

# Effet d'extraits de plantes sur le statut antioxydant et la mortalité de lapins en engraissement

C. BRIENS<sup>1</sup>, M. ARTURO-SCHAAN<sup>1</sup>, L. GRENET<sup>2</sup>, F. ROBERT<sup>3</sup>

<sup>1</sup>CCPA, 35150 Janzé, France

<sup>2</sup>Terrena, 44 Ancenis, France

<sup>3</sup>Laboratoire Deltavit, 35150 Janzé, France

**Résumé :** Un extrait de plante (PLMA) a été distribué pendant 14 jours après sevrage (2,65 ml/l d'eau de boisson), en complément d'un aliment supplémenté en antibiotiques, sur 3 essais consécutifs comprenant chacun 344 lapins répartis en 2 lots (PLMA et témoin). Dans l'essai 3, le stress oxydatif (TBARS), a fortement augmenté de 35 à 49 jours et était inférieur à 49 jours dans le lot PLMA (4,77 vs 9,03 mM/l p=0,004) alors que le statut antioxydant (SAO) était amélioré avec PLMA (1,00 vs 0,83 µM/l p=0,056 tendance). C'est une possible explication de la mortalité dans le lot PLMA, inférieure à celle du témoin dans l'essai 1 (18,5 vs 30,1% p=0,012) et l'essai 3 (17,0 vs 41,7% p<0,001). La mortalité était exclusivement due à des diarrhées d'étiologie parasitaire (coccidiose) sur les 3 essais et colibacillaire (essai 1 uniquement). Le PLMA n'a pas amélioré la croissance.

**Abstract :** Effect of plant extracts on antioxidant status of fattening rabbits. A plant extract, PLMA, has been distributed for 14 days after weaning (2.65 ml/l drinking water), in addition to a medicated feed with antibiotics, during 3 successive trials, including 344 rabbit each divided in 2 lots (PLMA and control). In trial 3, oxydative stress (TBARS) increased from 35 to 49 days and was lower in PLMA group at 49 days (4.77 vs 9.03 mM/l p=0.004) and serum antioxidant status was improved with PLMA (1.00 vs 0.83 µM/l p=0.056 tendency). It is a possible explanation of PLMA mortality, significantly lower than control mortality in trial 1 (18.5 vs 30.1% p=0.012) and in trial 3 (17.0 vs 41.7% p<0.001). Mortality was exclusively due to diarrhoea of parasitic aetiology (coccidiosis) for the 3 trials and E. coli (trial 1 only). PLMA has not improved the growth.

## Introduction

De nombreux extraits de plantes montrent des activités antibactériennes, anti-oxydantes et anti-inflammatoires. (Tzung-Hsun *et al.*, 2005 – Ben-Shaul *et al.*, 2000, Briens et Grenet., 2001). D'autres auteurs ont mis en évidence des effets positifs lors de coccidiose (Allen et Dansforth 1998, Allen *et al.*, 2000, Mandal *et al.*, 1994, Youn et Noh 2001). Fortun-Lamothe et Drouet-Viard (2001) mentionnent l'intérêt des substances antioxydantes apportées par l'alimentation pour réduire les lésions tissulaires dans les processus infectieux, et améliorer fonctionnement et durée de vie des cellules immunitaires. Chirase *et al.* (2004) montrent une relation entre, d'une part, l'importance du stress oxydatif évalué sur des veaux après transport, d'autre part, la mortalité et le développement de pathologie chronique. Ben-Shaul *et al.* (2000) montrent chez des lapins recevant des extraits végétaux une diminution du stress oxydatif et une meilleure résistance à l'endotoxémie induite par des lipopolysaccharides.

L'utilisation d'extraits végétaux en nutrition cunicole s'intègre donc dans une stratégie de réduction des stress et pathologies induites et, par conséquent, de réduction du recours aux antibiotiques.

Cet article présente les premiers essais du PLMA sur des lapins en engraissement. PLMA est le nom de code d'un produit en cours de développement du Laboratoire Deltavit. C'est un extrait végétal riche en polyphénols sélectionné pour ses propriétés

immunostimulantes et plus particulièrement antioxydantes. Le but recherché est l'amélioration de la capacité des lapins à supporter différents stress oxydatifs, sevrage, infection et parasitisme.

## 1. Matériel et méthodes.

L'essai a été conduit sur 3 bandes successives au cours de l'hiver et du printemps 2005 dans un élevage de production.

### 1.1. Animaux et habitat.

Cet élevage dispose d'une petite salle d'engraissement en semi plein air dédiée aux essais avec une rangée de 2 x 23 cages de 8 lapins. Chaque demi rangée est alimentée par un circuit d'abreuvement indépendant.

A chaque bande, 344 lapins de souche Hyplus, sevrés à 35 jours, sont répartis en 2 lots expérimentaux (témoin et PLMA), en répartissant les lapins de chaque portée sur les 2 lots. Ces lapins ont été engraisés jusqu'à 73 jours d'âge.

### 1.2. Schéma expérimental.

PLMA a été distribué sur le lot essai via l'eau de boisson à raison de 2,65 ml par litre d'eau pendant les 14 premiers jours d'engraissement en comparaison d'un lot témoin sans traitement dans l'eau de boisson. Cette posologie a été extrapolée de la posologie volaille en l'adaptant au poids vif des lapereaux et à leur consommation en eau, en prenant des valeurs moyennes estimées pour la durée du traitement. L'opération a été répétée sur 3 essais successifs

### 1.3. Alimentation.

- Essai 1 : alimentation à volonté, chlortétracycline + colistine sur aliment sevrage, retrait 14 jours.

- Essais 2 et 3 : alimentation rationnée selon le programme décrit dans le tableau 1, tiamuline + apramycine sur aliment sevrage, retrait 7 jours.

**Tableau 1 :** Programme de rationnement (g/lapin/jour)

Semaine	1	2	3	4	5	6
Quantité	80	95	120	150	160	170

Dans les 3 essais, l'aliment sevrage était supplémenté avec 66 ppm de robénidine.

Les caractéristiques analytiques des aliments distribués sont reprises dans le tableau 2.

**Tableau 2 :** caractéristiques des aliments distribués.

Aliment	MG %	MPB %	CB %
Sevrage	3,0	15,1	17,7
Retrait	3,2	15,5	17,1

### 1.4. Mesure des performances zootechniques.

Les lapins n'ont pas été pesés individuellement mais par cage (dix cages par lot) au sevrage (35 jours) puis toutes les semaines jusqu'à 70 jours, et à 73 jours, avant abattage. La variable poids vif mentionnée dans cette étude est donc le rapport du poids des lapins d'une cage par l'effectif de cette cage à la pesée.

Toutes les carcasses ont été pesées individuellement à l'abattoir.

### 1.5. Analyses biologiques.

Dans le 3<sup>ème</sup> essai, des analyses sérologiques ont été effectuées au sevrage sur 20 lapereaux et à 49 jours sur 3 cages (24 lapins) par régime. Les prélèvements sanguins ont été centrifugés dans les 4 heures suivant les prélèvements et les sérums obtenus

immédiatement congelés à -24°C avant analyse.

Deux paramètres complémentaires ont été évalués.

Le Statut Antioxydant Total (SAO) Radox évalue la capacité du sérum à tamponner l'action oxydante des radicaux libres.

Les produits de peroxydation des lipides membranaires, qui évaluent l'impact du stress oxydatif, ont été dosés par la technique TBARS (Substances Réactives à l'Acide Thio Barbiturique).

Les numérations d'oocystes de coccidies sur crottes ont été réalisées selon le protocole INRA (Coudert *et al.*, 2005). Les numérations bactériennes ont été réalisées par microméthode sur des pools de 5 contenus caecaux par régime.

L'ensemble de ces analyses a été réalisé au Laboratoire Deltavit, Unité de Biologie, Janzé.

### 1.6. Traitement statistique.

Les poids vifs, GMQ, poids de carcasse, SAO et TBARS ont été comparés par analyse de variance univariée avec la fonction modèle linéaire général univarié de SPSS 13.0, selon le modèle linéaire suivant :  $Y_{ij} = \mu + T_i + P35_j + (TxP35)_{ij} + E_{ij}$  avec  $Y_{ij}$ , la variable observée,  $\mu$ , la moyenne générale,  $T_i$ , l'effet PLMA,  $E_{ij}$  l'erreur résiduelle, et, uniquement pour le GMQ,  $P35_j$ , l'effet poids au sevrage,  $(T \times P35)_{ij}$  l'interaction entre l'effet traitement et l'effet poids de sevrage.

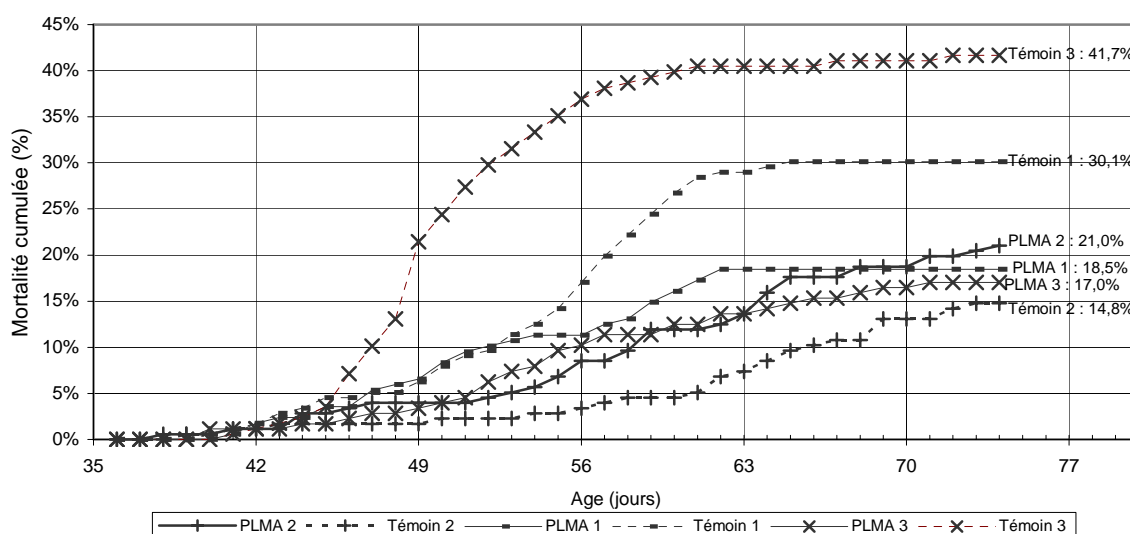
Les mortalités, enregistrées entre le sevrage et l'enlèvement, par lot et par essai, exprimées en pourcentage des lapins initialement présents, ont été comparées dans chaque essai par test du Khi 2.

## 2. Résultats.

### 2.1. Résultats sanitaires.

La figure 1 montre les courbes de mortalité cumulée par régime sur les 3 essais, avec un pic de mortalité dès la seconde semaine d'engraissement sur le 3<sup>ème</sup> essai, à partir de la 3<sup>ème</sup> semaine d'engraissement pour l'essai 1 et une mortalité plus diffuse sur l'essai 2.

Figure 1 : Courbes de mortalité cumulée par régime sur les 3 essais.



Dans l'essai 2, les mortalités ne sont pas significativement différentes entre le lot témoin et le lot PLMA (tableau 3).

Par contre, dans les essais 1 et 3, les lots PLMA présentent une mortalité significativement inférieure aux lots témoins.

**Tableau 3 :** Mortalité (%) par essai

Essai	Témoin		PLMA		P
	%	N	%	N	
1	30,1	176	18,5	168	0,012
2	14,0	176	21,0	176	0,126 NS
3	41,7	168	17,0	176	<0,001

N = effectif mis en place au sevrage.

## 2.2 Lésions, bactériologie et parasitologie

### 2.2.1 Essai 1

Cinq 5 animaux malades ont été autopsiés et analysés à 49 jours d'âge. Une majorité présentait une diarrhée brunâtre, abondante. Le tableau lésionnel comprenait des ulcères stomacaux sur 2 sujets et une typhlite sur un 3<sup>ème</sup> lapin. Le contenu caecal des 5 lapins était liquide, dont 3 avec du gaz (ballonnement). Un estomac avait également un contenu liquide associé à du gaz.

La numération bactérienne sur contenu caecal donnait par gramme de fèces  $7,2 \times 10^6$  anaérobies sulfite réducteurs (ASR) (*Clostridium perfringens* <200 UFC/g) et  $1,73 \times 10^7$  *E. coli* sérotypés 0<sub>2</sub>, rhamnose +. L'examen microscopique du contenu caecal révélait de nombreux oocystes de coccidies. La numération sur crottes a donné  $7,42 \times 10^5$  oocystes par g malheureusement non identifiés.

### 2.2.2 Essai 2

Une coprologie a été réalisée à 50 jours d'âge (56 000 oocystes d'*Eimeria magna*, 16 000 d'*E. media* et 64 000 d'*E. perforans* par g de fèces).

### 2.2.2 Essai 3,

Le tableau lésionnel à 49 jours était similaire à celui de l'essai 1 mais sans typhlite ni ulcères stomacaux. Le profil de flore a été notablement modifié probablement par la supplémentation antibiotique mise en place, avec une diminution importante des numérations d'*E. coli* par rapport aux dénombrements de l'essai 1. On peut également noter une numération d'ASR très faible sur le témoin par rapport au lot PLMA (tableau 4).

**Tableau 4 :** numérations bactériennes sur contenu caecal et coccidiennes sur crottes (essai 3).

	Témoin	PLMA
Oocystes / g fèces	54 000	34 200
ASR (UFC / g)	< 200	$1,68 \times 10^5$
<i>Clostridium perfringens</i>	<200	<200
<i>E. coli</i> (UFC / g)	140	120

## 2.3. Résultats sérologiques

TBARS et SAO mesurés au cours du 3<sup>ème</sup> essai figurent dans le tableau 5. Entre 35 et 49 jours, les TBARS augmentent et les SAO diminuent, variations attendues compte tenu des stress du sevrage, notamment parasitaires.

A 49 jours, PLMA limite significativement le stress oxydatif des lapins. Une tendance à l'amélioration du statut antioxydant du sérum est parallèlement observée.

**Tableau 5 :** Marqueurs sanguins de stress oxydatif et statut antioxydant à 35 et à 49 jours (3<sup>ème</sup> essai).

		TBARS(μM/l)			SAO total (mM/l)		
Age	Lot	35 jours	49 jours		35 jours	49 jours	
			Témoin	PLMA		Témoin	PLMA
Moyenne ± Ecart-type		2,28 ± 0,42	9,03 ± 5,80	4,77 ± 2,72	1,11 ± 0,46	0,83 ± 0,23	1,00 ± 0,28
N		20	17	23	20	17	23
Pr<f			0,004			0,056	

**Tableau 6 :** Poids au sevrage (g) et GMQ par période (g/j)

		Poids			GMQ		
Essai	Période (j)	35 j	35 – 73	35 – 49	49 – 63	63 – 73	
1	Témoin	897 ± 36	41,6 ± 2,4	40,9 ± 5,9	44,0 ± 4,3	39,1 ± 6,3	
	PLMA	849 ± 72	40,9 ± 1,8	42,2 ± 3,7	42,2 ± 4,2	37,5 ± 7,1	
	Effet traitement	0,109	0,548	0,538	0,056	0,878	
2	Témoin	989 ± 44	37,6 ± 1,8	36,5 ± 2,9	38,7 ± 7,2	37,7 ± 9,8	
	PLMA	978 ± 57	35,9 ± 2,7	34,8 ± 1,7	36,6 ± 5,7	36,6 ± 4,3	
	Effet traitement	0,628	0,103	0,113	0,434	0,781	
3	Témoin	923 ± 35	36,0 ± 2,7	26,5 ± 5,4	40,8 ± 7,5	42,7 ± 7,3	
	PLMA	921 ± 33	35,6 ± 2,7	29,6 ± 4,0	34,5 ± 5,8	45,5 ± 3,9	
	Effet traitement	0,924	0,730	0,160	0,160	0,868	

## 2.4. Résultats zootechniques

Le traitement n'a pas d'effet significatif sur le GMQ (tableau 6). Le poids au sevrage P35 a par contre un effet significatif sur le GMQ de 49 à 63 jours dans l'essai 1 ( $p=0,015$ ) et de 63 à 73 jours dans l'essai 3 ( $p=0,023$ ). Il n'y a pas d'interaction entre les effets traitement et P35.

**Tableau 7 :** Poids de carcasse

Essai	Traitement	Moyenne	N	Ecart-type
2	Témoin	1362	145	163
	PLMA	1356	131	192
3	Témoin	1312	73	170
	PLMA	1312	138	175
2 + 3	Témoin	1345	218	167
	PLMA	1333	269	185

Le tableau 7 montre l'absence d'effet du traitement PLMA sur le poids de carcasse ( $p=0,441$ ) avec un effet essai significatif ( $p=0,034$ ) et une interaction PLMA x essai non significative ( $p=0,88$ ).

## 3. Discussion

Les lésions observées sur le premier essai, confortées par la bactériologie évoquent une étiologie colibacillaire, associée à une coccidiose. On retrouve cette coccidiose sur les 2 essais suivants. Ces situations pathologiques génèrent un stress oxydatif important, comme en témoigne l'augmentation importante des TBARS de 35 à 49 jours.

Le PLMA réduit le stress oxydatif et améliore le statut antioxydant des lapins. Ces propriétés sont une explication plausible de la réduction significative de la mortalité avec le PLMA obtenue dans 2 essais sur 3. La divergence sur les numérations d'ASR entre le lot PLMA et le témoin au 3<sup>ème</sup> essai, pourrait indiquer également une influence de PLMA sur la flore caecale qu'il conviendra de confirmer et préciser ultérieurement.

Les problèmes sanitaires ont entraîné une augmentation de l'hétérogénéité des lapins. Dans ces conditions les effets zootechniques du PLMA ne peuvent être cernés précisément d'autant que l'application du plan de rationnement devient complexe avec la mortalité massive observée (sous consommation des malades, surconsommation des survivants...).

## Conclusion

Les extraits de plantes PLMA, distribués dans l'eau de boisson pendant les 14 premiers jours

d'engraissement ont montré qu'ils pouvaient, dans un contexte sanitaire difficile (colibacillose et coccidiose), réduire significativement la mortalité en engraissement des lapins, dans 2 essais sur 3, mais pas d'améliorer leurs performances zootechniques (gain de poids, poids des carcasses). Les résultats obtenus lors du 3<sup>ème</sup> essai sur les paramètres sanguins montrent une diminution significative du stress oxydatif. D'autres essais seront nécessaires pour préciser les effets zootechniques du PLMA dans un contexte sanitaire plus favorable et confirmer l'effet du PLMA sur la mortalité, la flore intestinale, et le statut antioxydant sérique des lapins.

## Références:

- ALLEN P.C. DANSFORTH H.D. 1998 Effects of dietary supplementation with n-3 fatty acid ethyl esters on coccidiosis in chickens. *Poult. Sci.*, 77, 1631-1635
- ALLEN P.C. DANSFORTH H.D. SKINNER H.G. 2000. Dietary Echinacea supplementation and development of immunity to coccidia challenge. *XXI World's Poultry Congress*, Montreal (Canada).
- BEN-SHAUL V., LOMNITSKI L., NYSKA A., CARBONATTO M., PEANO S., ZUROVSKY Y., BERGMAN M., ELDRIDGE S. R., GROSSMAN S. : Effect of natural antioxidants and apocynin on LPS-induced endotoxemia in rabbit *Hum. exp. toxicol.* 2000, vol. 19, no 11, pp. 604 - 614
- BRIENS C., GRENET L. : Effet d'huiles essentielles sur des épisodes spontanés d'entérocologie. *9èmes Journ. Rech. Cunicole Fr.*, Paris, 2001 87-96. ITAVI Ed., Paris.
- CHIRASE N., GREEN L., PURDY C., LOAN R., AUVERMANN B., PARKER D., WALBORG E., STEVENSON D., XU Y., KLAUNIG J., . The effect of transport stress on respiratory disease, serum antioxidant status and serum concentrations of lipid peroxidation biomarkers in beef cattle. *American Journal of Veterinary Research*, 2004, Vol 65, n°6, 860-864
- COUDERT P., LICOIS D., DROUET-VIARD F. : Coccidies et coccidioses du lapin Formation dispensée par l'INRA UR86 BASE, Nouzilly, 2005.
- DROUET VIARD F., FORTUN LAMOTHE L. : Alimentation et immunité : I Rappel sur l'organisation et le fonctionnement du système immunitaire : quelques particularités du lapin. *9èmes Journ. Rech. Cunicole Fr.*, Paris, 2001 87-96. ITAVI Ed., Paris.
- FORTUN LAMOTHE L, DROUET VIARD F : Alimentation et immunité : II Etat des connaissances et perspectives de recherche pour le lapin. *9èmes Journ. Rech. Cunicole Fr.*, Paris, 2001 97-110. ITAVI Ed., Paris.
- MANDAL S.C., SASMAL N.K., RAY S., 1994. Effect of IHP-250C (Zycox) on lesion scores of *Eimeria necatrix* infected chicks. *Indian Vet. J.* 71, 118-120
- TZUNG-HSUN TSAI, PO-JUNG TSAI, AND SU-CHEN HO : Antioxidant and anti-inflammatory activities of several commonly used spices, *Journal of Food Science*, 2005, vol.70, n°1, 93-97
- YOUN H.J., NOH J.W., 2001. Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella* *Vet. Parasitol.*, 96, 257-266