survie à la colibacillose a ainsi pu être mis en évidence : de 48 à 63 jours, les valeurs de *P* pour l'effet du niveau de production laitière des lapines oscillaient entre 0,026 et 0,098 (Figure 59). Il semblerait qu'une faible consommation

de lait au cours de la dernière semaine d'allaitement augmente à long terme (plus de 13 jours après le sevrage) la sensibilité des lapereaux à la colibacillose.

Figure 59 Production laitière des lapines entre 28 et 35 jours et taux de survie à la colibacillose des lapereaux infectés à 28 jours par la souche d'*E. coli* entéropathogène E22



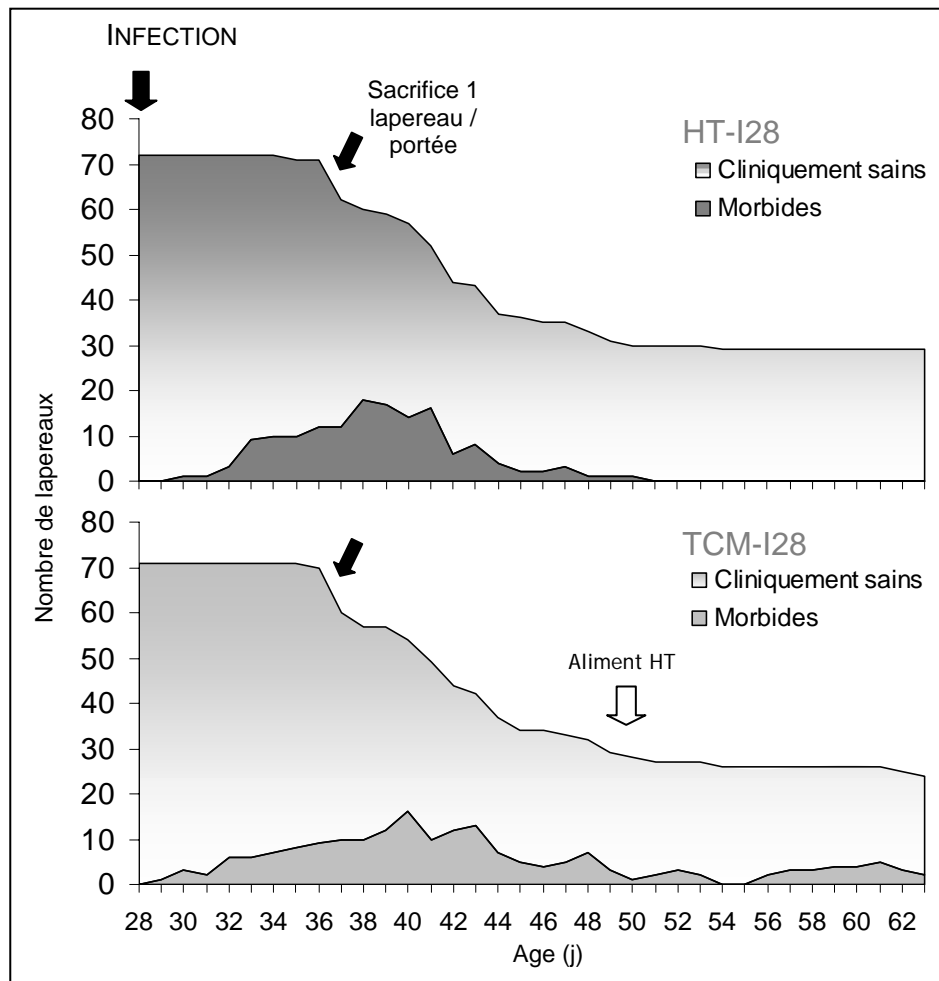
Ainsi de 50 à 53 jours, le taux de survie des lapereaux infectés par la souche d'*E. coli* E22 tendait à être inférieur pour les lapereaux dont la production de lait de la mère était faible entre 28 et 35 jours ($P < 0,10$) (test de comparaisons multiples de Scheffé).

III.B.2. Evolution de la morbidité

Quel que soit le lot, aucun pic de morbidité n'a réellement été observé, même si la période comprise entre 33 et 45 jours semble être la zone de sensibilité maximale des lapereaux à la maladie (Figure 60). En effet, le seuil de 31% de lapereaux morbides n'a jamais été dépassé.

Contrairement aux lapereaux TCM-I28 pour lesquels des symptômes de diarrhée ont été constatés sur l'ensemble de la période d'étude, la morbidité des lapereaux HT-I28 a été observée sur une période bien définie comprise entre 29 et 51 jours. Contrairement à l'étude précédente (étude 3), le taux de morbidité n'a pas atteint 100%. Quelques lapereaux n'ont présenté aucun signe clinique de diarrhée sur l'ensemble de la période 28-63 jours (12 lapereaux dans le lot TCM-I28 et 8 dans le lot HT-I28).

Figure 60 Evolution de la morbidité des lapereaux infectés à 28 jours par la souche E22 d'*E. coli* en fonction de l'huile incorporée dans l'aliment

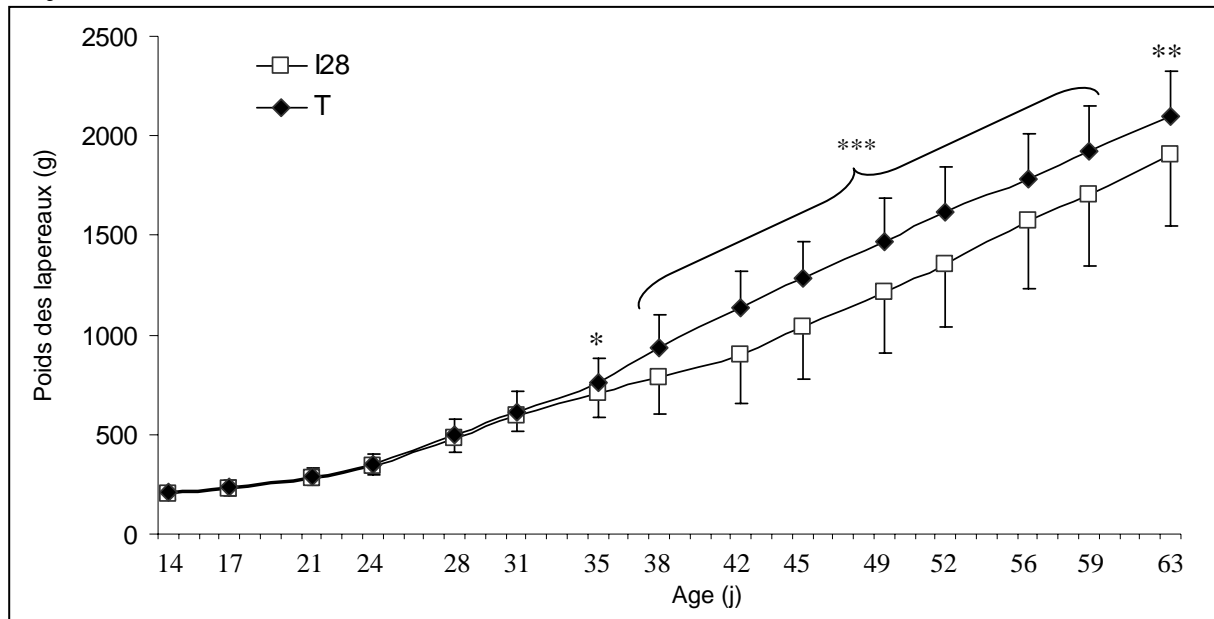


III.C. RESULTATS : PERFORMANCES DES LAPEREaux

III.C.1. Poids et croissance des lapereaux

Aucun effet de l'huile incorporée ou de l'interaction huile incorporée × souche inoculée sur le poids des lapereaux n'a été noté. Aussi, les données de poids vifs des lapereaux TCM et HT ont été regroupées pour chaque lot "souche d'*E. coli* inoculée" (I28 vs. T) (Figure 61). Dès 35 jours, les lapereaux inoculés avec la souche d'*E. coli* entéropathogène ont présenté un déficit pondéral par rapport à leur témoin, qu'ils ont conservé jusqu'à 63 jours : entre -8% au minimum (à 35 jours) et -21% au maximum (à 42 jours).

Figure 61 Evolution du poids vif des lapereaux en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours



Moyennes arithmétiques ± ET; Effet de la souche inoculée si $P < 0,10$: * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$.

Les lapereaux I28 ont présenté dès la semaine suivant leur infection des capacités de croissance moindres comparativement à leurs témoins non infectés (Tableau 39) : de 28 à 49 jours, la croissance relative journalière des lapereaux I28 a été de 14 à 53% inférieure à celle des lapereaux T ($P < 0,05$). De plus, entre 42 et 49 jours, la croissance des lapereaux ayant accès à l'aliment TCM tendait à être inférieure à celle des lapereaux disposant de l'aliment HT (-17%, $P < 0,10$).

Tableau 39 Evolution de la croissance relative journalière des lapereaux en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment

	Croissance Relative Journalière en %				CVr, %	Valeurs de P		
	I28		T			Souche inoculée	Huile incorporée	Interaction
	HT	TCM	HT	TCM				
14-21j	5,7 (63)	6,0 (64)	5,8 (64)	5,9 (61)	24	NS	NS	NS
21-28j	10,1 (63)	10,4 (64)	10,9 (64)	9,7 (62)	18	NS	NS	NS
28-35j	6,5 (63)	6,9 (64)	7,7 (55)	7,8 (60)	34	*	NS	NS
35-42j	2,9 (45)	3,7 (45)	7,5 (44)	6,5 (33)	52	***	NS	NS
42-49j	3,8 (31)	3,1 (31)	4,9 (48)	4,3 (32)	47	**	†	NS
49-56j	4,0 ^a (29)	3,0 ^a (26)	3,2 ^a (47)	3,5 ^a (35)	33	NS	NS	†
56-63j	3,2 ^a (29)	2,4 ^{ab} (24)	2,5 ^b (48)	2,8 ^{ab} (36)	36	NS	NS	**

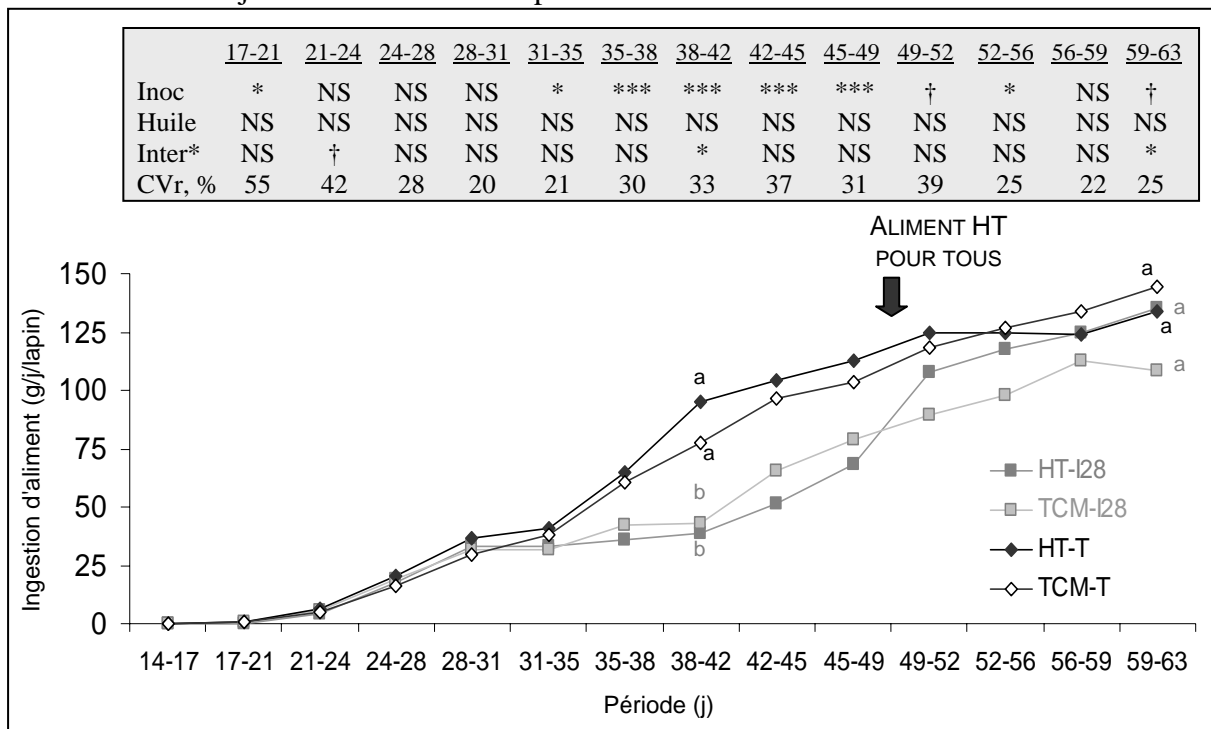
Croissance relative journalière = gain moyen quotidien sur la période*100/poids en début de période; Moyennes arithmétiques; Lors d'une interaction significative, les moyennes sans lettre en commun sur une même ligne sont différentes ($P < 0,05$); (n) : effectif; CVr : coefficient de variation résiduelle; NS $P > 0,10$, † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

Entre 49 et 56 jours, les croissances relatives journalières des lapereaux des différents lots n'étaient plus significativement différentes. En revanche, entre 56 à 63 jours, la croissance relative des lapereaux HT-I28 a été de 31% supérieure à celle de leur témoin HT-T ($P<0,01$), alors que celle des lapereaux TCM-I28 ne différait pas significativement de celle des lapereaux TCM-T.

III.C.2. Ingestion d'aliment

Dès 31 et jusqu'à 56 jours, l'ingestion d'aliment par les lapereaux I28 a été réduite comparativement à celle des lots T (Figure 62). Entre 38 et 42 jours, l'interaction significative entre la souche d'*E. coli* inoculée et l'huile incorporée dans l'aliment a mis en évidence une tendance à une ingestion d'aliment inférieure dans le lot TCM-T comparativement à celle du lot HT-T. Cette différence n'a pas été confirmée par le test de comparaisons multiples de Scheffé ($P=0,26$). Puis entre 56 et 59 jours, l'ingestion d'aliment par les lapereaux I28 est devenue similaire à celle des lapereaux T. Entre 59 et 63 jours, une interaction significative a mis en évidence une ingestion tendant à être plus faible dans le lot TCM-I28 comparativement à son témoin TCM-T ($P<0,10$), alors qu'aucune différence n'a été notée entre les deux lots HT.

Figure 62 Evolution de l'ingestion d'aliment par les lapereaux en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment



* Effet de l'interaction souche inoculée × huile incorporée; Moyennes arithmétiques; Effectifs de 7 à 16 par lot selon la période considérée; CVr : coefficient de variation résiduelle; Valeur de P du modèle général : NS $P>0,10$, † $P<0,10$, * $P<0,05$, $P<0,01$, *** $P<0,001$; Lors d'une interaction significative, les moyennes sans lettre en commun pour un âge donné sont différentes ($P<0,05$).

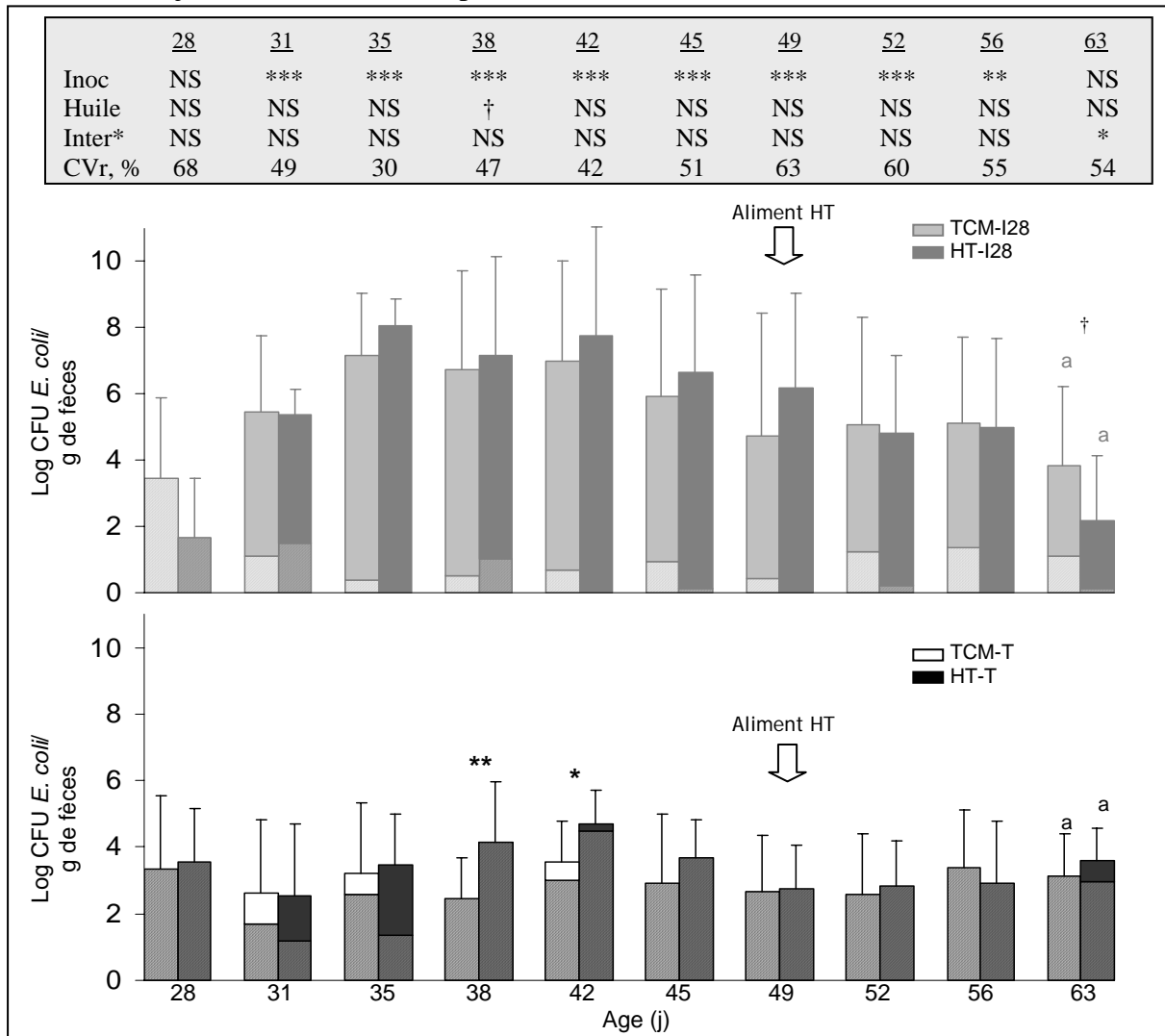
III.D. RESULTATS : EXCRETION COLIBACILLAIRE

L'excrétion colibacillaire des lapereaux T inoculés à 28 jours avec une souche non pathogène est restée inférieure à 10^5 CFU/g de fèces tout au long de l'expérimentation. Quelques colonies rhamnose-négatives ont été isolées entre 31 et 42 jours, et à 63 jours dans ces lots.

Dès 31 jours, l'excrétion colibacillaire fécale a été accrue dans les lots infectés par la souche d'*E. coli* O103 (Figure 63), et la plupart des colibacilles excrétés étaient rhamnose-négatifs. Ces lapereaux ont excrété entre 10^6 et 10^8 CFU de colibacilles par gramme de fèces jusqu'à 45 jours, puis l'excrétion s'est stabilisée autour de 10^5 CFU.g⁻¹ jusqu'à 56 jours. Ainsi le niveau d'excrétion colibacillaire fécale des lapereaux I28 a été supérieur à celui des lapereaux T de 31 à 56 jours. A 63 jours, l'excrétion colibacillaire des lapereaux I28 n'était plus significativement différente de celle des lapereaux T ($<10^4$ CFU/g de fèces).

Le modèle statistique général n'a pas mis en évidence d'effet de l'huile incorporée dans l'aliment sur le niveau d'excrétion colibacillaire. Mais lorsque analysé indépendamment pour chaque lot "souche d'*E. coli* inoculée", un effet significatif de l'huile incorporée dans l'aliment a été souligné entre 38 et 42 jours pour les lapereaux T : l'excrétion colibacillaire des lapereaux recevant l'aliment TCM a été inférieure à celle des lapereaux recevant l'aliment HT (-1,7 et -1,1 log à 38 et à 42 jours, $P<0,01$ et $P<0,05$, respectivement). A 63 jours, une tendance inverse a été observée pour les lapereaux I28 : l'excrétion colibacillaire fécale des lapereaux ayant reçu l'aliment HT tout au long de l'expérimentation tendait à être inférieure à celle des lapereaux ayant bénéficié de l'aliment TCM entre 14 et 49 jours.

Figure 63 Excrétion colibacillaire fécale des lapereaux en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment



* Effet de l'interaction souche inoculée × huile incorporée; Barres pleines : % de colibacilles rhamnose négatifs, barres rayées : % de colibacilles rhamnose positifs; Moyennes arithmétiques ± ET; Lors d'une interaction positive, les moyennes sans lettre en commun pour un âge donné (les 2 graphiques ensemble) sont différentes ($P < 0,05$); Modèle général : † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$; Effet de l'huile incorporée pour chaque lot souche d'*E. coli* inoculée : † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$.

III.E. RESULTATS : REPONSE IMMUNITAIRE

Le seuil de séropositivité a été déterminé comme correspondant à la plus haute valeur de densité optique observée à 24 jours + 2 écart-types (DO seuil = 0,182).

Parmi les lapereaux T inoculés avec la souche non pathogène, 22 lapereaux HT-T et 23 lapereaux TCM-T pour lesquels les 2 premiers prélèvements sanguins au moins étaient disponibles (24 et 38 jours) ont été sélectionnés parmi la population selon différents critères afin d'obtenir un panel représentatif : survivant à 63 jours, mort en cours de période d'étude, répartition dans les cages et dans la salle. Les 148 sérologies réalisées sur les lapereaux

témoins T aux différents âges de prélèvements se sont toutes révélées négatives vis-à-vis du LPS O103.

Dans les lots infectés à 28 jours, le pourcentage d'animaux ayant présenté une séroconversion vis-à-vis du colibacille O103 a différé en fonction de l'huile incorporée dans l'aliment (Tableau 40). Dès 51 jours, le taux de séroconversion des lapereaux du lot HT-I28 a dépassé le seuil des 85%, alors que celui des animaux TCM-I28 est demeuré inférieur à 60% jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Tableau 40 Pourcentage de lapereaux présentant une séroconversion vis-à-vis du LPS O103 aux différents âges de prélèvement, en fonction de l'huile incorporée dans l'aliment

	HT-I28	TCM-I28	CVr, %	P
J24	0 (0/59)	0 (0/57)	-	-
J38	18,6 (11/59)	12,3 (7/57)	234	NS
J51	89,7 (26/29)	50,0 (14/28)	60	***
J63	85,7 (24/28)	58,3 (14/24)	59	*

(effectifs); NS $P > 0,10$, * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$

Cependant, lorsque l'on détaille la répartition des lapereaux selon leur statut sérologique et le fait qu'ils aient ou non présenté des signes cliniques de diarrhée antérieurement au prélèvement, quelques différences peuvent être notées entre les deux lots (Tableau 41). Ainsi, à 51 et à 63 jours, davantage de lapereaux n'ayant pas présenté de signes apparents de diarrhée sont restés séronégatifs dans le lot TCM-I28 (12/14) comparativement au lot HT-I28 (3/9).

Tableau 41 Répartition du nombre de lapereaux selon leur statut immunitaire et la manifestation de signes cliniques antérieurement à la réalisation de la sérologie, et en fonction de l'huile incorporée dans l'aliment

	HT-I28				TCM-I28			
	Séropositivité*		Séronégativité*		Séropositivité*		Séronégativité*	
	Malade	Sain	Malade	Sain	Malade	Sain	Malade	Sain
J38	8	3	24	24	7	0	17	33
J51	20	6	0	3	12	2	2	12
J63	20	4	0	4	11	3	1	9

* vis-à-vis du LPS O103; Malade et sain : animal ayant présenté des signes cliniques de diarrhée ou pas, respectivement, après inoculation et avant le prélèvement sanguin.

Par ailleurs, le Tableau 41 met en évidence que presque tous les lapereaux ayant présenté un épisode diarrhéique au cours de la période d'étude avaient séroconverti à 63 jours (20/20 lapereaux HT-I28, et 11/12 lapereaux TCM-I28). L'exception dans le lot TCM est un lapereau

ayant présenté un épisode diarrhéique, très rapidement après l'inoculation, entre 29 et 31 jours, puis qui n'a plus présenté de signes cliniques de diarrhée jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Hormis un lapereau, tous les animaux ayant présenté une séroconversion vis-à-vis du LPS O103 sont restés séropositifs jusqu'à 63 jours. Pour ce lapereau, la densité optique était proche de la valeur seuil (DO=0,213 à 51 jours *vs.* DO=0,151 à 63 jours). Par ailleurs, il n'a pas présenté de signes cliniques de diarrhée sur l'ensemble de la période d'étude.

III.F. DISCUSSION

Les résultats obtenus dans cette étude confirment les observations effectuées dans l'expérimentation précédente. La forme létale de la maladie n'est observée qu'après le sevrage des lapereaux, et celle-ci présente une cinétique d'évolution similaire à celle de l'étude 3. De même, la morbidité est maintenue à un taux faible jusqu'à 35 jours. Toutefois, quelques légères différences ont été constatées entre les deux études. Le taux de 50% de mortalité est atteint 4 à 5 jours plus tard dans cette dernière étude, et le taux de mortalité final par colibacillose est plus faible de 6 points. Quelques variations entre les deux expérimentations pourraient expliquer ces légères dissemblances. L'aliment distribué dans cette dernière étude contenait 2 fois plus de lipides que celui distribué dans l'expérimentation précédente. De plus, dans l'étude 3, les lapereaux sevrés à 21 jours ayant développé la maladie très vite après l'inoculation auraient pu induire une contamination accrue du milieu environnant, et donc maintenir une pression infectieuse beaucoup plus importante. Toutefois, cette répétabilité de l'évolution de la maladie après le sevrage appuie l'hypothèse d'une protection temporaire conférée par le lait maternel vis-à-vis de la colibacillose à EPEC O103. Une première analyse de l'effet du niveau de production laitière sur la survie des lapereaux à la colibacillose tend à montrer une sensibilité plus importante des lapereaux issus des portées pour lesquelles la production laitière de la lapine était faible. Ce point mériterait toutefois confirmation, car la consommation de lait individuelle par les lapereaux n'a pas été évaluée dans cette étude.

L'incorporation de TCM au taux de 2% dans l'aliment des lapereaux n'a pas réduit leur sensibilité à une colibacillose expérimentale à *E. coli* O103. En effet, les taux de survie et la morbidité ont présenté des évolutions semblables que les lapereaux aient reçu l'aliment enrichi en triglycérides à chaînes moyennes ou en huile de tournesol. Les lapereaux infectés ayant reçu l'aliment TCM entre 14 et 49 jours présentent même un léger déficit de croissance et d'ingestion après 49 jours, et tendent à présenter une excrétion colibacillaire fécale un peu plus élevée que leurs homologues infectés ayant reçu l'aliment à base d'huile de tournesol tout au long de l'expérimentation. Le changement d'aliment (passage à l'aliment contenant l'huile de tournesol) à 49 jours pourrait être à l'origine de ces perturbations. La croissance et l'ingestion

des lapereaux inoculés à 28 jours par la souche d'*E. coli* non pathogène n'ont en revanche pas été perturbées par ce changement d'aliment.

La réponse immunitaire a été influencée par la nature de l'huile incorporée dans l'aliment. Le pourcentage de lapereaux présentant une réponse sérologique positive vis-à-vis du colibacille O103 a été supérieur lorsque l'aliment était supplémenté en huile de tournesol. La plus faible réponse des lapereaux ayant reçu l'aliment enrichi en TCM pourrait être expliquée par une moindre sollicitation antigénique par le colibacille inoculé (colonisation plus faible). Pourtant, l'excrétion colibacillaire fécale des animaux infectés était similaire quelle que soit la nature de l'huile incorporée dans l'aliment. Mais en étudiant la répartition des lapereaux selon le fait qu'ils aient ou non présenté des signes cliniques avant la réalisation de la sérologie, il s'est avéré que cette différence était surtout liée à un nombre important de lapereaux n'ayant pas manifesté de signes cliniques au cours de la période d'étude. Ainsi, pour ces lapereaux, une faible sollicitation antigénique peut être suspectée : une colonisation microbienne trop faible, voire inexistante, n'aurait pas induit de signes cliniques de diarrhée et n'aurait pas activé la réponse immunitaire. Seul le lien entre le niveau d'excrétion colibacillaire individuel et la réponse sérologique suscitée aurait pu permettre d'obtenir quelques éléments de réponse. Par ailleurs, le site d'induction de la réponse immunitaire se situe plutôt dans la partie amont du tractus digestif, au niveau de l'intestin grêle chez le jeune. Il reste alors possible que la flore colibacillaire pathogène ait été réduite dans l'iléon de ces lapereaux ayant consommé l'aliment TCM, et ait entraîné une réponse immunitaire plus faible. Un effet immunomodulateur lié à la nature des acides gras incorporés dans l'aliment n'est pas à exclure pour autant (*De Pablo et Alvarez de Cienfuegos, 2000*).

Cette absence de réduction de la sensibilité des lapereaux à la colibacillose pourrait être due à un niveau d'ingestion de TCM insuffisant, voire à une indisponibilité des acides gras à chaînes moyennes aux sites d'action des *E. coli* O103. Il convient alors d'étudier leur disponibilité au sein du tractus digestif : ingestion et devenir. De plus, on ne peut exclure l'hypothèse que ces substances soient inertes vis-à-vis de la microflore digestive. Aussi, les études directe (comptage colibacillaire) et indirecte (fermentations bactériennes) de la flore cæcale permettront de déterminer l'influence des TCM sur la microflore digestive, lorsqu'un déséquilibre artificiel de celle-ci est produit. L'hypothèse que les TCM interfèrent avec la physiologie digestive des lapereaux peut également être envisagée. L'étude de la digestibilité fécale des deux aliments chez les lapereaux témoins permettra d'argumenter cette supposition.

IV. DISPONIBILITE DES ACIDES GRAS A CHAINES MOYENNES : INGESTION ET DEVENIR DANS LE TRACTUS DIGESTIF ET CONSEQUENCES PHYSIOLOGIQUES

Afin d'obtenir quelques éléments d'explications concernant l'absence d'effets bénéfiques des triglycérides à chaînes moyennes sur la résistance des lapereaux à la colibacillose, les profils d'ingestion des acides gras, et notamment des acides gras à chaînes moyennes, ainsi que leur devenir dans le tube digestif vont être détaillés. De plus, différents paramètres physiologiques digestifs ont été évalués à 36 jours sur les animaux infectés par la souche entéropathogène et sur les animaux témoins. Outre préciser les désordres digestifs occasionnés par l'infection expérimentale par une souche entéropathogène d'*E. coli*, ces mesures pourraient donner des informations sur les conséquences physiologiques éventuelles de l'ingestion de triglycérides à chaînes moyennes.

IV.A. ANALYSE DES DONNEES

Les analyses des profils des acides gras dans le lait, les aliments distribués aux lapereaux, les contenus stomacal et iléal des lapereaux inoculés avec la souche non pathogène ont dans un premier temps fait l'objet d'une analyse descriptive.

Dans un deuxième temps, les effets de la nature de l'huile incorporée dans l'aliment, et de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours sur le devenir des acides gras, notamment à chaînes moyennes, dans le tractus digestif ont été détaillés. Il en a été de même pour les différents paramètres physiologiques mesurés à 36 jours. Ces données ont été analysées avec la procédure GLM (SAS, 1999) avec un modèle prenant en compte l'effet de la nature de l'huile incorporée dans l'aliment, l'effet de la souche d'*E. coli* inoculée et leur interaction. Les comparaisons de moyennes ont été effectuées au moyen du test de comparaisons multiples de Scheffé.

IV.B. RESULTATS : PROFIL D'INGESTION DES ACIDES GRAS A CHAINES MOYENNES

IV.B.1. Composition du lait de lapine

Le Tableau 42 présente la composition chimique moyenne du lait de 25 lapines de l'étude 4, prélevées à 22 et 23 jours de lactation. Celles-ci ont été choisies parmi les différents lots (au moins 4 analyses par lot), mais aucune différence de composition lactée n'a été mise en évidence entre les lots.

Les lipides étaient l'élément majeur du lait des lapines, suivis par les protéines. Ces deux composants représentaient à eux seuls 85,6% de la matière sèche. Ainsi, par différence, les composés glucidiques compteraient pour environ 7% de la matière sèche.

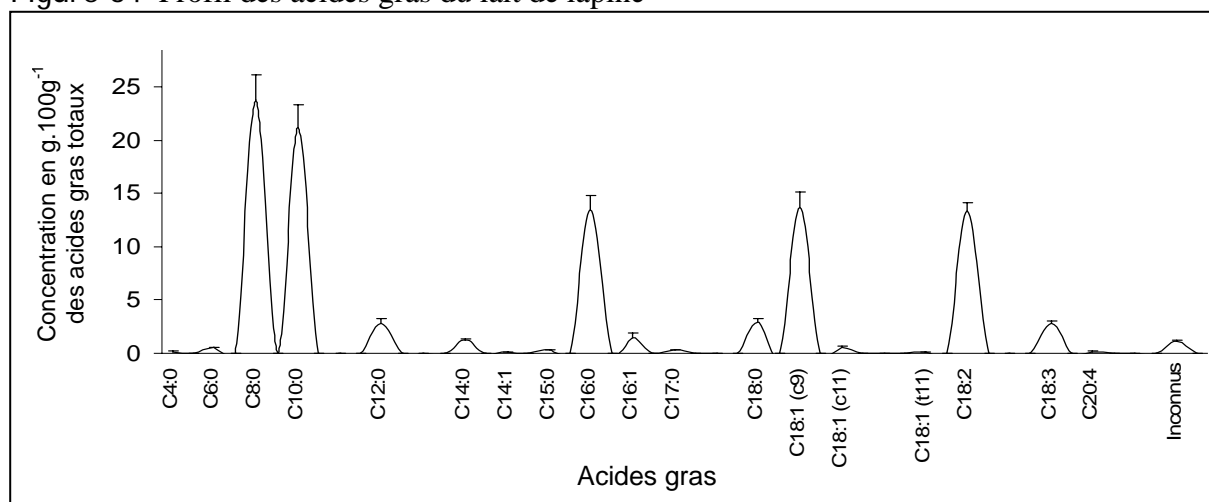
Tableau 42 Composition moyenne du lait des lapines de l'étude 4

	Moyenne	Ecart-type	Minimum	Maximum	Nombre d'analyses
% de matière sèche	31,3	2,8	26,8	37,5	25
En % de matière brute					
Matière grasse	15,5	2,4	11,6	20,2	19
Protéines brutes	11,3	1,3	9,0	14,4	21
Cendres	2,3	0,2	1,9	2,7	25
Lactose*	2,2	0,6	0,7	3,2	17
Energie (kCal/kg)	2058	209	1691	2478	22

* Calculé comme la matière restante

La Figure 64 présente le profil des acides gras du lait de lapine. La quantité d'acides gras moyenne des 25 échantillons était de $55,5 \pm 3,4 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de matière sèche. Les acides caprylique et caprique représentaient 45% de la masse totale des acides gras. Les autres acides gras quantitativement importants étaient l'acide palmitique (C16:0), l'acide oléique (C18:1) et l'acide linoléique (C18:2).

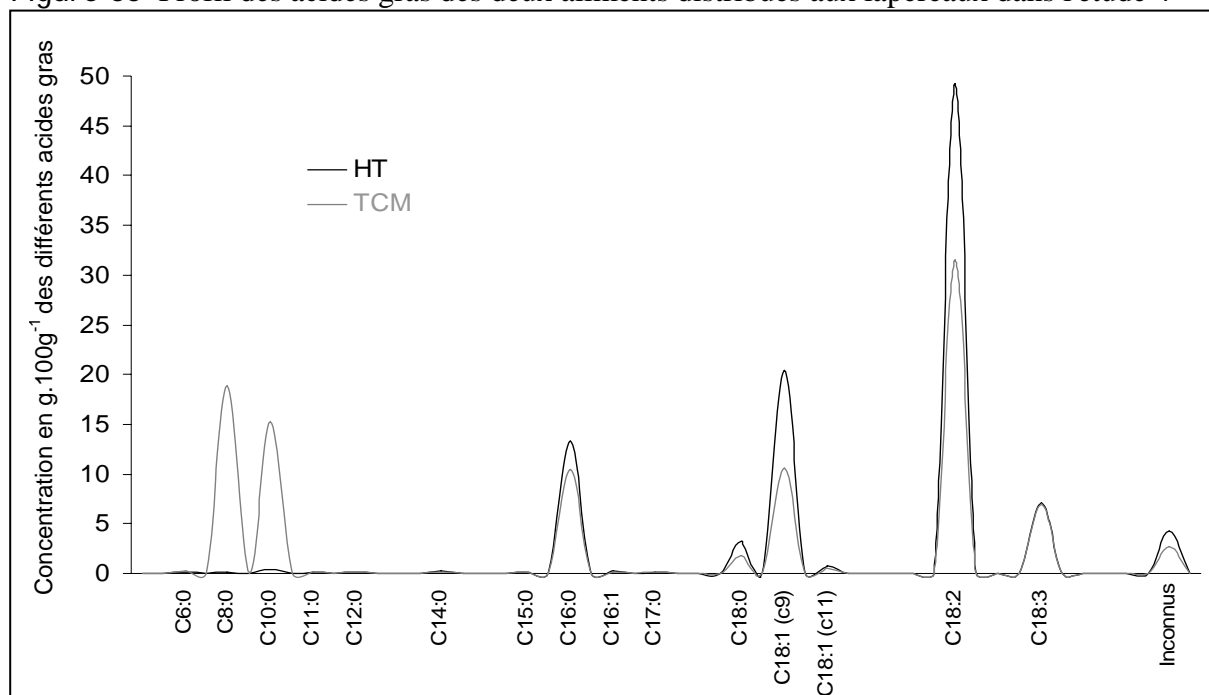
Figure 64 Profil des acides gras du lait de lapine



IV.B.2. Profil des acides gras de l'aliment

Les différences majeures de composition en acides gras des 2 aliments concernent les acides gras à chaînes moyennes : 19 et 15% d'écart pour les acides caprylique et caprique (Figure 65). Ces différences étaient compensées dans l'aliment HT par des proportions plus importantes de C16:0, C18:1 c9 et C18:2 (3%, 10% et 18% d'écart, respectivement).

Figure 65 Profil des acides gras des deux aliments distribués aux lapereaux dans l'étude 4

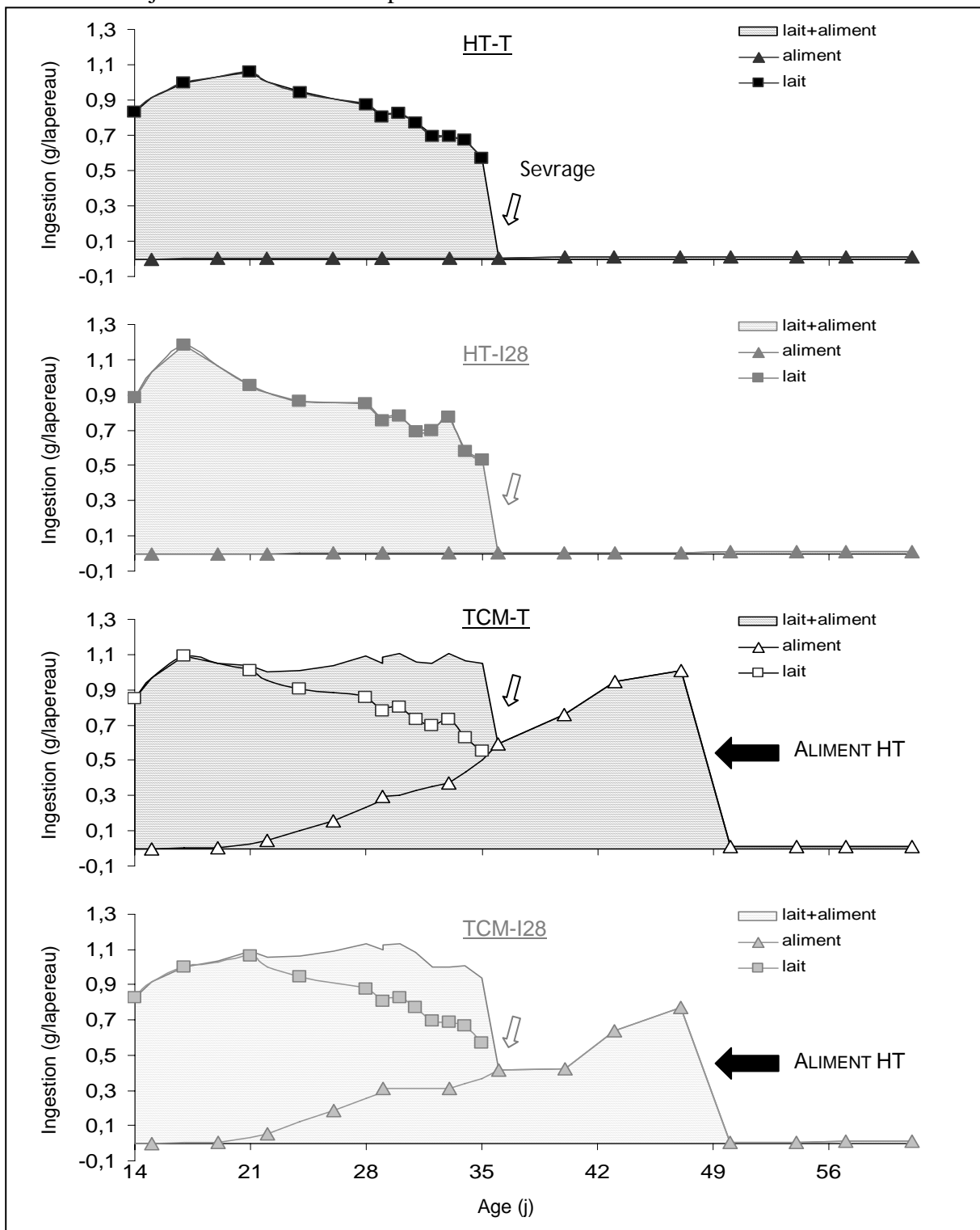


IV.B.3. Ingestion d'acide caprylique par les lapereaux

D'après les données d'ingestion de lait et d'aliment obtenues au cours de cette étude, et d'après les compositions en acides gras établies pour ces sources alimentaires, nous avons représenté l'évolution au cours du temps de l'ingestion d'acide caprylique en fonction du lot (Figure 66).

Ainsi, dans les lots ayant reçu l'aliment HT entre 14 et 49 jours, une brusque décroissance de l'ingestion d'acide caprylique a été observée au moment du sevrage : de valeurs avoisinant 0,5 g/j/lapereau, l'ingestion a chuté à des valeurs proches de 0. Dans les lots TCM, une chute importante après sevrage de l'ingestion de C8:0 a également été constatée. Cependant, celle-ci a évolué vers des valeurs proches de celles conférées par le lait en fin de période de lactation dans le lot TCM-T (environ 0,5 g/lapereau), et légèrement en deçà pour le lot TCM-I28. Cependant, un nouvel abaissement de l'ingestion d'acide caprylique, encore plus brutal, a été observé dans les lots TCM à 49 jours, au moment du changement d'aliment.

Figure 66 Ingestion d'acide caprylique par les lapereaux en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment



IV.C. RESULTATS : DEVENIR DES ACIDES GRAS DANS LE TRACTUS DIGESTIF DES LAPEREAX

IV.C.1. Evolution du profil des acides gras dans l'estomac, puis l'iléon des lapereaux témoins

Le Tableau 43 montre l'évolution des concentrations, exprimées par rapport à la matière sèche et à la matière brute, des acides gras totaux depuis l'aliment vers l'iléon des lapereaux non infectés. Lorsqu'elles ont été exprimées relativement à la matière brute, celles-ci ont diminué. En revanche, lorsque exprimées par rapport à la matière sèche, ces concentrations ont peu évolué entre l'aliment et l'estomac, puis ont diminué entre l'estomac et l'iléon.

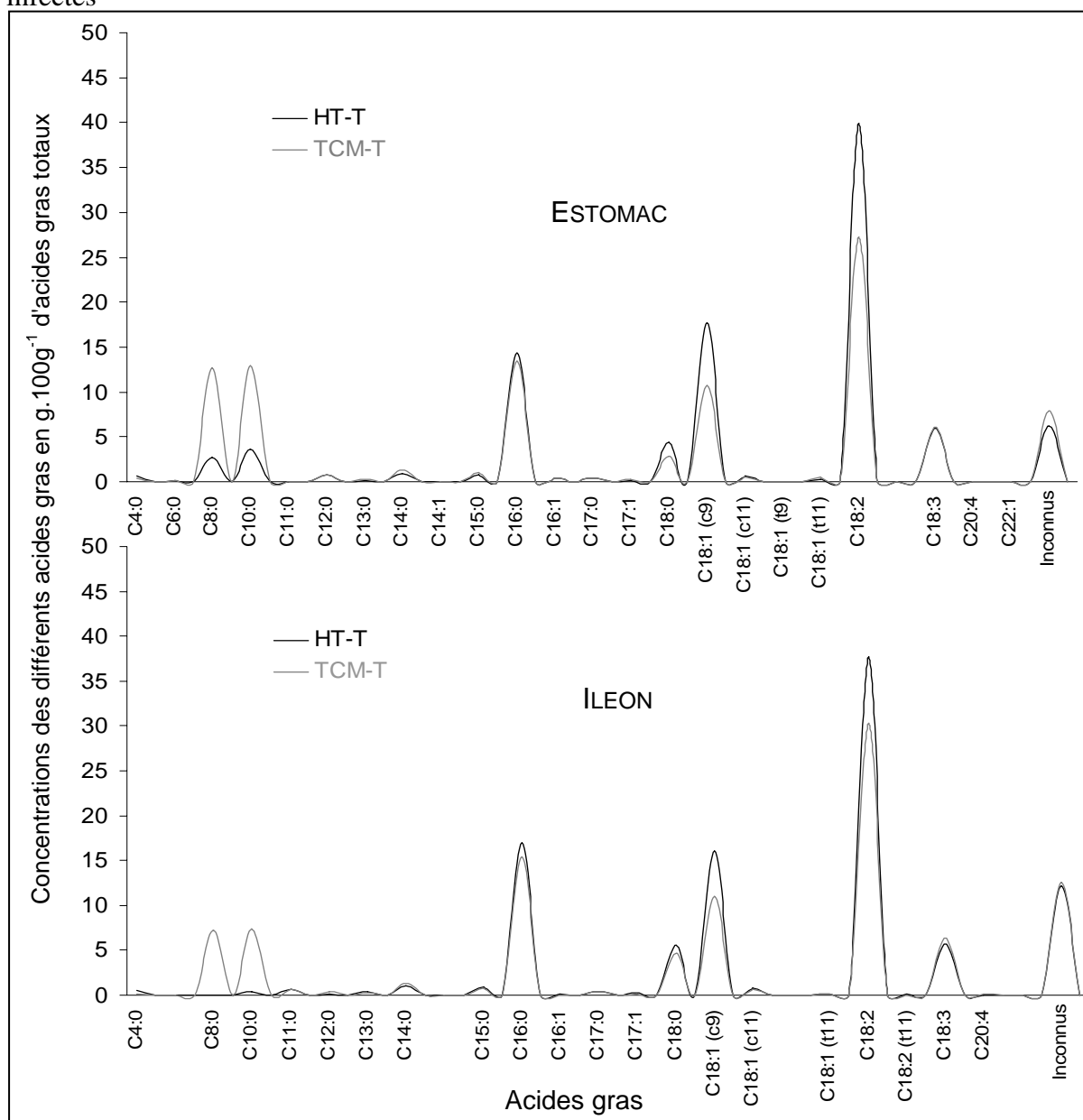
Tableau 43 Evolution des concentrations en acides gras totaux, depuis l'aliment jusqu'à l'iléon des lapereaux non infectés, en fonction de l'huile incorporée dans l'aliment

	AGT (g.100g ⁻¹ de matière sèche)		AGT (en g.100g ⁻¹ de matière brute)	
	HT	TCM	HT	TCM
Aliment	5,15	5,63	4,76	5,19
Estomac*	5,75 ± 1,59	4,61 ± 0,86	1,08 ± 0,35	0,91 ± 0,25
Iléon*	1,20 ± 0,27	1,18 ± 0,16	0,15 ± 0,04	0,13 ± 0,04

* Moyennes arithmétiques ± ET; AGT : acides gras totaux.

Si les différences de composition en acides gras des deux aliments ont persisté dans les contenus stomacal et iléal, elles tendaient cependant à s'estomper (Figure 67). Par ailleurs, du C8:0 et du C10:0 ont été retrouvés dans l'estomac des lapereaux HT, alors que l'aliment qui leur était distribué en était quasiment exempt (0,16% de C8:0 et 0,35% de C10:0 dans l'aliment). De plus, les acides gras tendaient à se diversifier dans les compartiments digestifs, notamment dans l'estomac : C13:0, C14:1, C17:1, C18:1 trans, C20:4 ou C22:1. La proportion des acides gras non identifiés par la technique utilisée tendait également à s'accroître dans l'estomac, puis dans l'iléon.

Figure 67 Evolution du profil des acides gras dans l'estomac et l'iléon des lapereaux non infectés



Les acides gras non mentionnés en abscisse n'ont pas été retrouvés dans l'aliment ou le compartiment digestif considéré

IV.C.2. Devenir des acides gras à chaînes moyennes dans les contenus des lapereaux infectés ou non

La part relative des acides caprylique et caprique par rapport aux acides gras totaux a été déterminée dans les contenus stomacal et iléal. Les concentrations en acides gras totaux ont été exprimées relativement à la matière sèche et à la matière brute des contenus, de même que les concentrations respectives en C8:0 et C10:0.

Les concentrations en acides gras totaux dans l'estomac, qu'elles soient exprimées relativement à la matière sèche ou à la matière brute, n'ont pas différencié selon l'huile incorporée

dans l'aliment (Tableau 44). En revanche, la concentration en acides gras totaux exprimée par rapport à la matière sèche a été augmentée de 107% dans le contenu stomacal des lapereaux infectés avec la souche entéropathogène d'*E. coli* à 28 jours ($P<0,05$). Les pourcentages de C8:0 et de C10:0 par rapport aux acides gras totaux ont différé selon l'huile incorporée dans l'aliment, mais pas selon la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours. De ce fait, lorsque les concentrations en C8 et C10 dans le contenu stomacal étaient exprimées relativement à la matière brute, seul un effet de l'huile incorporée dans l'aliment a été noté. Lorsque exprimées relativement à la matière sèche, ces concentrations dépendaient non seulement de l'huile incorporée dans l'aliment, mais également de la souche inoculée à 28 jours. Ainsi, la concentration en acide caprique par gramme de matière sèche a été multipliée par 3,4 dans les lots I28 ($P=0,055$), indépendamment de l'huile incorporée dans l'aliment. Pour ce qui concerne l'acide caprylique, l'effet de l'infection par un *E. coli* E22 a semblé plus important dans le lot supplémenté en TCM (interaction, $P =0,073$) : +33% dans le lot HT-I28 vs. le lot HT-T, et +227% dans le lot TCM-I28 vs. le lot TCM-T.

Tableau 44 Concentrations en acides gras à chaînes moyennes du contenu stomacal des lapereaux à 36 jours en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment

	I28		T		Cvr, %	Valeurs de P		
	HT	TCM	HT	TCM		Souche inoculée	Huile incorporée	Inter- action
C8 en g.100g ⁻¹ des AGT	2,7	13,4	2,7	12,7	29	NS	***	NS
C10 en g.100g ⁻¹ des AGT	4,8	15,0	3,7	12,9	39	NS	***	NS
[AGT] en mg.g ⁻¹ de MS	73,8	140,2	57,5	46,1	90	*	NS	NS
[AGT] en mg.g ⁻¹ de MB	10,5	18,9	10,8	9,1	73	NS	NS	NS
[C8] en mg.g ⁻¹ de MS	2,6 ^a	19,1 ^b	1,9 ^a	5,8 ^{ab}	130	*	**	†
[C10] en mg.g ⁻¹ de MS	4,5	25,2	2,6	6,1	155	†	*	NS
[C8] en mg.g ⁻¹ de MB	0,3	2,6	0,4	1,2	108	NS	**	NS
[C10] en mg.g ⁻¹ de MB	0,6	3,3	0,5	1,2	137	NS	*	NS

AGT : acides gras totaux; Moyennes arithmétiques; MS : matière sèche, MB : matière brute; Lors d'une interaction significative, les moyennes sans lettre en commun sur une même ligne sont significativement différentes ($P<0,05$); CVr : coefficient de variation résiduelle; NS $P>0,10$, † $P<0,10$, * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.

- Devenir des acides caprylique et caprique dans le contenu iléal

Comme pour l'estomac, les concentrations en acides gras totaux dans le contenu iléal n'ont pas été affectées par l'huile incorporée dans l'aliment (Tableau 45), mais ont augmenté de 59% lorsque exprimées par rapport à la matière sèche dans les lots I28 comparativement aux lots T ($P<0,01$). Les pourcentages de C8 et C10 par rapport aux acides gras totaux ont été supérieurs dans les lots recevant l'aliment TCM. Les effets de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours ont été dépendants de l'aliment distribué aux lapereaux. Ainsi, pour les lapereaux

recevant l'aliment HT, les proportions relatives du C8 et du C10 n'étaient pas affectées par la souche d'*E. coli* inoculée. En revanche, celles-ci ont été diminuées de 36% pour le C8 ($P<0,05$) et de 27% pour le C10 ($P=0,058$) lors d'une infection par un *E. coli* O103 lorsque les lapereaux recevaient l'aliment enrichi en TCM. Les concentrations en C8 et C10, exprimées relativement à la matière sèche ou brute, étaient plus importantes dans les contenus iléaux des lapereaux TCM que dans l'iléon des lapereaux HT, indépendamment de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours.

Tableau 45 Concentrations en acides gras à chaînes moyennes du contenu iléal des lapereaux à 36 jours en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment

	I28		T		Cvr, %	Valeurs de <i>P</i>		
	HT	TCM	HT	TCM		Souche inoculée	Huile incorporée	Inter- action
C8 en g.100g ⁻¹ des AGT	0,28 ^a	4,69 ^b	0,00 ^a	7,31 ^c	53	†	***	*
C10 en g.100g ⁻¹ des AGT	0,94 ^a	5,36 ^b	0,38 ^a	7,34 ^b	38	NS	***	*
[AGT] en mg.g ⁻¹ de MS	19,79	18,00	11,97	11,81	39	**	NS	NS
[AGT] en mg.g ⁻¹ de MB	1,76	1,29	1,49	1,32	50	NS	NS	NS
[C8] en mg.g ⁻¹ de MS	0,08	0,71	0,00	0,87	61	NS	***	NS
[C10] en mg.g ⁻¹ de MS	0,22	0,90	0,04	0,88	51	NS	***	NS
[C8] en mg.g ⁻¹ de MB	0,00	0,08	0,00	0,10	81	NS	***	NS
[C10] en mg.g ⁻¹ de MB	0,02	0,08	0,01	0,10	72	NS	***	NS

AGT : acides gras totaux; Moyennes arithmétiques; MS : matière sèche, MB : matière brute; Lors d'une interaction significative, les moyennes sans lettre en commun sur une même ligne sont significativement différentes ($P<0,05$); Cvr : coefficient de variation résiduelle; NS $P>0,10$, † $P<0,10$, * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.

IV.C.3. Conséquences sur le devenir dans le tractus digestif des acides gras autres que les acides caprylique et caprique

Le profil des acides gras étant très différent entre les deux aliments selon la nature de l'huile incorporée, il convenait d'établir le devenir des acides gras, autres que l'acide caprylique et l'acide caprique, dans le tractus digestif des lapereaux. En effet, ces acides gras sont eux-mêmes des composants éventuellement bioactifs.

Le profil des acides gras dans le contenu stomacal a été affecté par l'huile incorporée dans l'aliment, et notamment les acides gras pour lesquels de grandes différences étaient présentes dans le profil des aliments : C16:0, C18:0, C18:1 cis9, C18:2 (Tableau 46). L'infection a également affecté le profil de certains acides gras. Ainsi les proportions de C16:1 et de C20:4 étaient significativement augmentées lorsque les animaux ont été inoculés avec la souche d'*E. coli* entéropathogène à 28 jours, et les proportions de C16:0, C18:1 (t6), C18:1 (t12) et de C22:1 tendaient également à être supérieures ($P<0,10$).

Tableau 46 Profil des différents acides gras du contenu stomacal des lapereaux à 36 jours en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment (sauf C8:0 et C10:0)

Profil (%)	I28		T		CVr, %	Valeurs de P		
	HT	TCM	HT	TCM		Souche inoculée	Huile incorporée	Interaction
C4:0	0,01	0,32	0,61	0,36	151	†	NS	NS
C6:0	0,06 ^a	0,24 ^c	0,13 ^{ab}	0,19 ^{bc}	48	NS	***	*
C14:0	1,06	1,17	0,84	1,27	35	NS	†	NS
C16:0	15,34	13,79	14,30	13,49	7	†	**	NS
C16:1	0,56	0,50	0,37	0,41	36	*	NS	NS
C17:1	0,12	0,23	0,11	0,29	105	NS	*	NS
C18:0	4,83	3,26	4,36	2,80	29	NS	***	NS
C18:1 (c9)	17,69	12,11	17,74	10,68	11	NS	***	NS
C18:1 (c11)	0,70	0,58	0,70	0,57	8	NS	***	NS
C18:1 (t6)	0,01	0,02	0,00	0,00	316	†	NS	NS
C18:1 (t12)	0,00	0,03	0,00	0,00	308	†	NS	NS
C18:2	36,71	24,44	39,86	27,30	19	NS	***	NS
C20:4	0,08	0,07	0,02	0,00	146	**	NS	NS
C22:1	0,08	0,05	0,05	0,02	117	†	NS	NS

Moyennes arithmétiques; Seuls figurent les acides gras pour lesquels une différence entre lots a été observée; Pour la composition complète, se référer à la Figure 67; CVr : coefficient de variation résiduelle; NS $P>0,10$, † $P<0,10$, * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$; Lors d'une interaction significative, les moyennes sans lettre en commun sur une même ligne sont différentes ($P<0,05$).

Pour ce qui concerne le devenir des différents acides gras dans le contenu iléal (Tableau 47), de nombreuses différences selon la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours ont été mises en évidence. Des proportions plus importantes de C16:1, C17:0, C18:0 et C20:4 ont été observées dans l'iléon des lapereaux I28, alors que les proportions de C11:0, C18:2 et C18:3 étaient plus faibles. Tandis que les proportions iléales de C12:0 étaient plus fortes lorsque les lapereaux ingéraient l'aliment TCM, celles de C18:1 (c9) étaient plus faibles.

Tableau 47 Profil des différents acides gras du contenu iléal des lapereaux à 36 jours en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment (sauf C8:0 et C10:0)

Profil (%)	I28		T		CVr, %	Valeurs de P		
	HT	TCM	HT	TCM		Souche inoculée	Huile incorporée	Interaction
C11:0	0,36	0,27	0,70	0,69	64	**	NS	NS
C12:0	0,38	0,76	0,15	0,41	101	†	*	NS
C16:1	0,82	0,24	0,09	0,06	181	*	NS	NS
C17:0	0,61	0,75	0,37	0,34	67	*	NS	NS
C18:0	13,50	11,22	5,55	4,68	46	***	NS	NS
C18:1 (c9)	14,64	11,17	16,02	11,00	12	NS	***	NS
C18:1 (c11)	0,93	0,58	0,73	0,65	42	NS	†	NS
C18:2	34,52 ^{ab}	25,05 ^a	37,75 ^b	30,35 ^{ab}	21	†	†	**
C18:3	3,81	4,30	5,68	6,33	28	***	NS	NS
C20:4	1,54 ^a	0,84 ^{ab}	0,00 ^b	0,08 ^b	99	***	NS	†
Inconnus	8,54	10,54	12,23	12,51	36	†	NS	NS

Moyennes arithmétiques; Seuls figurent les acides gras pour lesquels une différence entre lots a été observée. Pour la composition complète, se référer à la Figure 67; CVr : coefficient de variation résiduelle; NS $P>0,10$, † $P<0,10$, * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$; Lors d'une interaction significative, les moyennes sans lettre en commun sur une même ligne sont différentes ($P<0,05$).

IV.D. RESULTATS : CONSEQUENCES PHYSIOLOGIQUES DE LA NATURE DE L'HUILE INCORPORÉE DANS L'ALIMENT ET DE LA SOUCHE D'*E. COLI* INOCULÉE A 28 JOURS

IV.D.1. Evaluation de la digestibilité fécale apparente

En raison de quelques problèmes sanitaires sur les lapereaux témoins au cours de la période de collecte des fèces, le nombre initial de 8 cages par lot a été réduit (Tableau 48).

Les valeurs de digestibilité des différents nutriments n'ont pas significativement différé entre les deux aliments, et ce, quelle que soit la méthode de détermination employée (Tableau 48).

Tableau 48 Digestibilité fécale apparente des nutriments de 38 à 42 jours en fonction de l'huile incorporée dans l'aliment par les lapereaux non infectés T

	Méthode référence				Méthode décalée			
	TCM	HT	Cvr, %	P	TCM	HT	Cvr, %	P
<i>Nombre d'analyses</i>	4	5			4	5		
Digestibilité (%)								
Matière organique	68,8	67,9	1,6	NS	66,1	65,3	2,0	NS
Protéines brutes	76,7	76,9	1,8	NS	74,6	75,0	1,8	NS
Matières grasses	86,6	86,6	1,2	NS	85,4	85,6	1,0	NS
NDF	41,9	40,6	5,2	NS	36,9	35,7	6,8	NS
ADF	30,6	30,5	7,7	NS	24,5	24,8	11,9	NS
Energie	68,7	67,4	1,5	NS	65,9	64,7	2,0	NS

Moyennes arithmétiques; Effet de l'huile incorporée : NS = $P > 0,10$.

IV.D.2. Evaluation de différents paramètres digestifs à 36 jours

Trois et 4 animaux sur 8 présentaient des signes cliniques et/ou des lésions macroscopiques du tractus digestif au moment de l'abattage dans les lots HT-I28 et TCM-I28, respectivement (souillure péri-anale, présence de gaz dans l'estomac et le cæcum, peu de contenu stomacal, contenu de l'intestin grêle très liquide, ulcères stomacaux, congestion de l'intestin grêle).

A l'exception du pH cæcal, l'infection des lapereaux par une souche d'*E. coli* entéropathogène à 28 jours a induit des modifications de tous les paramètres physiologiques digestifs mesurés 8 jours après l'inoculation (Tableau 49). Le pH stomacal, que ce soit au niveau fundique ou antral, était plus acide dans les lots I28 (de -1,3 et -0,5 unités, respectivement, $P < 0,01$). De plus, le pourcentage de matière sèche des contenus stomacal et iléal était plus faible (-4 et -3 points, respectivement, $P < 0,05$) et la flore colibacillaire cæcale plus abondante de 3 à 4 log ($P < 0,001$). En revanche, la nature de l'huile incorporée dans l'aliment n'a pas semblé affecter les paramètres mesurés, excepté le pH du fundus de

l'estomac. La baisse du pH fundique observée lors d'une inoculation par un *E. coli* O103 serait principalement expliquée par un pH beaucoup plus acide dans le fundus des lapereaux HT-I28 comparativement à leur témoin HT-T, alors que le pH fundique des lapereaux TCM, infectés ou non à 28 jours, présentait des valeurs intermédiaires.

Tableau 49 Détermination de différents paramètres des contenus stomacaux, iléaux et cœcaux à 36 jours en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment des lapereaux

	I28		T		CVr, %	Valeurs de <i>P</i>		
	HT	TCM	HT	TCM		Souche inoculée	Huile incorporée	Interaction
Poids des lapereaux sacrifiés (36 jours)	691	742	839	839	12	***	NS	NS
Estomac								
pH antrum	0,9	0,8	1,4	1,3	23	***	NS	NS
pH fundus	1,3 ^a	1,9 ^{ab}	3,5 ^b	2,4 ^{ab}	58	**	NS	†
% MS contenu	14,9	15,7	19,2	19,7	22	**	NS	NS
Iléon								
% MS contenu*	9,6	8,6	12,5	11,1	31	*	NS	NS
Cæcum								
% MS contenu	18,0	17,7	21,2	21,6	22	*	NS	NS
pH	6,2	6,2	5,9	6,0	8	NS	NS	NS
Log coli	6,1	5,0	2,8	1,1	67	***	NS	NS
% rhamnose -	94,3	80,8	0,0	0,0	-	-	-	-

* déterminé après 48h de lyophilisation; MS : matière sèche; Moyennes arithmétiques; Lors d'une interaction significative, les moyennes sans lettre en commun sur une même ligne sont différentes ($P < 0,05$); CVr : coefficient de variation résiduelle; NS $P > 0,10$, † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

D'après le Tableau 50, seuls les paramètres concernant les acides gras volatils ont été modifiés par l'infection expérimentale à 28 jours : diminution de 37% des concentrations en AGV totaux ($P < 0,001$), augmentation des concentrations en AGV mineurs ($P < 0,05$) et tendance à une augmentation du ratio propionate/butyrate lorsque les lapereaux ont été inoculés avec la souche entéropathogène d'*E. coli*.

Tableau 50 Détermination des activités bactériennes cœcales à 36 jours en fonction de la souche d'*E. coli* inoculée à 28 jours et de l'huile incorporée dans l'aliment des lapereaux

	I28		T		CVr, %	Valeurs de <i>P</i>		
	HT	TCM	HT	TCM		Souche inoculée	Huile incorporée	Inter- action
Acides gras volatils								
AGV totaux [°]	46,1	46,3	82,6	63,0	33	***	NS	NS
AGV mineurs [°]	0,5	0,6	0,2	0,3	94	*	NS	NS
Ratio C3/C4	0,8	1,5	0,5	0,5	115	†	NS	NS
Ammoniaque [°]	7,4	7,4	7,7	9,4	24	NS	NS	NS
Activités enzymatiques*								
Cellulolytique	6,8	14,8	18,5	18,5	103	NS	NS	NS
Xylanolytique	76,9	139,8	107,5	93,3	75	NS	NS	NS
Pectinolytique	137,8	267,1	168,9	151,9	86	NS	NS	NS

[°] en mMol.L⁻¹ de la phase aqueuse; * en μMol de substrat libéré.g⁻¹ de matière sèche.h⁻¹; Moyennes arithmétiques; CVr : coefficient de variation résiduelle; NS $P > 0,10$, † $P < 0,10$, * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$.

L'augmentation du ratio propionate/butyrate liée à l'infection expérimentale a été occasionnée par un accroissement de la proportion du propionate dans le cæcum des lapereaux I28 (+67%, $P=0,01$), alors que les proportions d'acétate et de butyrate demeuraient inchangées. Les activités fibrolytiques de la flore cæcale et les concentrations en ammoniacque n'ont pas été modifiées suite à l'infection expérimentale.

Aucun effet de la nature de l'huile incorporée dans l'aliment n'a été souligné pour ces paramètres cæcaux.

IV.E. DISCUSSION

IV.E.1. Conséquences physiologiques de l'infection par *E. coli* O103:H2

L'infection expérimentale par un *E. coli* O103 entéropathogène est à l'origine de désordres digestifs importants : contenus stomacaux, iléaux et cæcaux liquides probablement consécutivement à des troubles hydroélectrolytiques, diminution du pH stomacal au niveau fundique et antral, perturbations des fermentations bactériennes cæcales (baisse de 37% de la concentration en acides gras volatils totaux, et modification de leur profil, augmentation de la concentration en acides gras volatils mineurs).

Les analyses de la teneur en matière sèche des contenus de différents compartiments digestifs dans notre étude ne viennent que confirmer l'observation visuelle de contenus très liquides au cours des autopsies des animaux atteints de colibacillose. Le résultat le plus original concerne peut-être l'évolution du pH stomacal. Aucune étude, à notre connaissance, n'a précisé l'évolution du pH stomacal d'animaux infectés par un colibacille entéropathogène. Cette hyperacidité gastrique mesurée à 36 jours pourrait expliquer les lésions d'ulcérations de la muqueuse stomacale observées au cours des autopsies. La régulation des sécrétions acides est complexe et fait intervenir différents mécanismes neuro-hormonaux, aux niveaux central et périphérique (Konturek *et al.*, 2004a). Aussi, il semble difficile de privilégier, pour le moment, un mode d'action selon lequel les *E. coli* perturberaient la régulation des sécrétions acides stomacales. Une seule étude, à notre connaissance, rapporte un cas de lésion d'attachement/effacement sur la paroi stomacale occasionnée par un EPEC, et il s'agit d'un chien infecté de manière concomitante par le virus de la maladie de Carré (Wada *et al.*, 1996). Ce point pourrait faire l'objet de recherches à l'avenir, car ce dérèglement physiologique semble intervenir assez précocement dans l'évolution de la maladie.

Les conséquences digestives de l'infection sont également soulignées par les augmentations de concentrations en acides gras des contenus secs stomacaux et iléaux. Cette observation suggère que les lapereaux infectés auraient des capacités à digérer les graisses amoindries. Cependant si cette observation vaut également pour les acides gras à chaînes

moyennes dans l'estomac, il semble qu'au niveau iléal, les lapereaux infectés digèrent et absorbent mieux les acides gras à chaînes moyennes comparativement aux autres acides gras. En effet, malgré des concentrations en acides gras totaux accrues dans le contenu iléal, ces lapereaux infectés présentent une proportion moindre d'acides caprylique et caprique par rapport aux autres acides gras que leurs homologues non infectés. Ainsi, les concentrations iléales (exprimées en matière sèche) du C8:0 et du C10:0 sont semblables que les lapereaux soient inoculés avec une souche d'*E. coli* pathogène ou non, lorsqu'ils reçoivent un aliment enrichi avec des acides gras à chaînes moyennes. La lipase gastrique, à forte affinité pour les acides gras à chaînes moyennes, agit préférentiellement à des pH compris entre 5 et 6 (Moreau et al., 1988a). Le pH gastrique très acide des animaux infectés pourrait altérer la digestion des triglycérides à chaînes moyennes au niveau de l'estomac, laquelle serait compensée ultérieurement au niveau de l'intestin grêle. Cependant, il s'agit d'un prélèvement ponctuel, et des troubles de l'ingestion ainsi que des modifications du transit intestinal auraient également pu concourir à l'altération de ces paramètres.

Les modifications du profil fermentaire cœcal que nous avons observées (diminution des acides gras volatils totaux, augmentation de la concentration en acides gras volatils mineurs) n'avaient pas été constatées dans des études antérieures dans le cæcum de lapereaux environ 8 jours après leur infection par un *E. coli* O132 à 28 jours (Peeters et al., 1995) ou 32 jours (Peeters et al., 1993), ou par un *E. coli* O103 à 30 jours (Peeters et al., 1992). Cependant, la souche O132 utilisée dans les 2 premières études est considérée comme moyennement pathogène et le comptage colibacillaire peut être augmenté (Peeters et al., 1995) ou rester stable (Peeters et al., 1993) dans le cæcum des lapereaux infectés. La souche O103, en revanche, provoque un accroissement de 6 log de la flore colibacillaire cœcale 7 jours post-infection, et est accompagnée d'une légère augmentation du pH de 0,25 unités (Peeters et al., 1992). Prohászka (1980) avait également montré des valeurs de pH accrues de 1,2 unités dans le cæcum de lapereaux atteints de colibacillose. Dans notre étude, le pH cœcal n'est pas significativement affecté par l'infection, en accord avec les résultats des études d'inoculation par un *E. coli* O132 (Peeters et al., 1993; Peeters et al., 1995).

IV.E.2. Influence des triglycérides à chaînes moyennes sur les désordres digestifs occasionnés par l'infection à *E. coli* O103:H2

Une diminution soudaine des quantités d'acide caprylique ingérées est observée après le sevrage, indépendamment de l'aliment distribué aux lapereaux. Cependant, lorsque les lapereaux reçoivent l'aliment supplémenté en TCM, le niveau d'acide caprylique ingéré chute à un niveau similaire à celui fourni par le lait maternel en fin de période de lactation. Même lors de l'inoculation d'une souche d'*E. coli* O103, les lapereaux ingèrent à 35 jours des

quantités d'acides caprylique et caprique importantes. Ainsi, les concentrations en acides caprylique et caprique restent supérieures dans les contenus des lapereaux recevant l'aliment TCM, qu'ils aient été infectés ou non à 28 jours.

Cependant, l'incorporation des TCM n'a pas permis d'atténuer les désordres digestifs occasionnés par l'infection expérimentale, excepté au niveau du fundus stomacal. En effet, ce pH est moins acide (1,9 vs. 1,3) lorsque les lapereaux ingèrent l'aliment TCM, mais cette valeur est toutefois inférieure à celles des lapereaux non infectés. Il est peu probable que les acides gras à chaînes moyennes aient un effet directement modulateur des sécrétions acides stomacales, car les lapereaux non infectés et ingérant l'aliment supplémenté en TCM tendent à présenter un pH fundique plus acide que celui des lapereaux ingérant l'aliment à base d'huile de tournesol. Ils pourraient, en revanche, interférer avec les mécanismes conduisant à l'altération de la régulation des sécrétions acides lors d'une infection par une souche entéropathogène d'*E. coli*.

Mais les concentrations iléales en acides caprylique et caprique deviennent relativement faibles : la concentration globale de C8 et de C10 est de 0,20 mg.g⁻¹ de matière brute pour les lapereaux témoins et de 0,16 mg.g⁻¹ pour les lapereaux infectés par *E. coli* O103. Ces faibles concentrations pourraient expliquer l'absence d'effets bénéfiques des triglycérides à chaînes moyennes sur les désordres digestifs occasionnés par la colibacillose : pas d'inhibition de la croissance cæcale des *E. coli*, pas d'atténuation des perturbations hydroélectrolytiques, pas de réduction des altérations du profil fermentaire cæcal. Sun *et al.* (2002) ont montré que l'acide caprylique libéré après hydrolyse des graisses du lait de vache pouvait inhiber la croissance des *E. coli* à des concentrations inférieures à 0,3 g.L⁻¹ (2 mM) à un pH de 4,6. Cependant, ces concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la croissance des *E. coli* par l'acide caprylique avaient tendance à augmenter relativement rapidement avec un pH se rapprochant de la neutralité (×20 à pH = 7). Des auteurs ont modélisé les capacités inhibitrices de 8 acides organiques, dont les acides caprylique et caprique, sur la croissance de 6 souches bactériennes à un pH de 5,25 (Hsiao *et Siebert*, 1999). D'après leur modèle mathématique pour les *E. coli*, les CMI seraient de 3,4 g.L⁻¹ pour l'acide caprylique et de 19,3 g.L⁻¹ pour l'acide caprique, concentrations très supérieures à celles mesurées dans le contenu iléal des lapereaux dans notre étude. Cependant ces CMI sont déterminées *in vitro* dans des conditions spécifiques (une souche bactérienne particulière, conditions de milieu (pH)...). Les conditions environnantes dans le tractus digestif varient de manière importante selon le segment considéré. De nombreuses particules alimentaires sont présentes et pourraient interagir, positivement ou négativement, avec ces acides gras. De plus, le degré d'estérification, que nous n'avons pas déterminé dans notre étude, pourrait jouer un rôle important sur les propriétés bactériostatiques de ces acides gras à chaînes moyennes dans le tractus digestif. En

effet, les monoglycérides auraient, du moins *in vitro*, une activité antimicrobienne beaucoup plus importante que leurs homologues non estérifiés (*Kabara et al., 1972; Isaacs et al., 1995; Petschow et al., 1996*).

DISCUSSION GENERALE

Le sevrage du lapereau intervient à un moment où la morphologie et les fonctionnalités du système digestif sont en cours de développement. Il consiste en l'arrêt de l'allaitement avec une transition, plus ou moins progressive selon l'âge auquel il est réalisé, vers un aliment granulé solide de composition chimique très différente. L'impact du sevrage, et surtout des changements nutritionnels occasionnés dans le cas du lapin, sur la dynamique de la maturation digestive est mal connu. Or, sa compréhension pourrait permettre de formuler des hypothèses quant à la sensibilité des lapereaux aux affections digestives après leur sevrage.

Aussi, les objectifs de ce travail de thèse ont été d'étudier 1) la dynamique de la maturation structurale et fonctionnelle du système digestif, 2) son adaptabilité chez le jeune à des modifications précoces et notoires du statut nutritionnel, *via* un sevrage précoce à 21 jours et 3) les conséquences de ces modifications nutritionnelles sur la sensibilité des lapereaux à une colibacillose expérimentale à EPEC. Les résultats obtenus au cours de ces études, associés aux données de la littérature, nous ont conduit à élaborer une stratégie alimentaire autour du sevrage, visant à améliorer leur résistance vis-à-vis d'un stress digestif, en conservant le même modèle de colibacillose expérimentale.

Dans la partie qui va suivre, nous allons dans un premier temps discuter des aspects méthodologiques, notamment de la pertinence des méthodes choisies pour les objectifs visés. Après une discussion concernant l'évolution du profil d'ingestion des lapereaux autour du sevrage, nous raisonnerons la dynamique de la maturation structurale et fonctionnelle de l'appareil digestif, parallèlement aux modifications de l'environnement nutritionnel des lapereaux. Puis les aspects de sensibilité à la colibacillose du jeune, en lien avec le statut nutritionnel (âge au sevrage et incorporation de substances potentiellement bioactives dans l'aliment des lapereaux) seront discutés.

I. ASPECTS METHODOLOGIQUES

L'originalité de notre travail réside dans l'*approche pluridisciplinaire de la maturation du système digestif du lapereau* faisant appel à différentes méthodes complémentaires : anatomie, enzymologie, histologie, microbiologie, immunologie... Ainsi, nous nous sommes intéressés à l'impact du statut nutritionnel sur le développement structural et fonctionnel à différents étages de l'appareil digestif, mais également à son influence sur la santé intestinale du lapereau autour du sevrage. Des études descriptives sont disponibles dans la littérature sur le développement des structures anatomiques et de certaines fonctions digestives. Mais peu ont étudié le rôle joué par l'environnement, et notamment l'alimentation, dans cette maturation. Or, cette étape est indispensable pour définir à terme une composition et un mode

de distribution de l'aliment assurant aux lapereaux un développement harmonieux de l'équilibre entre l'alimentation, la flore et l'hôte.

Aussi, une originalité importante de notre travail est l'intérêt que nous avons porté à la période pré-sevrage. En effet, celle-ci est peu étudiée probablement en raison des difficultés méthodologiques (échantillonnages difficiles en lien avec la petite taille de l'animal, alimentation mixte lait/aliment végétal, animaux répartis en portées ne permettant pas le suivi individuel de l'ingestion d'aliment, état physiologique instable...).

I.A. CHOIX DES MODELES

Pour étudier l'implication des facteurs nutritionnels sur la maturation digestive chez le jeune, diverses possibilités s'offraient à nous : moduler l'ingestion d'aliment granulé (âge au sevrage, taille de portée, rationnement) ou modifier la composition de l'aliment. Le choix que nous avons fait de **moduler l'âge au sevrage** des lapereaux nous a permis d'étudier dans quelle mesure l'augmentation de l'ingéré d'aliment granulé, associé à un arrêt précoce des apports de lait maternel, pouvait intervenir sur le développement de la fonction digestive du jeune. Ce modèle a permis de faire **varier précocement et intensément l'ingéré de nutriments** d'un point de vue quantitatif, mais également qualitatif, par le biais du ratio lait/aliment granulé. Une modification de la composition chimique de l'aliment aurait impliqué inévitablement la substitution relative de certaines matières premières, et il aurait été difficile de dissocier les effets liés aux incapacités d'adaptation des fonctions digestives du lapereau, de ceux liés aux qualités intrinsèques de l'aliment. Cependant, lorsque l'on module l'âge au sevrage avec un aliment unique, il reste relativement difficile pour certains paramètres d'estimer les variations liées à l'arrêt d'apports de substances lactées, pour certaines bioactives, de celles liées à l'augmentation de l'ingestion de l'aliment végétal (par exemple pour l'évaluation de la capacité des lapereaux à se défendre vis-à-vis d'un agent pathogène...). D'autre part, il est probable que le lait maternel interagisse avec différents paramètres physiologiques digestifs, tels que le comportement circadien de l'ingestion de granulés, la vitesse de transit des digestas.

Nous avons choisi dans un deuxième temps de **déséquilibrer artificiellement la flore microbienne**, afin d'étudier les conséquences d'une modification précoce de l'environnement nutritionnel sur la santé des lapereaux. L'inoculation orale d'un agent infectieux tel qu'une souche entéropathogène d'*E. coli* O103 est un modèle présentant plusieurs avantages. Les conditions expérimentales sont contrôlées : tous les lapereaux sont soumis à une même dose infectieuse à un moment choisi. La sélection d'un *E. coli* entéropathogène du sérotype O103:H2:K- (souche E22) est délibérée. Agent très fréquemment rencontré en élevage cynicole, il constitue un modèle proche des préoccupations de la filière. Qui plus est, les

mécanismes de son pouvoir pathogène commencent à être relativement bien expliqués. En revanche, du fait de sa virulence, quelques difficultés pratiques se posent en terme d'expérimentation, notamment pour prévenir la contamination des animaux témoins.

I.B. CHOIX DES METHODES

D'un point de vue général, les particularités du comportement alimentaire du lapin suscitent quelques difficultés pour le recueil et l'interprétation de données de physiologie digestive. En effet, contrairement à l'allaitement qui s'effectue en une unique prise quotidienne, l'ingestion d'aliment solide est répartie sur la journée au cours de multiples petits repas : une quarantaine par jour, constitués de 2 à 3 grammes d'aliment pour un lapereau de 6 semaines (*Prud'hon et al., 1975*). Ainsi, il est difficile de standardiser les prélèvements par rapport à un repas pour l'évaluation des fonctions digestives. De plus, la répartition au cours de la journée (rythme nyctéméral ?) et par rapport au moment de l'allaitement, ainsi que la fréquence de ces repas sont méconnues chez le lapereau non sevré. Une autre difficulté est liée à la pratique de la cæcotrophie constituant un apport nutritionnel quotidien non négligeable : la contribution des cæcotrophes à la matière sèche totale ingérée journalièrement varie de 11 à 20% selon les études (*Gidenne et Lebas, 1987; Carabaño et al., 2000; García et al., 2000*), et cette pratique participe à environ 20% des apports journaliers en azote (*García et al., 1995*). Il est probable que sa mise en place, méconnue chez le jeune, diffère selon l'âge au sevrage, et que celle-ci ait pu avoir des répercussions sur la physiologie digestive des lapereaux. Il conviendra donc de garder à l'esprit ces informations générales dans l'interprétation de nos résultats.

Les avantages et inconvénients liés aux qualités intrinsèques des méthodes utilisées, éventuellement précisés dans la partie expérimentale, ne seront pas décrits dans cette partie. Nous nous intéresserons plus particulièrement aux objectifs visés et à la pertinence des différentes méthodes choisies afin d'y parvenir (Tableau 51 et Figure 68).

Il était essentiel, dans un premier temps, de ***caractériser l'environnement nutritionnel des lapereaux autour du sevrage, selon l'âge auquel celui-ci était réalisé***, afin 1) de valider notre modèle de stimulation de l'ingestion d'aliment granulé, et 2) de préciser l'évolution de l'ingestion quotidienne d'aliment par les lapereaux. Pour des raisons techniques, ces mesures ont été effectuées au niveau collectif et ne donnent donc pas d'informations sur la variabilité individuelle. En effet, aucune méthode permettant d'étudier le comportement d'ingestion individuel des lapereaux avant le sevrage n'est encore disponible. Dans le but de comprendre

les mécanismes impliqués dans la maturation du système digestif, nous avons choisi un modèle qui produirait des conditions assez extrêmes de modifications nutritionnelles : un sevrage précoce à 21 jours *vs.* un sevrage tardif à 35 jours sans antagonisme entre gestation et production laitière chez la lapine (insémination artificielle 25 jours après mise-bas (études 1 et 2) ou pas d'insémination (études 3 et 4)). En effet, 18 à 20 jours après l'insémination, la production laitière des femelles simultanément gestantes décroît rapidement comparativement à celle de femelles uniquement allaitantes (*Lebas, 1972; Maertens et De Groot, 1990*). Aussi, les différences observées dans nos études, notamment dans le comportement d'ingestion après 28 jours, seraient probablement moindres en conditions d'élevage plus classiques, où les femelles sont généralement inséminées 11 jours après la mise-bas.

Afin d'évaluer la maturation des fonctions digestives, nous nous sommes intéressés au développement anatomique et histologique de certains segments impliqués dans la digestion, ainsi qu'à l'évolution du potentiel enzymatique (enzymes d'origine pancréatique, de la bordure en brosse entérocytaire, et enzymes bactériennes cœcales). Comme mentionné, il s'agit uniquement d'un *potentiel* de digestion enzymatique. En effet, la transformation initiale des macronutriments alimentaires (glucides, lipides, protéines) en nutriments simples assimilables est un phénomène spatio-temporel complexe dont l'efficacité va dépendre de nombreux facteurs, dont : 1) la vitesse de transit des contenus digestifs, et des matières qui les composent, 2) la cinétique de synthèse et/ou de sécrétion des enzymes et "cofacteurs" (par exemple la bile) permettant leur transformation, 3) la cinétique de digestion et donc d'inactivation de ces effecteurs de type enzymatique ou autre, puis 4) la complémentarité spatiale, temporelle et quantitative de ces différents phénomènes.

Aussi, l'activité hydrolytique des enzymes d'origine pancréatique va dépendre en outre de leur niveau de synthèse dans le pancréas, de leur sécrétion et de leur activation dans l'intestin grêle (cinétique, quantité), et de leur disponibilité pour leur substrat (dépendante des autres substances contenues dans les contenus, du transit et de leur propre digestion). Ainsi, une stimulation de l'activité pancréatique par des sécrétagogues ou l'alimentation conduirait à une diminution temporaire des quantités d'enzymes dans le pancréas, liée à une libération accrue dans l'intestin grêle (*Rådberg et al., 2002*). De même, lorsque les activités des enzymes sont déterminées dans le contenu intestinal, celles-ci dépendent du niveau de sécrétion pancréatique mais également de la vitesse de leur dégradation par les protéases intestinales. Ainsi, il a été montré chez l'homme que seules 74%, 22% et 1% des activités duodénales de l'amylase, de la trypsine et de la lipase respectivement, sont retrouvées au niveau iléal en phase post-prandiale (*Lager et al., 1986*). Dans notre étude, nous n'avons pas réalisé d'échantillonnage au seul niveau duodéal en raison de quantités trop faibles de contenus. Pourtant, il aurait permis de s'affranchir en partie des problèmes d'inactivation des enzymes

par les protéases. Ces remarques sont d'autant plus importantes à considérer lorsque les prélèvements sont réalisés sur des animaux présentant des rythmes d'ingestion différents, ce qui est probable dans notre étude entre 21 et 35 jours. Le moyen le plus précis d'estimer les potentialités enzymatiques pancréatiques est sans doute de doser les activités directement dans le suc pancréatique, impliquant des méthodes invasives de cathétérisation des conduits pancréatiques peu envisageables chez le jeune lapereau dont les structures anatomiques sont encore peu développées. Il aurait donc été souhaitable de doser les activités enzymatiques à la fois au niveau du tissu pancréatique et de l'intestin grêle pour une meilleure estimation des potentialités enzymatiques du pancréas.

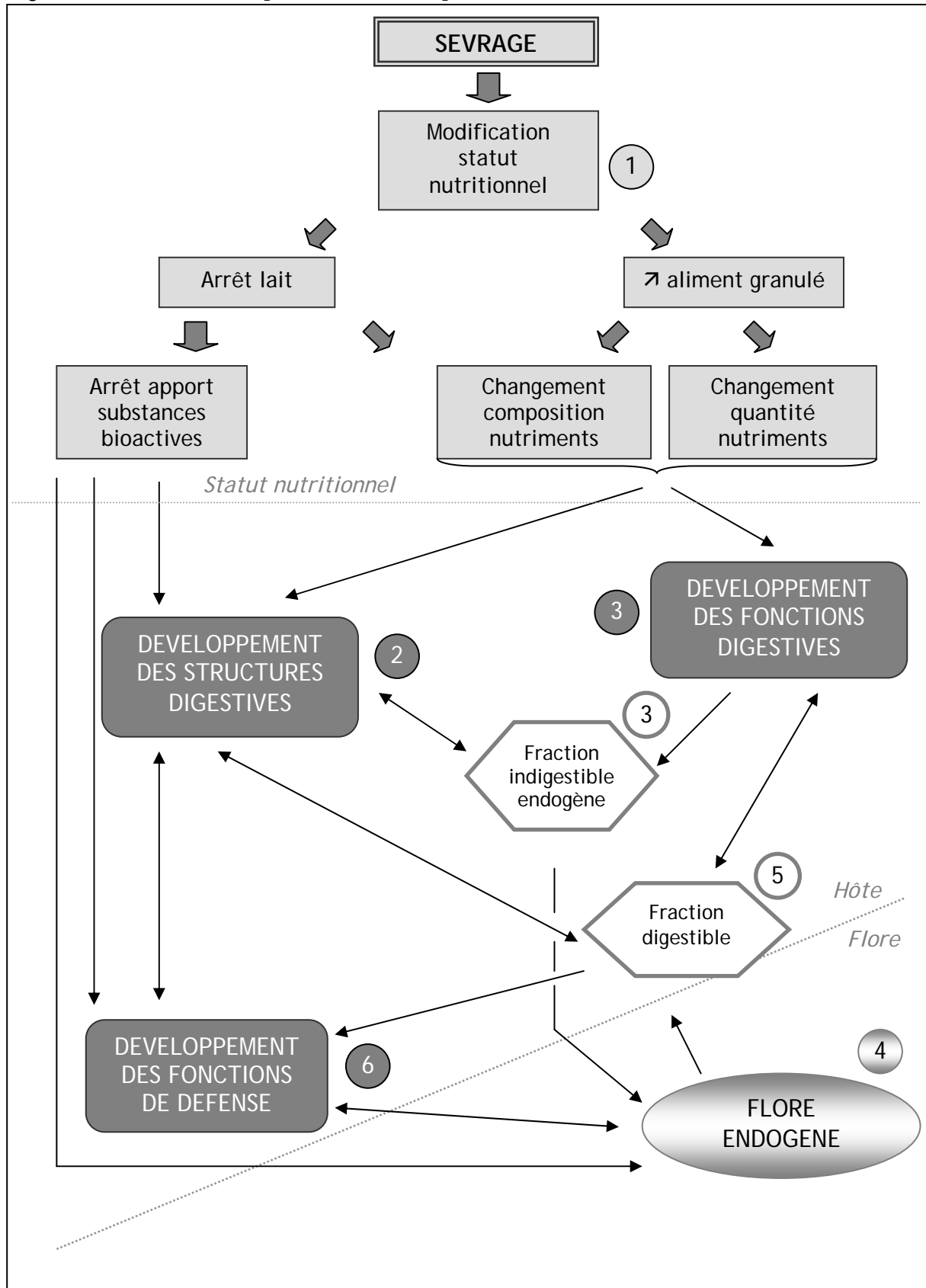
Pour ce qui concerne les enzymes de la bordure en brosse entérocytaire, les variations liées au transit intestinal sont probablement plus négligeables que pour les enzymes pancréatiques. Cependant, des variations de leur niveau d'activité sont observées au cours de la journée chez le rat qui présente, comme le lapin, une activité d'ingestion essentiellement nocturne (*Samulitis-Dos Santos et al., 1992; Kojima et al., 1998*). Ces niveaux d'activité peuvent varier du simple au double, mais il semble que l'amplitude de la réponse de la muqueuse à une modification de la teneur en glucides est la même quelle que soit l'heure de la journée chez le rat (*Samulitis-Dos Santos et al., 1992*). Cependant, avant sevrage, la variation au cours de la journée du niveau d'activité des disaccharidases intestinales semble dépendante des modalités de distribution de l'aliment : évolution différentielle des activités selon que les rats sont alimentés par voie intragastrique toutes les 2 heures avec un lait de remplacement ou en allaitement naturel (*Kojima et al., 1998*). Comme il est probable, dans notre étude, que les lapereaux encore allaités et les lapereaux sevrés présentent des rythmes d'ingestion de l'aliment granulé ainsi que des transits digestifs différents, il convient de garder à l'esprit ces remarques dans l'interprétation des données d'activités enzymatiques.

Ces considérations soulignent ***l'importance de mettre en relation ces dosages enzymatiques réalisés in vitro avec les capacités de digestion in vivo***. L'évaluation de la digestibilité iléale de l'aliment granulé nous a permis d'estimer le bilan des quantités de nutriments digérés par 24 heures dans la partie antérieure du tractus digestif, ainsi que le flux de nutriments non absorbés parvenant au cæcum. Il s'agit d'une estimation car elle est une mesure ponctuelle. La pose de canules iléales, permettant de réaliser différents prélèvements au cours de la journée, n'est malheureusement pas envisageable sur de si jeunes lapereaux.

Tableau 51 Pertinence des méthodes utilisées selon les objectifs fixés : avantages et limites

OBJECTIFS	METHODES	AVANTAGES	LIMITES
<p>1 Modifications d'environnement nutritionnel autour du sevrage</p>	<p>Ingestion d'aliment granulé Ingestion de lait</p>	<p>Mesure quotidienne la semaine suivant le sevrage <i>i.e.</i> de 21 à 28 j et de 35 à 42 j</p>	<p>Mesures collectives ⇒ pas d'informations sur les variabilités individuelles</p>
<p>2 Développement des structures digestives à 2 niveaux - anatomique - histologique</p>	<p>⇒ poids et longueurs des segments du tube digestif ⇒ morphométrie des villosités et cryptes intestinales</p>		<p>Morphométrie : examen semi-quantitatif (pas de prise en compte de la densité des villosités / unité de surface, des microvillosités)</p>
<p>3 Efficacité digestive endogène - potentiel enzymatique - capacités de digestion endogènes</p>	<p>⇒ enzymes d'origine pancréatique et de la muqueuse intestinale ⇒ digestibilité iléale</p>	<p>⇒ enzymes impliquées dans la digestion de différentes classes de nutriments (lipides, protéines, glucides) ⇒ estimation de la fraction indigestible parvenant au cæcum</p>	<p>Variations circadiennes et matériel endogène non pris en compte 2 études différentes : corrélations ne pouvant être établies entre les 2 types de paramètres mesurés</p>
<p>4 Activité fermentaire cæcale Composition de la flore ?</p>	<p>⇒ activités fibrolytiques cæcales ⇒ profil fermentaire cæcal</p>		<p>Méthode indirecte : lien entre profil fermentaire et composition de flore ??</p>
<p>5 Efficacité digestive totale</p>	<p>⇒ digestibilité fécale apparente</p>	<p>⇒ quantification de la fraction digestible totale</p>	<p>Bilan pouvant masquer des différences segmentaires</p>
<p>6 Capacité de défense du lapereau face à un déséquilibre artificiel de sa flore intestinale</p>	<p>⇒ inoculation expérimentale d'un colibacille entéropathogène (EPEC)</p>	<p>Conditions contrôlées : moment du déséquilibre, dose infectieuse, souche bactérienne</p>	<p>Choix d'un modèle précis, quelles conséquences pour un autre agent pathogène ??</p>

Figure 68 Nutrition du lapereau : vers un équilibre entre l'alimentation, l'hôte et la flore



x Pour la signification, se reporter au Tableau 51

Le même principe a été appliqué pour l'évaluation de l'adaptabilité des fonctions digestives à l'environnement alimentaire dans le gros intestin, où des *mesures d'activités fermentaires bactériennes* ont été réalisées *in vitro conjointement à l'estimation de la digestibilité fécale des aliments*. Cette dernière, combinant à la fois les phénomènes de digestion pré-cæcale et de digestion microbienne, a permis l'établissement d'un bilan digestif (quantités de nutriments ingérées vs. digestibles). En effet, la seule estimation de la digestibilité de l'aliment ne présage pas des capacités de digestion de lapereaux présentant différents niveaux d'ingestion des divers nutriments. La détermination de la digestibilité chez le jeune, pour lequel l'ingestion d'aliment et l'excrétion de fèces sont instables, a nécessité des adaptations méthodologiques présentées dans la partie expérimentale (*cf.* page 144 pour la présentation des méthodes développées et page 154 pour leur discussion).

Le lien entre produits des fermentations microbiennes et capacités digestives est difficile à établir : en effet, leurs concentrations cæcales sont la résultante d'un équilibre entre les phénomènes de digestion bactérienne, de leur absorption au niveau de la paroi cæcale et de leur utilisation éventuelle pour les biosynthèses microbiennes (cas de l'ammoniaque). De plus, *Bellier et al. (1995)* ont montré des variations circadiennes importantes des profils fermentaires cæcaux de lapereaux de 6 semaines : teneurs en matière sèche de 15 à 20%, pH de 5,7 à 6,5, teneurs en ammoniaque de 5 à 12 mM, concentrations en acides gras volatils totaux de 55 à 80 mM, ratios propionate/acétate de 0,4 à 1. En revanche, leur estimation pourrait permettre d'évaluer indirectement la composition de la flore cæcale des lapereaux, même si le lien entre les produits des fermentations et la flore n'est pas clairement établi chez le lapin. De même, pour les activités enzymatiques bactériennes, il s'agit d'un **potentiel** mesuré *in vitro*, à partir de substrats synthétiques non représentatifs de la complexité des fibres présentes dans les contenus cæcaux.

Aussi, *si chaque méthode présente des limites individuellement, considérer leurs résultats de façon combinée permet de formuler des conclusions et des hypothèses plus étayées.*

Puis nous avons évalué dans quelle mesure le statut nutritionnel était susceptible de modifier la sensibilité des lapereaux à un déséquilibre artificiel de la flore. L'inoculation expérimentale d'un agent pathogène est un moyen efficace pour placer l'ensemble des animaux dans les mêmes conditions expérimentales, à un moment et à une dose infectieuse contrôlés. Les effets observés sont cependant limités à l'agent pathogène choisi.

II. EVOLUTION DU PROFIL D'INGESTION AUTOUR DU SEVRAGE

Il est assez clairement admis que la disponibilité de lait maternel va conditionner le profil d'ingestion d'aliment granulé par les lapereaux. Ainsi, lorsque la taille de portée est modulée (10 vs. 4 lapereaux) à l'âge de 16 jours, les portées de 10 lapereaux compensent leur moindre consommation de lait par une augmentation de l'ingestion d'aliment granulé entre 16 et 25 jours (*Fortun-Lamothe et Gidenne, 2000*). De même, lorsque la période d'allaitement est volontairement raccourcie à 18 jours après la naissance, la consommation d'aliment solide granulé par les lapereaux sevrés est multipliée par 6 entre 18 et 22 jours, comparativement à celle de lapereaux encore allaités (*Piattoni et al., 1999*). Lorsque les lapereaux sont soumis à un double allaitement quotidien, et que leur ingestion journalière de lait est augmentée, leur consommation de granulés est alors diminuée (*Gyarmati et al., 2000a*). Cependant, le délai d'adaptation à l'arrêt d'apport de lait maternel après le sevrage n'est pas précisément décrit chez le lapin, à notre connaissance. Or, il importe de le déterminer car un déficit d'apport plus ou moins long de certains nutriments pourrait être préjudiciable pour le développement et la croissance des lapereaux. Nos résultats montrent que ***le lendemain d'un sevrage à 21 jours, l'ingestion d'aliment solide par les lapereaux n'est ni stimulée, ni diminuée*** (Figure 23). En revanche, dès le surlendemain, ils ingèrent 2 fois plus de granulés que des lapereaux encore allaités et de même âge, ce qui les conduit à un ingéré de matière sèche égal à celui de la ration mixte lait/aliment des lapereaux non sevrés. Par la suite, leur niveau d'ingestion de matière sèche devient supérieur à celui des lapereaux allaités. Ce phénomène d'adaptation n'est pas sans conséquences sur la qualité et la quantité des nutriments ingérés. Ainsi, dans nos conditions expérimentales, dès le 2^{ème} jour suivant leur sevrage à 21 jours, les niveaux d'ingestion d'amidon et de fibres par les lapereaux sevrés sont doublés par rapport à ceux des lapereaux encore allaités. En revanche, les quantités de protéines ingérées sont plus faibles pendant 4 jours post-sevrage puis deviennent similaires à celles des lapereaux allaités. La consommation de matières grasses par les lapereaux sevrés reste, quant à elle, inférieure à celle des animaux allaités. Au bilan, le niveau d'ingestion d'énergie brute devient similaire à celui des lapereaux allaités 3 jours après leur sevrage, puis le dépasse au moins jusqu'à 28 jours.

Lors d'un sevrage à 35 jours, les lapereaux compensent sans délai l'absence de lait maternel, en atteignant dans les 24 heures un niveau d'ingestion d'aliment granulé similaire à celui des lapereaux sevrés depuis deux semaines (Figure 24). Différentes hypothèses peuvent être formulées pour expliquer le délai observé chez les lapereaux sevrés à 21 jours concernant le développement de l'ingestion d'aliment granulé suite à l'arrêt d'apport de lait maternel, inexistant chez les lapereaux sevrés tardivement : difficulté physique à ingérer des quantités accrues d'aliment granulé, mécanismes de régulation de l'appétit non

aboutis chez le jeune de 3 semaines, animaux peu adaptés à l'aliment solide par opposition aux lapereaux sevrés à 35 jours déjà habitués à consommer des quantités importantes d'aliment solide au moment de leur sevrage...

III. STATUT NUTRITIONNEL ET MATURATION DE LA FONCTION DIGESTIVE

Deux hypothèses prévalent actuellement sur la composition de l'aliment adapté à la physiologie du lapereau autour du sevrage : un faible taux d'amidon, et une richesse en fibres seraient appropriés (*Gidenne et Fortun-Lamothe, 2002*). Ainsi, des auteurs ont émis l'hypothèse que les forts taux de mortalité par entéropathie observés après le sevrage pourraient être liés à un aliment trop riche en amidon. Un flux trop important d'amidon parvenant au cæcum serait alors à l'origine d'un déséquilibre de la flore (*Cheeke et Patton, 1980*). Cet afflux serait dû à une faible capacité du lapereau à digérer l'amidon, du fait d'une activité de l'amylase pancréatique trop faible (*Corring et al., 1972*). Une autre hypothèse concerne l'apport de lest, sous forme de fibres "indigestibles", dont un apport minimal semblerait nécessaire pour limiter les diarrhées post-sevrage. Il permettrait un renouvellement plus important des matières parvenant au cæcum, essentielles à l'activité de la flore (*Gidenne et al., 2000*). Cependant, peu d'études se sont intéressées au devenir de ces substances dans le tractus digestif, et notamment chez le jeune. Aussi, nous espérons pouvoir apporter quelques éléments de réponse, ou tout au moins suggérer des orientations de recherche futures.

III.A. DEVELOPPEMENT DE LA DIGESTION DANS L'INTESTIN GRELE

III.A.1. Evolution du potentiel digestif endogène chez le jeune lapereau sevré à 35 jours

L'évolution postnatale de l'équipement enzymatique pancréatique du lapereau a fait l'objet de peu d'études. *Lebas et al. (1971)* et *Corring et al. (1972)* ont réalisé des dosages sériés des activités de diverses enzymes du tissu pancréatique de lapereaux âgés de 1 à 43 jours. Ils ont montré que les activités spécifiques de la lipase et de l'amylase augmentent progressivement dans le tissu pancréatique, résultats confirmés par ceux de *Debray et al. (2003)* pour des lapereaux de 25 à 52 jours d'âge. Dans notre étude, la disponibilité de ces enzymes par rapport à leur substrat (évaluée par la mesure d'activité / gramme de contenu) augmente avec l'âge des lapereaux, phénomène en adéquation avec ces travaux antérieurs. Pour l'amylase, cette hausse d'activité pourrait correspondre à une capacité croissante des lapereaux à digérer l'amidon. En revanche, la part des matières grasses dans la ration des lapereaux tend à décroître

progressivement au cours de la lactation, puis diminue fortement au sevrage. Ensuite, les quantités de lipides ingérées augmentent progressivement, proportionnellement à l'accroissement des quantités d'aliment ingérées. Pourtant l'activité lipasique mesurée dans le contenu intestinal augmente graduellement. Cette évolution non parallèle entre quantité de matières grasses ingérée et activité lipasique dans le contenu intestinal pourrait être expliquée de différentes manières. La synthèse et la sécrétion pancréatique de la lipase pourraient ne pas être soumises à une régulation alimentaire, mais le seul fait d'une programmation ontogénique. Chez le lapin adulte, il semble que sa production pancréatique puisse être stimulée par un régime riche en graisses (*Borel et al., 1991*). Chez le jeune, cette adaptabilité semble moins nette (*Debray et al., 2003*), mais les variations de la teneur en matières grasses des aliments sont faibles dans cette étude (2,7 vs. 4,9%). L'activité de la lipase gastrique est très importante chez le lapereau allaité, puis elle diminue progressivement après sevrage (*Bernadac et al., 1991; Dojană et al., 1998*). Ainsi, une autre hypothèse pourrait être que les quantités de lipides parvenant au duodénum pourraient s'accroître progressivement avec l'âge, consécutivement à la diminution de l'activité de la lipase gastrique et donc parallèlement à l'augmentation de l'activité de la lipase pancréatique.

Pour la trypsine, *Corring et al. (1972)* notent une diminution de son activité spécifique dans le tissu pancréatique jusqu'à 32 jours, puis une stabilisation entre 36 et 43 jours, alors que *Debray (2002)* signale une activité stable entre 25 et 52 jours sur des échantillons de même nature. Nos résultats montrent une forte diminution de la disponibilité de cette enzyme dans le contenu intestinal entre 21 et 28 jours, puis une stabilisation de son activité jusqu'à 49 jours, ce qui n'est pas en désaccord avec les résultats précédemment obtenus sur broyat de pancréas. Cette forte diminution entre 21 et 28 jours pourrait être expliquée par l'évolution de la composition du contenu intestinal : d'un contenu presque exclusivement composé de matières d'origine lactée et de substances endogènes à 21 jours, à un contenu composé d'un mélange de matières lactées, végétales et endogènes à 28 jours. La présence de facteurs anti-trypsiques dans l'aliment végétal pourrait également contribuer à cette diminution de détection d'activité de la trypsine.

De 14 à 49 jours, le potentiel enzymatique des muqueuses duodénale et jéjunale s'accroît progressivement. Ainsi, lors d'un sevrage à 35 jours, les activités totales des disaccharidases (maltase et saccharase) sont très faibles jusqu'à 28 jours, puis augmentent progressivement jusqu'à 42 jours dans le duodénum ou jusqu'à 49 jours dans le jéjunum. *Debray (2002)* avait également observé cet accroissement de l'activité maltasique dans la muqueuse totale de l'intestin grêle de lapereaux âgés de 25 à 52 jours. Dans notre étude, cette activité disaccharidasique accrue avec l'âge est liée en partie à la densification de la muqueuse

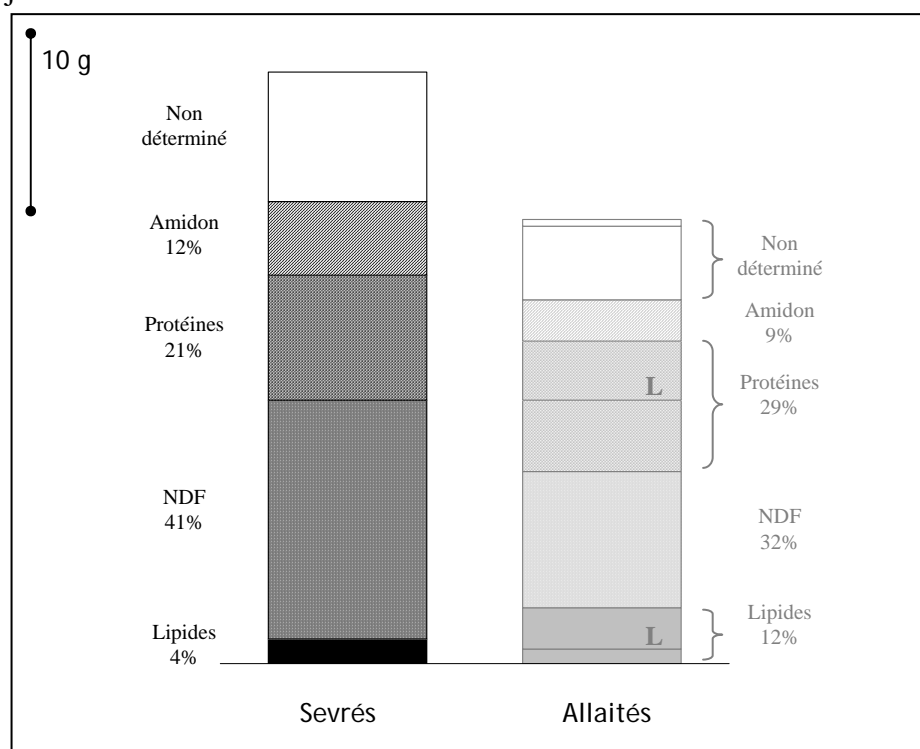
intestinale (poids par unité de longueur) et à l'élongation de l'intestin grêle (Figure 69). Mais elle résulte également d'un niveau de production de ces enzymes augmenté, lorsqu'il est exprimé relativement au contenu protéique total de la muqueuse (activité spécifique). En effet, les activités spécifiques de la maltase et de la saccharase augmentent jusqu'à 42 jours, sans que les concentrations en protéines de la muqueuse, non modifiées par l'âge, puissent expliquer ces variations. Cette évolution, assez indépendante du sevrage en lui-même, semble parallèle à l'accroissement de l'ingestion d'aliment solide. Pour ce qui concerne l'aminopeptidase N, son activité duodénale reste faible jusqu'au sevrage, puis augmente de façon importante ($\times 4$) entre 35 et 42 jours, accroissement essentiellement expliqué par l'augmentation de son activité spécifique (exprimée relativement au contenu protéique de la muqueuse). Dans le jéjunum, cette augmentation d'activité totale est plus progressive, du fait d'un accroissement de son activité spécifique détecté dès 28 jours.

III.A.2. Statut nutritionnel et capacités digestives pré-cœcales

◦ Adaptabilité à 28 jours

Dans nos conditions expérimentales, les lapereaux sevrés à 21 jours ont fait preuve de *capacités d'adaptation rapide aux changements nutritionnels quantitatifs* (augmentation des quantités d'amidon et de fibres ingérées) *et qualitatives* (protéines et matières grasses végétales vs. protéines et matière grasse lactées). En effet, la quantité et la nature des nutriments ingérés par les lapereaux à 28 jours diffèrent selon qu'ils sont sevrés ou allaités (Figure 70).

Figure 70 Modifications quantitatives et qualitatives de la matière organique ingérée selon que les lapereaux sont sevrés ou allaités à 28 jours



L : nutriment fourni par le lait

A 28 jours, l'amidon est digéré à 94% au niveau iléal que les lapereaux soient encore allaités ou sevrés depuis une semaine. *Les lapereaux sevrés ont donc été capables de digérer 1,8 fois plus d'amidon que les lapereaux allaités de même âge.* De même, Gutiérrez et al. (2002a) avaient observé sur des lapereaux sevrés à 25 jours des valeurs de digestibilité iléale de l'amidon de 90% en moyenne à 35 jours, pour des teneurs dans la ration variant de 17 à 23% d'amidon (en % de la matière sèche). Dans notre étude, la teneur en amidon de l'aliment distribué est plus faible, représentant 11,4% de la matière sèche. Cependant, si l'on considère que ces lapereaux sevrés consomment à 28 jours 1,8 fois plus d'amidon que leurs congénères encore allaités, cela suggère que des lapereaux allaités seraient à même de digérer un aliment

contenant 1,8 fois plus d'amidon à 28 jours, soit à un taux de 20%. Ce dernier est similaire aux recommandations actuelles d'apports aux lapines en reproduction qui avoisinent 20%. ***Ainsi, il est peu probable que le taux d'amidon de l'aliment des lapines puisse être à l'origine d'un déséquilibre*** (notamment de la flore cœcale) ***chez le lapereau, car celui-ci semble être en mesure de s'y adapter facilement***. Quelques limites à cette hypothèse seraient 1) que le rythme de libération de l'amidon dans l'intestin grêle soit trop important avec un aliment dont la teneur est plus importante : les capacités digestives endogènes des lapereaux pourraient alors être dépassées et l'amidon ne serait pas aussi bien valorisé, et 2) l'origine botanique de l'amidon incorporé dans l'aliment. Ainsi, l'amidon de maïs non extrudé ou de pomme de terre serait moins bien valorisé dans le tractus digestif antérieur que l'amidon de blé, d'orge ou de maïs extrudé (Gidenne et Perez, 1993; Blas et al., 1994; Pinheiro et Gidenne, 2000), notamment chez le jeune (Blas et al., 1994; Pinheiro et Gidenne, 2000). Or, dans notre étude, l'amidon est essentiellement fourni par le blé. Cependant, des travaux récents montrent qu'un flux iléal accru d'amidon, modulé par la nature des céréales incorporées dans l'aliment, n'aurait pas de conséquences néfastes sur les caractéristiques fermentaires cœcales, ni même sur la mortalité post-sevrage des lapereaux (Gidenne et al., 2005a; Gidenne et al., 2005b).

Cette capacité des lapereaux sevrés à digérer une ration plus riche en amidon ne semble pas pouvoir être attribuée à l'amylase pancréatique. Dans l'ensemble des études concernant l'augmentation de l'ingestion quotidienne d'amidon, aucun accroissement de l'activité amylasique n'est en général constaté, que celle-ci soit déterminée dans le contenu intestinal (Scapinello et al., 1999; Debray et al., 2003) ou dans le tissu pancréatique (Corring et al., 1972; Gutiérrez et al., 2002a; Debray et al., 2003). Nos résultats confirment ces observations. Cependant, en raison des limites d'interprétation des mesures des activités des enzymes d'origine pancréatique dans le contenu intestinal développées précédemment, il semble difficile de conclure si cela résulte d'une incapacité des synthèses et sécrétions pancréatiques à répondre à une stimulation alimentaire ou non.

En revanche, les activités enzymatiques totales mesurées dans la muqueuse duodénale des lapereaux sevrés à 21 jours sont accrues à 4 semaines d'âge (Figure 69). Cet accroissement résulte en partie d'une augmentation de la densité de la muqueuse duodénale chez ces lapereaux. Cette densification n'est pas liée à un accroissement de la surface villositaire. Une augmentation de la densité des villosités et des cryptes par unité de surface, ou encore un développement plus important de la *lamina propria* pourraient contribuer à ce phénomène. Mais, l'accroissement de ces activités totales des disaccharidases ne découle pas seulement d'une densification de la muqueuse, mais également d'un développement des activités des enzymes spécifiques, reflétant probablement la spécialisation enzymatique des entérocytes.

Cette augmentation d'activité de la maltase, notamment au niveau duodéal, pourrait donc en partie contribuer aux capacités des lapereaux à digérer des quantités accrues d'amidon. Pour la maltase, cette ***adaptabilité de la fonctionnalité de la muqueuse digestive aux stimuli alimentaires est précoce et rapide*** puisque seuls 5 jours (hypothèse maximale en raison du délai de prélèvement) se sont écoulés depuis le début d'une ingestion accrue d'amidon et l'augmentation de l'activité maltasique à 28 jours. Les mêmes conclusions pourraient être formulées pour expliquer l'augmentation de l'activité de la saccharase, impliquée dans la digestion du saccharose, composé fourni par l'aliment végétal. Nos résultats ne sont pas en accord avec les études concernant l'influence de l'alimentation sur le développement des activités des enzymes de la bordure en brosse intestinale du lapin, pour lesquelles l'augmentation de l'ingéré d'amidon ne semble pas stimuler les activités de la maltase (Scapinello et al., 1999; Gutiérrez et al., 2002a). Pourtant, Gutiérrez et al. (2002a) avaient induit d'importantes modifications des teneurs en amidon de l'aliment variant du simple au triple. Pour l'aminopeptidase N, la signification physiologique de son activité accrue à 28 jours chez les lapereaux sevrés depuis une semaine comparativement aux lapereaux encore allaités est moins bien expliquée : en effet, le niveau d'ingestion quotidien de protéines est similaire entre les 2 groupes d'animaux, et de plus elles représentent 29% de la matière organique ingérée par les lapereaux allaités vs. 21% dans la ration des lapereaux sevrés (Figure 70). Cependant, celles-ci diffèrent qualitativement, les protéines ingérées par les lapereaux allaités étant presque pour moitié d'origine lactée. Cette stimulation de l'activité de l'aminopeptidase N pourrait, par ailleurs, être dépendante du niveau alimentaire (Marion et al., 2005).

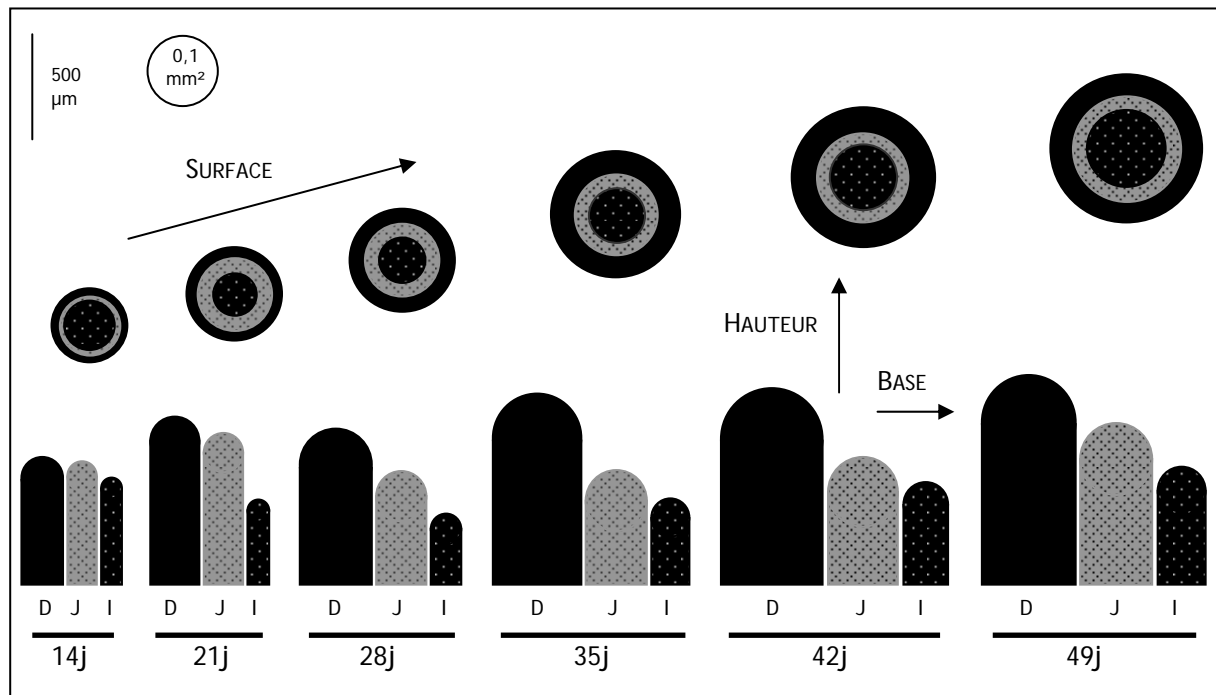
Dans le jéjunum, les modifications des activités enzymatiques totales en lien avec le statut nutritionnel sont similaires mais non significatives, excepté pour l'aminopeptidase N, dont l'activité accrue à 28 jours résulte essentiellement d'une activité spécifique augmentée.

° Effets du sevrage

Ainsi, ***le sevrage même réalisé précocement ne semble pas induire dans les jours qui suivent d'altérations suffisamment importantes de la muqueuse intestinale pour que celles-ci puissent être constatées une semaine après le sevrage, aussi bien au niveau structural que fonctionnel***. Chez le porcelet, le sevrage semble beaucoup plus traumatisant pour la structure de la muqueuse intestinale. Ainsi, au cours des cinq jours qui suivent le sevrage, ses villosités intestinales sont atrophiées de 45 à 70% (Pluske et al., 1997). Ce phénomène serait essentiellement lié à un niveau d'ingestion trop faible dans les jours qui suivent le sevrage (Pluske et al., 1997; Van Beers-Schreurs et al., 1998; Marion et al., 2002b). Dans notre étude,

une réduction de la hauteur des villosités des différents segments intestinaux peut être constatée entre 14 et 28 jours, que les lapereaux soient sevrés à 21 jours ou encore allaités, mais celle-ci est en général accompagnée d'un élargissement. Ainsi, la surface villositaire reste stable ou augmente, indépendamment du sevrage en lui-même (Figure 71).

Figure 71 Evolution morphométrique des villosités intestinales lors d'un sevrage à 5 semaines



D = duodénum, J = jéjunum, I = iléon

Ce phénomène de sous-alimentation après le sevrage n'est pas ou peu observé chez le lapereau. Si le sevrage est réalisé à 35 jours, les lapereaux sont déjà habitués à consommer des quantités d'aliment non négligeables, et la transition alimentaire autour du sevrage s'effectue graduellement. Si celui-ci est réalisé à 21 jours, seule une période d'adaptation de 2 à 3 jours semble critique pour ce qui concerne le niveau d'énergie digestible ingéré. Ensuite, de 23 à 28 jours, son niveau est comparable à celui des lapereaux sevrés à 35 jours. Ainsi, cette compensation de l'arrêt d'apport énergétique par le lait, par une augmentation de l'ingestion d'aliment végétal, pourrait expliquer l'absence d'altérations de la muqueuse intestinale mesurée à 28 et à 35 jours chez les lapereaux sevrés à 21 jours. Il serait tout de même intéressant d'étudier le développement structural et fonctionnel de la muqueuse intestinale des lapereaux dans les 24 à 48 heures qui suivent le sevrage, notamment lorsque celui-ci est réalisé avant 28 jours, afin de détecter d'éventuelles altérations précoces.

° Conséquences ultérieures

Ces changements nutritionnels précoces ne semblent pas sans conséquences sur les potentialités digestives ultérieures. En effet, les activités enzymatiques totales déterminées dans les muqueuses duodénale ou jéjunale à 49 jours sont pour la plupart diminuées (Figure 69). Ces modifications ne sont pas engendrées par une diminution de leurs activités spécifiques, mais plutôt par une diminution de la densité de la muqueuse intestinale à 42 et à 49 jours. Ce phénomène pourrait être relié au fait que nous avons observé une plus faible quantité de nutriments digérés à 42 jours par les lapereaux sevrés précocement, comparativement aux lapereaux sevrés plus tardivement. Celle-ci est liée essentiellement à un niveau d'ingestion de l'aliment légèrement déficitaire dans le cas du sevrage précoce, mais également à des valeurs de digestibilité fécale tendant à être plus faibles. Ce léger déficit pourrait expliquer en partie les modifications de densité de la muqueuse constatées, et pourrait être mis en parallèle avec l'absence de croissance compensatrice jusqu'à 49 jours de ces lapereaux. Cependant, la détermination des quantités de matières digestibles ne présage pas de leur absorption par la muqueuse intestinale. Il n'est pas impossible que les lapereaux présentent des capacités d'absorption différentes. Ainsi, une stimulation trop précoce de l'activité digestive (et absorptive ?) de la muqueuse intestinale ou encore l'arrêt trop prématuré de l'apport de substances bioactives par le lait maternel pourraient être préjudiciables pour les fonctionnalités ultérieures de la muqueuse intestinale. Nous ne disposons pas d'éléments permettant d'expliquer ces observations.

III.B. DEVELOPPEMENT DE LA DIGESTION DANS LE GROS INTESTIN

III.B.1. Evolution du potentiel digestif microbien chez le jeune

Les changements majeurs des paramètres fermentaires cœcaux semblent coïncider avec le début d'ingestion de quantités significatives d'aliment granulé : augmentation des concentrations en acides gras volatils totaux, inversion du ratio propionate/butyrate qui devient inférieur à 1, diminution du pH (*Padilha et al., 1995; Piattoni et al., 1995; Gidenne et al., 2002*) entre 21 et 28 jours. Par la suite, ces valeurs subissent des variations plus modérées. Nos résultats confirment ces observations. Ces variations avec l'âge peuvent être mises en relation avec l'augmentation de substrats fibreux parvenant au cæcum dès que les lapereaux commencent à ingérer de l'aliment solide. Les données de la littérature concernant l'évolution de la concentration en ammoniacque avec l'âge sont controversées, avec une diminution (*Padilha et al., 1995; Bennegadi, 2002*), une augmentation (*Debray, 2002*) ou une stabilité (*Piattoni et al., 1995; Gidenne et al., 2002*) de sa concentration. Dans nos conditions

expérimentales, une diminution de sa concentration a été observée, mais elle semble beaucoup plus étroitement liée au sevrage qu'à l'âge des lapereaux, comme l'avaient remarqué *Padilha et al. (1995)*. Cette évolution du profil fermentaire correspondrait à une conversion d'une activité métabolique essentiellement protéolytique dans le cæcum de lapereaux allaités vers une activité fibrolytique dans le cæcum des lapereaux ne recevant plus que de l'aliment végétal dans leur ration alimentaire. Ainsi, *Padilha et al. (1999)* ont montré que des lapereaux exclusivement alimentés avec du lait maternel jusqu'à 42 jours présentaient dans leur contenu cæcal une concentration élevée en ammoniacque et en AGV mineurs, et un ratio propionate/butyrate supérieur à 3. La flore cellulolytique est indétectable chez ces lapereaux et témoigne donc qu'un substrat fibreux est à l'origine du développement des populations bactériennes en mesure de le dégrader.

Les données de la littérature concernant l'évolution des activités fibrolytiques aboutissent rarement à des conclusions similaires (*Pinheiro et al., 2001; Benmegadi, 2002; Debray, 2002; Gidenne et al., 2002*). La méthode utilisée dans ces différentes études est pourtant identique. Cependant, les importantes variabilités inter-individuelles observées sur des animaux de même âge et avec un environnement nutritionnel similaire témoignent de la difficulté d'interprétation des résultats obtenus. Ces variabilités, qui ne semblent pas tenir à la méthode en elle-même (variations intra-individuelles de 11 à 19% selon l'enzyme considérée; *Jehl et al., 1996*), pourraient être dues à des microbismes d'élevage différents, mais également à la microflore propre à chaque individu.

III.B.2. Statut nutritionnel et capacités digestives microbiennes

◦ Adaptabilité à 28 jours

Que les lapereaux soient sevrés ou non, ils seraient capables dans nos conditions expérimentales de digérer et d'absorber de 56 à 62% de la matière organique d'origine végétale dans la partie antérieure de leur tractus digestif. Aussi, par différence avec les valeurs de digestibilité fécale obtenues, il apparaît que seuls 7 à 8% de la matière organique ingérée seraient digérés dans le segment cæco-rectal des lapereaux à 28 jours, qu'ils soient sevrés ou non. Chez l'adulte, ces valeurs oscillent entre 12 et 27% selon la teneur en fibres de l'aliment (*Merino et Carabaño, 1992; Gidenne et al., 2000*). L'imprécision des mesures de digestibilité iléale implique une grande prudence dans l'interprétation de ces données. En effet, la variabilité des mesures est importante, et l'échantillonnage pour l'évaluation de la digestibilité iléale (un prélèvement unique le soir vers 19h sur 3 animaux de chaque portée) ne correspond pas à celui réalisé pour la détermination de la digestibilité fécale (prélèvements effectués pendant 4 jours consécutifs sur l'ensemble de la portée). Cependant, si nos résultats sont

représentatifs, cela pourrait expliquer, au moins en partie, l'absence de différences marquées à 28 jours des activités enzymatiques bactériennes cœcales en lien avec l'âge au sevrage, surtout que les variabilités individuelles sont importantes.

Le profil fermentaire est quelque peu modifié à 28 jours lorsque les lapereaux sont sevrés depuis une semaine : les concentrations en AGV mineurs et en ammoniacque sont diminuées et la proportion en acétate augmentée. Ces différences pourraient témoigner d'un profil bactérien différent selon que les animaux sont sevrés ou encore allaités. Le flux quotidien de matière organique parvenant au cæcum à 28 jours est plus élevé de 56% chez les lapereaux déjà sevrés depuis une semaine comparativement aux lapereaux allaités. Mais la nature des matières de ces contenus pourrait être plus déterminante pour l'équilibre et la composition de la flore cœcale. ***L'amidon, dont la proportion dans les matières parvenant au cæcum est similaire lorsque les lapereaux sont sevrés ou allaités, ne semble par conséquent pas l'élément déterminant dans la variation probable de la composition de la flore cœcale.*** Qui plus est, le flux quotidien d'amidon parvenant au cæcum est très faible : de 0,15 à 0,21 g.j⁻¹. *Gidenne et al. (2000)* avaient également remarqué que seule une faible proportion d'amidon franchissait la jonction iléo-cœcale des lapereaux en fin d'engraissement : de 0,7 à 1,8 g.j⁻¹ pour des aliments d'une teneur en amidon variant de 10 à 30% de la matière brute. La proportion en protéines parvenant au cæcum est également similaire, que les lapereaux soient sevrés ou non (15 vs. 17% de la matière organique), mais il est vraisemblable que la nature des protéines soit variable (proportions respectives des protéines endogènes, végétales, et lactées ?). Les proportions des autres composants iléaux n'ont pas été déterminées en raison de quantités de contenus prélevées trop faibles. Par ailleurs, ***certaines composants lactés auraient pu atteindre le cæcum et y exercer une action sélective sur la microflore cœcale.***

- Effet du sevrage

Pour de nombreux paramètres caractérisant le profil fermentaire cœcal, l'évolution semble plus étroitement liée au début de l'ingestion d'aliment solide qu'au sevrage en lui-même, à l'exception des teneurs en ammoniacque et en acides gras volatils mineurs. La concentration en ammoniacque cœcale va dépendre de l'équilibre entre différents phénomènes : flux de protéines parvenant au cæcum et degré de dégradation par les bactéries protéolytiques cœcales, niveau de réabsorption de l'urée au travers de la paroi cœcale et de sa dégradation en ammoniacque par les bactéries uréolytiques, degré d'utilisation pour les biosynthèses microbiennes et de son absorption par la paroi cœcale. D'après nos données, le flux de protéines parvenant au cæcum à 28 jours est légèrement augmenté lorsque les lapereaux sont sevrés depuis une semaine comparativement à des lapereaux encore allaités, tandis que la teneur en protéines des digestas

n'est pas affectée par le statut nutritionnel des lapereaux. D'autres investigations seraient alors nécessaires afin d'estimer la ou les différentes voies impliquées dans cette concentration plus importante en ammoniacale cœcale du lapereau en alimentation mixte, et persistant jusqu'au sevrage.

◦ Conséquences ultérieures

Comme déjà observé au cours d'une étude antérieure (*Xiccato et al., 2003*), cette stimulation précoce de l'ingestion d'aliment solide végétal semble sans conséquences sur le profil fermentaire cœcal ultérieur. Seule la concentration en ammoniacale, dans notre étude, reste tout de même inférieure à 42 jours dans le cœcum de lapereaux sevrés à 21 jours comparativement aux lapereaux sevrés à 35 jours. Celle-ci ne semble pas pouvoir être attribuée à une variation du niveau de protéines franchissant la jonction iléo-cœcale. Cette donnée pourrait en revanche souligner que les équilibres entre les différentes populations cœcales sont encore affectés à 42 jours, selon le statut nutritionnel dont ont bénéficié les lapereaux entre 21 et 35 jours. Des études plus précises de la microflore intestinale avec le développement des outils de biologie moléculaire devraient permettre d'affiner les études de composition de la flore du lapin. De plus, afin de s'abstraire des variations inter-individuelles, la production de cœcotrophes chez le lapin pourrait permettre d'étudier la composition de la flore cœcale sur un même individu à des moments différents, et/ou avec des régimes alimentaires différents. En effet, les compositions chimiques similaires (*Carabaño et al., 1988*) et les activités fibrolytiques de même ordre (*Jehl et al., 1996*) entre contenus cœcaux et cœcotrophes, laissent supposer que les cœcotrophes seraient représentatifs de la composition de la flore cœcale. Ce point mérite tout de même d'être confirmé. Mais surtout, ces techniques de biologie moléculaire permettraient d'étudier les flores microbiennes réparties à différents niveaux du cœcum, telles que les bactéries liées à la muqueuse ou encore positionnées préférentiellement dans la couche de mucus. En effet, il est probable que les profils microbiens de ces différentes sous-unités géographiques soient assez différents voire indépendants, et jouent un rôle physiologique plus ou moins autonome dans la défense de l'organisme et/ou la digestion des nutriments.

Par ailleurs, les activités fibrolytiques cœcales mesurées à 42 et 49 jours tendent à être inférieures lorsque les animaux sont sevrés précocement. Ces résultats s'accordent avec la moindre quantité de fibres digérée à 42 jours par les lapereaux sevrés précocement, résultant non seulement d'une ingestion plus faible, mais également d'une digestibilité fécale négativement affectée, du moins lorsque mesurée avec la méthode utilisant un marqueur

inerte. Nous ne disposons pas d'éléments pour expliquer ce phénomène (augmentation de la vitesse de transit des contenus, flore cœcale moins abondante...?).

III.C. BILAN DE LA DIGESTION

Dès 24 jours d'âge, l'ingestion accrue d'aliment par les lapereaux sevrés leur a permis d'atteindre un niveau d'énergie digestible similaire à celui des lapereaux de même âge recevant une ration mixte lait et aliment végétal. Ce résultat suggère que les lapereaux de cet âge pourraient réguler leur ingestion d'aliment sur son niveau d'énergie digestible, de façon comparable à ce qui est classiquement observé pour des lapereaux de plus de 5 semaines (Lebas *et al.*, 1982). Le manque d'études sur ce sujet chez le lapereau de moins de 5 semaines implique de considérer ce résultat avec prudence. Ainsi, les travaux de Pascual *et al.* (1998 et 1999b) tendent à montrer également que les lapereaux âgés de 22 à 35 jours régulent leur consommation d'aliment selon sa concentration en énergie digestible. Ainsi, un enrichissement énergétique de l'aliment, *via* l'amidon (Pascual *et al.*, 1999b) ou les lipides (Pascual *et al.*, 1998), induit une chute de l'ingestion d'aliment granulé par les lapereaux. *A contrario*, d'autres travaux suggèrent que la régulation du niveau d'ingestion des lapereaux avant le sevrage fait intervenir des mécanismes autres que le niveau énergétique de la ration. Ainsi, les lapereaux bénéficiant d'un aliment plus riche en énergie consomment davantage de granulés avant le sevrage, qu'ils ingèrent une quantité de lait similaire (Fortun-Lamothe *et al.*, 2001) ou supérieure (Debray *et al.*, 2002) à celle des lapereaux disposant de l'aliment moins énergétique. Des études plus spécifiquement orientées sur ce thème de recherche pourraient permettre de confirmer ou d'infirmer ce résultat. Il est primordial de préciser ce point afin d'adapter l'aliment aux besoins nutritionnels des lapereaux, notamment le ratio protéines digestibles / énergie digestible. Ainsi, dans nos conditions expérimentales, pour un niveau d'énergie digestible de la ration similaire que les lapereaux soient sevrés ou allaités, l'ingestion de protéines digestibles par les lapereaux sevrés était légèrement déficitaire entre 22 et 28 jours, comparativement à celle des lapereaux allaités : elle a été occasionnée surtout par un déficit d'ingestion de protéines brutes entre 22 et 26 jours, puis essentiellement par une digestibilité moindre des protéines végétales *vs.* les protéines lactées dans un deuxième temps. Mais cette diminution quantitative, associée très probablement à des modifications d'ordre qualitatif, ne semble pas suffisante pour altérer le contenu protéique de la muqueuse intestinale, y compris les protéines enzymatiques. De même, la croissance des compartiments digestifs n'est pas affectée, voire même est stimulée dans certains segments tels que le gros intestin. En revanche, le délai d'adaptation à l'aliment granulé, suivi par ce déficit en protéines digestibles, est probablement à l'origine du ralentissement de croissance observé au cours de la

semaine qui suit un sevrage à 21 jours. Ces résultats suggèrent que ***le développement structural et fonctionnel des organes impliqués dans la digestion est une priorité de l'organisme, au détriment de la construction musculaire lors d'un déficit protéique modéré chez le lapereau âgé de 3 à 5 semaines.*** Cependant, les protéines interviennent dans de nombreuses fonctions de l'organisme, et ce déficit transitoire pourrait être préjudiciable pour d'autres fonctions importantes, et notamment celles impliquées dans la défense de l'organisme contre les agents indésirables.

Pour ce qui concerne le bilan digestif à 42 jours, quelques problèmes méthodologiques ne permettent pas de formuler des hypothèses claires sur les conséquences à moyen terme d'une stimulation précoce de l'ingestion d'aliment solide et de l'arrêt prématuré d'apports de substances lactées. Cependant, les différents paramètres structuraux et fonctionnels mesurés à divers niveaux du tractus digestif tendent à montrer une légère altération à 6 ou 7 semaines d'âge de la fonction digestive (niveaux d'ingestion de l'aliment et mesures de digestibilités) lorsque les lapereaux ont été sevrés précocement.

Ainsi, le sevrage en lui-même ne semble pas perturber les structures et les fonctions digestives du lapereau, même lorsqu'il est réalisé à 21 jours. Au contraire, le lapereau fait preuve de capacités d'adaptation fonctionnelle rapides à l'aliment végétal. Aussi, il semble peu probable pour des lapereaux sevrés classiquement entre 28 et 35 jours, qu'une difficulté d'adaptation de la fonction digestive à l'aliment végétal distribué aux lapines puisse être soupçonnée comme facteur étiologique principal des entéropathies observées après le sevrage.

IV. STATUT NUTRITIONNEL ET SENSIBILITE A UNE INFECTION EXPERIMENTALE PAR UNE SOUCHE ENTEROPATHOGENE D'*E. COLI*

IV.A. SYMPTOMATOLOGIE ET TABLEAU LESIONNEL

Les symptômes observés sur les lapereaux atteints de colibacillose dans nos études sont similaires à ceux classiquement décrits dans la littérature, et sont peu pathognomoniques : prostration, dysorexie, diarrhée, déshydratation et souvent mort. A l'autopsie, les lésions les plus fréquentes sont : contenus digestifs liquides, parfois hémorragiques et mêlés à du gaz (cæcum et côlon), entérite congestive, et typhlo-colite congestive voire hémorragique (*Peeters et al., 1984b; Heczko et al., 2000b*).

Deux points assez originaux vont cependant retenir notre attention. En effet, dans la dernière étude réalisée, des analyses effectuées sur des lapereaux sacrifiés en début

d'évolution de la colibacillose ont permis de mettre en évidence des modifications précoces des contenus stomacal et cæcal.

Dans l'estomac, le pH des lapereaux inoculés avec la souche entéropathogène d'*E. coli* était significativement abaissé (-0,5 et -1,3 unités dans l'antrum et le fundus respectivement), observation jamais rapportée à notre connaissance. Etant données les ulcérations de la muqueuse gastrique observées à l'examen lésionnel post-mortem sur certains sujets, ce résultat n'est pas surprenant, bien que l'hyperacidité gastrique ne soit pas suffisante à elle seule pour expliquer la survenue d'ulcères (*Wallace et Granger, 1996*). La présence de nombreux petits ulcères hémorragiques, voire une perte de substance beaucoup plus étendue, n'a jamais été décrite à notre connaissance chez le lapin, ou dans d'autres espèces lors d'une colibacillose à EPEC. Il est difficile d'attribuer un rôle direct des colibacilles dans la genèse de ces lésions en l'état actuel des connaissances. Un seul cas d'adhésion d'un *E. coli* EPEC à la muqueuse stomacale est décrit : il s'agit d'un chiot infecté de manière concomitante par le virus de la maladie de Carré (*Wada et al., 1996*). Dans les études portant sur la colibacillose, les prélèvements stomacaux sont rarement envisagés. Pourtant, la pratique de la cæcotrophie pourrait conduire à une recontamination régulière de l'estomac du lapin, du moins tant que ce comportement n'est pas perturbé. L'importance de cette pratique dans la recontamination du tractus digestif du lapin, voire dans les phénomènes d'adaptation de souches bactériennes à l'hôte (par exemple à l'acidité gastrique), n'a pas encore fait l'objet de recherches à notre connaissance. Cependant, l'hyperacidité gastrique que nous avons observée pourrait simplement résulter de perturbations beaucoup plus générales, et notamment neuro-hormonales. D'autres agents microbiens, profitant du déséquilibre induit par les colibacilles, pourraient par ailleurs être responsables de ces désordres fonctionnels.

Dans le cæcum, associées à la prolifération de la population colibacillaire (augmentation de 3 à 4 log), des modifications de certains paramètres fermentaires ont été constatées : diminution des concentrations en acides gras volatils totaux, augmentation de la proportion en acides gras volatils mineurs, accroissement du ratio propionate/butyrate. Ces mêmes observations ont été effectuées dans d'autres études sur des lapins diarrhéiques, dont l'étiologie n'était cependant pas connue (*Bellier, 1994; Bennegadi, 2002*). En revanche, dans le cas d'une colibacillose à EPEC, les données de la littérature ne confirment pas ces modifications du profil fermentaire cæcal (*Peeters et al., 1992; Peeters et al., 1995*). Dans notre étude, une partie de cette baisse de 36% de la concentration globale en acides gras volatils pourrait être attribuée à un effet de dilution. En effet, l'augmentation de la teneur en eau du contenu cæcal observée pourrait diluer les AGV produits par les fermentations bactériennes (concentrations exprimées par rapport à la phase liquide du contenu cæcal). La diminution de l'ingestion et des perturbations vraisemblables du transit intestinal pourraient contribuer à cette altération

fonctionnelle, par une réduction de la quantité de substrats glucidiques parvenant au cæcum. Il semble que le profil fermentaire des lapereaux inoculés avec une souche EPEC évolue vers un profil fermentaire plus protéolytique. Parmi les AGV mineurs, les isoacides seraient issus essentiellement des fermentations des acides aminés ramifiés (valine, leucine, isoleucine) (Macfarlane et Macfarlane, 2003). Cependant, la concentration en ammoniacque ne confirme pas cette hypothèse. Mais, comme pour les acides gras volatils, un effet de dilution liée à la forte teneur en eau du contenu cæcal des lapereaux infectés peut être envisagé. Les modifications de la composition de la microflore cæcale, et de la nature et de la quantité de substrats parvenant au cæcum (diminution des glucides, augmentation des protéines notamment endogènes suite aux agressions de la muqueuse...?) pourraient constituer des éléments explicatifs des variations du profil fermentaire.

IV.B. AGE AU SEVRAGE ET SENSIBILITE A LA COLIBACILLOSE

A 28 jours, l'inoculation d'une DL50 d'une souche d'*E. coli* reconnue entéropathogène à des lapereaux sevrés depuis une semaine ou encore allaités a conduit à un développement différentiel de la colibacillose entre les deux catégories d'animaux. La maladie a évolué très rapidement chez les lapereaux sevrés, et le taux de 50% de mortalité était atteint en 8 jours (Figure 51). Cette évolution est assez comparable à ce qui est classiquement observé lors d'inoculations de souches d'*E. coli* O103 entéropathogènes à des lapereaux sevrés plus tardivement (Licois et al., 1982; Camguilhem et Milon, 1989; Heczko et al., 2000b; Boullier et al., 2003a). **Les lapereaux encore allaités ont été préservés de la forme létale de la maladie jusqu'à leur sevrage**, puis la colibacillose s'est développée de façon similaire à ce qui a été observé pour les lapereaux sevrés, quoique de façon légèrement moins brutale et moins intense. Ces observations nous ont amené à émettre l'hypothèse que le lait maternel protégeait transitoirement les lapereaux vis-à-vis de l'expression grave de la colibacillose à *E. coli* O103:K-:H2 de souche E22, sans pour autant conduire à l'élimination de l'agent pathogène. Des études épidémiologiques réalisées chez l'homme montrent également que le lait maternel, par opposition à l'allaitement artificiel, protège les enfants d'une infection par les EPEC (Blake et al., 1993).

La période d'incubation de la maladie va dépendre de l'équilibre entre le pouvoir colonisateur de la bactérie et les capacités de l'hôte à se défendre. Les substances lactées semblent jouer un rôle important dans cette balance. Elles pourraient présenter différents mécanismes d'action : un rôle direct en inhibant/diminuant la virulence de la bactérie entéropathogène (inhibition de sa multiplication, de l'expression de certains facteurs impliqués

dans son adhésion...), un rôle plus indirect en créant des conditions de milieux défavorables à l'expression du pouvoir pathogène des *E. coli* O103. Ces substances pourraient également interférer avec les mécanismes impliqués dans la genèse de la diarrhée.

Il est reconnu qu'une certaine quantité de bactéries est nécessaire pour qu'elles parviennent à s'implanter, conduisant à la notion de dose infectante. Celle-ci peut-être modifiée par d'autres facteurs concomitants, et notamment par le moment de la contamination par rapport aux repas. Dans notre cas, les inoculations à 28 jours ont été réalisées 3 heures après l'allaitement dans le cas des lapereaux non sevrés, et de façon non contrôlée par rapport à l'aliment granulé distribué *ad libitum*. Or, nous savons qu'à ce moment précis, les conditions stomacales sont très différentes selon que les lapereaux sont sevrés ou non : le pH de l'estomac des lapereaux sevrés est beaucoup plus acide, la composition chimique du contenu varie quantitativement et qualitativement car du "lait" en quantité non négligeable est encore présent dans l'estomac des lapereaux allaités. Il n'est pas impossible que nous ayons pu induire une incubation plus longue chez les lapereaux allaités du fait du moment choisi pour l'inoculation : nombre de bactéries franchissant la barrière stomacale, retard à la multiplication et à la colonisation du tractus digestif (temps de rétention gastrique)... Malheureusement, nous n'avons pas déterminé l'attachement des *E. coli* aux cellules épithéliales des différents segments digestifs selon le statut nutritionnel de l'hôte dans les jours qui ont suivi l'inoculation. Cette analyse aurait pu fournir des éléments permettant la compréhension des mécanismes impliqués dans le développement ou non de la maladie. Ce point pourrait être intéressant à développer dans des études ultérieures. Des variations qualitatives et quantitatives chez l'hôte de récepteurs à cette souche d'*E. coli* selon son statut nutritionnel pourraient également être impliquées. En effet, la colonisation des cellules épithéliales de l'hôte par les *E. coli* serait permise par la liaison des pili bactériens à des récepteurs de surface des cellules de l'hôte : syaloglycoprotéines (Rafiee *et al.*, 1991) pour le pilus AF/R1 de la souche RDEC-1 du lapin (souche EPEC); syaloglycoprotéines, glycosphingolipide et transferrine pour l'adhésine K88 de certaines souches ETEC du porc (Jin *et Zhao*, 2000).

La population fécale des *E. coli* O103, probablement le reflet de la population du cæcum, semble transitoirement "contrôlée" lorsque les lapereaux sont allaités. Un effet barrière de la flore implantée dans le tractus digestif des lapereaux allaités pourrait participer au non-développement de la colibacillose. Cependant, cet effet barrière est uniquement permissif car il ne conduit pas à l'élimination des *E. coli* entéropathogènes. Aussi, une analyse plus précise de la flore des lapereaux allaités ou sevrés, incluant celle de la muqueuse intestinale, pourrait permettre d'étudier dans un premier temps les différences entre animaux allaités et sevrés, pour dans un deuxième temps formuler des hypothèses sur les populations à potentiel effet

barrière. La qualité des nutriments, différente entre les deux groupes d'animaux, n'est probablement pas sans influence sur ces "équilibres microbiens", mais d'autres facteurs présents dans le lait pourraient de plus exercer des effets antimicrobiens sélectifs.

La présence de facteurs antimicrobiens spécifiques dans le lait de lapine, tels que des anticorps, nous a semblé peu probable. Les lapines de cette expérimentation ne présentaient pas d'anticorps sériques dirigés contre le LPS O103, et aucun épisode récent de colibacillose à *E. coli* O103 n'a eu lieu dans l'élevage où s'est déroulée l'expérimentation. Les données épidémiologiques de l'élevage d'où provenaient ces femelles n'étaient cependant pas disponibles. Le lait aurait, en revanche, pu contenir des anticorps moins spécifiques du sérotype utilisé, et plus largement dirigés contre certains effecteurs du pouvoir pathogène des EPEC. Cependant, les données actuellement disponibles dans la littérature ne sont pas en mesure d'étayer cette hypothèse (cf. page 188).

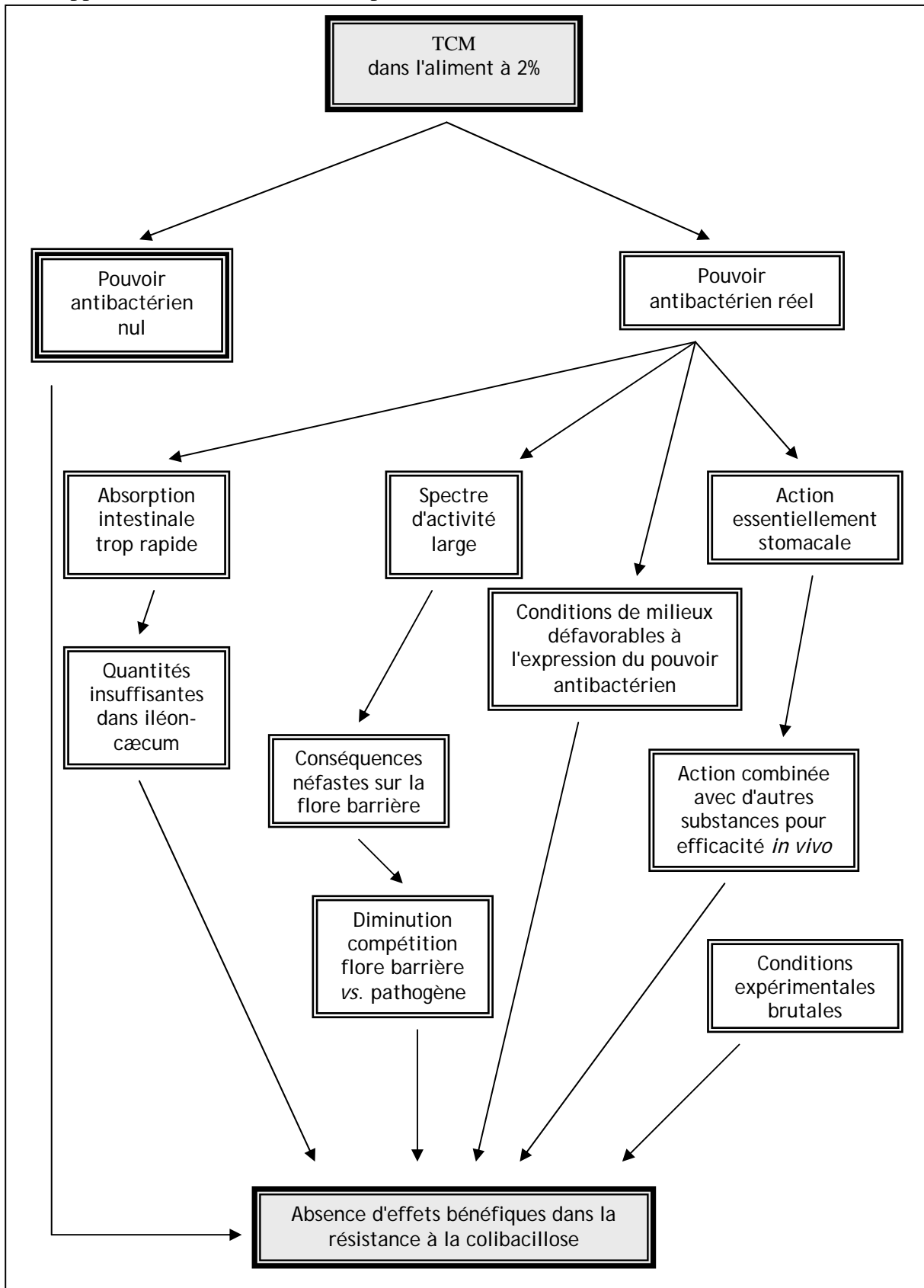
Aussi, nous avons choisi de nous intéresser aux facteurs antimicrobiens non spécifiques du lait, abondamment revus dans la littérature (Shah, 2000; Van Hooijdonk et al., 2000; Kolb, 2001). En combinant les données recensées sur les effecteurs antimicrobiens du lait, et celles concernant la composition du lait de lapine, la piste des triglycérides à chaînes moyennes nous a semblé intéressante. D'une part, les acides caprylique et caprique sont une particularité du lapin puisqu'ils représentent à eux seuls 65% des acides gras contenus dans les triglycérides du lait de lapine (Smith et al., 1968; Demarne et al., 1978; Pascual et al., 1999a), alors qu'ils sont beaucoup plus minoritaires chez l'homme et la plupart des espèces animales domestiques (Freeman et al., 1965). D'autre part, ils ont été impliqués dans le contrôle de la microflore stomacale chez le lapereau allaité (Cañas-Rodríguez et Smith, 1966). Dans une étude récente, une supplémentation avec une huile riche en triglycérides à chaînes moyennes (acides caprylique et caprique) à 10 g.kg⁻¹ dans l'aliment distribué aux lapereaux après leur sevrage a permis de réduire le taux de mortalité en engraissement de 27,8% à 15,7% (Skřivanová et al., 2004). Dans d'autres espèces, notamment le porc, leur emploi dans l'aliment en tant qu'alternatifs aux antibiotiques a été proposé, et leurs potentiels effets bénéfiques revus récemment : promoteurs de croissance, traitement préventif et curatif des maladies gastro-intestinales (Decuypere et Dierick, 2003).

IV.C. INCORPORATION DE SUBSTANCES POTENTIELLEMENT ANTIMICROBIENNES DANS L'ALIMENT DE PÉRI-SEVRAGE ET SENSIBILITÉ À LA COLIBACILLOSE

L'incorporation de triglycérides à chaînes moyennes dans l'aliment de péri-sevrage des lapereaux n'a pas eu d'effets bénéfiques dans le contrôle de l'évolution de la colibacillose expérimentale. Différentes hypothèses peuvent dès lors être émises (Figure 72). Il est possible

que les produits d'hydrolyse soient tout simplement inertes vis-à-vis de l'agent pathogène. Pourtant, les propriétés d'inhibition de la croissance bactérienne de ces acides organiques faibles sont reconnues même si leur mécanisme d'action n'est pas encore élucidé (*Cañas-Rodríguez et Smith, 1966; Isaacs et al., 1995; Petschow et al., 1996; Marounek et al., 2001; Sun et al., 2002; Marounek et al., 2003b*). Une hypothèse est que, sous leur forme non dissociée, ces acides pourraient facilement pénétrer les membranes bactériennes, et une fois internalisés dans un milieu neutre, se dissocier en anions et protons. La bactérie devant alors maintenir le pH de son cytoplasme à une valeur proche de la neutralité, dépenserait son énergie (ATP) à exporter les protons en excès, phénomène résultant en la déplétion énergétique de la cellule bactérienne (*Ricke, 2003*). Ils pourraient également interférer avec le transport de nutriments, ou occasionner des dommages à la membrane cytoplasmique. Par ailleurs, il semble que les acides gras à chaînes moyennes de C6:0 à C10:0 soient capables chez le poulet de réduire l'expression du gène *hilA*, impliqué dans l'invasion des cæcas par *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (*Van Immerseel et al., 2004*). L'absence d'effet protecteur des TCM vis-à-vis de la colibacillose dans notre étude pourrait être liée à une incapacité des acides gras à chaînes moyennes à exhiber leur pouvoir bactériostatique et/ou bactéricide. Plusieurs raisons peuvent être évoquées, telles qu'une trop faible concentration de ces acides aux sites d'actions des *E. coli* entéropathogènes. Cette hypothèse est probable car les concentrations en acides caprylique et caprique en fin d'intestin grêle sont très faibles (inférieures à 0,20 mg.g⁻¹ de contenu iléal frais). Ces faibles concentrations obtenues résultent non seulement d'une très bonne digestibilité des lipides, mais également de la disparition plus rapide le long de l'intestin grêle des acides gras à chaînes moyennes comparativement aux acides gras à plus longues chaînes. Ce phénomène pourrait être lié aux particularités de la digestion et de l'absorption des triglycérides composés d'acides gras à chaînes moyennes. En effet, l'hydrolyse des triglycérides à chaînes moyennes est plus rapide et complète que celle des triglycérides composés d'acides gras à longues chaînes : interaction avec les lipases facilitée par la formation plus rapide et intense des particules émulsionnées, hydrolyse et absorption possible des acides gras à chaînes moyennes dès l'estomac (*Odle, 1997*). Par ailleurs, les conditions physico-chimiques des environnements iléal et cæcal pourraient être défavorables à l'activité antibactérienne des acides gras à chaînes moyennes, et principalement le pH qui est proche de la neutralité dans l'iléon et aux alentours de 6 dans le cæcum (pKa de ces acides gras autour de 4,9; *Decuyper et Dierick, 2003*). Ainsi, les acides organiques majoritairement sous forme dissociée dans le milieu ne pourraient pénétrer les membranes bactériennes. D'autre part, nous ne disposons pas d'informations sur leur degré d'estérification, qui aurait également pu avoir une influence sur leur potentiel effet antimicrobien.

Figure 72 Hypothèses concernant l'absence d'effets bénéfiques des TCM sur le développement d'une colibacillose expérimentale à REPEC O103



Par ailleurs, si l'activité antimicrobienne des acides gras à chaînes moyennes est réelle *in vivo*, leur spectre d'activité pourrait être non ciblé. Ainsi, leur pouvoir antimicrobien pourrait être étendu à des populations bactériennes autochtones du tractus digestif, pouvant résulter alors en une diminution des compétitions entre populations bactériennes résidentes et pathogènes. Ainsi, *Dierick et al. (2002)* avaient montré que l'addition de triglycérides à chaînes moyennes à la ration du porc conduisait à une réduction de la flore stomacale et duodénale, mais de manière non spécifique : réduction de la flore totale, de la flore lactobacillaire et de la flore colibacillaire. Leur rôle dans l'inhibition de l'adhésion des EPEC aux cellules épithéliales n'a, à notre connaissance, jamais été examiné. Il serait intéressant d'explorer cette voie, mais des problèmes méthodologiques liés à la solubilisation des lipides pourraient être rencontrés.

Le lait de lapine est naturellement riche en triglycérides à chaînes moyennes dont une partie est digérée, voire absorbée, dès l'estomac (*Perret, 1980*). L'hypothèse que leur site d'action se situe essentiellement au niveau stomacal, en empêchant les colibacilles pathogènes de franchir en trop grand nombre le pyllore peut être envisagée. Dans ce cas, nos conditions expérimentales brutales (dose infectieuse par unité de temps), où un inoculum contenant 10^4 CFU d'une souche d'*E. coli* O103 très virulente est administré aux lapereaux, n'auraient pu permettre la mise en évidence de tels effets. D'autres substances lactées pourraient alors prendre le relais pour empêcher l'expression du pouvoir pathogène des colibacilles ayant réussi à franchir la barrière stomacale. En effet, selon *Isaacs (2005)*, différentes substances lactées chez l'homme seraient capables d'inactiver les agents pathogènes, de manière additive mais également synergique. Certaines molécules seraient plutôt impliquées dans le contrôle de la croissance des populations bactériennes, et d'autres empêcheraient l'agent pathogène de coloniser les cellules épithéliales (oligosaccharides fucosylés par exemple). En effet, le pouvoir pathogène des EPEC étant étroitement lié à leur capacité à coloniser les cellules épithéliales, le rôle des molécules capables d'inhiber l'adhésion bactérienne ne doit pas être négligé.

CONCLUSIONS
&
PERSPECTIVES

L'approche pluridisciplinaire au moyen de différentes méthodes complémentaires nous a permis d'aborder la nutrition du jeune d'une façon originale et précise, et de mettre l'accent sur les difficultés d'interprétation de certains paramètres. Un exemple est celui du dosage de l'activité de l'amylase pancréatique : une faible capacité à digérer l'amidon a souvent été attribuée aux lapereaux, en raison d'une activité réduite de cette enzyme chez le jeune. Nous montrons dans nos études que le lien est complexe et nécessite une interprétation prudente. Par ailleurs, l'intérêt que nous avons porté à la période avant sevrage a nécessité la mise au point de méthodes, notamment pour l'évaluation de la digestibilité apparente des aliments chez le jeune. Nous proposons diverses méthodologies, plus ou moins simples dans leur mise en œuvre. L'une d'elle semble intéressante de ce point de vue, et consiste à décaler de 24 heures la période d'ingestion par rapport à celle de collecte de fèces. Des recherches supplémentaires pourraient être entreprises afin d'optimiser la durée de ce décalage, notamment selon l'âge des lapereaux, pour une estimation plus juste de la digestibilité fécale apparente. Par ailleurs, quelques données de physiologie digestive manquent chez le jeune et apparaissent limitantes pour la compréhension des mécanismes. Deux points semblent essentiels : la ***mise en place du phénomène de cæcotrophie*** (qualitativement et quantitativement), et ***l'évolution du transit digestif*** en relation avec la transition plus ou moins progressive du lait maternel vers l'aliment solide végétal.

Quelques idées importantes sur la nutrition du lapereau autour du sevrage ressortent de nos résultats, et nécessiteraient chacune des recherches plus spécifiques.

Ainsi, ***l'identification des mécanismes intervenant dans la régulation de l'ingestion de l'aliment par le jeune lapereau autour du sevrage est essentielle***. En effet, dans nos études, la "régulation" possible de l'ingestion d'aliment granulé par les lapereaux sevrés sur le niveau d'énergie digestible conféré par celui-ci, a été associé à un déficit en protéines digestibles ingérées, comparativement à leurs congénères encore allaités. Ceci suggère que le ratio protéines digestibles/énergie digestible de l'aliment granulé n'était pas, dans notre cas, adapté au lapereau sevré à 3 semaines. D'un point de vue pratique, la connaissance des phénomènes impliqués dans la régulation de l'ingestion d'aliment granulé permettrait d'ajuster le niveau quantitatif et qualitatif des différents nutriments afin de garantir aux lapereaux les apports indispensables pour leur développement et leur croissance.

Un autre point concerne la transition soudaine des apports de matières grasses, dont le niveau chute de manière importante après le sevrage. Peu d'études concernent ***les effets de l'addition de lipides*** dans l'aliment (nature et taux d'incorporation) ***sur la santé des lapereaux***. Il pourrait être intéressant de préciser ce point, et notamment d'analyser plus finement le ***rôle***

physiologique des acides caprylique et caprique. En effet, leurs très fortes concentrations dans le lait de lapine constituent une réelle particularité d'espèce.

Une autre idée mérite notre attention : le ratio amidon/fibres de l'aliment. D'après nos données, les **capacités endogènes des lapereaux à digérer l'amidon sont plastiques**, et son implication dans le déterminisme des diarrhées après le sevrage semble une hypothèse peu probable avec les taux de recommandation actuellement préconisés pour les lapines reproductrices ou les lapins à l'engraissement. Aussi, les effets bénéfiques parfois observés sur la santé d'un ratio faible amidon/fibres pourraient-ils être davantage liés aux constituants pariétaux. Ainsi, les recherches sur la nature et le taux d'incorporation de fibres dans l'aliment des lapereaux sont dignes d'intérêt, et un point particulièrement intéressant à développer serait de déterminer leur implication dans le développement de la flore digestive.

Dans nos études, nous nous sommes intéressés indirectement à l'analyse fonctionnelle de la microflore : détermination des activités enzymatiques bactériennes et des concentrations des métabolites issus des fermentations dans le contenu cæcal, et évaluation de la digestibilité fécale apparente des aliments. Il serait intéressant de mettre ces résultats en parallèle avec des **analyses directes de la composition de la microflore digestive**. Les méthodes de microbiologie classiques basées sur les propriétés morphologiques et biochimiques des microorganismes sont coûteuses, chronophages, manquent de précision pour l'étude de la complexité microbienne au niveau de l'espèce ou de la sous-espèce, et certains organismes non cultivables échappent à l'identification. Mais les avancées récentes des **techniques de biologie moléculaire** devraient permettre de préciser le développement de la flore intestinale chez le jeune, et les relations entre populations de microorganismes dans différents compartiments digestifs, mais également à divers niveaux d'un même segment intestinal. En effet, ces techniques rendent possible l'étude des populations d'habitats différents, telles que celles siégeant au niveau de la muqueuse, dans la couche de mucus ou encore dans la lumière intestinale. Les rôles physiologiques des populations de ces différents sites pourraient être tout à fait distincts.

Nos résultats ont montré que, **à même âge, les lapereaux allaités sont moins sensibles à une infection expérimentale par un *E. coli* entéropathogène que les lapereaux sevrés.** Cependant, cette moindre sensibilité n'est que transitoire, et la colibacillose va se développer de façon similaire après leur sevrage à ce qui a été observé pour les lapereaux sevrés depuis une semaine au moment de l'inoculation. Comme les capacités digestives des lapereaux s'adaptent précocement et rapidement à l'aliment solide, il semble peu probable que l'aliment en lui-même ait pu causer un déséquilibre du biotope digestif expliquant cette évolution

différentielle de la colibacillose. Ces observations nous ont amené à émettre l'hypothèse que le **lait maternel joue un rôle fondamental dans la résistance**, du moins transitoire, **des lapereaux à l'expression grave de la colibacillose** suscitée par une souche EPEC du sérotype O103.

Cette hypothèse offre des pistes de travail intéressantes, telles que l'identification des substances lactées responsables de cette résistance transitoire. En effet, l'addition dans l'aliment de substances bioactives du lait maternel pourrait faire l'objet de nouvelles stratégies alimentaires autour du sevrage. Cependant, **l'incorporation dans l'aliment de triglycérides composés d'acides caprylique et caprique**, acides gras majeurs dans le lait de lapine et à activité potentiellement antibactérienne, **n'a pas permis de réduire le développement de la colibacillose.** L'inhibition temporaire du pouvoir pathogène des *E. coli* ne semble donc pas pouvoir être attribué aux acides caprylique et caprique, du moins à eux seuls.

A l'avenir, un screening *in vitro* des différentes substances du lait de lapine pourrait être envisagé. Outre éliminer dès cette étape les molécules sans effet sur l'expression du pouvoir pathogène de certains agents, il permettrait d'identifier les substances à activité potentiellement bactériostatique, voire bactéricide, ainsi que les substances impliquées dans le contrôle de la colonisation microbienne, notamment lors de la première phase d'adhérence diffuse. Une nouvelle méthode de cytométrie de flux permettant de quantifier l'adhésion des *E. coli* entéropathogènes aux cellules HeLa a été récemment décrite (Boullier *et al.*, 2003b). Allier des substances de ces deux catégories pourrait permettre de potentialiser leurs effets *in vivo*. Par ailleurs, l'utilisation de souches moins pathogènes pourrait constituer une alternative intéressante afin de contourner les conditions expérimentales brutales lors d'une inoculation d'un agent très virulent. En effet, ces conditions sont finalement peu représentatives des conditions épidémiologiques classiques, où la pression infectieuse est moindre (dose infectieuse par unité de temps).

Sur un plan plus finalisé, il semble qu'un sevrage précoce dans un élevage où des *E. coli* du sérotype O103:K-:H2 rhamnose négatifs ont été mis en évidence, constitue un facteur favorisant le développement de la colibacillose. Il est probable que cette conclusion puisse être appliquée aux différentes souches d'*E. coli* isolées classiquement sur des lapereaux sevrés et atteints de colibacillose.

Aussi, des solutions permettant une ingestion de lait généreuse et durable par les lapereaux pourraient être envisagées. Ainsi, une lactation prolongée et plus abondante pourrait être obtenue de différentes manières : recul de la date d'insémination après la mise-bas pour limiter les interférences entre la gestation et la production laitière (extensification), sevrage

tardif, introduction de la production laitière dans les critères de sélection des femelles, attention portée à la couverture des besoins nutritionnels et à la santé des lapines...tout en gardant à l'esprit que l'adoption d'une conduite d'élevage résulte d'un compromis entre les performances des femelles et celles de leurs lapereaux.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

-A-B-

- Adkins Y., Lönnerdal B.**, 2003. Potential host-defense role of a human milk vitamin B-12-binding protein, haptocorrin, in the gastrointestinal tract of breastfed infants, as assessed with porcine haptocorrin *in vitro*. *Am J Clin Nutr*, 77 : 1234-1240.
- Albinsson A.R.M., Andersson G.K.A.**, 1990. Subclinical characteristics of the wasting pig syndrome. *Res Vet Sci*, 49 (1) : 71-76.
- Alstin F., Nilsson M.**, 1990. Le système d'hydrolyse Soxtec® améliore les méthodes officielles de dosage des matières grasses totales. *Ind Aliment Agric*, 107 : 1271-1274.
- Alves A., Pinheiro V., Mourão J.L., Pires I., Oliveira J., Gama A.**, 2004. Measurement of rabbit's intestinal villus: preliminary comparison of two methods. In : *8th World Rabbit Congress*, 7-10 septembre, Puebla city, Mexique, 1 : 422-426.
- American Veterinary Medical Association**, 2001. Report of the AVMA Panel on Euthanasia. *JAVMA*, 218 (5) : 669-696.
- Anderson R.R., Sadler K.C., Knauer M.W., Wippler J.P., Marshall R.T.**, 1975. Composition of cottontail rabbit milk from stomachs of young and directly from gland. *J Dairy Sci*, 58 (10) : 1449-1452.
- Aumaître A., Salmon-Legagneur E.**, 1961. Influence de l'alimentation complémentaire sur la croissance du porcelet avant le sevrage. *Ann Zootech*, 10 (2) : 127-140.
- Azard A.**, 2005. Principaux résultats du réseau de fermes de références cynicoles de 2000-2001 à 2003-2004. In : *11^{èmes} Journées de la Recherche Cynicole*, 29-30 novembre, Paris, France, 1 : 3-6.
- Bacques C., Cuc N.T., Serusclat M., Dorier A., Perret J.P.**, 1983. Etude *in vitro* de l'activité lipasique de souches bactériennes isolées de cæcum de lapins sur la trioléine marquée au ¹⁴C. *Ann Nutr Metab*, 27 : 145-152.
- Baranyi M., Brignon G., Anglade P., Ribadeau-Dumas B.**, 1995. New data on the proteins of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) milk. *Comp Biochem Physiol*, 111B (3) : 407-415.
- Baranyi M., Thomas U., Pellegrini A.**, 2003. Antibacterial activity of casein-derived peptides isolated from rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) milk. *J Dairy Res*, 70 : 189-197.
- Baron J.H.**, 2000. The pancreas. *Mt Sinai J Med*, 67 (1) : 68-75.
- Barone R.**, 1984. Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome 3, Splanchnologie 1, Appareil digestif, Appareil respiratoire, Vigot Eds, Paris, France, 879 pp.
- Barone R., Pavaux C., Blin P.C., Cuq P.**, 1973. Atlas d'anatomie du lapin. Masson et C^{ie} Eds, Paris, France, 220 pp.
- Belenguer A., Balcells J., Guada J.A., Decoux M., Milne E.**, 2005. Protein recycling in growing rabbits: contribution of microbial lysine to amino acid metabolism. *Br J Nutr*, 94 (5) : 763-770.
- Bellier R.**, 1994. Contrôle nutritionnel de l'activité fermentaire cæcale chez le lapin. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique, Toulouse, France, 115 pp.
- Bellier R., Gidenne T.**, 1996. Consequences of reduced fibre intake on digestion, rate of passage and caecal microbial activity in the young rabbit. *Br J Nutr*, 75 (3) : 353-363.
- Bellier R., Gidenne T., Vernay M., Colin M.**, 1995. *In vivo* study of circadian variations of the cecal fermentation pattern in postweaned and adult rabbits. *J Anim Sci*, 73 (1) : 128-135.
- Bennegadi N.**, 2002. Les entéropathies non-spécifiques du lapin en croissance : impact des facteurs microbien et nutritionnel. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Rennes, France, 161 pp.
- Bennegadi N., Fonty G., Millet L., Gidenne T., Licois D.**, 2003. Effects of age and dietary fibre level on caecal microbial communities of conventional and specific pathogen-free rabbits. *Microb Ecol Health Dis*, 5 : 23-32.

- Berg R.D.**, 1996. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol*, 4 (11) : 430-435.
- Bernadac A., Moreau H., Verger R.**, 1991. Gastric lipase and pepsinogen during the ontogenesis of rabbit gastric glands. *Eur J Cell Biol*, 55 : 149-157.
- Bernard L., Doreau M.**, 2000. Use of rare earth elements as external markers for mean retention time measurements in ruminants. *Reprod Nutr Dev*, 40 : 89-101.
- Blake P.A., Ramos S., MacDonald K.L., Rassi V., Gomes T.A., Ivey C., Bean N.H., Trabulsi L.R.**, 1993. Pathogen-specific risk factors and protective factors for acute diarrheal disease in urban Brazilian infants. *J Infect Dis*, 167 (3) : 627-632.
- Blas E., Fernández-Carmona J., Cervera C.**, 1988. Effect of digestive activity and starch intake on amylase activity in saliva and pancreatic juice of rabbit. In : *4th Congress of the World Rabbit Science Association*, 10-14 octobre, Budapest, Hongrie, 3 : 68-73.
- Blas E., Cervera C., Fernández-Carmona J.**, 1994. Effect of two diets with varied starch and fibre levels on the performances of 4-7 weeks old rabbits. *World Rabbit Sci*, 2 (4) : 117-121.
- Blas E., Falcão L., Gidenne T., Pinheiro V., García A.I., Carabaño R.**, 2000. Measurement of ileal digestibility in rabbits: an interlaboratory study to compare two markers and two frequencies of digesta collections. *7th World Rabbit Congress*, 5-7 juillet, Valence, Espagne. In : *World Rabbit Sci*, 8 (suppl.1, vol. C) : 131-137.
- Boedeker E.C., Cheney C.P., Cantey J.R.**, 1987. Inhibition of enteropathogenic *Escherichia coli* (strain RDEC-1) adherence to rabbit intestinal brush borders by milk immune secretory immunoglobulin A. *Adv Exp Med Biol*, 216B : 919-930.
- Bohez L., Maertens L., Laevens H., Stakenborg T., Peeters J., Vandekerchove D.**, 2004a. Use of a 3-/O15 Δ *eae* enteropathogenic *Escherichia coli* vaccine in a rabbitry with mixed enteropathy problems: spreading characteristics and protective effect. In : *8th World Rabbit Congress*, 7-10 septembre, Puebla city, Mexique, 1 : 439-444.
- Bohez L., Stakenborg T., Laevens H., Peeters J., Vandekerchove D.**, 2004b. An attenuated 2+/O132 Δ *tir* enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) offers cross protection against a 3-/O15 challenge and partial protection against an 8+/O103 challenge. In : *8th World Rabbit Congress*, 7-10 septembre, Puebla city, Mexique, 1 : 445-450.
- Borel P., Armand M., Senft M., Andre M., Lafont H., Lairon D.**, 1991. Gastric lipase: evidence of an adaptative response to dietary fat in the rabbit. *Gastroenterology*, 100 : 1582-1589.
- Boulahrouf A., Fonty G., Gouet P.**, 1991. Establishment, counts and identification of the fibrolytic microflora in the digestive tract of rabbit. Influence of feed cellulose content. *Curr Microbiol*, 22 : 21-25.
- Boullier S., Nougayrède J.P., Marchès O., Tasca C., Boury M., Oswald E., De Rycke J., Milon A.**, 2003a. Genetically engineered enteropathogenic *Escherichia coli* strain elicits a specific immune response and protects against a virulent challenge. *Microbes Infect*, 5 : 857-867.
- Boullier S., Tasca C., Milon A.**, 2003b. New flow cytometric method to quantify the inhibition of enteropathogenic *Escherichia coli* adhesion by anti-adhesin antibodies. *Cytometry*, 53A : 79-87.
- Bouvet J.P., Fischetti V.A.**, 1999. Diversity of antibody-mediated immunity at the mucosal barrier. *Infect Immun*, 67 (6) : 2687-2691.
- Brambell F.W.**, 1966. The transmission of immunity from mother to young and the catabolism of immunoglobulins. *Lancet*, 2 : 1087-1093.
- Brambell F.W.**, 1969. The transmission of immune globulins from the mother to the foetal and newborn young. *Proc Nutr Soc*, 28 (1) : 35-41.

-C-D-

Caccavo D., Pellegrino N.M., Altamura M., Rigon A., Amati L., Amoroso A., Jirillo E., 2002. Antimicrobial and immunoregulatory functions of lactoferrin and its potential therapeutic application. *J Endotoxin Res*, 8 (6) : 403-417.

Cachaldora P., Nicodemus N., García J., Carabaño R., De Blas J.C., 2004. Efficacy of Amylofeed® in growing rabbit diets. *World Rabbit Sci*, 12 : 23-31.

Cairnie A.B., Millen B.H., 1975. Fission of crypts in the small intestine of the irradiated mouse. *Cell Tissue Kinet*, 8 : 189-196.

Calas A., Perrin J.F., Plas C., Vanneste P., 1997. Précis de physiologie, Doin Eds., 439 pp.

Camguilhem R., Milon A., 1989. Biotypes and O serogroups of *Escherichia coli* involved in intestinal infections of weaned rabbits: clues to diagnosis of pathogenic strains. *J Clin Microbiol*, 27 (4) : 743-747.

Camguilhem R., Mureau G., Nicolas J.A., Brocas J., Tournut J., 1986. Groupage sérologique O et antibiosensibilité des souches d'*Escherichia coli* isolées en France sur les lapins diarrhéiques après le sevrage. *Revue Méd Vét*, 137 (3) : 205-212.

Cañas-Rodríguez A., Smith W.H., 1966. The identification of the antimicrobial factors of the stomach contents of sucking rabbits. *Biochem J*, 100 : 79-82.

Canganella F., Zirletta G., Gualterio L., Massa S., Trovatelli D., 1992. Anaerobic facultative bacteria isolated from the gut of rabbits fed different diets. *Zent bl Mikrobiol*, 147 : 537-540.

Carabaño R., Fraga M.J., Santomá G., de Blas J.C., 1988. Effect of diet on composition of cecal contents and on excretion and composition of soft and hard feces of rabbits. *J Anim Sci*, 66 : 901-910.

Carabaño R., García A.I., Blas E., Falcão L., Gidenne T., Pinheiro V., 2000. Collaborative studies on caecotrophy in adult rabbits: effect of feed intake and methodology. *7th World Rabbit*

Congress, 5-7 juillet, Valence, Espagne. In : *World Rabbit Sci*, 8 (suppl.1, vol. C) : 153-159.

Carey M.C., Small D.M., Bliss C.M., 1983. Lipid digestion and absorption. *Ann Rev Physiol*, 45 : 651-677.

Carré B., Brillouet J.M., 1989. Determination of water-insoluble cell walls in feeds: interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem*, 72 : 463-467.

Catala J., 1980. Variations de l'activité de certaines enzymes de la bordure en brosse chez le lapin privé de digestion pancréatique. In : *2nd World Rabbit Congress*, 16-18 avril, Barcelone, Espagne, 1 : 90-98.

Chauncey H.H., Henrigues B.L., Tanzer J.M., 1963. Comparative enzyme activity of saliva from the sheep, hog, dog, rabbit, rat, and human. *Arch Oral Biol*, 52 : 615-27.

Cheeke P.R., 1987. Digestive physiology. In : *Rabbit Feeding and Nutrition*. T.J. Cunha Eds., Academic Press Inc., Londres, Royaume-Uni, 376 pp. : 15-33.

Cheeke P.R., Patton N.M., 1980. Carbohydrate-overload of the hindgut - A probable cause of enteritis. *J Appl Rabbit Res*, 3 : 20-23.

Chiou P.W.S., Yu B., Lin C., 1994. Effect of different components of dietary fiber on the intestinal morphology of domestic rabbits. *Comp Biochem Physiol*, 108A (4) : 629-638.

Christ B., Lange K., Jeroch H., 1996. Effect of dietary fat on fat content and fatty acid composition of does milk. In : *6th World Rabbit Congress*, Toulouse, France, 1 : 135-138.

Christie W.W., 1985. Structure of the triacyl-sn-glycerols in the plasma and milk of the rat and rabbit. *J Dairy Res*, 52 : 219-222.

Corring T., Rérat A., 1983. A survey of enzymatic digestion in simple-stomached animals. In : *Digestion and absorption of nutrients*, H. Bickel et Y. Schutz Eds, Hans Huber, Bern, Suisse, 94 pp. : 9-26.

Corring T., Saucier R., 1972. Sécrétion pancréatique sur porc fistulé. Adaptation à la

- teneur en protéines du régime. *Ann Biol Anim Bioch Biophys*, 12 (2) : 233-241.
- Corring T., Lebas F., Courtot D.**, 1972. Contrôle de l'évolution de l'équipement enzymatique du pancréas exocrine du lapin de la naissance à 6 semaines. *Ann Biol Anim Bioch Biophys*, 12 : 221-231.
- Corthesy B., Kraehenbuhl J.P.**, 1999. Antibody-mediated protection of mucosal surfaces. *Curr Top Microbiol Immunol*, 236 : 93-111.
- Cravioto A., Tello A., Villafan H., Ruiz J., Del Vedovo S., Neeser J.R.**, 1991. Inhibition of localized adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells by immunoglobulin and oligosaccharide fractions of human colostrum and breast milk. *J Infect Dis*, 163 : 1247-1255.
- Crociani F., Biavati B., Castagnoli P., Matteuzzi D.**, 1984. Anaerobic ureolytic bacteria from caecal content and soft faeces of rabbit. *J Appl Bacteriol*, 57 (1) : 83-88.
- Crociani F., Minardi A., Matteuzzi D., Gioffre F.**, 1985. Bactéries uréolytiques et activité uréasique dans le tube digestif du lapin. *MAN, Microbiol Alim Nutr*, 3 : 83-86.
- Crociani F., Matteuzzi D., Minardi A., Brigidi P., Gioffre F.**, 1986. Urease activity in gastrointestinal tract of rabbit and electrophoretic behaviour of urease. *Ann Inst Pasteur : Microbiol*, 137A : 287-294.
- Cunliffe R.N.**, 2003. α -Defensins in the gastrointestinal tract. *Mol Immunol*, 40 : 463-467.
- Cuniculture magazine**, 2005. Productivité et rentabilité des élevages cynicoles professionnels en 2003. *Cuniculture Magazine*, 32 : 14-17.
- Dahlqvist A.**, 1964. Method for assay of intestinal disaccharidases. *Anal Biochem*, 7 : 18-25.
- Davies J.S., Widdowson E.M., McCance R.A.**, 1964. The intake of milk and the retention of its constituents while the newborn rabbit doubles its weight. *Br J Nutr*, 18 : 385-392.
- Davies R.R., Davies J.A.**, 2003. Rabbit gastrointestinal physiology. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, 6 (1) : 139-153.
- De Araújo A.N., Giugliano L.G.**, 2001. Lactoferrin and free secretory component of human milk inhibit the adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. *BMC Microbiology*, 1 : 25.
- De Blas C., Mateos G.G.**, 1998. Feed Formulation. In : *The Nutrition of the Rabbit*. C. de Blas et J. Wiseman Eds, CABI Publishing, Oxon, Royaume-Uni, 344 pp. : 241-253.
- De Blas C., García J., Alday S.**, 1991. Effects of dietary inclusion of a probiotic (Paciflor[®]) on performance of growing rabbits. *J Appl Rabbit Res*, 14 (3) : 148-150.
- De Blas J.C., Taboada E., Mateos G.G., Nicodemus N., Méndez J.**, 1995. Effect of substitution of starch for fiber and fat in isoenergetic diets on nutrient digestibility and reproductive performance of rabbits. *J Anim Sci*, 73 (4) : 1131-1137.
- Debray L.**, 2002. Nutrition du lapereau en période de sevrage ; interaction avec les besoins nutritionnels de la femelle. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique, Toulouse, France, 125 pp.
- Debray L., Fortun-Lamothe L., Gidenne T.**, 2002. Influence of low dietary starch/fiber ratio around weaning on intake behaviour, performance and health status of young and rabbit does. *Anim Res*, 51 : 63-75.
- Debray L., Le Huërou-Luron I., Gidenne T., Fortun-Lamothe L.**, 2003. Digestive tract development in rabbit according to the dietary energetic source: correlation between whole tract digestion, pancreatic and intestinal enzymatic activities. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 135 (3) : 443-455.
- Decuypere J.A., Dierick N.A.**, 2003. The combined use of triacylglycerols containing medium-chain fatty acids and exogenous lipolytic enzymes as an alternative to in-feed antibiotics in piglets: concept, possibilities and limitations. An overview. *Nutr Res Rev*, 16 : 193-209.

-E-F-

- Demarne Y., Lhuillery C., Pihet J., Martinet L., Flanzky J.**, 1978. Comparative study of triacylglycerol fatty acids in milk fat from two leporidae species: rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) and hare (*Lepus europaeus*). *Comp Biochem Physiol B*, 61 (2) : 223-226.
- DeNigris S.J., Hamosh M., Kasbekar D.K., Lee T.C., Hamosh P.**, 1988. Lingual and gastric lipases: species differences in the origin of prepancreatic digestive lipases and in the localization of gastric lipase. *Biochim Biophys Acta*, 959 : 38-45.
- De Pablo M.A., Alvarez de Cienfuegos G.**, 2000. Modulatory effects of dietary lipids on immune system functions. *Immunol Cell Biol*, 78 (1) : 31-39.
- Dierick N.A., Decuypere J.A., Molly K., Van Beek E., Vanderbeke E.**, 2002. The combined use of triacylglycerols (TAGs) containing medium chain fatty acids (MCFAs) and exogenous lipolytic enzymes as an alternative to nutritional antibiotics in piglet nutrition. II. *In vivo* release of MCFAs in gastric cannulated and slaughtered piglets by endogenous and exogenous lipases; effects on the luminal gut flora and growth performance. *Livest Prod Sci*, 76 : 1-16.
- Di Meo C., Stanco G., Piccolo G., Taranto S., Gazaneo M.P., Nizza A.**, 2003. Productive performance of rabbits according to pre-weaning solid feed and milk intake. *Ital J Anim Sci*, 2 (1) : 51-58.
- Dojană N., Costache M., Dinischiotu A.**, 1998. The activity of some digestive enzymes in domestic rabbits before and after weaning. *Anim Sci*, 66 (Part 2) : 501-507.
- Donnenberg M.S., Kaper J.B.**, 1992. Enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*, 60 (10) : 3953-3961.
- Donnenberg M.S., Tacket C.O., Losonsky G., Frankel G., Nataro J.P., Dougan G., Levine M.M.**, 1998. Effect of prior experimental human enteropathogenic *Escherichia coli* infection on illness following homologous and heterologous rechallenge. *Infect Immun*, 66 (1) : 52-58.
- Dumas J.B.**, 1831. Procédés de l'analyse organique. *Ann Chim Phys*, 47 : 198-213.
- Edwards C.A., Gibson G., Champ M., Jensen B.B., Mathers J.C., Nagengast F., Rumney C., Quehl A.**, 1996. *In vitro* method for quantification of the fermentation of starch by human faecal bacteria. *J Sci Food Agric*, 71 : 209-217.
- Ehrlein H.J., Reich H., Schwinger M.**, 1983. Colonic motility and transit of digesta during hard and soft faeces formation in rabbits. *J Physiol*, 338 : 75-86.
- El-Saiyad G.A., Habeeb A.A.M., El-Maghawry A.M.**, 1994. A note on the effects of breed, stage of lactation and pregnancy status on milk composition of rabbits. *Anim Prod*, 58 : 153-157.
- Erickson R.H., Kim Y.S.**, 1990. Digestion and absorption of dietary protein. *Annu Rev Med*, 41 : 133-139.
- Externest D., Meckelein B., Schmidt M.A., Frey A.**, 2000. Correlations between antibody immune responses at different mucosal effector sites are controlled by antigen type and dosage. *Infect Immun*, 68 (7) : 3830-3839.
- Falcão-e-Cunha L., Peres H., Freire J.P.B., Castro-Solla L.**, 2004. Effects of alfalfa, wheat bran or beet pulp, with or without sunflower oil, on caecal fermentation and on digestibility in the rabbit. *Anim Feed Sci Technol*, 117 : 131-149.
- Falk G., Hooper L.V., Midtvedt T., Gordon J.I.**, 1998. Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology. *Microbiol Mol Biol Rev*, 62 (4) : 1157-1170.
- Farnaud S., Patel A., Odell E.W., Evans R.W.**, 2004. Variation in antimicrobial activity of lactoferricin-derived peptides explained by structure modelling. *FEMS Microbiol Lett*, 238 : 221-226.
- Fekete S., Bokori J.**, 1985. The effect of the fiber and protein level of the ration upon the cecotrophy of rabbit. *J Appl Rabbit Res*, 8 (2) : 68-71.
- Fernando-Warnakulasuriya G.J.P., Staggers J.E., Frost S.C., Wells M.A.**, 1981. Studies on

fat digestion, absorption, and transport in the suckling rat. I. Fatty acid composition and concentrations of major lipid components. *J Lipid Res*, 22 : 668-674.

Fernández C., Cobos A., Fraga M.J., 1994. The effect of fat inclusion on diet digestibility in growing rabbits. *J Anim Sci*, 72 (6) : 1508-1515.

Ferrando R., Henry N., Klur M., Mégard J.P., 1972. Teneur en azote et en acides aminés des caecotrophes et autres fèces des lapins à collier recevant ou non des antibiotiques dans leurs rations. *Ann Nutr Alim*, 26 : 189-196.

Folch J., Lees M., Stanley G.H.S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*, 226 : 497-509.

Fonty G., Gouet P., Riou Y., 1979. Effect of milk composition on the gastrointestinal microflora of artificially reared young rabbit. *Ann Biol Anim Biochim Biophys*, 19 (3A) : 567-571.

Forsythe S.J., Parker D.S., 1985. Nitrogen metabolism by the microbial flora of the rabbit caecum. *J Appl Bacteriol*, 58 (4) : 363-369.

Fortun-Lamothe L., Boullier S., 2004. Interactions between gut microflora and digestive mucosal immunity, and strategies to improve digestive health in young rabbits. In : *8th World Rabbit Congress*, 7-10 septembre, Puebla city, Mexico, 1 : 1035-1067.

Fortun-Lamothe L., Gidenne T., 2000. The effect of size of suckled litter on intake behaviour, performance and health status of young and reproducing rabbits. *Ann Zootech*, 49 : 517-529.

Fortun-Lamothe L., Gidenne T., Lapanouse A., De Dapper J., 2000. Note: an original system to separately control litter and female feed intake without modification of the mother-young relations. *World Rabbit Sci*, 8 : 177-180.

Fortun-Lamothe L., Gidenne T., Chalaye F., Debray L., 2001. Stratégie d'alimentation autour du sevrage chez le lapin : effets du ratio amidon/fibres. In : *9^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, 28-29 novembre, Paris, 1 : 195-198.

Fraga M.J., De Ayala P.P., Carabaño R., De Blas J.C., 1991. Effect of type of fiber on the rate of passage and on the contribution of soft feces to nutrient intake of finishing rabbits. *J Anim Sci*, 69 : 1566-1574.

Freeman C.P., Jack E.L., Smith L.M., 1965. Intramolecular fatty acid distribution in the milk fat triglycerides of several species. *J Dairy Sci*, 48 : 853-858.

Freter R., 1974. Interactions between mechanisms controlling the intestinal microflora. *Am J Clin Nutr*, 27 : 1409-1416.

-G-H-

Galand G., 1989. Brush border membrane sucrase-isomaltase, maltase-glucoamylase and trehalase in mammals. *Comp Biochem Physiol B*, 94 (1) : 1-11.

García J., De Blas J.C., Carabaño R., García P., 1995. Effect of type of lucerne hay on caecal fermentation and nitrogen contribution through caecotrophy in rabbits. *Reprod Nutr Dev*, 35 (3) : 267-275.

García J., Carabaño R., De Blas J.C., 1999. Effect of fiber source on cell wall digestibility and rate of passage in rabbits. *J Anim Sci*, 77 (4) : 898-905.

García J., Carabaño R., Perez-Alba L., De Blas J., 2000. Effect of fiber source on cecal fermentation and nitrogen recycled through cecotrophy in rabbits. *J Anim Sci*, 78 : 638-646.

García J., Nicodemus N., Carabaño R., De Blas J.C., 2002. Effect of inclusion of defatted grape seed meal in the diet on digestion and performance of growing rabbits. *J Anim Sci*, 80 (1) : 162-170.

Gidenne T., 1987. Utilisation digestive de rations riches en lignines chez le lapin en croissance : mesures de flux et de transit dans différents segments digestifs. *Ann Zootech*, 36 : 95-108.

Gidenne T., 1992. Effect of fibre level, particle size and adaptation period on digestibility and rate of passage as measured at the ileum and in

the faeces in the adult rabbit. *Br J Nutr*, 67 : 133-146.

Gidenne T., 1995. Effect of fibre level reduction and gluco-oligosaccharide addition on the growth performance and caecal fermentation in the growing rabbit. *Anim Feed Sci Technol*, 56 (3-4) : 253-263.

Gidenne T., 1996. Conséquences digestives de l'ingestion de fibres et d'amidon chez le lapin en croissance : vers une meilleure définition des besoins. *Prod Anim*, 9 (4) : 243-254.

Gidenne T., 1997. Caeco-colic digestion in the growing rabbit: impact of nutritional factors and related disturbances. *Livest Prod Sci*, 51 : 73-88.

Gidenne T., Bellier R., 2000. Use of digestible fibre in replacement to available carbohydrates - Effect on digestion, rate of passage and caecal fermentation pattern during the growth of the rabbit. *Livest Prod Sci*, 63 : 141-152.

Gidenne T., Fortun-Lamothe L., 2002. Feeding strategy for young rabbit around weaning: a review of digestive capacity and nutritional needs. *Anim Sci*, 75 : 169-184.

Gidenne T., Lebas F., 1984. Evolution circadienne du contenu digestif chez le lapin en croissance. Relation avec la caecotrophie. In : *3rd Congress of the World Rabbit Science Association*, 4-8 avril, Rome, Italie, 2 : 494-501.

Gidenne T., Lebas F., 1987. Estimation quantitative de la caecotrophie chez le lapin en croissance : variations en fonction de l'âge. *Ann Zootech*, 36 : 225-236.

Gidenne T., Licois D., 2005. Effect of a high fibre intake on the resistance of the growing rabbit to an experimental inoculation with an enteropathogenic strain of *Escherichia coli*. *Anim Sci*, 80 : 281-288.

Gidenne T., Perez J.M., 1993. Effect of dietary starch origin on digestion in the rabbit. 2. Starch hydrolysis in the small intestine, cell wall degradation and rate of passage measurements. *Anim Feed Sci Technol*, 42 : 249-257.

Gidenne T., Pinheiro V., Falcão e Cunha L., 2000. A comprehensive approach of the rabbit

digestion: consequences of a reduction in dietary fibre supply. *Livest Prod Sci*, 64 : 225-237.

Gidenne T., Arveux P., Madec O., 2001a. The effect of the quality of dietary lignocellulose on digestion, zootechnical performance and health of the growing rabbit. *Anim Sci*, 73 : 97-104.

Gidenne T., Kerdiles V., Jehl N., Arveux P., Briens C., Eckenfelder B., Fortune H., Montessuy S., Muraz G., Stephan S., 2001b. Effet d'une hausse du ratio fibres digestibles/protéines sur les performances zootechniques et l'état sanitaire du lapin en croissance : résultats préliminaires d'une étude multi-site. In : *9^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, 28-29 novembre, Paris, France, 1 : 65-68.

Gidenne T., Jehl N., Segura M., Michalet-Doreau B., 2002. Microbial activity in the caecum of the rabbit around weaning: impact of a dietary fibre deficiency and of intake level. *Anim Feed Sci Technol*, 99 : 107-118.

Gidenne T., Jehl N., Lapanouse A., Segura M., 2004. Inter-relationship of microbial activity, digestion and gut health in the rabbit: effect of substituting fibre by starch in diets having a high proportion of rapidly fermentable polysaccharides. *Br J Nutr*, 92 : 95-104.

Gidenne T., Segura M., Lapanouse A., 2005a. Effect of cereal sources and processing in diets for the growing rabbit. I. Effects on digestion and fermentative activity in the caecum. *Anim Res*, 54 : 55-64.

Gidenne T., Jehl N., Perez J.M., Arveux P., Bourdillon A., Mousset J.M., Duperray J., Stephan S., Lamboley B., 2005b. Effect of cereal sources and processing in diets for the growing rabbit. II. Effects on performances and mortality by enteropathy. *Anim Res*, 54 : 65-72.

Girón J.A., Ho A.S., Schoolnik G.K., 1993. Characterization of fimbriae produced by enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 175 (22) : 7391-403.

Godzińska H., Osińska M., Ślopek S., 1970. Immunoelectrophoretic studies on blood serum, colostrum and milk of animals of different species in their ontogenetic development. I. Immunoelectrophoretic analysis of blood serum,

- colostrum and milk of rabbits and sheep. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 18 (3) : 305-314.
- Goodlad R.A., Levi S., Lee C.Y., Mandir N., Hodgson H., Wright N.A.**, 1991. Morphometry and cell proliferation in endoscopic biopsies: evaluation of a technique. *Gastroenterology*, 101 : 1235-1241.
- Gouet P.H., Fonty G.**, 1979. Changes in the digestive microflora of holoxenic rabbits from birth until adulthood. *Ann Biol Anim Biochim Biophys*, 19 (3A) : 553-556.
- Grabowski H., Le Bars D., Chene N., Attal J., Malienou-Ngassa R., Puissant C., Houdebine L.M.**, 1991. Rabbit whey acidic protein concentration in milk, serum, mammary gland extract, and culture medium. *J Dairy Sci*, 74 : 4143-4150.
- Grant A.L., Thomas J.W., King K.J., Liesman J.S.**, 1990. Effects of dietary amines on small intestinal variables in neonatal pigs fed soy protein isolate. *J Anim Sci*, 68 : 363-371.
- Guarner F., Malagelada J.R.**, 2003. Gut flora in health and disease. *Lancet*, 361 : 512-519.
- Guilloteau P., Toullec R., Grongnet J.F., Patureau-Mirand P., Prugnaud J., Sauvant D.**, 1986. Digestion of milk, fish and soya-bean protein in the preruminant calf: flow of digesta, apparent digestibility at the end of the ileum and amino acid composition of ileal digesta. *Br J Nutr*, 55 (3) : 571-592.
- Gutiérrez I., García J., Carabaño R., Mateos G.G., De Blas J.C.**, 2000. Effect of exogenous phytase on phosphorus and nitrogen digestibility in growing-finishing rabbits. *7th World Rabbit Congress*, 5-7 juillet, Valence, Espagne. In : *World Rabbit Sci*, 8 (suppl.1, vol. C) : 277-282.
- Gutiérrez I., Espinosa A., García J., Carabaño R., De Blas J.C.**, 2002a. Effect of levels of starch, fiber, and lactose on digestion and growth performance of early-weaned rabbits. *J Anim Sci*, 80 : 1029-1037.
- Gutiérrez I., Espinosa A., García J., Carabaño R., De Blas J.C.**, 2002b. Effects of starch and protein sources, heat processing, and exogenous enzymes in starter diets for early weaned rabbits. *Anim Feed Sci Technol*, 98 (3) : 175-186.
- Gutiérrez I., Espinosa A., García J., Carabaño R., De Blas J.C.**, 2003. Effect of protein source on digestion and growth performance of early-weaned rabbits. *Anim Res*, 52 : 461-471.
- Gyarmati T., Szendrő Z., Maertens L., Biró-Németh E., Radnai I., Milisits G., Matics Z.**, 2000a. Effect of suckling twice a day on the performance of suckling and growing rabbits. *7th World Rabbit Congress*, 5-7 juillet, Valence, Espagne. In : *World Rabbit Sci*, 8 (suppl.1, vol. C) : 283-290.
- Gyarmati T., Szendrő Z., Zomborszky-Kovács M., Matics Z., Radnai I., Biró-Németh E.**, 2000b. Effect of double suckling and early weaning on the weight and length of the gastrointestinal tract. *7th World Rabbit Congress*, 5-7 juillet, Valence, Espagne. In : *World Rabbit Sci*, 8 (suppl.1, vol. A) : 591-598.
- Heczko U., Abe A., Finlay B.B.**, 2000a. Segmented filamentous bacteria prevent colonization of enteropathogenic *Escherichia coli* O103 in rabbits. *J Infect Dis*, 181 (3) : 1027-1033.
- Heczko U., Abe A., Finlay B.B.**, 2000b. *In vivo* interactions of rabbit enteropathogenic *Escherichia coli* O103 with its host: an electron microscopic and histopathologic study. *Microbes Infect*, 2 : 5-16.
- Henschel M.J.**, 1973. Comparison of the development of proteolytic activity in the abomasum of the preruminant calf with that in the stomach of the young rabbit and guinea-pig. *Br J Nutr*, 30 (2) : 285-296.
- Hertel S., Heinz F., Vogel M.**, 2000. Hydrolysis of low-molecular-weight oligosaccharides and oligosaccharide alditols by pig intestinal sucrose/isomaltase and glucosidase/maltase. *Carbohydr Res*, 326 : 264-276.
- Hill R.R.H.**, 1983. Distribution of urease producing bacteria in the rabbit caecum. *S Afr J Anim Sci*, 13 : 61-62.
- Hill R.R.H.**, 1986. Digestion of mucin polysaccharides *in vitro* by bacteria isolated

from the rabbit cecum. *Curr Microbiol*, 14 : 117-120.

Hintz H.F., Schryver H.F., Stevens C.E., 1978. Digestion and absorption in the hindgut of nonruminant herbivores. *J Anim Sci*, 46 (6) : 1803-1807.

Hollister A.G., Cheeke P.R., Robinson K.L., Patton N.M., 1990. Effects of dietary probiotics and acidifiers on performance of weanling rabbits. *J Appl Rabbit Res*, 13 (1) : 6-9.

Hoover W.H., Heitmann R.N., 1972. Effects of dietary fiber levels on weight gain, cecal volume and volatile fatty acid production in rabbits. *J Nutr*, 102 : 375-380.

Hoy S., Seitz K., Selzer D., Schüddemage M., 2000. Nursing behaviour of domesticated and wild rabbit does under different keeping conditions. *7th World Rabbit Congress*, 4-7 juillet, Valence, Espagne. In : *World Rabbit Sci*, 8 (suppl. 1, vol. B) : 537-543.

Hsiao C.P., Siebert K.J., 1999. Modeling the inhibitory effects of organic acids on bacteria. *Int J Food Microbiol*, 47 : 189-201.

Hudson R., Schaal B., Martínez-Gómez M., Distel H., 2000. Mother-young relations in the European rabbit : physiological and behavioral locks and keys. *World Rabbit Sci*, 8 (2) : 85-91.

-I-J-K-

International Rabbit Reproduction Group, 2005. Recommendations and guidelines for applied reproduction trials with rabbit does. *World Rabbit Sci*, 13 (3) : 147-164.

Isaacs C.E., 2005. Human milk inactivates pathogens individually, additively, and synergistically. *J Nutr*, 135 (5) : 1286-1288.

Isaacs C.E., Litov R.E., Thormar H., 1995. Antimicrobial activity of lipids added to human milk, infant formula, and bovine milk. *J Nutr Biochem*, 6 : 362-366.

Jarvis K.G., Giron J.A., Jerse A.E., McDaniel T.K., Donnenberg M.S., Kaper J.B., 1995. Enteropathogenic *Escherichia coli* contains a putative type III secretion system necessary for

the export of proteins involved in attaching and effacing lesion formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92 (17) : 7996-8000.

Jehl N., Gidenne T., Le Roux J.F., 1996. Measurement of the bacterial fibrolytic activity in the caecum and in the soft faeces of the rabbit. In : *6th World Rabbit Congress*, 9-12 juillet, Toulouse, France, 1 : 199-203.

Jia H.P., Starner T., Ackermann M., Kirby P., Tack B.F., McCray P.B., Jr., 2001. Abundant human β -defensin-1 expression in milk and mammary gland epithelium. *J Pediatr*, 138 (1) : 109-112.

Jilge B., 1993. The ontogeny of circadian rhythms in the rabbit. *J Biol Rhythms*, 8 (3) : 247-260.

Jin L.Z., Zhao X., 2000. Intestinal receptors for adhesive fimbriae of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) K88 in swine - a review. *Appl Microbiol Biotechnol*, 54 (3) : 311-318.

Johnson R.W., 1997. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: An integrated view. *J Anim Sci*, 75 : 1244-1255.

Jouany J.P., 1982. Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. *Sci Aliments*, 2 : 131-144.

Kabara J.J., Swieczkowski D.M., Conley A.J., Truant J.P., 1972. Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother*, 2 (1) : 23-28.

Kagnoff M.F., 1993. Immunology of the intestinal tract. *Gastroenterology*, 105 (5) : 1275-1280.

Keelan M., Walker K., Thompson A.B.R., 1985. Intestinal morphology, marker enzymes and lipid content of brush border membranes from rabbit jejunum and ileum: effect of aging. *Mech Ageing Dev*, 31 : 49-68.

Kelly D., Coutts A.G.P., 2000. Development of digestive and immunological function in neonates: role of early nutrition. *Livest Prod Sci*, 66 : 161-167.

- Kenny B., DeVinney R., Stein M., Reinscheid D.J., Frey E.A., Finlay B.B.**, 1997. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) transfers its receptor for intimate adherence into mammalian cells. *Cell*, 91 : 511-520.
- Kerfelec B.**, 2004. La digestion des graisses : des aspects moléculaires à la pathologie. *Nutr Clin Metab*, 18 : 11-14.
- Klasing K.C., Leshchinsky T.V.**, 2000. Interactions between nutrition and immunity. In : *Nutrition and Immunology: Principles and Practice*. M.E. Gershwin, J.B. German et C.L. Keen Eds, Humana Press, Totowa, New Jersey, Etats-Unis : 363-373.
- Knight K.L., Winstead C.R.**, 1997. B lymphocyte development in the rabbit. *Int Rev Immunol*, 15 (3-4) : 129-163.
- Kojima T., Nishimura M., Yajima T., Kuwata T., Suzuki Y., Goda T., Takase S., Harada E.**, 1998. Effect of intermittent feeding on the development of disaccharidase activities in artificially reared rat pups. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 121 (3) : 289-297.
- Kolb A.F.**, 2001. The prospects of modifying the antimicrobial properties of milk. *Biotechnol Adv*, 19 : 299-316.
- Konturek P.C., Konturek S.J., Ochmański W.**, 2004a. Neuroendocrinology of gastric H⁺ and duodenal HCO₃⁻ secretion: the role of brain-gut axis. *Eur J Pharmacol*, 499 (1-2) : 15-27.
- Konturek S.J., Konturek P.C., Pawlik T., Sliwowski Z., Ochmanski W., Hahn E.G.**, 2004b. Duodenal mucosal protection by bicarbonate secretion and its mechanisms. *J Physiol Pharmacol*, 55 (Suppl 2) : 5-17.
- Kráčmar S., Gajdůšek S., Jelínek P., Rous P.**, 2001. Changes in amino acid composition of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) milk within the first 30 days after parturition. *Czech J Anim Sci*, 46 (8) : 348-351.
- L-M-**
-
- Lahov E., Regelson W.**, 1996. Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk: casecidin, isracidin peptides. *Food Chem Toxicol*, 34 (1) : 131-145.
- Lainé J., Beattie M., LeBel D.**, 1993. Simultaneous kinetic determinations of lipase, chymotrypsin, trypsin, elastase, and amylase on the same microtiter plate. *Pancreas*, 8 (3) : 383-386.
- Lanning D., Sethupathi P., Rhee K.J., Zhai S.K., Knight K.L.**, 2000a. Intestinal microflora and diversification of the rabbit antibody repertoire. *J Immunol*, 165 : 2012-2019.
- Lanning D., Zhu X., Zhai S.K., Knight K.L.**, 2000b. Development of the antibody repertoire in rabbit: gut-associated lymphoid tissue, microbes, and selection. *Immunol rev*, 175 : 214-228.
- Laplace J.P.**, 1978. Le transit digestif chez les monogastriques. III.- Comportement (prise de nourriture - caecotrophie), motricité et transit digestifs et pathogénie des diarrhées chez le Lapin. *Ann Zootech*, 27 : 225-265.
- Laplace J.P., Lebas F.**, 1972. Mensurations viscérales chez le lapin. II.- Principaux facteurs déterminants des variations relatives de la croissance du foie, des reins et des segments intestinaux entre 3 et 11 semaines d'âge. *Ann Zootech*, 21 (4) : 505-524.
- Layer P., Go V.L.W., DiMagno E.P.**, 1986. Fate of pancreatic enzymes during small intestinal aboral transit in humans. *Am J Physiol (Gastrointest Liver Physiol 14)*, 251 : G475-G480.
- Lebas F.**, 1971. Composition chimique du lait de lapine, évolution au cours de la traite et en fonction du stade de lactation. *Ann Zootech*, 20 (2) : 185-191.
- Lebas F.**, 1972. Effet de la simultanéité de la lactation et de la gestation sur les performances laitières chez la lapine. *Ann Zootech*, 21 (1) : 129-131.
- Lebas F.**, 2000. Vitamins in rabbit nutrition: literature review and recommendations. *World Rabbit Sci*, 8 (4) : 185-192.
- Lebas F., Laplace J.P.**, 1972. Mensurations viscérales chez le lapin. I.- Croissance du foie,

des reins et des divers segments intestinaux entre 3 et 11 semaines d'âge. *Ann Zootech*, 21 (1) : 37-47.

Lebas F., Corring T., Courtot D., 1971. Equipement enzymatique du pancréas exocrine chez le lapin, mise en place et évolution de la naissance au sevrage. Relation avec la composition du régime alimentaire. *Ann Biol Anim Bioch Biophys*, 11 (3) : 399-413.

Lebas F., Laplace J.P., Droumenq P., 1982. Effets de la teneur en énergie de l'aliment chez le lapin. Variations en fonction de l'âge des animaux et de la séquence des régimes alimentaires. *Ann Zootech*, 31 (3) : 233-256.

Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H., Thébault R.G., 1996. Nutrition et alimentation. In : *Le lapin : Elevage et pathologie*. FAO Eds, Rome, Italie : 21-50.

Lee S.C., Prosky L., De Vries J.W., 1992. Determination of total, soluble, and insoluble dietary fiber in foods - enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS buffer: collaborative study. *JAOAC Int*, 75 : 395-416.

Le Huërou-Luron I., 2002. Production and gene expression of brush border disaccharidases and peptidases during the development in pigs and calves. In : *Biology of the Intestine in Growing Animals*. R. Zabielski, P.C. Gregory et B. Weström Eds, Elsevier Science B.V., Amsterdam, Pays-Bas, 836 pp. : 491-514.

Lever M., 1977. Carbohydrate determination with 4-hydroxybenzoic acid hydrazide (PAHBAH): Effect of bismuth on the reaction. *Anal Biochem*, 81 : 21-27.

Licois D., 1990. *Escherichia coli* pathogènes intestinaux et colibacilloses du lapin. In : 5^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole en France, 12-13 décembre, Paris, France, 1 : Communication 17, 17 pp.

Licois D., Coudert P., Guillot J.F., Renaut L., 1982. Diarrhée expérimentale du lapin : étude de la pathologie due à des coccidies intestinales (*E. intestinalis*) et à des *Escherichia coli*. In : 3^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole en France, 8-9 décembre, Paris, France, 2 : Communication 27, 16 pp.

Licois D., Guillot J.F., Mouline C., 1990. Sensibilité du lapin à une souche pathogène d'*Escherichia coli* O103 : effet de l'âge des animaux. In : 5^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole en France, 12-13 décembre, Paris, France, 1 : Communication 24, 8 pp.

Löser C., 2000. Polyamines in human and animal milk. *Br J Nutr*, 84 (Suppl. 1) : S55-S58.

Macfarlane S., Macfarlane G.T., 2003. Regulation of short-chain fatty acid production. *Proc Nutr Soc*, 62 (1) : 67-72.

Macpherson A.J., Hunziker L., McCoy K., Lamarre A., 2001. IgA responses in the intestinal mucosa against pathogenic and non-pathogenic microorganisms. *Microbes Infect*, 3 (12) : 1021-1035.

Madara J.L., Trier J.S., 1987. Functional morphology of the mucosa of the small intestine. In : *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. L.R. Johnson Eds, 2^{ème} éd., Raven Press, New-York, Etats-Unis : 1209-1249.

Maertens L., De Groot G., 1990. Feed intake of rabbit kits before weaning and attempts to increase it. *J Appl Rabbit Res*, 13 : 151-158.

Mage R., 1998. Immunology of Lagomorphs. In : *Handbook of Vertebrate Immunology*. P. Griebel, P.P. Pastoret, H. Bazin et A. Govaerts Eds, Academic Press, Londres, Royaume-Uni : 223-260.

Marches O., Nougayrede J.P., Boullier S., Mainil J., Charlier G., Raymond I., Pohl P., Boury M., De Rycke J., Milon A., Oswald E., 2000. Role of Tir and Intimin in the virulence of rabbit enteropathogenic *Escherichia coli* serotype O103:H2. *Infect Immun*, 68 (4) : 2171-2182.

Marion J., Bébin K., Thomas F., Piot M., Fauquant J., Louveau I., Ganier P., Thibault J.N., Maubois J.L., Sève B., Le Huërou-Luron I., Le Dividich J., 2002a. La supplémentation de l'aliment de sevrage en un extrait de colostrum bovin augmente la hauteur des villosités dans le duodénum chez le porcelet sevré. In : 34^{èmes} Journées de la Recherche Porcine en France, Paris, France, 1 : 103-108.

- Marion J., Biernat M., Thomas F., Savary G., Le Breton Y., Zabielski R., Le Huërou-Luron I., Le Dividich J.**, 2002b. Small intestine growth and morphometry in piglets weaned at 7 days of age. Effects of level of energy intake. *Reprod Nutr Dev*, 42 : 339-354.
- Marion J., Petersen Y.M., Rome V., Thomas F., Sangild P.T., Le Dividich J., Le Huërou-Luron I.**, 2005. Early weaning stimulates intestinal brush border enzyme activities in piglets, mainly at the posttranscriptional level. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 41 (4) : 401-10.
- Marlier D., Dewrée R., Delleur V., Licois D., Lassence C., Poulipoulis A., Vindevogel H.**, 2003. Description des principales étiologies des maladies digestives chez le lapin européen (*Oryctolagus cuniculus*). *Ann Méd Vét*, 147 : 385-392.
- Marounek M., Vovk S.J., Skřivanová V.**, 1995. Distribution of activity of hydrolytic enzymes in the digestive tract of rabbits. *Br J Nutr*, 73 (3) : 463-469.
- Marounek M., Skřivanová V., Savka O.**, 2002. Effect of caprylic, capric and oleic acid on growth of rumen and rabbit caecal bacteria. *J Anim Feed Sci*, 11 : 507-516.
- Marounek M., Důsková D., Skřivanová V.**, 2003a. Hydrolysis of phytic acid and its availability in rabbits. *Br J Nutr*, 89 (3) : 287-294.
- Marounek M., Skřivanová E., Rada V.**, 2003b. Susceptibility of *Escherichia coli* to C2-C18 Fatty Acids. *Folia Microbiol*, 48 (6) : 731-735.
- Maroux S., Louvard D., Baratti J.**, 1973. The aminopeptidase from hog intestinal brush border. *Biochim Biophys Acta*, 321 : 282-295.
- Martin H.M., Hancock J.T., Salisbury V., Harrison R.**, 2004. Role of xanthine oxidoreductase as an antimicrobial agent. *Infect Immun*, 72 (9) : 4933-4939.
- Martinsen T.C., Bergh K., Waldum H.L.**, 2005. Gastric juice: a barrier against infectious diseases. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 96 (2) : 94-102.
- Marty J., Vernay M.**, 1984. Absorption and metabolism of the volatile fatty acids in the hind-gut of the rabbit. *Br J Nutr*, 51 : 265-277.
- Masson P.L., Heremans J.F.**, 1971. Lactoferrin in milk from different species. *Comp Biochem Physiol B*, 39 (1) : 119-129.
- Merino J.M., Carabaño R.**, 1992. Effect of type of fibre on ileal and faecal digestibility. *J Appl Rabbit Res*, 15 : 931-937.
- Miled N., Canaan S., Dupuis L., Roussel A., Rivière M., Carrière F., De Caro A., Cambillau C., Verger R.**, 2000. Digestive lipases: from three-dimensional structure to physiology. *Biochimie*, 82 : 973-986.
- Milon A., Esslinger J., Camguilhem R.**, 1990. Adhesion of *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic weaned rabbits to intestinal villi and HeLa cells. *Infect Immun*, 58 (8) : 2690-2695.
- Milon A., Esslinger J., Camguilhem R.**, 1992. Oral vaccination of weaned rabbits against enteropathogenic *Escherichia coli*-like *E. coli* O103 infection: use of heterologous strains harboring lipopolysaccharide or adhesin of pathogenic strains. *Infect Immun*, 60 (7) : 2702-2709.
- Milon A., Oswald E., De Rycke J.**, 1999. Rabbit EPEC: a model for the study of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Vet Res*, 30 : 203-219.
- Montagne L., Pluske J.R., Hampson D.J.**, 2003. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Anim Feed Sci Technol*, 108 (1-4) : 95-117.
- Montagne L., Piel C., Lallès J.P.**, 2004. Effect of diet on mucin kinetics and composition: nutrition and health implications. *Nutr Rev*, 62 (3) : 105-14.
- Moré J.**, 1969. Contribution à l'étude histologique et histochimique de l'estomac du lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus* L.). *Rech Vétér*, 2 : 1-26.

Moreau H., Gargouri Y., Lecat D., Junien J.L., Verger R., 1988a. Purification, characterization and kinetic properties of the rabbit gastric lipase. *Biochim Biophys Acta*, 960 : 286-293.

Moreau H., Gargouri Y., Lecat D., Junien J.L., Verger R., 1988b. Screening of preduodenal lipases in several mammals. *Biochim Biophys Acta*, 959 : 247-252.

Morisse J.P., Boilletot E., Maurice R., 1985. Alimentation et modifications du milieu intestinal chez le lapin (AGV, NH₃, pH, flore). *Recl Med Vet*, 161 (5) : 443-449.

Morisse J.P., Maurice R., Boilletot E., Cotte J.P., 1992. Effect of a fructo-oligo-saccharides compound in rabbits experimentally infected with *E. coli* O103. *J Appl Rabbit Res*, 15 : 1137-1143.

Mowat A., 2003. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol*, 3 (4) : 331-341.

Mu H., Hoy C.E., 2004. The digestion of dietary triacylglycerols. *Prog Lipid Res*, 43 : 105-133.

-N-O-P-

Nataro J.P., Kaper J.B., 1998. Diarrheogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*, 11 (1) : 142-201.

Nizza A., Di Meo C.d., Stanco G., Cutrignelli M.I., 2001. Influence of solid feed intake and age at weaning on caecal content characteristics and post-weaning performance. *World Rabbit Sci*, 9 (4) : 149-153.

Ochoa T.J., Noguera-Obenza M., Ebel F., Guzman C.A., Gomez H.F., Cleary T.G., 2003. Lactoferrin impairs type III secretory system function in enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*, 71 (9) : 5149-5155.

Odle J., 1997. New insights into the utilization of medium-chain triglycerides by the neonate: observations from a piglet model. *J Nutr*, 127 : 1061-1067.

Odle J., Zijlstra R.T., Donovan S.M., 1996. Intestinal effects of milkborne growth factors in neonates of agricultural importance. *J Anim Sci*, 74 : 2509-2522.

Okerman L., Devriese L.A., 1988. Intestinal colonization with different rabbit enteropathogenic *Escherichia coli* biotypes and cross protection induced by different strains. In : *4th World Rabbit Congress*, Budapest, Hongrie, 3 : 521-529.

Pacini N., Zanchi R., Corti M., Greppi G.F., Rosi F., 1986. Microflora ciecale del coniglio e diete proteiche. *Riv Coniglicoltura*, 6 : 39-41.

Padilha M.T.S., Licois D., Gidenne T., Carré B., Fonty G., 1995. Relationships between microflora and caecal fermentation in rabbits before and after weaning. *Reprod Nutr Dev*, 35 (4) : 375-386.

Padilha M.T., Licois D., Gidenne T., Carré B., 1999. Caecal microflora and fermentation pattern in exclusively milk-fed young rabbits. *Reprod Nutr Dev*, 39 (2) : 223-230.

Parigi-Bini R., Xiccato G., Cinetto M., Dalle Zotte A., 1991. Efficienza digestiva e ritenzione energetica e proteica dei coniglietti durante l'allattamento e lo svezzamento. *Zootec Nutr Anim*, 17 (3) : 167-180.

Park P.W., Goins R.E., 1994. *In situ* preparation of fatty acid methyl esters for analysis of fatty acid composition in foods. *J Food Sci*, 59 (6) : 1262-1266.

Pascual J.J., Cervera C., Blas E., Fernández-Carmona J., 1998. Effect of high fat diets on the performance and food intake of primiparous and multiparous rabbit does. *Anim Sci*, 66 : 491-499.

Pascual J.J., Cervera C., Blas E., Fernández-Carmona J., 1999a. Effect of high fat diets on the performance, milk yield and milk composition of multiparous rabbit does. *Anim Sci*, 68 : 151-162.

Pascual J.J., Tolosa C., Cervera C., Blas E., Fernández-Carmona J., 1999b. Effect of diets with different digestible energy content on the performance of rabbit does. *Anim Feed Sci Technol*, 81 (1) : 105-117.

- Pascual J.J., Cervera C., Fernández-Carmona J.**, 2001. Effect of solid food intake before weaning on the performance of growing rabbits. *COST Action 848*, 29-30 juin, Gödöllő, Hongrie, 1 : 48.
- Peeters J.E., Charlier G.J., Halen P.H.**, 1984a. Pathogenicity of attaching effacing enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from diarrheic suckling and weanling rabbits for newborn rabbits. *Infect Immun*, 46 (3) : 690-696.
- Peeters J.E., Geeroms R., Glorieux B.**, 1984b. Experimental *Escherichia coli* enteropathy in weanling rabbits: clinical manifestations and pathological findings. *J Comp Path*, 94 : 521-528.
- Peeters J.E., Pohl P., Okerman L., Devriese L.A.**, 1984c. Pathogenic properties of *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic commercial rabbits. *J Clin Microbiol*, 20 (1) : 34-39.
- Peeters J.E., Maertens L., Geeroms R.**, 1992. Influence of galacto-oligosaccharides on zoo technical performance, cecal biochemistry and experimental colibacillosis O103/8+ in weanling rabbits. *J Appl Rabbit Res*, 15 : 1129-1136.
- Peeters J.E., Orsenigo R., Maertens L., Gallazzi D., Colin M.**, 1993. Influence of two iso-energetic diets (starch vs fat) on experimental colibacillosis (EPEC) and iota-enterotoxaemia in early weaned rabbits. *World Rabbit Sci*, 1 (2) : 53-66.
- Peeters J.E., Maertens L., Orsenigo R., Colin M.**, 1995. Influence of dietary beet pulp on caecal VFA, experimental colibacillosis and iota-enterotoxaemia in rabbits. *Anim Feed Sci Tech*, 51 (1-2) : 123-139.
- Penney R.L., Folk G.E., Galask R.P., Petzold C.R.**, 1986. The microflora of the alimentary tract of rabbits in relation to pH, diet and cold. *J Appl Rabbit Res*, 9 (4) : 152-156.
- Perez J.M., Lebas F., Gidenne T., Maertens L., Xiccato G., Parigi-Bini R., Dalle Zotte A., Cossu M.E., Carazzolo A., Villamide M.J., Carabaño R., Fraga M.J., Ramos M.A., Cervera C., Blas E., Fernandez J., Falcão e Cunha L., Bengala Freire J.**, 1995. European reference method for *in vivo* determination of diet digestibility in rabbits. *World Rabbit Sci*, 3 (1) : 41-43.
- Perez J.M., Gidenne T., Bouvarel I., Arveux P., Bourdillon A., Briens C., Le Naour J., Messenger B., Mirabito L.**, 2000. Replacement of digestible fibre by starch in the diet of the growing rabbit. II. Effects on performances and mortality by diarrhoea. *Ann Zootech*, 49 (4) : 369-377.
- Perret J.P.**, 1980. Lipolyse gastrique des triglycérides du lait maternel, et absorption gastrique des acides gras à chaîne moyenne chez le Lapereau. *J Physiol*, 76 : 159-166.
- Perret J.P.**, 1982. Lipolyse gastrique chez le lapereau. Origine et importance physiologique de la lipase. *J Physiol*, 78 : 221-230.
- Perret J.P., Daoud-El Baba M., Gros I., Descroix-Vagne M.**, 1993. Post-prandial lipase, pepsin and acid secretion of a Heidenhain pouch in the rabbit. *Reprod Nutr Dev*, 33 : 199-207.
- Petschow B.W., Batema R.P., Ford L.L.**, 1996. Susceptibility of *Helicobacter pylori* to bactericidal properties of medium-chain monoglycerides and free fatty acids. *Antimicrob Agents Chemother*, 40 (2) : 302-306.
- Piattoni F., Maertens L., Demeyer D.**, 1995. Age dependent variation of caecal contents composition of young rabbits. *Arch Anim Nutr*, 48 : 347-355.
- Piattoni F., Maertens L., Mazzoni D.**, 1999. Effect of weaning age and solid feed distribution before weaning on performances and caecal traits of young rabbits. *Cah Opt Medit*, 41 : 85-91.
- Pierce J., Suelter C.H.**, 1977. An evaluation of the Coomassie brilliant blue G-250 dye-binding method for quantitative protein determination. *Anal Biochem*, 81 : 478-480.
- Pinheiro V., Gidenne T.**, 2000. Substitution of wheat by potato starch for growing rabbits: effect on performances, digestion and health. 7th *World Rabbit Congress*, 5-7 juillet, Valence, Espagne. In : *World Rabbit Sci*, 8 (suppl.1, vol. C) : 391-399.

- Pinheiro V., Gidenne T., Falcão e Cunha L.,** 2001. Effect of age on bacterial fibrolytic activity of caecal flora of rabbit. *COST Action 848*, 29-30 juin, Gödöllő, Hongrie, 1 : 50.
- Pluske J.R., Hampson D.J., Williams I.H.,** 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livest Prod Sci*, 51 : 215-236.
- Pradal G., Tusques J.,** 1969. Description en microscopie électronique de cellules à caractères endocrines, susceptibles de sécréter la gastrine, dans la muqueuse antrale de l'estomac de Lapin. *C. R. Acad Sc Paris, Série D*, 269 : 777-780.
- Priyadarshini S., Kansal V.K.,** 2002. Purification, characterization, antibacterial activity and N-terminal sequencing of buffalo-milk lysozyme. *J Dairy Res*, 69 : 419-431.
- Prohászka L.,** 1980. Antibacterial effect of volatile fatty acids in enteric *E. coli*-infections of rabbits. *Zbl Vet Med B*, 27 : 631-639.
- Proto V.,** 1965. Esperienze di coprofagia nel coniglio. *Prod Anim*, 4 : 1-21.
- Prud'hon M., Chérubin M., Goussopoulos J., Carles Y.,** 1975. Evolution au cours de la croissance des caractéristiques de la consommation d'aliments solide et liquide du lapin domestique nourri *ad libitum*. *Ann Zootech*, 24 (2) : 289-298.
- R-S-**
-
- Rådberg K.M., Weström B.R., Pierzynowski S.G.,** 2002. Food and secretagogue stimulation decrease the digestive enzyme content remaining in the rat pancreas. *Comp Med*, 52 (1) : 32-5.
- Rafiee P., Leffler H., Byrd J.C., Cassels F.J., Boedeker E.C., Kim Y.S.,** 1991. A sialoglycoprotein complex linked to the microvillus cytoskeleton acts as a receptor for pilus (AF/R1) mediated adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* (RDEC-1) in rabbit small intestine. *J Cell Biol*, 115 (4) : 1021-9.
- Ramírez M., Amate L., Gil A.,** 2001. Absorption and distribution of dietary fatty acids from different sources. *Early Hum Dev*, 65 Suppl : S95-S101.
- Rathelot J., Julien R., Canioni P., Coeroli C., Sarda L.,** 1975. Studies on the effect of bile salt and colipase on enzymatic lipolysis. Improved method for the determination of pancreatic lipase and colipase. *Biochimie*, 57 : 1117-1122.
- Recio I., Visser S.,** 1999. Identification of two distinct antibacterial domains within the sequence of bovine α_{S2} -casein. *Biochim Biophys Acta*, 1428 : 314-326.
- Reynaud A., Federighi M., Licois D., Guillot J.F., Joly B.,** 1991. R plasmid in *Escherichia coli* O103 coding for colonization of the rabbit intestinal tract. *Infect Immun*, 61 (10) : 1888-1892.
- Ricke S.C.,** 2003. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poult Sci*, 82 (4) : 632-639.
- Rogalska E., Ransac S., Verger R.,** 1990. Stereoselectivity of lipases. II. Stereoselective hydrolysis of triglycerides by gastric and pancreatic lipases. *J Biol Chem*, 265 (33) : 20271-20276.
- Roitt I.M., Brostoff J., Male D.K.,** 1997. Immunologie. De Boeck Université Eds, 4^{ème} éd., Bruxelles, Belgique, 406 pp.
- Ross J.A., Scott A., Gardner I.C.,** 1989. Ultrastructural observations on the caecum of the rabbit. *J Anat*, 164 : 165-173.
- Ruckebusch Y., Hörnicke H.,** 1977. Motility of the rabbit's colon and cecotrophy. *Physiol Behav*, 18 (5) : 871-878.
- Sabatakou O., Xylouri-Frangiadaki E., Paraskevaki E., Papantonakis K.,** 1999. Scanning electron microscopy of stomach and small intestine of rabbit during foetal and post natal life. *J Submicrosc Cytol Pathol*, 31 (1) : 107-114.
- Salmon H.,** 1999. The mammary gland and neonate mucosal immunity. *Vet Immunol Immunopathol*, 72 : 143-155.
- Samulitis-Dos Santos B.K., Goda T., Koldovsk O.,** 1992. Dietary-induced increases

of disaccharidase activities in rat jejunum. *Br J Nutr*, 67 (2) : 267-78.

SAS, Statistical Analysis System, 1999. SAS User's guide, Version 8. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Scapinello C., Gidenne T., Fortun-Lamothe L., 1999. Digestive capacity of the rabbit during the post-weaning period, according to the milk/solid feed intake pattern before weaning. *Reprod Nutr Dev*, 39 : 423-432.

Schumacher U., Duku M., Katoh M., Jörns J., Krause W.J., 2004. Histochemical similarities of mucins produced by Brunner's glands and pyloric glands: A comparative study. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 278 (2) : 540-550.

Serfilippi D., Donaldson R.M., Jr., 1986. Production and secretion of intrinsic factor by isolated rabbit gastric mucosa. *Am J Physiol*, 251 (3 Pt 1) : G287-G292.

Shah N.P., 2000. Effects of milk-derived bioactives: an overview. *Br J Nutr*, 84 (Suppl 1) : S3-S10.

Shin K., Hayasawa H., Lönnerdal B., 2001. Inhibition of *Escherichia coli* respiratory enzymes by the lactoperoxidase-hydrogen peroxide-thiocyanate antimicrobial system. *J Appl Microbiol*, 90 : 489-493.

Simecka J.W., 1998. Mucosal immunity of the gastrointestinal tract and oral tolerance. *Adv Drug Deliv Rev*, 34 (2-3) : 235-259.

Sirotek K., Marounek M., Rada V., Benda V., 2001. Isolation and characterization of rabbit caecal pectinolytic bacteria. *Folia Microbiol*, 46 (1) : 79-82.

Sirotek K., Slovákova L., Kopečný J., Marounek M., 2004. Fermentation of pectin and glucose, and activity of pectin-degrading enzymes in the rabbit caecal bacterium *Bacteroides caccae*. *Lett Appl Microbiol*, 38 : 327-332.

Sivakami S., Radhakrishnan N., 1975. A comparative study of maltase & glucoamylase in the intestine of various animal species. *Indian J Exp Biol*, 13 (3) : 238-241.

Skřivanová V., Volek Z., Zita L., Marounek M., 2004. Effect of triacylglycerols of caprylic and capric acid on performance, mortality and digestibility of nutrients in growing rabbits. In : *8th World Rabbit Congress*, 7-10 septembre, Puebla city, Mexique, 1 : 991-995.

Smith S., Wats R., Dils R., 1968. Quantitative gas-liquid chromatographic analysis of rodent milk triglycerides. *J Lipid Res*, 9 : 52-57.

Snipes R.L., 1978. Anatomy of the rabbit cecum. *Anat Embryol*, 155 : 57-80.

Snipes R.L., Snipes H., 1997. Quantitative investigation of the intestines in eight species of domestic mammals. *Int J Mamm Biol*, 62 (6) : 359-371.

Snipes R.L., Clauss W., Weber A., Hörnicke H., 1982. Structural and functional differences in various divisions of the rabbit colon. *Cell Tissue Res*, 225 : 331-346.

Spreeuwenberg M.A.M., Verdonk J.M.A.J., Gaskins H.R., Verstegen M.W.A., 2001. Small intestine epithelial barrier function is compromised in pigs with low feed intake at weaning. *J Nutr*, 131 : 1520-1527.

Sun C.Q., O'Connor C.J., Robertson A.M., 2002. The antimicrobial properties of milkfat after partial hydrolysis by calf pregastric lipase. *Chem-Biol Interact*, 140 : 185-198.

-T-U-V-

Takeuchi T., Gonda T., 2004. Cellular kinetics of villous epithelial cells and M cells in rabbit small intestine. *J Vet Med Sci*, 66 (6) : 689-693.

Thomson A.B.R., Schoeller C., Keelan M., Smith L., Clandinin M.T., 1993. Lipid absorption: passing through the unstirred layers, brush-border membrane, and beyond. *Can J Physiol Pharmacol*, 71 : 531-555.

Toofanian F., 1984a. The fetal and postnatal development of small intestinal disaccharidases in the rabbit. *Lab Anim Sci*, 34 : 268-271.

Toofanian F., 1984b. Rabbit small intestinal β -galactosidases. *Am J Vet Res*, 45 (3) : 535-538.

- Toofanian F., Targowski S.P.**, 1982. Morphogenesis of rabbit small intestinal mucosa. *Am J Vet Res*, 43 (12) : 2213-2219.
- Tortuero F., Rioperez J., Cosin C., Barrera J., Rodriguez M.L.**, 1994. Effects of dietary fiber sources on volatile fatty acid production, intestinal microflora and mineral balance in rabbits. *Anim Feed Sci Technol*, 48 (1-2) : 1-14.
- Trocino A., Xiccato G., Carraro L., Jimenez G.**, 2005. Effect of diet supplementation with Toyocerin® (*Bacillus cereus* var. *toyoi*) on performance and health of growing rabbits. *World Rabbit Sci*, 13 (1) : 17-28.
- Tusques J., Pradal G.**, 1968. Inclusion d'aspect filamenteux, dans le noyau des cellules argyrophiles de la muqueuse gastrique du Lapin, mise en évidence en microscopie électronique. *C.R. Acad Sc Paris, Série D*, 267 : 1738-1741.
- Uruakpa F.O., Ismond M.A.H., Akobundu E.N.T.**, 2002. Colostrum and its benefits: a review. *Nutr Res*, 22 : 755-767.
- Van Beers-Schreurs H.M.G., Nabuurs M.J.A., Vellenga L., Kalsbeek-van der Valk H.J., Wensing T., Breukink H.J.**, 1998. Weaning and the weanling diet influence the villous height and crypt depth in the small intestine of pigs and alter the concentrations of short-chain fatty acids in the large intestine and blood. *J Nutr*, 128 (6) : 947-953.
- Van der Hage M.H.**, 1988. The morphogenesis of the small intestinal mucosa of the rabbit. A stereomicroscopical study. In : *4th Congress of the World Rabbit Science Association*, 10-14 octobre, Budapest, Hongrie, 3 : 347-355.
- Van der Strate B.W.A., Beljaars L., Molema G., Harmsen M.C., Meijer D.K.F.**, 2001. Antiviral activities of lactoferrin. *Antivir Res*, 52 : 225-239.
- Van Hooijdonk A.C.M., Kussendrager K.D., Steijns J.M.**, 2000. In vivo antimicrobial and antiviral activity of components in bovine milk and colostrum involved in non specific-defence. *Br J Nutr*, 84 (Suppl 1) : S127-S134.
- Van Immerseel F., De Buck J., Boyen F., Bohez L., Pasmans F., Volf J., Sevcik M., Rychlik I., Haesebrouck F., Ducatelle R.**, 2004. Medium-chain fatty acids decrease colonization and invasion through *hila* suppression shortly after infection of chickens with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Appl Environ Microbiol*, 70 (6) : 3582-3587.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A.**, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*, 74 : 3583-3597.
- Verdouw H., Van Echteld C.J.A., Dekkers E.M.J.**, 1978. Ammonia determination based on indophenol formation with sodium salicylate. *Water Res*, 12 : 399-402.
- Vernay M.**, 1986. Colonic absorption of inorganic ions and volatile fatty acids in the rabbit. *Comp Biochem Physiol A*, 83 (4) : 775-784.

-W-X-Y-Z-

- Wada Y., Kondo H., Nakaoka Y., Kubo M.**, 1996. Gastric attaching and effacing *Escherichia coli* lesions in a puppy with naturally occurring enteric colibacillosis and concurrent canine distemper virus infection. *Vet Pathol*, 33 (6) : 717-720.
- Wallace J.L., Granger D.N.**, 1996. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. *Faseb J*, 10 (7) : 731-740.
- Wang R.F., Cao W.W., Cerniglia C.E.**, 1996. PCR detection and quantitation of predominant anaerobic bacteria in human and animal fecal samples. *Appl Environ Microbiol*, 62 (4) : 1242-1247.
- Weiner H.L.**, 2001. Oral tolerance: immune mechanisms and the generation of Th3-type TGF-beta-secreting regulatory cells. *Microbes Infect*, 3 : 947-954.
- Wiese F., Simon O., Weyrauch K.D.**, 2003. Morphology of the small intestine of weaned piglets and a novel method for morphometric evaluation. *Anat Histol Embryol*, 32 (2) : 102-109.
- Wright E.M., Martín M.G., Turk E.**, 2003. Intestinal absorption in health and disease -

Sugars. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 17 (6) : 943-956.

Xiccato G., Trocino A., Sartori A., Queaque P.I., 2000. Early weaning of rabbits: effect of age and diet on weaning and post-weaning performance. *7th World Rabbit Congress*, 5-7 juillet, Valence, Espagne. In : *World Rabbit Sci*, 8 (Suppl 1, vol. C) : 483-490.

Xiccato G., Trocino A., Sartori A., Queaque P.I., 2001. Influence de l'âge, du sevrage précoce et de l'aliment sur le développement des organes digestifs et des fermentations caecales chez le jeune lapin. In : *9^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole*, 28-29 novembre, Paris, France, 1 : 199-202.

Xiccato G., Trocino A., Sartori A., Queaque P.I., 2002. Effect of dietary starch level and source on performance, caecal fermentation and meat quality in growing rabbits. *World Rabbit Sci*, 10 (4) : 147-157.

Xiccato G., Trocino A., Sartori A., Queaque P.I., 2003. Effect of weaning diet and weaning age on growth, body composition and caecal fermentation of young rabbits. *Anim Sci*, 77 : 101-111.

Yanabe M., Shibuya M., Gonda T., Asai H., Tanaka T., Narita T., Sudo K., Matsui T., Itoh K., 1999. Production of ex-germfree rabbits for establishment of specific pathogen-free (SPF) colonies. *Exp Anim*, 48 (2) : 79-86.

Yu B., Chiou P.W.S., 1997. The morphological changes of intestinal mucosa in growing rabbits. *Lab Anim*, 31 (3) : 254-263.

Zhu C., Agin T.S., Elliott S.J., Johnson L.A., Thate T.E., Kaper J.B., Boedeker E.C., 2001. Complete nucleotide sequence and analysis of the locus of enterocyte effacement from rabbit diarrheagenic *Escherichia coli* RDEC-1. *Infect Immun*, 69 (4) : 2107-2115.

Zoetendal E.G., Collier C.T., Koike S., Mackie R.I., Gaskins H.R., 2004. Molecular ecological analysis of the gastrointestinal microbiota: a review. *J Nutr*, 134 : 465-472.

Zomborszky-Kovács M., Gyarmati T., Párizs T., Szendrő Z., Kametler I., Tóth A., 2000. Some physiological properties of the digestive tract in traditionally reared and exclusively milk-fed young rabbits. *7th World Rabbit Congress*, 4-7 juillet, Valence, Espagne. In : *World Rabbit Sci*, 8 (Suppl. 1, vol. C) : 499-506.

ANNEXES

Annexe 1 Avis du comité régional d'éthique pour la réalisation de l'étude 3

Comité régional d'éthique
pour l'expérimentation animale

MIDI-PYRÉNÉES



COURRIER ARRIVÉ

29 MARS 2004

RECHERCHE CUNICOLE Toulouse le 25 mars 04

Réf :MP/02/04/03/04

Monsieur GIDENNE Thierry
INRA
Station de Recherches Cunicoles
BP 27
31326 CASTANET-TOLOSAN

Le Comité Régional d'éthique, pour l'expérimentation animale, de Midi-Pyrénées a examiné votre demande concernant le dossier intitulé « **Sensibilité des lapereaux à une infection expérimentale d'E coli (e22 0 103 h2) : impact de l'âge au sevrage** ».

Le Comité a noté les points suivants :

- Les agents chargés de la mise en œuvre des protocoles expérimentaux sont autorisés et l'agrément des locaux qui a été obtenu en 1991 sous le numéro A31623 est en cours de renouvellement.
- Pour ce type de projet le recours à l'animal est incontournable
- Les animaux utilisés sont issus de votre propre élevage

Remarques du Comité

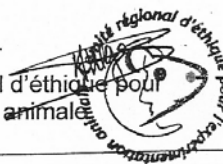
Votre protocole comporte l'utilisation d'un nombre important d'animaux dont vous avez justifié l'utilité en tenant compte de la variabilité importante des réactions des individus. Le comité vous demande cependant de vous limiter au strict minimum nécessaire à l'exploitation statistique des résultats.

Le comité pense que les diarrhées aiguës, sur certains lots d'animaux, provoquent des perturbations physiologiques importantes et par conséquent une souffrance ou une détresse physique que vous ne pourrez juguler. En conséquence nous vous demandons de vous conformer à la réglementation en la matière et de faire la déclaration prévue auprès de la préfecture (DSV). Déclaration que vous pourrez accompagner de notre avis.

Avis du Comité :

La prise en considération de l'intérêt de l'étude dans le domaine de la santé animale et d'une meilleure connaissance de cette pathologie et de ses conséquences conduit le comité à émettre un avis favorable. Bien que difficiles à apprécier le Comité vous demande, cependant, de rester vigilant sur les problèmes de souffrance animale.

Alain PUGET
Président du Comité Régional d'éthique pour
l'expérimentation animale



Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale 205 Route de Narbonne 31077 Toulouse Cedex
Président : Alain Puget
alain.puget@ipbs.fr

Annexe 2 Avis du comité régional d'éthique pour la réalisation de l'étude 4

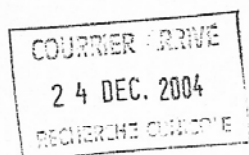
Comité régional d'éthique
pour l'expérimentation animale



MIDI-PYRÉNÉES

Toulouse le 21 décembre 04

Réf :MP/01/31/12/04



Monsieur GIDENNE Thierry
INRA
Station de Recherches Cunicoles
BP 27
31326 CASTANET-TOLOSAN

Le Comité Régional d'éthique, pour l'expérimentation animale, de Midi-Pyrénées a examiné votre demande concernant le dossier intitulé
« Supplémentation alimentaires en triglycérides a chaînes moyennes et résistance a une inoculation expérimentale d'E. Coli E22 ».

Le Comité a noté les points suivants :

Les agents chargés de la mise en œuvre des protocoles expérimentaux sont autorisés : autorisation 31-201 et les locaux ont été agréés en 2004 sous le numéro A31.555.16

Pour ce type de projet le recours à l'animal est incontournable et les animaux utilisés proviennent de votre propre élevage.

Votre protocole comporte l'utilisation d'un nombre important d'animaux dont vous avez justifié l'utilité. Cependant le comité vous demande de bien vouloir réexaminer votre protocole afin de vérifier si un nombre aussi important de témoins (100) est nécessaire pour l'étude statistique de vos résultats et pour tirer des conclusions scientifiquement exploitable.

Si des perturbations physiologiques importantes se produisent sur certains lots d'animaux et par voie de conséquence engendrent une souffrance qui ne pourrait être jugulée par un médicament il serait nécessaire d'en faire la déclaration à la Direction des services vétérinaires comme le prévoit la réglementation

La prise en considération de l'intérêt de l'étude dans le domaine de la santé animale et d'une meilleure connaissance des pathologies liées aux infections d'E.coli conduit le comité à émettre un avis favorable a votre demande.

Alain PUGET

Président du Comité Régional
d'éthique pour l'expérimentation
animale



Président : Alain Puget
Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale 205 Route de Narbonne 31077 Toulouse Cedex
Tél. : 05 61 17 59 74 – Fax. : 05 61 17 59 80 – alain.puget@ipbs.fr

ABSTRACT

Nutritional status of the young rabbit: maturation of the digestive structures and functions and sensitivity to an infection with an enteropathogenic strain of *E. coli*.

To understand the role of feed on the development of the digestive system around weaning is essential to define feeding strategies improving the digestive health in the young rabbit. This work aimed to study the impact of nutritional factors, by modulating the weaning age (3 vs. 5 weeks), on the development of the digestive structures and functions, and on the sensitivity of the young to an experimental infection with an enteropathogenic strain of *E. coli* (EPEC) from O103 serogroup.

A weaning at 3 weeks of age led to a significant increase in solid feed intake from 2 days post-weaning. The morphologic development of the intestinal mucosa was weakly affected by weaning, whereas intestinal enzymes activities and microbial digestive functions adapted quickly. At 28 days of age, the capacities of young to digest the solid diet allowed them a similar digestible energy intake compared to still suckling rabbits fed a mixed milk/solid feed diet.

Rabbits weaned at 3 weeks were very sensitive to an experimental infection with a strain of EPEC O103 at 28 days of age: 50% of dead rabbits 8 days after the inoculation. Suckling rabbits were temporarily protected against colibacillosis, which developed after their weaning at 5 weeks: the level of 50% of mortality was reached 17 days after the inoculation. This differential response time to the infection between weaned and suckling rabbits suggested that maternal milk was essential to protect kits against colibacillosis. Triglycerides of the doe's milk contain mainly caprylate (C8) and caprate (C10) (65% of fatty acids), which have a potential antimicrobial activity. However, their addition (2%) in a diet given around weaning did not extend the protection conferred by maternal milk against colibacillosis.

In conclusion, the digestive adaptation of rabbits weaned at 3 weeks was rapid. However, the lack of maternal milk made them vulnerable to an infection with EPEC O103, suggesting a major role of some non-specific milk components in their resistance to colibacillosis. This work gives new perspectives for feeding strategies adapted for young rabbits around weaning.

Key-words: young rabbit, weaning, nutrition, digestion, enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), medium-chain triglyceride (MCT).

RESUME

Statut nutritionnel du lapereau : maturation des structures et des fonctions digestives et sensibilité à une infection par une souche entéropathogène d'*Escherichia coli*.

La compréhension du rôle de l'alimentation sur le fonctionnement du système digestif autour du sevrage s'avère essentielle afin de définir des stratégies alimentaires permettant de réduire la fréquence des épisodes diarrhéiques en élevage cunicole. L'objectif de ce travail est d'étudier l'implication des facteurs nutritionnels, *via* la modulation de l'âge au sevrage (3 vs. 5 semaines), sur le développement des structures et fonctions digestives et sur la sensibilité du lapereau à une infection expérimentale par une souche entéropathogène d'*Escherichia coli* (EPEC) du séro groupe O103.

Suite à l'arrêt prématuré de l'allaitement, un sevrage à 3 semaines induit une augmentation de l'ingestion d'aliment granulé dès 2 jours post-sevrage. Les conséquences sur le développement morphologique de la muqueuse intestinale sont faibles, alors que les fonctions digestives endogènes (hausse des activités des enzymes intestinales) et microbiennes s'adaptent rapidement. A 28 jours, la capacité des lapereaux sevrés à valoriser l'aliment leur permet d'atteindre un ingéré d'énergie digestible équivalent à celui fourni par la ration mixte lait/aliment des lapereaux allaités.

Cependant, lors d'une infection expérimentale à 28 jours par une souche EPEC O103, les lapereaux sevrés à 3 semaines s'avèrent très sensibles : taux de 50% de mortalité atteint en 8 jours. Les lapereaux allaités résistent temporairement à la colibacillose, qui se développe après leur sevrage à 5 semaines : 50% de mortalité 17 jours après l'inoculation. Ce temps de réponse à l'infection différentiel selon que les animaux sont sevrés ou allaités au moment de l'inoculation suggère que le lait maternel joue un rôle majeur dans la résistance à la colibacillose à EPEC O103. Les triglycérides du lait de lapine sont riches en caprylate (C8) et en caprate (C10) (65% des acides gras), à activité potentiellement antimicrobienne. Cependant, leur incorporation (2%) dans l'aliment de péri-sevrage ne permet pas de prolonger la protection conférée par le lait maternel vis-à-vis de la colibacillose.

En conclusion, l'adaptation à l'aliment solide des lapereaux sevrés à 3 semaines est rapide. Cependant, l'absence de lait maternel les rend vulnérables vis-à-vis d'une infection à EPEC O103, suggérant un rôle majeur de certains composés lactés non spécifiques dans la résistance à la colibacillose. Ces travaux ouvrent de nouvelles perspectives quant aux stratégies alimentaires du lapereau autour du sevrage.

Mots clés : lapereau, sevrage, nutrition, digestion, *Escherichia coli* entéropathogène (EPEC), triglycérides à chaînes moyennes (TCM).