

# Piloter l'écosystème digestif du lapin : pourquoi, quand et comment ?

S. COMBES<sup>1\*</sup>, L. FORTUN-LAMOTHE<sup>1</sup>, L. CAUQUIL<sup>1</sup>, T. GIDENNE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA, UMR 1289 TANDEM, Chemin de Borde Rouge, BP 52627, F-31326 Castanet Tolosan, France

\*[Sylvie.Combes@toulouse.inra.fr](mailto:Sylvie.Combes@toulouse.inra.fr)

**Résumé :** L'écosystème digestif du lapin est très diverse, tant d'un point de vue sa composition que de ses capacités fonctionnelles. Il joue de multiples rôles physiologiques: hydrolyse et fermentation des nutriments, pouvoir immuno-régulateur, vascularisation et trophicité intestinales, barrière de défense contre les agents infectieux. Dans un objectif d'amélioration de la santé digestive et de l'efficacité alimentaire, comprendre et maîtriser le fonctionnement et la diversité de l'écosystème digestif est donc un enjeu prioritaire pour la filière cunicole. L'objet de cette synthèse est de faire le point sur les connaissances relatives à sa diversité spécifique et sa variabilité, en intégrant les résultats récents obtenus par les approches moléculaires chez le lapin, ou chez d'autres espèces. Les principaux rôles du microbiote seront détaillés. Nous tenterons de définir le moment opportun d'action ainsi que les leviers disponibles.

**Abstract : Drive the rabbit digestive ecosystem: why, when and how?** The specific and functional diversity of the rabbit digestive ecosystem is highly diverse. Digestive ecosystem is involved in several physiological roles: hydrolysis and fermentation of nutrients, immune system regulation, angiogenesis, gut development and barrier effect against pathogens. Understanding the digestive ecosystem and how to control its functional and specific diversity is a priority, since this could provide new strategies to improve the resistance of the young rabbit to digestive disorders and improve feed efficiency. This review first recalls some knowledge on the digestive microbiota composition and its variability for rabbit or other species with some new insight, thank to the recent molecular approaches. Then, the main role assigned to digestive microbiota will be underlined. Finally some possible ways to control rabbit caecal microbiota will be detailed and a time-window of action will be defined.

## Introduction

Les mammifères peuvent être assimilés à des super-organismes puisqu'ils sont colonisés en permanence par une vaste et abondante communauté de microorganismes. Il existe ainsi une relation hôte/microbiote basée sur un modèle de symbiose qui définit " l'écosystème digestif" où chaque partenaire trouve bénéfique de cette association. Toutefois, l'équilibre de cet écosystème est fragile et sa rupture peut intervenir lors de certaines affections digestives. Ces dernières années un effort de recherche considérable utilisant les techniques de la biologie moléculaire et de la microbiologie ont permis de mieux définir sa composition, de mieux comprendre son fonctionnement et ses multiples rôles physiologiques: hydrolyse des nutriments et fermentation, pouvoir immunorégulateur, effets sur la motricité, la vascularisation et la trophicité intestinales, rôle de barrière contre des agents infectieux.

Dans cette synthèse, nous nous attacherons à faire le point des connaissances relatives à la composition et au fonctionnement de l'écosystème caecal chez le lapin, nous précisons les rôles attribués au microbiote (pourquoi), et nous évaluons quand et comment est-il possible d'orienter le microbiote dans un sens favorable pour l'hôte. L'objectif appliqué est de réduire la fréquence d'apparition des troubles digestifs et/ou d'améliorer l'efficacité alimentaire.

### 1. Composition de l'écosystème digestif du lapin

Le tube digestif des animaux et en particulier celui

des mammifères, constitue un habitat très favorable au développement des microorganismes. En effet, la vitesse de transit est lente, le pH du milieu est acide à neutre associé à une humidité importante et une température stable et élevée. La communauté microbienne digestive, appelée microbiote, est abondante, puisqu'elle est constituée d'environ 100 à 1000 milliards de micro-organismes par gramme de digesta. Sa diversité et sa complexité sont très élevées puisque environ un millier d'espèces différentes la constitue. Chez les mammifères herbivores, le microbiote est constitué i) de bactéries appartenant à quelques centaines d'espèces, ii) d'archées, affiliées majoritairement à un seul genre, iii) de protozoaires (40 à 50% de la biomasse chez le ruminant) et de virus bactériophages (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007).

Chez le lapin, un microbiote abondant ( $10^{11}$  à  $10^{12}$  bactérie/g) est présent dans l'ensemble caecum-côlon, les caecotrophes et les fèces; il a également été étudié au niveau de l'iléon où son abondance est moindre ( $10^6$  à  $10^8$  bactéries/g). La population bactérienne est largement majoritaire et estimée à  $10^{10}$ - $10^{12}$  bactéries par g de contenu (Gouet et Fonty, 1973; Forsythe et Parker, 1985; Combes *et al.*, 2011) tandis que la population archée est estimée à  $10^7$  par g de contenu (Combes *et al.*, 2011). En ce qui concerne le domaine des eucaryotes, l'écosystème digestif caecal du lapin semble dépourvu de champignon anaérobie (Bennegadi *et al.*, 2003) et de levure (Kimse *et al.*, 2008) quoique la présence de levures "commensales" ait été observée dans le caecum ( $10^6$  /g Forsythe et

Parker, 1985). Les protozoaires sont absents de l'écosystème caecal (Bennegadi *et al.*, 2003) exceptés chez l'animal atteint de coccidiose (Lelkes et Chang, 1987).

### 1.1. Composition taxonomique

La diversité taxonomique de l'écosystème digestif du lapin a d'abord été étudiée par des techniques de culture (Fonty et Gouet, 1989). Ces études basées sur l'aspect fonctionnel des microorganismes et leur capacité à se développer sur des substrats définis ont permis de montrer que le lapin adulte héberge  $10^7$  et  $10^6$  bactéries cellulolytiques par g de contenu caecal et de fèces respectivement. Les populations de bactéries xylanolytiques et pectinolytiques s'établissent quant à elles entre  $10^9$  et  $10^{10}$  bactéries par g dans le côlon et le caecum. Les espèces cultivables les plus fréquemment identifiées sont *Eubacterium cellulosolvens* pour les bactéries cellulolytique et *Bacteroides ruminicola* pour les bactéries pectinolytiques et xylanolytiques (Boulahrouf *et al.*, 1991). Par ailleurs, la fraction cultivable du microbiote digestif du lapin adulte sain se caractérise par l'absence ou la faible densité de *Lactobacillus*, *Streptococcus* et d'*Escherichia coli* (Ducluzeau, 1969; Gouet et Fonty, 1973; 1979; Yu et Tsen, 1993; Padilha *et al.*, 1996) et la prédominance des *Bacteroides* (Gouet et Fonty, 1973; 1979).

Ces techniques culturales ne permettent a priori l'étude que de 10 à 20 % de la population existante du système digestif (Suau *et al.*, 1999), puisque nos connaissances sont insuffisantes sur la physiologie de nombreux micro-organismes, pour être isolés et cultivés *in vitro*. Depuis une dizaine d'années, les techniques de microbiologie moléculaire ont permis une avancée considérable dans la connaissance de la diversité microbienne spécifique des écosystèmes digestifs. Ces techniques sont souvent basées sur l'utilisation des gènes codant pour l'ARN de la petite sous-unité 16S des ribosomes des bactéries (ADNr 16S) (Deng *et al.*, 2008). Cette molécule est un bon marqueur de la diversité des procaryotes. En effet, elle est ubiquitaire (présentes chez tous les procaryotes), et contient des zones très conservées et d'autres très variables qui permettent de distinguer les familles ou les genres entre eux. De plus, elle est facilement détectable car présente en grand nombre de copies. Enfin l'ADNr 16S est un marqueur neutre de l'évolution : cette molécule a évolué avec le temps en l'absence de pression de sélection, de ce fait il permet de classer les microorganismes mais aussi de comprendre leur évolution (Case *et al.*, 2007). On distingue cinq grands types de méthodes : la réalisation d'inventaire moléculaire, les empreintes moléculaires (DGGE, T-RFLP, CE-SSCP etc.), la quantification par PCR en temps réel, le séquençage en profondeur de l'ADNr 16S et depuis très récemment le séquençage en masse de tout l'ADN microbien du contenu digestif (séquençage du métagénome).

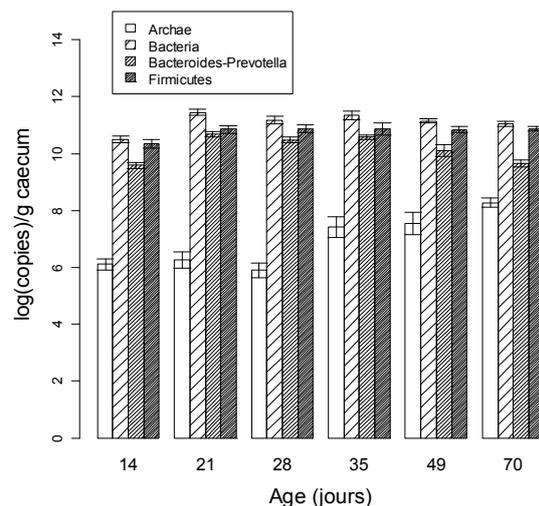
Chez le lapin, trois équipes ont réalisé un inventaire

moléculaire des bactéries présentes dans le caecum en utilisant l'ADNr 16S, ce qui a permis de mieux connaître la diversité spécifique de cet écosystème caecal (46 clones Abecia *et al.*, 2005; 228 clones Monteils *et al.*, 2008) et archée (34 clones Kušar et Avguštin, 2010). La description de la diversité spécifique est d'autant plus fine que le nombre de clones ou séquences isolées est important.

**Tableau 1 : Distribution des OTU (Operational Taxonomic Unit) et des clones (séquences ADNr 16S isolées) dans les phyla présents dans le contenu caecal d'un lapin adulte (Monteils *et al.*, 2008)**

Phyla	OTU (%)	Clones (%)
<i>Bacteroidetes</i>	3 (4,3)	7 (3,1)
<i>Beta-gamma-proteobacteria</i>	1 (1,4)	1 (0,4)
<i>Firmicutes</i>	65 (92,9)	211 (92,5)
<i>Verrucomicrobiae</i>	1 (1,43)	9 (4)

**Figure 1: Evolution des densités des populations archées, bactéries, du phylum *Firmicutes* et des genres *Bacteroides-Prevotella* dans le caecum de lapins d'après Combes *et al.*, (2011)**

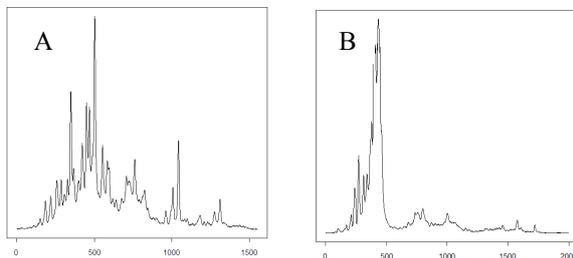


Les deux inventaires de la communauté bactérienne ont révélé le faible niveau de connaissances sur les espèces bactériennes hébergées dans le caecum. En effet, la plupart des séquences identifiées correspondent à de nouvelles espèces bactériennes non cultivées et non référencées dans les bases de données (90 % Abecia *et al.*, 2005; 80% Monteils *et al.*, 2008). Ces études montrent également le caractère particulier du microbiote caecal du lapin puisque la moitié des séquences décrites dans chacune des études sont phylogénétiquement proches entre elles. L'analyse phylogénétique (Tableau 1) range les séquences dans leur très grande majorité dans les *Firmicutes* (plus de 90% des séquences), alors que les *Bacteroidetes* ne représenteraient que 4%. En accord avec ces premiers résultats exploratoires, la densité de population chez le lapin adulte, évaluée par PCR en temps réel, des *Firmicutes* est de  $10,8 \log_{10}$  copies d'ADNr 16S/g de contenu caecal, tandis que les genres *Bacteroides* et *Prevotella* atteignent  $9,7 \log_{10}$

copies d'ADNr 16S/g (Combes *et al.*, 2011) (Figure 1), soit dix fois moins.

La seconde technique, également basée sur l'analyse de l'ADNr 16S, consiste à réaliser une empreinte moléculaire ou profil de l'ensemble des bactéries présentes : dans le caecum chez le lapin T-RFLP (Chamorro *et al.*, 2007; Gomez-Conde *et al.*, 2007; Gómez-Conde *et al.*, 2009; Chamorro *et al.*, 2010), DDGE (Abecia *et al.*, 2007c; Krieg *et al.*, 2009) et CE SSCP (Michelland *et al.*, 2010a) (Figure 2). Ceci permet d'obtenir une image représentative de l'ensemble de la communauté bactérienne ou archée rapidement et à un coût modéré. L'analyse des pics en CE SSCP (Figure 2) ou T-RFLP ou des bandes (DGGE) fournit une image représentative des espèces dominantes du microbiote, et une idée de la quantité d'espèces minoritaires, et de la richesse de la communauté par l'analyse de l'aire sous les pics (Fromin *et al.*, 2002). La technique de T-RFLP permet également par comparaison à une base de données d'identifier des bactéries. Ces techniques permettent également de calculer un indice de diversité, valeur synthétique pour qualifier une communauté. La structure de ces empreintes, associée à l'indice de diversité permettent d'étudier la dynamique du microbiote, par exemple en fonction de l'âge ou de facteurs nutritionnels.

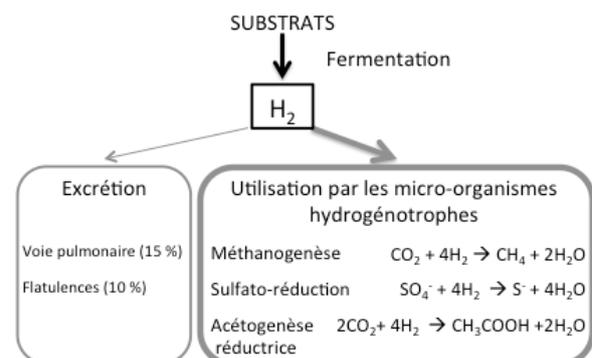
**Figure 2 : Profil CE SSCP de la communauté bactérienne (A) et archée (B) caecale (Michelland, 2009)**



Bien que la communauté bactérienne soit majoritaire dans les écosystèmes digestifs, un intérêt particulier a été porté ces dernières années aux archées. En effet, les archées qui résident dans le tractus digestif, sont toutes méthanogènes et strictement anaérobies. Intégrées en fin de la chaîne trophique, elles permettent l'élimination de l' $H_2$  issu des fermentations sous forme de méthane (Jones *et al.*, 1987). Le méthane issu de leur activité est un puissant gaz à effet de serre (23 fois plus réchauffant que le  $CO_2$ ) et représente également une perte de 6 à 8% de l'énergie et du carbone ingérés par l'animal (Boadi *et al.*, 2004), ce qui correspond donc à une moindre efficacité digestive. Chez le lapin, les données relatives à la communauté archée sont limitées. La méthanogenèse a d'abord été observée *in vitro* (Piattoni *et al.*, 1996; Marounek *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 2010; Belenguer *et al.*, 2011) et plus récemment *in vivo* en chambre respiratoire (Belenguer *et al.*, 2011; Franz *et al.*, 2011). Les profils CE SSCP

obtenus pour la communauté archée sont beaucoup plus simples et indiquent une diversité spécifique beaucoup plus faible que celle de la population bactérienne (Figure 2B). En effet, dans les écosystèmes digestifs des mammifères, les archées sont très peu diverses. L'ordre qui prédomine est l'ordre des *Methanobacteriales* avec comme genre principal *Methanobrevibacter* (parfois associé avec quelques *Methanomicrobium*, *Methanobacterium* et *Methanosarcina* (ordre : *Methanosarcinales*) (Jarvis *et al.*, 2000; Wright *et al.*, 2007). L'inventaire moléculaire de la population archée récemment réalisé chez le lapin (Kušar et Avguštin, 2010) confirme la prédominance du genre *Methanobrevibacter* et semble indiquer la présence d'une nouvelle espèce de ce genre spécifique au lapin. La densité des archées a été évaluée à 7-8  $\log_{10}$  copie d'ADNr 16S /g de contenu caecal (Figure 1). *In vitro* les quantités de méthane excrétée sont fonction du régime alimentaire des lapins (Belenguer *et al.*, 2011) ou de la nature du substrat mis en présence de l'inoculum (Yang *et al.*, 2010). Une grande hétérogénéité des émissions de méthane a été observée entre individus *in vivo* (une excrétion de méthane n'est détectée que chez deux individus sur seize Belenguer *et al.*, 2011). Ceci suggère l'existence d'un effet génétique mais également l'existence pour les individus non méthano-excréteur d'autres voies d'élimination de l' $H_2$  : l'acétogenèse réductrice (Figure 3). La quantité d'énergie perdue sous forme de méthane est plus faible chez le lapin comparativement à la vache laitière (1% vs 6 % de l'énergie brute ingérée Vermorel, 1995; Franz *et al.*, 2011)

**Figure 3 : Devenir de l'hydrogène chez l'homme d'après Bernalier-Donadille *et al.* (2004)**

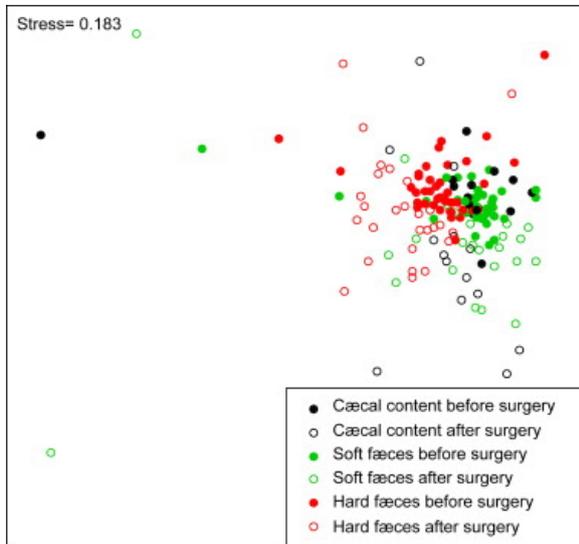


## 1.2. Variabilité de la composition

### 1.2.1 Structuration spatiale du microbiote

Bien que le caecum soit le fermenteur principal chez le lapin, une population microbienne est également présente dans les segments proximaux (estomac, intestin grêle) et distaux (côlon) du tube digestif (Gouet et Fonty, 1979). Le contenu stomacal du lapin, stérile pendant les premières semaines postnatales, héberge  $10^4$  à  $10^6$  bactéries/g à l'âge adulte, cette densité est de 10 à 100 fois plus importante dans l'intestin grêle. Le côlon abrite une population anaérobie équivalente à celle du caecum (Gouet et

**Figure 4 : Représentation graphique d'une analyse nMDS de 158 profils CE SSCP de communautés bactériennes issues du caecum (noir) des caecotrophes (vert) et des fèces (rouge) avant (disque) et après la chirurgie (cercle) nécessaire au prélèvement du contenu caecal (Michelland *et al.*, 2010a)**



Fonty, 1979), soit encore 100 à 1000 fois plus que dans l'iléon. La diversité bactérienne, mesurée à partir d'empreinte moléculaire, serait plus élevée dans l'iléon que dans le caecum (Badiola *et al.*, 2004; Martignon *et al.*, 2010b). Cette différence pourrait être liée au temps de séjour réduit des particules alimentaires dans l'iléon, ne permettant pas une multiplication et une diversité importante des bactéries. Par ailleurs, la densité bactérienne des caecotrophes, qui correspondent à du contenu caecal peu modifié, est du même ordre de grandeur que celle du caecum ( $10^{11}$  bactérie/g). A l'inverse, la densité bactérienne des fèces, plus riches en grosses particules ( $> 0,3$  mm), est 10 fois inférieure à celle du caecum (Emaldi *et al.*, 1978). De même, la structure de la communauté bactérienne et archéenne des caecotrophes est plus proche de celle du contenu caecal que de celle présente dans les fèces (Figure 4) (Rodriguez-Romero *et al.*, 2009; Michelland *et al.*, 2010a; Michelland *et al.*, 2010b). Cette structuration spatiale de la communauté s'explique principalement par les différences ou les similarités de composition chimique entre les différents milieux digestifs. En effet, les facteurs physicochimiques de l'écosystème jouent un rôle majeur dans la sélection des espèces de microorganismes dont chacune possède des caractéristiques physiologiques propres. Si les paramètres du milieu (notion de filtre écologique) satisfont toutes ces caractéristiques (contraintes écologiques) alors les espèces microbiennes pourront se développer. Les paramètres physico-chimiques qui jouent un rôle majeur pour un écosystème digestif sont : l'absence d'énergie lumineuse, la température constante et relativement élevée (35 à 40°C), l'humidité (75 à 95%), le pH légèrement acide à

neutre (6 à 6,5 pour le caecum), le potentiel d'oxydoréduction relativement bas ( $< 200$ mv pour le caecum, Kimsé *et al.*, 2009).

En conclusion, les études réalisées dans les différents segments digestifs du lapin, permettent de proposer l'utilisation des caecotrophes pour le suivi de la dynamique du microbiote caecal dont l'accès est plus difficile (chirurgie ou sacrifice de l'animal).

#### 1.2.2. Dynamique temporelle du microbiote

En l'absence de perturbations induites, la communauté bactérienne du caecum de lapin adulte (diversité, structure, densité des populations de bactéries totales, de *Firmicutes* et de *Bacteroides Prevotella*) reste stable dans le temps (Michelland *et al.*, 2010a; Michelland *et al.*, 2011). En accord avec les observations réalisées notamment chez l'homme adulte (Zoetendal *et al.*, 1998; Vanhoutte *et al.*, 2004), l'absence de variations temporelles du microbiote caecal du lapin adulte illustre une remarquable stabilité de la composition microbienne dominante et indique que l'écosystème a atteint un équilibre.

#### 1.2.3. Variabilité intra individuelle et entre les individus

L'analyse du microbiote caecal par empreinte moléculaire (CE SSCP) ne détecte pas chez le lapin, l'existence d'un patron spécifique à chaque individu, stable dans le temps ou dans l'espace (différents compartiments)(Michelland *et al.*, 2010a). En effet, la variabilité inter et intra individuelle des communautés bactériennes et archéennes sont de même ampleur (Michelland *et al.*, 2010a; Michelland *et al.*, 2010b). Une forte variabilité inter individuelle de la composition de la communauté bactérienne a déjà été montrée chez le poulet (Wielen *et al.*, 2002), cependant rares sont les études qui évaluent la variabilité intra individu (répétition d'un même individu dans le temps ou dans l'espace). Chez l'homme, un patron spécifique à chaque individu est retrouvé au sein des différents segments du colon (ascendant, descendant et transverse) (Zoetendal *et al.*, 2002) ou au cours du temps dans les fèces (Vanhoutte *et al.*, 2004). L'absence de patron ou structure de la communauté bactérienne et archéenne spécifique de l'individu hôte chez le lapin pourrait trouver son origine dans la similarité génétique entre animaux issus de lignées sélectionnées et la forte standardisation des conditions d'élevage et d'alimentation. Ces paramètres tendraient à uniformiser l'influence de l'hôte sur la composition de sa communauté bactérienne.

Récemment chez l'homme, (Arumugam *et al.*, 2011) le séquençage complet de l'ADN bactérien présent dans les fèces de 200 sujets, a permis d'identifier trois types de microbiote digestif ou entérotypes. A l'instar des quatre groupes sanguins, ces entérotypes ne sont pas spécifiques de l'origine ethnique des sujets (européens, américains, japonais), et sans liens avec le sexe, le poids, l'âge ou l'état de santé). Ils se distinguent par leur composition taxonomique et leur

fonctionnement (équipement enzymatique). S'il reste à mettre en relation les entérotypes avec la prédisposition à certaines maladies, l'existence de ces entérotypes permet d'envisager une prophylaxie ou une action thérapeutique adaptée spécifiquement à l'entérotipe du patient. Des études similaires sont en cours chez l'animal de rente.

En conclusion, la communauté bactérienne et archée de l'écosystème caecal du lapin est composée majoritairement d'espèces non encore décrites et très spécifiques à cette espèce. Chez le lapin adulte, la composition de la communauté bactérienne diffère tout au long du tractus mais reste stable dans le temps et varie peu entre individus.

## 2. Pourquoi contrôler le fonctionnement d'un écosystème ?

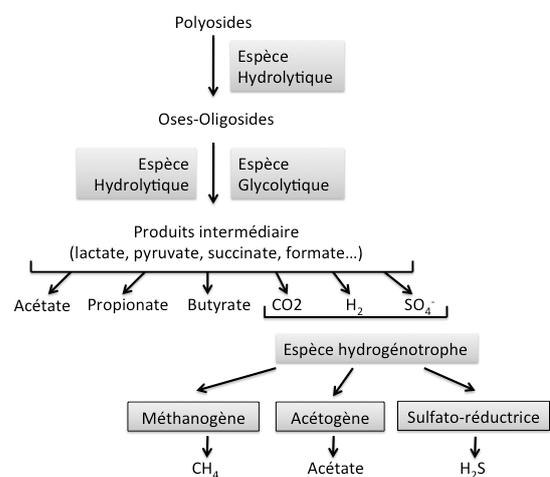
Le microbiote digestif joue de multiples rôles physiologiques: capacité fermentaire, effet barrière contre les agents infectieux, pouvoir immunorégulateur, effets sur la motricité la vascularisation et la trophicité intestinales. La maîtrise du microbiote pourrait donc permettre d'améliorer l'efficacité digestive ou le statut immunitaire et donc la santé digestive. L'amélioration de l'efficacité digestive au travers d'une optimisation de la composition du microbiote aurait un impact direct sur le coût alimentaire, et permettrait aussi d'augmenter l'utilisation de matières premières « fibreuses » non concurrentielles avec l'alimentation de l'Homme. De même, l'amélioration de l'efficacité digestive réduirait les rejets dans l'environnement. Notons que chez le lapin, contrairement aux ruminants, la réduction de l'émission de gaz à effets de serre ne semble pas un enjeu majeur pour l'élevage cunicole, puisque le lapin en croissance produit peu de méthane (Franz *et al.*, 2011). Enfin, la maîtrise du microbiote pourrait permettre de limiter les troubles digestifs périsévages, d'une part via son effet barrière et d'autre part via son rôle d'immuno-stimulateur. Le recours à l'antibiothérapie serait ainsi plus limité, ce qui est un enjeu majeur pour les productions animales.

### 2.1. Rôle dans la digestion et l'efficacité alimentaire

L'une des fonctions les plus évidentes de l'écosystème digestif est sa capacité d'hydrolyse et de fermentation des nutriments. Chez le lapin, espèce herbivore et monogastrique, la digestion des nutriments a majoritairement lieu dans l'intestin grêle grâce aux enzymes digestives de l'hôte. Ces enzymes hydrolysent la plupart des composants alimentaires à l'exception des constituants des parois végétales ou fibres (lignines, celluloses, hémicelluloses, pectines etc.... (Fonty et Gouet, 1989) qui sont hydrolysés par les enzymes bactériennes. Du fait de la faible densité microbienne dans les parties supérieures du tube digestif et d'un bref temps de séjour des digesta, les fibres alimentaires parviennent très peu modifiées dans le caecum. Ces fibres ajoutées aux nutriments non digérés dans l'intestin grêle et aux sécrétions endogènes (mucopolysaccharides, débris cellulaires,

enzymes) constituent la principale source de carbone pour le microbiote. En sortie du segment iléal, les fibres sont les constituants majoritaires (70 % de la matière sèche, (Gidenne, 1992), tandis que les composés azotés arrivent en seconde position (15% de la matière sèche)(Villamide *et al.*, 2010). Les activités métaboliques du microbiote sont fonction de la nature des substrats entrants et sont organisées en chaîne trophique. La première étape de la chaîne trophique (Fig. 5), assurée par les espèces hydrolytiques, correspond à l'hydrolyse des polymères complexes par une grande variété d'hydrolases (polysaccharidases, glycosidases, protéases, peptidases) en composés plus petits (oses, acides aminés etc..).

**Figure 5 : Chaîne trophique de la dégradation des polysides alimentaires d'après Bernalier-Donadille *et al.* (2004)**



Ces composés solubles sont utilisés par les espèces hydrolytiques et fermentatives comme sources d'énergie. Les processus fermentaires conduisent à la production d'acides gras volatils (AGV : acide acétique, acide propionique et acide butyrique), d'ammoniac (NH<sub>3</sub>) issu de la protéolyse, des métabolites intermédiaires (acide lactique, succinique, formique) et de gaz (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>).

L'ensemble de ces réactions de fermentation permet aux bactéries d'obtenir l'énergie nécessaire à leur croissance et à leur multiplication et au maintien de leurs fonctions cellulaires. Chez le lapin, le rôle du microbiote dans la digestion a d'abord été étudié au travers de son activité enzymatique et des produits de fermentation (AGV, NH<sub>3</sub>) (pour revue Gidenne *et al.*, 2008; Carabaño *et al.*, 2010). Pectinase, xylanase, cellulase, et uréase sont les enzymes majeures de l'écosystème microbien chez le lapin (Carabaño *et al.*, 2010). La hiérarchie des activités bactériennes fibrolytiques (pectinase > xylanase > cellulase) est en accord avec celle de la digestibilité des fractions fibreuses (pectines > hémicelluloses > cellulose) (Gidenne *et al.*, 2008).

Les produits fermentaires sont importants pour le lapin puisque les AGV et le NH<sub>3</sub> sont absorbés au

travers des parois du caecum et du côlon et constituent une source énergétique pour l'hôte. La production d'AGV peut couvrir 30 % à 50 % des besoins énergétiques d'entretien du lapin adulte (Gidenne, 1994). La concentration des AGV dans le caecum s'établit chez le lapin adulte, autour de 75% d'acétate, 15% de butyrate et 10% de propionate. Cependant, ces proportions changent en fonction de l'âge de l'animal, du rythme d'ingestion dans la journée (Bellier *et al.*, 1995) et du régime alimentaire, notamment la concentration en fibres rapidement fermentescibles (Gidenne *et al.*, 2004a). Contrairement à la plupart des herbivores, chez le lapin, le ratio propionate:butyrate est inférieur à 1, en raison des caractéristiques du microbiote (Adjiri *et al.*, 1992). Enfin, le comportement de caecotrophie permet à l'animal de recycler une partie du contenu caecal riche en protéines bactériennes. En fonction du régime alimentaire, les caecotrophes contribuent pour environ 15% de l'azote total ingéré, mais cette proportion peut atteindre 70% pour un régime à très pauvre en azote (Garcia *et al.*, 2004).

La capacité du microbiote à fournir 30 à 50 % des besoins énergétiques d'entretien chez le lapin adulte, souligne l'impact important de l'écosystème caecal sur l'efficacité digestive globale. Chez le lapin, 30 à 50% de la fraction digestible de la matière organique digestible est digérée dans le segment caeco-côlique (Gidenne, 1992; Gidenne *et al.*, 2000). Chez la souris, l'implication du microbiote dans l'efficacité alimentaire a été révélée en observant que les souris axéniques (privées de microbiote ou « germ free ») mangeaient davantage que les souris conventionnelles pour maintenir leur poids (Corthier, 2011). Par ailleurs, lorsque l'on implante un microbiote conventionnel à des souris axéniques, on observe une augmentation de 60 % de la masse grasseuse, concomitante à une diminution de la quantité d'aliment ingérée de 30 % en deux semaines (Backhed *et al.*, 2004). De plus, le transfert du microbiote de souris obèses à des souris sans microbiote induisait une augmentation de l'extraction énergétique des aliments ingérés et une prise de poids supérieure à celle induite par le transfert d'un microbiote de souris minces (Turnbaugh *et al.*, 2006). Ainsi, est-il démontré que le microbiote intervient dans l'efficacité alimentaire. En terme de composition, il a été montré chez l'homme et la souris que les sujets obèses présentaient un ratio *Firmicutes* / *Bacteroides* plus élevé que chez les individus minces (Ley *et al.*, 2005; Ley *et al.*, 2006) et une moindre diversité (Turnbaugh *et al.*, 2009). A notre connaissance aucune étude chez le lapin n'a permis de mettre en relation l'efficacité alimentaire et les caractéristiques de la composition du microbiote.

## 2.2. Pouvoir immunorégulateur, et défense contre les agents infectieux

### 2.2.1. Rôle barrière

Le concept d'effet barrière (ou résistance à la

colonisation) repose sur le fait que le microbiote implanté durablement dans le tube digestif s'oppose ou rend plus difficile l'implantation des bactéries exogènes (Berg, 1996). En effet, chez les animaux axéniques, une augmentation du transport d'antigène à travers la muqueuse intestinale est observée. Différents mécanismes ont été proposés pour expliquer cet effet barrière : i) Ainsi l'adhésion à la muqueuse des bactéries commensale peut prévenir l'attachement et l'entrée de bactéries pathogènes. Chez le lapin, les bactéries filamenteuses qui colonisent l'iléon permettent de réduire l'attachement d'*Escherichia coli* entéropathogènes (Heczko *et al.*, 2000). ii) De plus les micro-organismes sont en compétition pour les nutriments de leur niche écologique et maintiennent leur habitat en consommant toutes les ressources. iii) Enfin, les bactéries sont capables d'inhiber la croissance de bactéries compétitrices en produisant des substances antimicrobiennes (Guarner et Malagelada, 2003).

### 2.2.2. Rôle dans la stimulation de l'immunité intestinale

Le système immunitaire intestinal du lapin (GALT pour Gut Associated Lymphoid Tissue) est essentiellement situé dans l'intestin grêle et le côlon comme chez la plupart des mammifères, avec cependant deux structures particulières supplémentaires le *sacculus rotondus*, situé à la jonction iléo-caecale et l'appendice vermiforme, situé à l'extrémité du caecum. Le GALT contient plus de cellules immunitaires que l'ensemble de l'organisme (près de 70% chez l'homme Corthier, 2011). Dans l'intestin grêle le GALT est composé d'agrégats lymphoïdes organisés: les plaques de Peyer et de cellules isolées disséminées dans la *lamina propria* et l'épithélium des villosités (pour revue Fortun-Lamothe et Boullier, 2007).

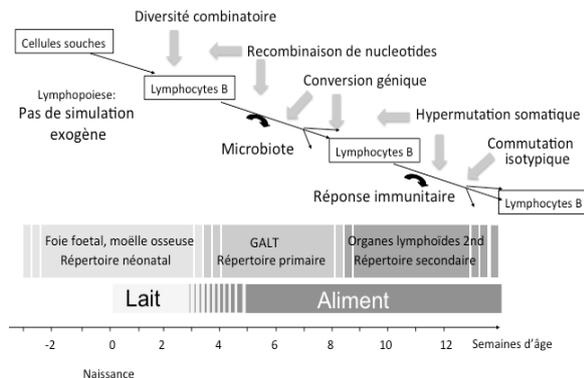
Le modèle de la souris axénique, par comparaison à la souris conventionnelle, a permis de mettre en évidence le rôle fondamental exercé par le microbiote intestinal sur le développement et les fonctions du GALT. En effet, chez la souris axénique le GALT est faiblement développé et est comparable à celui d'un nouveau né : faible densité de cellules lymphoïdes dans la muqueuse intestinale, plaque de Peyer réduite, et faible concentration en immunoglobuline sanguine. L'installation séquentielle du microbiote intestinale est le facteur majeur responsable du délai nécessaire au développement du GALT (pour revue Guarner et Malagelada, 2003).

Certaines espèces bactériennes à Gram négatif, *E coli* et *Bacteroides*, semblent jouer un rôle important dans cette stimulation puisque leur seule présence dans le tube digestif de souris gnotoxénique est capable de provoquer une stimulation égale à la moitié de celle mesurée avec un microbiote intestinale complexe. En effet, les polysaccharides de la paroi de ces bactéries jouent un rôle important dans l'activation du système immunitaire (Mazmanian *et al.*, 2005).

Chez le lapin, la diversification du répertoire primaire

des anticorps se poursuit après la naissance et est sous la dépendance des stimulations bactériennes. Cette diversification commence avant la naissance et s'achève vers l'âge de 10-12 semaines (Figure 6). Ainsi jusqu'à 2-3 semaines d'âge les lapereaux ne disposent que d'un répertoire peu diversifié, dit néonatal. La mise en place du répertoire primaire des anticorps a lieu entre et 4 et 8 semaines d'âge par des processus de recombinaison de nucléotides, de conversion génique et d'hypermutation somatique dans le GALT et plus particulièrement dans l'appendice vermiforme (Mage *et al.*, 2006; Hanson et Lanning, 2008). Le microbiote est indispensable à la production et à la diversification de ce premier répertoire d'anticorps (Lanning *et al.*, 2000) nécessaire à l'animal pour lutter efficacement contre les divers pathogènes auxquels il est soumis. L'inoculation de plusieurs bactéries intestinales, seule ou en combinaison dans l'appendice stérile de lapin, montre que *Bacillus subtilis* et *B. fragilis* ensemble stimulent la prolifération des lymphocytes B et la diversification des gènes codant pour les immunoglobulines (Rhee *et al.*, 2004). Plus récemment, Severson *et al.* (2010) montrent que les spores de *Bacillus* stimuleraient le GALT par un mécanisme de reconnaissance de superantigène présents à la surfaces des spores.

**Figure 6 : Diversification du répertoire d'anticorps chez le lapin d'après Fortun-Lamothe et Boullier (2007)**



Bien qu'il soit continuellement en présence d'une masse considérable d'antigènes que sont les protéines alimentaires et les micro-organismes commensaux, le GALT ne doit pas développer de réponse immunitaire, ce qui implique une tolérance de l'hôte vis à vis de ces antigènes. La mise en place des mécanismes de tolérance est également dépendante de la présence du microbiote et interviendrait très tôt dans la vie de l'hôte (Fortun-Lamothe et Boullier, 2007).

En médecine humaine, l'hypothèse hygiéniste statue que le défaut de stimulation ou d'exposition aux agents pathogènes et aux microorganismes symbiotiques (microbiote intestinal) ou l'utilisation fréquente d'antibiotique chez le jeune enfant augmente la susceptibilité des patients à développer des troubles allergiques et des maladies auto-

immunes. Ce phénomène serait lié à une altération de la mise en place du système immunitaire en relation avec des modifications de la composition du microbiote (Okada *et al.*, 2010). Cette hypothèse a été confortée récemment par des observations effectuées chez le porc élevé dans trois conditions d'hygiène différentes (plein air vs en bâtiment vs en isolateur avec traitement antibiotique). Ainsi, les animaux élevés en isolateur présentent une composition du microbiote altérée et une expression plus importante des gènes impliqués dans la réponse immunitaire inflammatoire (Mulder *et al.*, 2009).

### 2.3. Rôle du microbiote dans la maturation des muqueuses et la vascularisation intestinale

Le rôle du microbiote sur le développement de la muqueuse intestinale a été démontré en comparant l'épithélium intestinal d'animaux axéniques et d'animaux conventionnels. Chez les animaux axéniques le taux de renouvellement et le nombre des cellules des cryptes sont réduits comparativement à des animaux conventionnels, suggérant que le microbiote réduit la prolifération cellulaire dans le côlon. (Guarner et Malagelada, 2003). Chez le lapin axénique le caecum est hypertrophié, le volume atteint par cet organe est tel (multiplié par 6 à 10 fois) qu'il entraîne la mort des animaux (Fonty *et al.*, 1979; Coudert *et al.*, 1988).

Par ailleurs, les réseaux de vaisseaux sanguins des villosités intestinales de souris adultes axéniques et conventionnelles ont été comparés. Le réseau est deux fois moins dense chez des souris axéniques en raison d'un développement stoppé prématurément chez ces dernières (Stappenbeck *et al.*, 2002).

En conclusion, compte tenu des rôles physiologiques attribués au microbiote, son pilotage semble une voie prometteuse d'amélioration de la durabilité en terme de démedicalisation et d'amélioration de l'efficacité alimentaire des élevages y compris cunicoles. Il reste cependant à définir quel serait la ou les périodes d'action les plus opportunes et les moyens d'y parvenir.

## 3. Quand est-il opportun d'agir ?

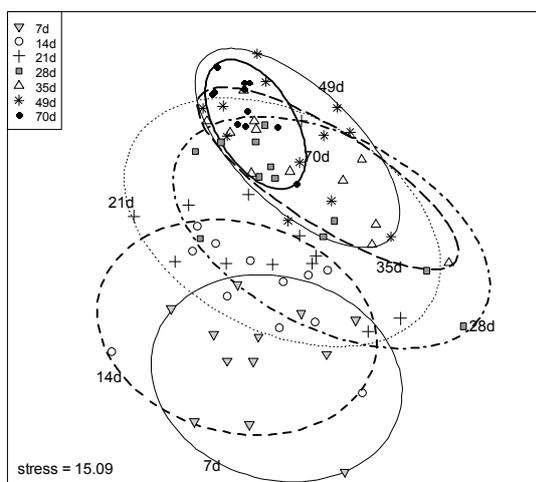
### 3.1. Implantation du microbiote et succession écologique des espèces

*In utero*, le tube digestif du lapereau est stérile, la colonisation débute dès la naissance au contact de la mère et de l'environnement immédiat (filière génitale, tétée et proximité au nid) (Berg, 1996). Comme chez tous les mammifères, la mise en place des espèces est orchestrée en une succession écologique des espèces. Chez le lapin, cette succession écologique des espèces a d'abord été étudiée par les techniques de culture (Gouet et Fonty, 1973; 1979; Kovacs *et al.*, 2006) puis très récemment par des outils moléculaires (Combes *et al.*, 2011). Dès deux jours d'âge, la densité bactérienne est élevée dans le caecum ( $10^9$  copies d'ARN 16S /g) puis croît pour atteindre son maximum à 21 jours d'âge ( $10^{11}$  à  $10^{12}$  copie d'ADNr 16S.g<sup>-1</sup>). A ce stade, le lapereau est encore allaité,

mais a déjà débuté sa consommation d'aliment solide (Gidenne *et al.*, 2010c). Lors des premières semaines de vie, la communauté bactérienne du caecum se compose à part égale de bactéries anaérobies strictes et facultatives, puis l'abondance de ces dernières diminue fortement jusqu'à disparaître après sevrage chez certains individus (Gouet et Fonty, 1979). Ainsi, les bactéries du groupe des *Bacteroides Prevotella*, (Gram négatives et anaérobies strictes) ont pu être détectées dès 2 – 3 jours d'âge (Kovacs *et al.*, 2006; Combes *et al.*, 2011) pour atteindre son apogée à 21 jours d'âge (1010-1011 copies d'ADNr 16S.g-1 Combes *et al.*, 2011). Par ailleurs, 7 jours après la naissance, les archées sont présentes dans le caecum à un niveau significatif ( $10^5$  copies d'ADNr 16S/g) (Combes *et al.*, 2011). L'implantation des archées semble moins précoce que celle des bactéries puisqu'elle n'atteint sa densité maximum qu'à 35 jours d'âge (Figure 1).

La réalisation d'empreintes moléculaires de la communauté bactérienne (CE SSCP), a permis de décrire pour la première fois chez le lapin et de manière plus complète que chez les autres espèces, la dynamique d'implantation de la communauté bactérienne présente dans le caecum (Combes *et al.*, 2011). Ainsi, la communauté bactérienne caecale évolue progressivement avec une modification importante (shift) en termes de composition et d'abondance relative des espèces (Figure 7). Cette évolution se traduit par la mise en place progressive d'une communauté de plus en plus complexe en termes de diversité et qui semble atteindre un état climacique à 70 jours d'âge (Combes *et al.*, 2011).

**Figure 7: Représentation graphique de la variabilité de la composition du microbiote en fonction de l'âge. Chaque point représente le microbiote d'un individu, plus les points sont proches plus les microbiotes sont similaires (Combes *et al.*, 2011)**



### 3.2. Définition des fenêtres de permisivité de l'écosystème digestif du lapin

Chez le mammifère, la colonisation du tube digestif

commence dès la naissance. En effet, à cette période de la vie de l'individu, il existe vraisemblablement peu ou pas de barrière à l'installation et au développement des microorganismes. Selon Curtis et Sloan (2004), la communauté digestive d'un nouveau né est un sous ensemble d'une méta communauté plus large comprenant toutes les espèces présentes capables d'investir le tractus digestif. Ainsi, des communautés dont l'environnement est similaire, tel que le caecum de lapins nouveau-nés, présentent des compositions différentes car elles sont formées par échantillonnage aléatoire issu de la méta-communauté qui les entoure (mère, litière, cage, air...). Nous avons montré (Combes *et al.*, 2011) que la composition du microbiote caecal du lapereau était très variable entre individu et ce jusqu'à 49 jours d'âge (Figure 7). Selon cette théorie, il existerait alors une grande part de hasard dans le processus d'acquisition du microbiote initial.

A l'inverse, à 70 jours d'âge la composition du microbiote caecal est plus homogène entre individus (Figure 7). Nos résultats confortent les observations relatives à l'absence de spécificité du microbiote pour l'individu (voir précédemment.) mais permettent aussi de définir une fenêtre d'action (0-49 jours) pendant laquelle il serait possible de modifier le microbiote. Cette fenêtre d'action correspondrait à une période de permisivité pendant laquelle l'effet barrière du microbiote ou l'immunité de l'hôte autoriserait l'installation de nouvelles espèces, bénéfiques ou au contraire pathogènes pour l'hôte.

Cette analyse de la dynamique d'implantation du microbiote permet de poser trois scénarii quand aux possibilités de réorientation du microbiote:

1- Modifier la composition initiale : la part de hasard dans la composition initiale du microbiote permet d'envisager une possibilité de manipulation de sa composition initiale, c'est-à-dire au nid.

2- La forte variabilité intra groupe d'âge perdue jusqu'à 49 jours, ce qui chez le lapin correspond à une période de sensibilité digestive avec un indice de risque sanitaire élevé. Sachant que le lapereau consomme de l'aliment solide vers 17 jours d'âge (Padilha *et al.*, 1995; Fortun-Lamothe et Gidenne, 2000), la voie nutritionnelle de modulation du microbiote est a priori pertinente.

3- Maturer plus vite : Nous avons montré que quel que soit le microbiote de départ, le phénomène de succession écologique semble aboutir à des communautés d'une grande proximité entre individus (Combes *et al.*, 2011). De ce fait, une voie d'action pourrait consister à accélérer le processus d'installation de manière à tendre plus rapidement vers une communauté climacique c'est-à-dire stable, tel que chez l'adulte qui a peu de problèmes digestifs.

### 4. Comment : quels sont les leviers d'action ?

Deux types de levier d'action peuvent être envisagés : ceux qui agissent sur les facteurs intrinsèques et ceux qui agissent sur les facteurs extrinsèques à

l'écosystème (Mackie *et al.*, 1999). Ces derniers concernent la "charge" microbienne dans l'environnement immédiat, la composition du microbiote maternel (tractus génital, tractus intestinal, et peau) et l'alimentation tout au long du développement de l'animal en terme de qualité et de quantité. Tandis que les facteurs intrinsèques sont ceux liés à l'hôte. Ils sont susceptibles d'influencer la succession écologique ou l'équilibre des populations. Ils correspondent à l'influence génétique de l'hôte, son état physiologie, la disponibilité qualitative et quantitative en nutriments endogènes (qualité et quantité), le pH et les conditions redox, la température, la motricité du tractus intestinal qui conditionne le temps de séjour des digesta, les sels biliaires et autres sécrétions endogènes, la réponse immunitaire et enfin la présence de récepteurs chez l'hôte responsables des interactions (du dialogue) hôte-microbiote.

#### 4.1. Influence de l'environnement immédiat sur la colonisation

L'environnement immédiat qui entoure la naissance joue un rôle prépondérant dans la colonisation initiale du tube digestif. L'une des illustrations extrêmes de ce rôle est l'élevage d'animaux axéniques. En effet si la naissance a lieu dans un environnement totalement stérile, il n'y aura pas de colonisation. Rappelons qu'un lapin dépourvu de microbiote ne peut survivre longtemps. Par ailleurs, la composition du microbiote des lapins élevés dans un milieu exempt de pathogènes (SPF) diffère de ceux élevés en élevage conventionnel : la densité de population fibrolytique est supérieure (Bennegadi *et al.*, 2003).

La charge microbienne ou méta-communauté susceptible de servir de réservoir à la colonisation du tube digestif des lapereaux provient de la filière génitale de la lapine, du tractus digestif, et de la fourrure (contact direct et poils déposés dans le nid). De plus, au moment de l'allaitement, des crottes sont déposées par la mère dans le nid et sont ingérées par les lapereaux (Moncomble *et al.*, 2004; Kovacs *et al.*, 2006). Ce comportement participe vraisemblablement au processus d'implantation précoce du microbiote chez les nouveaux nés. Ainsi, les lapereaux n'ayant pas accès aux crottes émises par la mère montrent un retard à l'implantation des *Bacteroides* par rapport aux lapereaux ayant accès aux crottes, mais cette différence ne persiste plus 8 jours après la naissance (Kovacs *et al.*, 2006). L'influence du microbiote caecal de la mère allaitante sur la composition initiale du microbiote caecal des jeunes a été démontré par Abecia *et al.* (2007c). En effet, l'analyse des empreintes moléculaires (DGGE) réalisées chez des lapereaux adoptés montrent que la composition de leur microbiote à 26 jours d'âge est plus proche de celle de leur mère adoptive que de leur mère biologique (Abecia *et al.*, 2007c).

Enfin, l'environnement de l'élevage (boîte à nid, ambiance, hygiène) ainsi que l'éleveur (manipulation

de lapereaux pour ré-équilibrage des portées par exemple) constituent également des sources microbiennes pour la colonisation du tractus digestif du lapereau. Ainsi chez des porcs séparés de leur mère et recevant un lait artificiel, la structure de microbiote est dépendant de l'environnement dans lequel ils sont élevés plus que de leur origine génétique (Thompson et Holmes, 2009). Chez le porc, la composition du microbiote fécal et du microbiote de la muqueuse iléale est influencée par le mode d'élevage (plein air vs en bâtiment vs en isolateur avec traitement antibiotique). Dans ces conditions, ces différences de composition du microbiote perdurent jusqu'à la fin de l'expérience (56 jours d'âge) (Mulder *et al.*, 2009).

Chez l'homme, il a été montré que la voie de naissance (par césarienne ou par voie basse), le type d'allaitement (lait maternel vs lait maternisé) ou l'utilisation d'antibiotique influencent la composition initiale du microbiote (Penders *et al.*, 2006). Par contre, la pérennité de cette composition initiale sur la composition finale du microbiote chez l'adulte n'est pas démontrée.

#### 4.2. Influence de la nutrition

L'aliment est un facteur essentiel influençant l'équilibre des populations microbiennes du tube digestif. Il conditionne la fourniture de nutriments et d'énergie à l'écosystème. Au cours de la biodégradation de l'aliment, il agit sur les paramètres physicochimiques du milieu tel que le pH, le potentiel redox, les concentrations en métabolites, la taille et la densité des particules. En retour, ces paramètres conditionnent l'équilibre des communautés microbiennes (Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007). Bien que l'impact de l'alimentation sur le microbiote et notamment l'apport en fibres ait fait l'objet de nombreux travaux (Gidenne *et al.*, 2008), celui-ci reste mal connu en raison des limites des techniques traditionnelles de la microbiologie. Dans la plupart des études seuls les grands groupes taxonomiques (Bennegadi *et al.*, 2003) ou fonctionnels (Boulaïrouf *et al.*, 1991) ont été pris en considération.

##### 4.2.1. Agir au moment du sevrage

Un allaitement des lapereaux en utilisant un lait de substitution à base de lait de vache induit une importante modification qualitative et quantitative du microbiote caecal entre 0 et 11 jours de vie avec une implantation plus rapide que chez les lapereaux nourris au lait de lapine (Fonty *et al.*, 1979). Cependant, dans cette expérimentation aucun des lapereaux nourris au lait de vache n'a survécu au-delà de 14 jours.

Chez le lapin, le sevrage alimentaire est progressif. En effet, la consommation d'aliment solide se met en place progressivement tandis qu'à partir de 17-18 jours d'âge la proportion de lait ingéré décroît (Gidenne et Lebas, 2006). Lorsque les lapereaux sont soumis à une alimentation lactée exclusive (sans accès à l'aliment solide) jusqu'au sevrage, le développement du caecum, les activités

pectinolytiques et xylanolytiques sont plus faibles et l'indice de biodiversité est plus faible à 30 jours que chez les lapereaux ayant accès à l'aliment. Néanmoins, ses différences s'estompent dès 37 jours (Combes *et al.*, 2008). Par ailleurs, l'ingestion de lait semble retarder la colonisation par les bactéries cellulolytiques sans affecter la population de colibacille (Padilha *et al.*, 1996; Padilha *et al.*, 1999). Le sevrage, c'est à dire le passage à l'alimentation solide, semble avoir un effet positif sur la maturation du caecum et du colon. Le sevrage précoce augmente le poids des organes et leur contenu (Gallois *et al.*, 2005), stimule l'activité fermentaire (Kovács *et al.*, 2008) et accélérerait la maturation du GALT (pour revue Carabaño *et al.*, 2010).

#### 4.2.2. Agir sur la quantité ingérée

La restriction alimentaire est un des moyens non-médicamenteux, les plus efficaces pour lutter contre les entéropathies non spécifiques (c'est-à-dire non liées à un pathogène avéré) du lapin (Gidenne *et al.*, 2003; Gidenne *et al.*, 2011). Cependant les mécanismes d'action restent à élucider (Martignon *et al.*, 2010a). La morphologie de la muqueuse intestinale, l'activité maltasique, l'activité fibrolytique, la concentration d'AGV et enfin la structure ou la diversité du microbiote caecal ne sont pas affectées par une réduction de 25% de l'ingérée alimentaire après sevrage (Gidenne et Feugier, 2009; Martignon *et al.*, 2010a). A l'inverse, Abecia *et al.* (2007b) montrent que la structure du microbiote caecal est influencée par le niveau d'ingestion des lapines selon qu'elles allaitent 5 ou 9 lapereaux.

#### 4.2.3. Agir sur la quantité et la qualité des fibres

Chez le lapin l'ingestion d'un aliment déficient en fibres se traduit par une fréquence plus élevée d'entéropathies (Gidenne *et al.*, 2004a; Gidenne *et al.*, 2010b). Une réduction du taux de fibres non digestibles entraîne :

- des altérations du profil fermentaire (diminution des AGV, forte hausse du propionate et diminution de l'acétate et du butyrate)
- une modification de l'activité enzymatique (baisse de l'activité de fibrolyse)
- une modification de la composition du microbiote (Michelland *et al.*, 2011). La structure de la communauté bactérienne du cæcum (composition et abondance relative des espèces) est modifiée (Michelland *et al.*, 2011) mais pas sa diversité (Rodriguez-Romero *et al.*, 2009; Michelland *et al.*, 2011). Les quantités des principales divisions bactériennes étudiées diminuent (Bennegadi *et al.*, 2003; Michelland *et al.*, 2011). Toutes ces modifications microbiennes et environnementales sont observables dès le deuxième jour après le changement d'aliment et persistent pendant toute la durée de ce nouveau régime (Michelland *et al.*, 2011). Ces résultats ont également montré que la communauté bactérienne du cæcum du lapin est capable de changement et d'adaptation rapides pour atteindre un

nouvel équilibre en réponse à une perturbation nutritionnelle (e.g. déficience en fibre).

La qualité des fibres est le facteur prépondérant. Ainsi, plusieurs études ont montré qu'un apport de fibres digestibles (pectines ou hémicelluloses) stimule l'activité fibrolytique et la production d'AGV dans le caecum (Gidenne *et al.*, 2010a). Les fibres les plus rapidement fermentescibles, tel que les pectines sont sans doute l'élément le plus déterminant pour l'activité microbienne caecale, ainsi que le montrent Garcia *et al.* (2002). De plus, plusieurs études ont montré l'effet favorable des fibres digestibles sur la santé digestive du lapereau (Perez *et al.*, 2000; Gidenne *et al.*, 2004b). L'inclusion de fibres dites "solubles" (critère NDSF), issues notamment de pulpe de betterave, diminue aussi la mortalité et modifierait favorablement la muqueuse intestinale. Par contre, l'influence du taux de NDSF sur la structure du microbiote caecal reste controversée (Gomez-Conde *et al.*, 2007; Gómez-Conde *et al.*, 2009). Dans ces travaux cependant, les animaux étaient soumis à une antibiothérapie dans l'eau de boisson (sulfate d'apramycine et tartrate de tylosine).

#### 4.2.4. Agir sur l'apport de protéines

La concentration en protéine de l'aliment et sa teneur en acides aminés ont un effet sur la santé digestive des lapins (pour revue Carabaño *et al.*, 2009; Gidenne *et al.*, 2010b). Ainsi la réduction du taux protéique (21% vs 18% : Chamorro *et al.*, 2007) ou la supplémentation en arginine (Chamorro *et al.*, 2010) réduit la mortalité et modifie le profil de la communauté bactérienne iléale et caecale (T-RFLP). Dans ces deux études, la fréquence de détection de certaines bactéries est également réduite.

#### 4.2.5. Agir sur la biodisponibilités des nutriments et les associations alimentaires

La biodisponibilité de certains nutriments est dépendante de la forme sous laquelle ce nutriment est apporté et les traitements technologiques qu'il aura subit mais également des aliments auxquels il est associé dans le bol alimentaire. Chez le poulet de chair, l'alimentation séquentielle consiste à nourrir les animaux avec deux aliments distribués en alternance, au sein de cycles de 24 à 48H. La somme des deux aliments fournis alternativement permet d'atteindre un équilibre nutritionnel semblable à celui d'un aliment complet utilisé en alimentation standard. Ce type d'alimentation modifierait la composition du microbiote vers une composition plus favorable (plus de lactobacille et moins de bactéries coliformes) (Gabriel *et al.*, 2006). A notre connaissance aucun travail sur l'alimentation séquentielle chez le lapin n'est disponible mais cette piste pourrait être envisagée dans le cadre de système de production alternatif.

#### 4.2.6. Action des prébiotiques

Un prébiotique est défini comme un « ingrédient alimentaire non digestible qui affecte positivement l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et/ou

l'activité d'une ou d'un nombre limité de bactéries intestinales » (Gibson et Roberfroid, 1995). Il s'agit le plus souvent d'hydrates de carbones à chaînes courtes (ou oligosaccharides) qui ne sont pas hydrolysés dans l'intestin grêle, et arrivent ainsi inchangés dans le caecum et le côlon. Les prébiotiques servent alors de substrat rapidement fermentescibles et conduisent à la production d'acide lactique et d'AGV, avec par exemple un effet bénéfique de production du butyrate sur la croissance des entérocytes. Trois modes d'action sont attribués aux prébiotiques : i) stimuler la croissance de bactéries bénéfiques à l'hôte ii) masquer par compétition les sites d'attachement des bactéries pathogènes à la muqueuse et iii) se lier aux bactéries pathogènes. Les deux prébiotiques les plus étudiés sont les fructo-oligosaccharides (FOS) et les manno-oligosaccharides (MOS). Les FOS stimuleraient la croissance des *Bifidobacteria* et des *Lactobacilli* qui sont considérées comme des bactéries bénéfiques à l'hôte (Gibson et Roberfroid, 1995; Kim *et al.*, 2011). Les MOS utilisés chez le poulet, le veau et le porc réduiraient le risque de colonisation du tube digestif par des microorganismes pathogènes par un mécanisme d'exclusion compétitive. En effet, le mannose se lie au fimbriae de type I qui correspond à un filament que beaucoup de bactéries utilisent pour

se lier aux cellules de l'hôte. Ainsi, chez le poulet supplémenté en MOS, les salmonelles se lient au mannose, ce qui réduit ainsi la densité de portage (Oyoyo *et al.*, 1989). En fonction de la dose utilisée, une supplémentation en FOS et MOS diminue les densités de *Clostridium perfringens* et de *Escherichia coli* chez le poulet (Kim *et al.*, 2011).

Par ailleurs, une supplémentation en MOS modifierait la structure de la communauté bactérienne des poulets (Corrigan *et al.*). Chez le lapin les études relatives à l'influence des prébiotiques concernent principalement les performances de production et l'activité fermentaire caecale mais les résultats sont contradictoires y compris pour un même type de prébiotique (pour revue Falcao-e-Cunha *et al.*, 2007). Selon Falcao-e-Cunhan (2007), cette absence de consensus est attribuée aux facteurs expérimentaux très variables entre les différentes études, mais également au fait que l'alimentation du lapin riche en fibre peut contenir des quantités significatives d'oligosaccharides. Récemment, un effet des MOS sur la structure de la muqueuse a été observé avec une augmentation de la taille des villosités iléales (Mourao *et al.*, 2006), tandis que l'inuline ne semble pas modifier les comptages des bactéries anaérobies et d'*Escherichia coli* (Bonai *et al.*, 2010).

**Tableau 2 : Principaux prébiotiques commercialisés (d'après Fonty et Chaucheyras-Durand, 2007)**

Prébiotique	Origine	Structure chimique	Type de liaison osidique	Degré de polymérisation
Inuline	Racines de chicorée	Glu-(Fru)n	$\beta(2,1)$	3 à 60 Moyenne 10
FOS	Hydrolyse de l'inuline de chicorée	Glu-(Fru)n et (Fru)n	$\beta(2,1)$	2 à 7 Moyenne 4,5
	Synthèse à partir de saccharose	Glu-(Fru)n		3 à 5 Moyenne 3,5
GOS	Synthèse à partir du lactose	Glu-(Gal)n	$\beta(1,4)$ $\beta(1,6)$	3 à 6 Moyenne 3
Lactulose	Isomérisation du lactose	Gal-Fru	$\beta(1,4)$	2
Oligosaccharides de soja	Soja	(Gal)n-Glu-Fru	$\beta(1,6)$ $\beta(1,2)$	3 à 4
MOS	Levure	(Man)n	$\alpha(1,4)$	-

Glu : glucose, Fru : fructose, Gal : Galactose, Man : Mannose, n : nombre d'unités d'ose liées

#### 4.2.7. Action des probiotiques

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants, utilisés comme additif alimentaire chez les animaux et chez l'Homme, capables de moduler les activités du microbiote digestif, dans le but d'améliorer la santé ou les performances de l'hôte. Ils sont constitués d'une ou plusieurs espèces de microorganismes vivants accompagnés ou non des résidus de culture (Tableau 3). Pour agir sur l'écosystème digestif caecal, le probiotique doit arriver vivant sur son site

d'action et donc survivre notamment à l'attaque acide de l'estomac du lapin ( $\text{pH} < 2$ ), c'est le cas des levures (Kimse *et al.*, 2008), de la plupart des bactéries lactiques et des spores du genre *Bacillus* (Tableau 3). Par ailleurs, en raison de l'effet barrière exercé par le microbiote, mais aussi des conditions écologiques qui ne sont pas optimales pour son maintien et sa croissance, un microorganisme probiotique ne peut pas s'implanter de manière durable dans le tube digestif. Pour se maintenir à un niveau stable, le

probiotique doit donc être distribué régulièrement.

Les effets biologiques des probiotiques sont en général fortement dépendants des souches de microorganismes utilisées, de leur capacité à maintenir une activité métabolique dans le milieu digestif et de leur concentration cellulaire (Fonty et Gouet, 1989). Chez le lapin, selon la revue bibliographique de Falcao-E-Cunha (2007), d'une manière globale, l'ajout de probiotique tend à améliorer les performances de croissance. Concernant l'action des probiotiques sur le microbiote, Amber *et al.*, (2004) montre que l'addition de *Lactobacillus acidophilus* augmente le nombre de bactéries cellulolytiques et diminue les bactéries uréolytiques. Par ailleurs, l'addition de levure (*Saccharomyces cerevisiae*) augmenterait la proportion de *Ruminococcus albus* (Gidenne *et al.*, 2006) diminue la mortalité mais ne modifie pas la structure de la communauté bactérienne (Kimse *et al.*, 2008).

**Tableau 3 : Principales espèces microbiennes utilisés comme probiotique (Fonty et Gouet, 1989)**

Genres	Espèces
<b>Bactéries</b>	
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. longum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. infantis</i> , <i>m</i> <i>B. bifidum</i> , <i>B. adolescentis</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>L. cremoris</i> , <i>L. lactis</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. thermophilus</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. Acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. bulgarus</i> , <i>Lgasseri</i> , <i>L. reuterii</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. sprogènes</i>
<i>Pedococcus</i>	<i>P. acidilactici</i>
<i>Bacillus</i>	<i>B. cereus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. clausii</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. laterosporus</i> , <i>B. meagaterium</i>
<b>Levures</b>	
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>S. cerevisiae subp</i> <i>boulevardii</i>

Les études réalisées *in vitro* et *in vivo* ont permis de comprendre les modes d'action des probiotiques (Fonty et Gouet, 1989). Certains probiotiques (bactéries lactiques) ont la capacité d'adhérer aux cellules épithéliales de l'hôte freinant ainsi une possible colonisation par les bactéries pathogènes. Les probiotiques sont également capables de produire des facteurs antimicrobiens (bactériocine), ou des métabolites (acide lactique) ou encore des enzymes créant des conditions écologiques plus favorables à la population autochtone. *In vitro*, il a été démontré que les probiotiques modèleraient l'immunité de l'hôte. Enfin, les probiotiques ont une action directe sur les conditions environnementales favorables à l'activité du microbiote (modification du pH, du redox etc...). Chez le lapin, l'addition de levure entraîne une

augmentation du redox sans modification du pH (Kimse *et al.*, 2008).

#### 4.2.8. Action des antibiotiques

Depuis l'interdiction de l'utilisation des antibiotiques en tant que promoteur de croissance (en 2006), ces derniers sont actuellement utilisés en thérapeutique uniquement et sur prescription vétérinaire. Plus que la présence de résidus dans les produits d'origine animale, deux risques plus importants existent. Le premier risque est que la présence d'antibiotiques dans le tube digestif de l'animal puisse sélectionner des bactéries résistantes, qui peuvent ensuite être transférées aux autres animaux du troupeau, à d'autres espèces animales et à l'Homme. Cette transmission peut être directe, s'il y a contact avec l'animal, ou indirecte si les bactéries résistantes sont disséminées dans l'environnement. Ce phénomène a notamment été mis en évidence par l'émergence de souches d'*E. coli* chez l'Homme résistantes à l'apramycine, alors que cet antibiotique n'est pas utilisé en médecine humaine (Barton, 2000). Le second risque est qu'une modification précoce (avant 8 semaines) du microbiote digestif, liée à l'utilisation d'antibiotiques, limite le processus de diversification du répertoire des anticorps (secrétés par le lymphocytes B ou sur les récepteurs des lymphocytes T) (voir figure 6). Cela a conduit les chercheurs en médecine humaine à formuler « l'hypothèse hygiéniste » (voir paragraphe 2.2.2). En conséquence, il semble important d'éviter toutes les pratiques qui limitent le développement du microbiote telle que l'exposition aux antibiotiques par voie directe ou indirecte (traitement des mères). Chez le lapin, l'effet des antibiotiques sur le microbiote est fonction de la matière active utilisée (Abecia *et al.*, 2007a). Ainsi l'administration de bacitracine (100 ppm), mais pas celle de tiamuline (100 ppm), diminue l'activité fermentaire de la femelle en lactation (Abecia *et al.*, 2007b). A l'inverse, les empreintes moléculaires réalisées (DGGE) sur les contenus caecaux montrent que la tiamuline, mais pas la bacitracine, modifie la structure de la communauté bactérienne. Chez le lapin après sevrage, l'administration de 100 ppm d'apramycine et de 120 ppm de tylosine réduit la mortalité mais diminue également la diversité du microbiote (Chamorro *et al.*, 2007). A l'inverse, un aliment médicamenteux contenant 500 mg/kg oxytétracycline et 50 mg/kg tiamuline ne modifie pas l'activité cellulosique et pectinasique bactérienne, ni les dénombrements de bactéries anaérobies strictes ou de *E. coli* du caecum (Bonai *et al.*, 2010).

#### 4.3 Influence de la génétique de l'hôte

Etudier l'influence de la génétique revient à se poser la question suivante : Y a-t-il un effet génétique sur l'implantation et/ou la composition finale du microbiote de l'hôte ? Chez l'homme, le microbiote des individus au sein des membres d'une même famille est plus proche qu'entre les individus de familles différentes (Zoetendal *et al.*, 2001). Cette

similarité peut résulter d'un effet génétique et/ou d'un environnement commun. En effet, l'étude de Abecia *et al.* (2007c), tendrait à montrer que l'influence de l'origine génétique intervient peu dans la colonisation caecale du microbiote du jeune lapereau, puisque la structure de la communauté de lapereaux adoptés est plus proche de celle de leur mère adoptive que de celle de leur mère biologique. De même, chez des porcs séparés de leur mère à la naissance et allaités artificiellement, des individus élevés dans le même parc ont plus de similitude entre eux qu'avec leurs frères élevés dans des parcs différents (Thompson *et al.*, 2008). A l'inverse chez la souris, la composition du microbiote de souris issue de lignée obèse (ob/ob) diffère de celle des lignées minces (ob/+) ou de la lignée sauvage (+/+) avec une augmentation du ratio *Firmicutes/Bacteroides* (Ley *et al.*, 2005). Le microbiote de vrais jumeaux (monozygotes) sont plus proches entre eux que ne le sont les microbiotes de faux jumeaux (dizygotes) (Steward *et al.*, 2005). Enfin, une plus grande similarité entre les microbiotes de souriceaux issus de mères sœurs est observée comparativement aux microbiotes de souriceaux issus de mères non apparentées (Hufeldt *et al.*, 2010). L'ensemble de ces 3 dernières observations tend à démontrer que si le transfert du microbiote d'une génération à l'autre se fait par contact entre ascendant et descendant, la génétique de l'hôte jouerait également un rôle.

### Perspectives et Conclusion

Le tractus digestif constitue un habitat privilégié pour une abondante population microbienne. Les récentes avancées technologiques en microbiologie moléculaire ont permis d'acquérir de nouvelles connaissances relatives à la composition du microbiote chez l'Homme et l'animal. Cependant, chez le lapin la connaissance de ces microorganismes est encore parcellaire. Chez l'homme, l'étude du métagénome (ensemble des gènes bactériens présents dans le microbiote digestif) a permis de définir trois groupes d'individus ou entérotypes qui permettent d'envisager des avancées intéressantes pour les actions prophylactiques ou thérapeutiques. Chez le lapin, une première étude de métagénomique fonctionnelle a permis de caractériser des enzymes cellulases produites par les bactéries caecales et non encore référencées (Feng *et al.*, 2007). L'outil d'analyse du métagénome chez le lapin pourrait apporter des réponses concernant les relations entre les fonctions du microbiote et les troubles digestifs. Dans ce cadre on peut également imaginer la mise au point de nouveaux probiotiques dans lesquels les fonctions clés indispensables au maintien de l'homéostasie auront été intégrées.

Les études menées jusqu'à présent semblent montrer une certaine plasticité de l'écosystème digestif chez le lapin. Les 3 hypothèses de modulation de l'écosystème présentées dans cette synthèse, que sont i) le pilotage de l'implantation au nid, ii) la

réorientation dans la période autour du sevrage et/ou iii) l'accélération de la maturation, sont des pistes de recherches qu'il convient d'étudier. Les leviers d'action sont multiples. Parmi ceux-ci, les modifications des pratiques d'élevage (âge au sevrage, accès précoce à l'alimentation), combiné à la voie nutritionnelle (quantité et qualité des fibres, prébiotique et probiotique) et génétique devrait apporter des solutions pour moduler la diversité spécifique et/ou fonctionnelle de l'écosystème. Par ailleurs, il semble important d'éviter toutes les pratiques qui limitent le développement du microbiote telle que l'exposition aux antibiotiques par voie directe ou indirecte (traitement des mères) afin de garantir un développement optimal du système immunitaire des lapereaux.

Cependant si l'objectif finalisé qui correspond à l'optimisation des services de l'écosystème à l'hôte en terme de santé et d'efficacité alimentaire est bien déterminé, force est de reconnaître que la diversité fonctionnelle ou spécifique du microbiote recherché (cible) n'est encore connue.

### Références

- ABECIA L., FONDEVILA M., BALCELLS J., EDWARDS J.E., NEWBOLD C.J., MCEWAN N.R. 2005. Molecular profiling of bacterial species in the rabbit caecum. *FEMS Microbiol. Lett.*, 244, 111-115.
- ABECIA L., FONDEVILA M., BALCELLS J., EDWARDS J.E., NEWBOLD C.J., MCEWAN N.R. 2007a. Effect of antibiotics on the bacterial population of the rabbit caecum. *FEMS Microbiol. Lett.*, 272, 144-153.
- ABECIA L., FONDEVILA M., BALCELLS J., LOBLEY G.E., MCEWAN N.R. 2007b. The effect of medicated diets and level of feeding on caecal microbiota of lactating rabbit does. *J. Appl. Microbiol.*, 103, 787 - 793.
- ABECIA L., FONDEVILA M., BALCELLS J., MCEWAN N.R. 2007c. The effect of lactating rabbit does on the development of the caecal microbial community in the pups they nurture. *J. Appl. Microbiol.*, 103, 557-564.
- ADJIRI D., BOUILLIER OUDOT M., LEBAS F., CANDAU M. 1992. Simulation *in vitro* des fermentations caecales du lapin en fermenteur à flux semi-continu. I. Rôle du prétraitement du substrat alimentaire. *Reprod Nutr Dev*, 32, 351-360.
- AMBER K.H., 2004. Effect of feeding diets containing yucca extract or probiotic on growth, digestibility, nitrogen balance and caecal microbial activity of growing new zealand white rabbits, In *Proc.: 8th World Rabbit Congress*, Becerril C., Pro A. (Eds.) Colegio de Postgraduados for WRSA, publ., Puebla, Mexico, 7-10 september.
- ARUMUGAM M., RAES J., PELLETIER E., LE PASLIER D., YAMADA T., MENDE D.R., FERNANDES G.R., TAP J., BRULS T., BATTO J.-M., BERTALAN M., BORRUEL N., CASELLAS F., FERNANDEZ L., GAUTIER L., HANSEN T., HATTORI M., HAYASHI T., KLEEREBEZEM M., KUROKAWA K., LECLERC M., LEVENEZ F., MANICHANH C., NIELSEN H.B., NIELSEN T., PONS N., POULAIN J., QIN J., SICHERITZ-PONTEN T., TIMS S., TORRENTS D., UGARTE E., ZOETENDAL E.G., WANG J., GUARNER F., PEDERSEN O., DE VOS W.M., BRUNAK S., DORE J., WEISSENBACH J., EHRLICH S.D., BORK P. 2011. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473, 174-180.
- BACKHED F., DING H., WANG T., HOOPER L.V., KOH G.Y., NAGY A., SEMENKOVICH C.F., GORDON J.I. 2004. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 15718-15723.
- BADIOLA I., PEREZ DE ROZAS A.M., ROCA M., CARABANO R., GOMEZ M., GARCIA J., BLAS C.D., 2004. Characterization of the microbial diversity of rabbit intestinal tract by restriction fragment length polymorphism, *Proceedings of the 8th World Rabbit Congress*, September 7-10, 2004, Pueblo, Mexico, pp.

746-751.

- BARTON M.D. 2000. Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. *Nutrition Research Reviews*, 13, 279-299.
- BELENGUER A., FONDEVILA M., BALCELLS J., ABECIA L., LACHICA M., CARRO M.D. 2011. Methanogenesis in rabbit caecum as affected by the fermentation pattern: in vitro and in vivo measurements. *World Rabbit Sci*, 19, 75-83.
- 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, 128-135.
- 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. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 5, 23-32.
- BERG D. 1996. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends in microbiology*, 4, 430-435.
- BERNALIER-DONADILLE A., 2004. Principales fonctions métaboliques de la flore intestinale de l'homme, In: Eurotext J.L. (Ed.), Flore microbienne intestinale. Physiologie et pathologie digestive, Montrouge, France.
- BOADI D., BENCHAAR C., CHIQUETTE J., MASSE D. 2004. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.*, 84, 319-335.
- BONAI A., SZENDRO Z., MATICS Z., FEBEL H., KAMETLER L., TORNYOS G., HORN P., KOVACS F., KOVACS M. 2010. Effect of inulin supplementation and age on growth performance and digestive physiological parameters in weaned rabbits. *World Rabbit Sci*, 18, 121-129.
- BOULAHROUF A., FONTY G., GOUET P. 1991. Establishment, counts and identification of the fibrolytic bacteria in the digestive tract of rabbit. Influence of feed cellulose content. *Current microb.*, 22, 1-25.
- CARABANO R., PIQUER J., MENOYO D., BADIOLA I., 2010. The digestive system of the rabbit, In: De Blas C., Wiseman J. (Eds.), Nutrition of the rabbit, CABI, pp. 1-18.
- CARABANO R., VILLAMIDE M.J., GARCIA J., NICODEMUS N., LORENTE A., CHAMORRO S., MENOYO D., GARCIA-REBOLLAR P., GARCIA-RUIZ A.I., DE BLAS J.C. 2009. New concepts and objectives for protein-amino acid nutrition in rabbits: a review. *World Rabbit Sci*, 17, 1-14.
- CASE R.J., BOUCHER Y., DAHLLOF I., HOLMSTROM C., DOOLITTLE W.F., KJELLEBERG S. 2007. Use of 16S rRNA and rpoB Genes as Molecular Markers for Microbial Ecology Studies. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73, 278-288.
- CHAMORRO S., DE BLAS C., GRANT G., BADIOLA I., MENOYO D., CARABANO R. 2010. Effect of dietary supplementation with glutamine and a combination of glutamine-arginine on intestinal health in twenty-five-day-old weaned rabbits. *J. Anim. Sci.*, 88, 170-180.
- CHAMORRO S., GOMEZ-CONDE M.S., PEREZ DE ROZAS A.M., CARABANO R., DE BLAS J.C. 2007. Effect on digestion and performance of dietary protein content and of increased substitution of lucerne hay with soya-bean protein concentrate in starter diets for young rabbits. *Animal*, 1, 651-659.
- COMBES S., CAUQUIL L., GIDENNE T., 2008. Impact of an exclusive milk vs milk and dry feed intake till weaning on intake, growth, and on the caecal biociversity and fibrolytic activity of the young rabbit, In Proc.: 9th World Rabbit Congress, Xiccato G. (Ed.) Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche, Brescia - Italy, publ., Verona, Italy, June 10-13, 607-611.
- COMBES S., MICHELLAND R.J., MONTEILS V., CAUQUIL L., SOULIE V., TRAN N.U., GIDENNE T., FORTUN-LAMOTHE L. 2011. Postnatal development of the rabbit caecal microbiota composition and activity. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 77, 680-689.
- CORRIGAN A., HORGAN K., CLIPSON N., MURPHY R.A. Effect of Dietary Supplementation with a *Saccharomyces cerevisiae* Mannan Oligosaccharide on the Bacterial Community Structure of Broiler Cecal Contents. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77, 6653-6662.
- CORTHER G., 2011. Bonnes bactéries et bonne santé. Quae ed. Versailles, pp. 128
- COUDERT P., LICOIS D., BESNARD J., 1988. Establishment of a specified pathogen free breeding colony (SPF) without hysterectomy and hand-rearing procedures., In Proc.: Proc. 4th Congress of WRSARSA, publ., Budapest, 10-14 october, 137-148.
- CURTIS T.P., SLOAN W.T. 2004. Prokaryotic diversity and its limits: microbial community structure in nature and implications for microbial ecology. *Curr. Opin. Microbiol.*, 7, 221-226.
- DENG W., XI D., MAO H., WANAPAT M. 2008. The use of molecular techniques based on ribosomal RNA and DNA for rumen microbial ecosystem studies: a review. *Mol. Biol. Rep.*, 35, 265-274.
- DUCLUZEAU R. 1969. Influence de l'espèce zoologique sur la microflore du tractus digestif. *Rev. Immuno.*, 33, 345-384.
- EMALDI O., CROCIANI F., MATTEUZZI D., PROTO V. 1978. A note on the total viable counts and selective enumeration of anaerobic bacteria in the caecal contents, soft and hard faeces of rabbit. *J. appl. Bacteriol.*, 46, 169-172.
- FALCAO-E-CUNHA L., CASTRO-SOLLA L., MAERTENS L., MAROUNEK M., PINHEIRO V., FREIRE J., MOURAO J.L. 2007. Alternatives to antibiotic growth promoters in rabbit feeding: A review. *World Rabbit Sci*, 15, 127-140.
- FENG Y., DUAN C.-J., PANG H., MO X.-C., WU C.-F., YU Y., HU Y.-L., WEI J., TANG J.-L., FENG J.-X. 2007. Cloning and identification of novel cellulase genes from uncultured microorganisms in rabbit cecum and characterization of the expressed cellulases. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 75, 319-328.
- FONTY G., CHAUCHEYRAS-DURAND F., 2007. Les écosystèmes digestifs. Lavoisier (Tec & Doc) ed. Paris, France, pp. 311
- FONTY G., GOUET P. 1989. Fibre-degradating microorganisms in the monogastric digestive tract. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 23, 91-107.
- FONTY G., GOUET P., RIOU Y. 1979. Effect of milk composition on the gastrointestinal microflora of the rabbit. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 19, 567-571.
- FORSYTHE S.J., PARKER D.S. 1985. Nitrogen metabolism by the microbial flora of the rabbit. *J. Appl. Bacteriology*, 58, 363-369.
- FORTUN-LAMOTHE L., BOULLIER S. 2007. A review on the interactions between gut microflora and digestive mucosal immunity. Possible ways to improve the health of rabbits. *Livest Sci*, 107, 1-18.
- FORTUN-LAMOTHE L., GIDENNE T. 2000. The effects of size of suckled litter on intake behaviour, performance and health status of young and reproducing rabbits. *Ann. Zootech.*, 49, 517-529.
- FRANZ R., SOLIVA C.R., KREUZER M., HUMMEL J., CLAUSS M. 2011. Methane output of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) and guinea pigs (*Cavia porcellus*) fed a hay-only diet: Implications for the scaling of methane production with body mass in non-ruminant mammalian herbivores. *Comp. Biochem. Physiol.*, A: Mol. Integr. Physiol., 158, 177-181.
- FROMIN N., HAMELIN J., TARNAWSKI S., ROESTI D., JOURDAIN-MISEREZ K., FORESTIER N., TEYSSIER-CUVELLE S., GILLET F., ARAGNO M., ROSSI P. 2002. Statistical analysis of denaturing gel electrophoresis (DGE) fingerprinting patterns. *Environ. Microbiol.*, 4, 634-643.
- GABRIEL I., MALLET S., LECONTE M., FORT G., NACIRI M. 2006. Effects of whole wheat feeding on the development of coccidial infection in broiler chickens until market-age. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 129, 279-303.
- GALLOIS M., GIDENNE T., FORTUN-LAMOTHE L., LE HUEROU-LURON I., LALLÈS J.P. 2005. An early stimulation of solid feed intake slightly influences the morphological gut maturation in the rabbit. *Reprod. Nutr. Develop.*, 45, 109-122.
- GARCIA A.I., DE BLAS J.C., CARABANO R. 2004. Effect of type of diet (casein-based or protein-free) and caecotrophy on ileal endogenous nitrogen and amino acid flow in rabbits. *Anim. Sci.*, 79, 231-240.
- GARCIA J., GIDENNE T., FALCAO E CUNHA L., DE BLAS C. 2002. Identification of the main factors that influence caecal fermentation traits in growing rabbits. *Animal Research*, 51, 165-173.
- GIBSON G., ROBERFROID M. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 125, 1401-1412.
- 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. *Brit J Nutr*, 67, 133-146.
- GIDENNE T., 1994. Estimation of volatile fatty acids and of their energetic supply in the rabbit caecum: effect of the dietary fibre level., In Proc.: VIème Journées de la Recherche Cunicole,

- ITAVI (Ed.) publ., Paris, 6 & 7 déc., 293-299.
- GIDENNE T., BENNEGADI-LAURENT N., BAYOURTHE C., MONTEILS V., FONTY G., 2006. Post-weaning maturation of rabbit caecal microbial communities: impact of live yeast intake., In Proc.: RRI-INRA conference, gut microbiology 2006, 5th biennial meeting, Aberdeen, 21-23 June. P.Louis H.J.F. (Ed.) publ., Aberdeen, Scotland, 21-23 June 2006.
- GIDENNE T., CARABANO R., GARCIA J., BLAS C.D., 2010a. Fiber digestion, In: De Blas C., Wiseman J. (Eds.), Nutrition of the rabbit, CABI, pp. 179-199.
- GIDENNE T., COMBES S., LICOIS D., CARABAÑO R., BADIOLA I., GARCIA J. 2008. Ecosystème caecal et nutrition du lapin : interactions avec la santé digestive. INRA Prod. Anim., 21, 239-250.
- GIDENNE T., FEUGIER A. 2009. Feed restriction strategy in the growing rabbit. 1. Impact on digestion, rate of passage and microbial activity. *Animal*, 3, 501-508.
- GIDENNE T., FEUGIER A., JEHL N., ARVEUX P., BOISOT P., BRIENS C., CORRENT E., FORTUNE H., MONTESSUY S., VERDELHAN S., 2003. A post-weaning quantitative feed restriction reduces the incidence of diarrhoea, without major impairment of growth performances: results of multi-site study., In Proc.: 10ème J. Rech. Cunicoles Fr., Bolet G. (Ed.) ITAVI publ., publ., Paris, France, 19-20 nov., 29-32.
- GIDENNE T., GARCIA J., LEBAS F., LICOIS D., 2010b. Nutrition and feeding strategy: interactions with pathology, In: De Blas C., Wiseman J. (Eds.), Nutrition of the rabbit, CABI, pp. 179-199.
- GIDENNE T., JEHL N., LAPANOUSE A., SEGURA M. 2004a. 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. *Brit J Nutr*, 92, 95-104.
- GIDENNE T., L F.-L., COMBES S. 2011. Feed intake limitation strategies for the growing rabbit: effect on feeding behaviour, welfare, performance, digestive physiology and health: a review. *Animal* in press.
- GIDENNE T., LEBAS F., 2006. Feeding behaviour in rabbits, In: Bels V. (Ed.), Feeding in domestic vertebrates. From structure to behaviour, CABI publishing, Wallingford, UK, pp. 179-209.
- GIDENNE T., LEBAS F., FORTUN-LAMOTHE L., 2010c. Feeding behaviour of rabbits, In: De Blas C., Wiseman J. (Eds.), Nutrition of the rabbit, CABI, pp. 233-252.
- GIDENNE T., MIRABITO L., JEHL N., PEREZ J.M., ARVEUX P., BOURDILLON A., BRIENS C., DUPERRAY J., CORRENT E. 2004b. Impact of replacing starch by digestible fibre, at two levels of lignocellulose, on digestion, growth and digestive health of the rabbit. *Anim. Sci.*, 78, 389-398.
- GIDENNE T., PINHEIRO V., FALCAO 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.
- GOMEZ-CONDE M.S., DE ROZAS A.P., BADIOLA I., PEREZ-ALBA L., DE BLAS C., CARABAÑO R., GARCIA J. 2009. Effect of neutral detergent soluble fibre on digestion, intestinal microbiota and performance in twenty five day old weaned rabbits. *Livest Sci*, 125, 192-198.
- GOMEZ-CONDE M.S., GARCIA J., CHAMORRO S., EIRAS P., REBOLLAR P.G., PEREZ DE ROZAS A., BADIOLA I., DE BLAS C., CARABANO R. 2007. Neutral detergent-soluble fiber improves gut barrier function in twenty-five-day-old weaned rabbits. *J. Anim Sci.*, 85, 3313-3321.
- GOUET P., FONTY G. 1973. Evolution de la microflore digestive du lapin holoxénique de la naissance au sevrage. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 13, 733-735.
- GOUET P., FONTY G. 1979. Changes in the digestive microflora of holoxenic rabbits from birth until adulthood. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 19, 553-566.
- GUARNER F., MALAGELADA J.-R. 2003. Gut flora in health and disease. *The Lancet*, 361, 512-519.
- HANSON N.B., LANNING D.K. 2008. Microbial induction of B and T cell areas in rabbit appendix. *Dev. Comp. Immunol.*, 32, 980-991.
- HECZKO U., ABE A., FINLAY B.B. 2000. Segmented filamentous bacteria prevent colonization of enteropathogenic *Escherichia coli* O103 in rabbits. *J. Infect. Dis.*, 181, 1027-1033.
- HUFELDT M.R., NIELSEN D.S., VOGENSEN F.K., MIDTVEDT T., HANSEN A.K. 2010. Family relationship of female breeders reduce the systematic inter-individual variation in the gut microbiota of inbred laboratory mice. *Laboratory Animals*, 44, 283-289.
- JARVIS G.N., STRÖMPL C., BURGESS D.M., SKILLMAN L.C., MOORE E.R.B., JOBLIN K.N. 2000. Isolation and identification of ruminal methanogens from grazing cattle. *Curr. Microbiol.*, 40, 327-332.
- JONES W.J., NAGLE D.P., WHITMAN W.B. 1987. Methanogens and the diversity of archaeobacteria. *Microbiol Rev.*, 51, 135-177.
- KIM G.B., SEO Y.M., KIM C.H., PAIK I.K. 2011. Effect of dietary prebiotic supplementation on the performance, intestinal microflora, and immune response of broilers. *Poult Sci*, 90, 75-82.
- KIMSE M., BAYOURTHE V., MONTEILS V., GIDENNE T., 2008. Live yeast stability in the digestive tract of the rabbit: relationship with digestion, growth and digestive health., In Proc.: 9th World Rabbit Congress, G. Xiccato A.T., S.D. Lukefahr (Ed.) Fond. Ini. Zooprofilattiche E Zoot. publ. Brescia Italy, publ., Verona, Italy, 10-13 June, 695-700.
- KIMSÉ M., MONTEILS V., BAYOURTHE C., GIDENNE T. 2009. A new method to measure the redox potential (Eh) in rabbit caecum: relationship with pH and fermentation pattern. *World Rabbit Sci*, 17, 63-70.
- KOVÁCS M., MILISITS G., SZENDRI Z., LUKÁCS H., BÓNAI A., PÓSA R., TORNYOS G., KOVÁCS F., HORN P., 2008. Effect of different weaning age (days 21, 28 and 35) on caecal microflora and fermentation in rabbits, 9th World Rabbit Congress, , Verona, Italy, pp. 701-704.
- KOVACS M., SZENDRŐ Z., MILISITS G., BIRO-NEMETH E., RADNAI I., POSA R., BONAI A., KOVACS F., HORN P. 2006. Effect of nursing method and faeces consumption on the development of bacitroides, lactobacillus and coliform flora in the caecum of the newborn rabbits. *Reprod. Nutr. Dev.*, 46, 205-210.
- KRIEG R., VAHJEN W., AWAD W., SYSEL M., KROEGER S., ZOCHER E., HULAN H.W., ARNDT G., ZENTEK J. 2009. Performance, digestive disorders and the intestinal microbiota in weaning rabbits are affected by a herbal feed additive. *World Rabbit Sci.*, 17, 87 - 95.
- KUŠAR D., AVGUŠTIN G. 2010. Molecular profiling and identification of methanogenic archaeal species from rabbit caecum. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 74, 623-630.
- LANNING D., ZHU X., ZHAI S.-K., KNIGHT K.L. 2000. Development of the antibody repertoire in rabbit: gut-associated lymphoid tissue, microbes, and selection. *Immunol. Rev.*, 175, 214-228.
- LELKES L., CHANG C. 1987. Microbial dysbiosis in rabbit mucoid enteropathy. *Lab. Anim. Sci*, 37, 757-764.
- LEY R.E., BACKHED F., TURNBAUGH P., LOZUPONE C.A., KNIGHT R.D., GORDON J.I. 2005. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 11070-11075.
- LEY R.E., TURNBAUGH P., KLEIN S., GORDON J.I. 2006. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444, 1022 - 1023.
- MACKIE R.I., SGHIR A., GASKINS H.R. 1999. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr*, 69, 1035S-1045.
- MAGE R.G., LANNING D., KNIGHT K.L. 2006. B cell and antibody repertoire development in rabbits: The requirement of gut-associated lymphoid tissues. *Dev. Comp. Immunol.*, 30, 137-153.
- MAROUNEK M., FIEVEZ V., MBANZAMIHIGO L., DEMEYER D., MAERTENS L. 1999. Age and incubation time effects on in vitro caecal fermentation pattern in rabbits before and after weaning. *Arch Anim Nutr*, 52, 195-201.
- MARTIGNON M.H., COMBES S., GIDENNE T. 2010a. Digestive physiology and hindgut bacterial community of the young rabbit (*Oryctolagus cuniculus*): Effects of age and short-term intake limitation. *Comp. Biochem. Physiol., A: Mol. Integr. Physiol.*, 156, 156-162.
- MARTIGNON M.H., REPERANT E., VALAT C., 2010b. Digestive response of young rabbits to an experimental reproduction of colibacillosis according to two feeding strategies., In Proc.: The Prato Conference on the Pathogenesis of Bacterial Diseases of Animalspubl., Monash Prato Campus, Prato, Italy, 6-9 October.
- MAZMANIAN S.K., LIU C.H., TZIANABOS A.O., KASPER D.L. 2005. An Immunomodulatory Molecule of Symbiotic Bacteria Directs

- Maturation of the Host Immune System. *Cell*, 122, 107-118.
- MICHELLAND R., COMBES S., MONTEILS V., CAUQUIL L., GIDENNE T., FORTUN-LAMOTHE L. 2011. Rapid adaptation of the bacterial community in the growing rabbit caecum after a change of dietary fibre supply. *Animal*, in press.
- MICHELLAND R.J., 2009. Caractérisation moléculaire des procaryotes et facteurs de variation des écosystèmes digestifs chez deux mammifères herbivores: approche comparée vache/lapin, Institut National Polytechnique de Toulouse, p. 362.
- MICHELLAND R.J., COMBES S., MONTEILS V., CAUQUIL L., GIDENNE T., FORTUN-LAMOTHE L. 2010a. Molecular analysis of the bacterial community in digestive tract of rabbit. *Anaerobe*, 16, 61-65.
- MICHELLAND R.J., MONTEILS V., COMBES S., CAUQUIL L., GIDENNE T., FORTUN-LAMOTHE L. 2010b. Comparison of the archaeal community in the fermentative compartment and faeces of the cow and the rabbit. *Anaerobe*, 16, 396-401.
- MONCOMBLE A.S., QUENNEDEY B., COUREAUD G., LANGLOIS D., PERRIER G., SCHAAL B., 2004. Newborn rabbit attraction toward maternal faecal pellets, In Proc.: International Society for Developmental Psychobiology, 37th annual meeting, Barr G. (Ed.) Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, publ., Aix-en-Provence, France, 277.
- MONTEILS V., CAUQUIL L., COMBES S., GODON J.-J., GIDENNE T. 2008. Potential core species and satellite species in the bacterial community within the rabbit caecum. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 66, 620-629.
- MOURAO J.L., PINHEIRO V., ALVES A., GUEDES C.M., PINTO L., SAAVEDRA M.J., SPRING P., KOCHER A. 2006. Effect of mannan oligosaccharides on the performance, intestinal morphology and cecal fermentation of fattening rabbits. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 126, 107-120.
- MULDER I., SCHMIDT B., STOKES C., LEWIS M., BAILEY M., AMINOV R., PROSSER J., GILL B., PLUSKE J., MAYER C.-D., MUSK C., KELLY D. 2009. Environmentally-acquired bacteria influence microbial diversity and natural innate immune responses at gut surfaces. *BMC Biol.*, 7, 79.
- OKADA H., KUHN C., FEILLET H., BACH J.F. 2010. The 'hygiene hypothesis' for autoimmune and allergic diseases: an update. *Clin. Exp. Immunol.*, 160, 1-9.
- OYOFO B., DELOACH J., CORRIER D., NORMAN J., ZIPRIN R., MOLLENHAUER H. 1989. Prevention of Salmonella typhimurium colonization of broilers with D-mannose. *Poult Sci.*, 68, 1357-1360.
- PADILHA M.T.S., LICOIS D., COUDERT P., 1996. Frequency of the carriage and enumeration of Escherichia coli in caecal content of 15 to 49 day old rabbits, In Proc.: 6th World Rabbit Congresspubl., Toulouse, France, July 09-12, 99-102.
- PADILHA M.T.S., LICOIS D., GIDENNE T., CARRE B. 1999. Caecal microflora and fermentation pattern in exclusively milk-fed young rabbits. *Reprod Nutr Dev*, 39, 223-230.
- PADILHA M.T.S., LICOIS D., GIDENNE T., CARRE B., FONTY G. 1995. Relationships between microflora and caecal fermentation in rabbits before and after weaning. *Reprod Nutr Dev*, 35, 375-386.
- PENDERS J., THUIS C., VINK C., STELMA F.F., SNIJDERS B., KUMMELING I., VAN DEN BRANDT P.A., STOBBERINGH E.E. 2006. Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy. *Pediatrics*, 118, 511-521.
- PEREZ J.M., GIDENNE T., BOUVAREL L., ARVEUX P., BOURDILLON A., BRIENS C., LE NAOUR J., MESSEGER 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, 369-377.
- PIATTONI F., MAERTENS L., DEMEYER D. 1996. In vitro study of the age-dependent caecal fermentation pattern and methanogenesis in young rabbits. *Reprod Nutr Dev*, 36, 253-261.
- RHEE K.-J., SETHUPATHI P., DRIKS A., LANNING D.K., KNIGHT K.L. 2004. Role of Commensal Bacteria in Development of Gut-Associated Lymphoid Tissues and Preimmune Antibody Repertoire. *J Immunol*, 172, 1118-1124.
- RODRIGUEZ-ROMERO N., ABECIA L., BALCELLS J., MARTINEZ B., FONDEVILA M., 2009. Comparison of bacterial profile from caecal content and caecotrophes in growing rabbits fed on two levels of indigestible fibre, In Proc.: XXXIX Jornadas de Estudio, XIII Jornadas sobre Produccion Animal, Zaragoza, Espana, 12 y 13 de mayo de 2009.publ. 784-786.
- SEVERSON K.M., MALLOZZI M., DRIKS A., KNIGHT K.L. 2010. B Cell Development in GALT: Role of Bacterial Superantigen-Like Molecules. *The Journal of Immunology*, 184, 6782-6789.
- STAPPENBECK T.S., HOOPER L.V., GORDON J.I. 2002. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99, 15451-15455.
- STEWART J.A., CHADWICK V.S., MURRAY A. 2005. Investigations into the influence of host genetics on the predominant eubacteria in the faecal microflora of children. *J Med Microbiol*, 54, 1239-1242.
- SUAU A., BONNET R., SUTREN M., GODON J.-J., GIBSON G.R., COLLINS M.D., DORE J. 1999. Direct Analysis of Genes Encoding 16S rRNA from Complex Communities Reveals Many Novel Molecular Species within the Human Gut. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 4799-4807.
- THOMPSON C.L., HOLMES A.J. 2009. A window of environmental dependence is evident in multiple phylogenetically distinct subgroups in the faecal community of piglets. *FEMS Microbiol. Lett.*, 290, 91-97.
- THOMPSON C.L., WANG B., HOLMES A.J. 2008. The immediate environment during postnatal development has long-term impact on gut community structure in pigs. *ISME J*, 2, 739-748.
- TURNBAUGH P.J., HAMADY M., YATSUNENKO T., CANTAREL B.L., DUNCAN A., LEY R.E., SOGIN M.L., JONES W.J., ROE B.A., AFFOURTIT J.P., EGHOLM M., HENRISSAT B., HEATH A.C., KNIGHT R., GORDON J.I. 2009. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, 457, 480-484.
- TURNBAUGH P.J., LEY R.E., MAHOWALD M.A., MAGRINI V., MARDIS E.R., GORDON J.I. 2006. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444, 1027-1131.
- VANHOUTTE T., HUYS G., DE BRANDT E., SWINGS J. 2004. Temporal stability analysis of the microbiota in human feces by denaturing gradient gel electrophoresis using universal and group specific 16S rRNA primers. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 48, 437-446.
- VERMOREL M. 1995. Emissions annuelles de méthane d'origine digestive par les bovins en France. Variations selon le type d'animal et le niveau de production. *INRA Prod. Anim.*, 8, 265-272.
- VILLAMIDE M.J., NICODEMUS N., FRAGA M.J., CARABANO R., 2010. Protein digestion, In: De Blas C., Wiseman J. (Eds.), Nutrition of the rabbit, CAB, pp. 39-55.
- WIELEN P.W.J.J., KEUZENKAMP D.A., LIPMAN L.J.A., KNAPEN F., BIESTERVELD S. 2002. Spatial and Temporal Variation of the Intestinal Bacterial Community in Commercially Raised Broiler Chickens During Growth. *Microbial Ecology*, 44, 286-293.
- WRIGHT A.-D.G., AUCLAND C.H., LYNN D.H. 2007. Molecular Diversity of Methanogens in Feedlot Cattle from Ontario and Prince Edward Island, Canada. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73, 4206-4210.
- YANG H.J., CAO Y.C., ZHANG D.F. 2010. Caecal fermentation patterns in vitro of glucose, cellobiose, microcrystalline cellulose and NDF separated from alfalfa hay in the adult rabbit. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 162, 149-154.
- YU B., TSEN H.Y. 1993. Lactobacillus cells in the rabbit digestive tract and factors affecting their distribution. *J. Appl. Bact.*, 75, 269-275.
- ZOETENDAL E.G., AKKERMANS A.D.L., AKKERMANS VAN-VLIET W.M., DE VISSER J.A.G.M., DE VOS W.M. 2001. The host genotype affects the bacterial community in the human gastrointestinal tract. *Microbiol Ecol Health Dis* 13 129-134.
- ZOETENDAL E.G., AKKERMANS A.D.L., DE VOS W.M. 1998. Temperature Gradient Gel Electrophoresis Analysis of 16S rRNA from Human Fecal Samples Reveals Stable and Host-Specific Communities of Active Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 3854-3859.
- ZOETENDAL E.G., VON WRIGHT A., VILPPONEN-SALMELA T., BEN-AMOR K., AKKERMANS A.D.L., DE VOS W.M. 2002. Mucosa-Associated Bacteria in the Human Gastrointestinal Tract Are Uniformly Distributed along the Colon and Differ from the Community Recovered from Feces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 3401-3407.