

LA STRUCTURE DES OLIGOSACCHARIDES DU LAIT INFLUENCE LEUR DEGRADATION PAR LES BACTERIES INTESTINALES DU LAPIN

Rumeau M.^{1,2*}, Chadi S.², Pepke F.², Beaumont M.¹, Cauquil L.¹, Pascal G.¹, Langella P.², Knudsen C.¹, Combes S.¹, Martin R.²

¹ GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, 31326 Castanet Tolosan France.

² Micalis Institute, INRAE, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 78350 Jouy-en-Josas, France

*Auteur correspondant : mathilde.rumeau@inrae.fr

Résumé – Les oligosaccharides du lait de mammifères sont les premiers prébiotiques disponibles pour les nouveau-nés. Cependant, l'influence de leur structure sur leur dégradation par les bactéries intestinales n'est pas décrite. L'objectif de notre étude était d'évaluer *in vitro* la capacité des bactéries commensales cœcales des lapereaux allaités à métaboliser 3 oligosaccharides du lait de structures différentes, comparativement au glucose. Un isolement de bactéries anaérobies strictes a été réalisé à partir du contenu cœcal de 3 lapereaux âgés de 16 et 23 jours. Parmi les 149 isolats obtenus, 5 souches (*Bacteroides fragilis*, *NQMG_s*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Hungatella hathewayi* et *Phocaeicola dorei*) ont été cultivées en présence de lacto-N-tetraose, 2'-fucosyllactose et 6'-sialyllactose. Les métabolites issus de la dégradation des oligosaccharides du lait ont été mesurés par chromatographie en phase gazeuse et spectroscopie de résonance magnétique nucléaire ¹H. A l'exception de *H. hathewayi*, les 4 souches bactériennes cultivées ont la capacité d'utiliser les oligosaccharides du lait comme seule source de carbone, avec cependant un taux de croissance inférieur à celui observé en présence du glucose. Les biomasses bactériennes finales diffèrent selon le type d'oligosaccharide du lait. *B. fragilis* et *P. dorei* dégradent plus de 40% de la quantité des 3 oligosaccharides du lait. Une moindre dégradation du 6'-sialyllactose par rapport aux autres oligosaccharides du lait est en revanche observée chez *B. thetaiotaomicron* et *NQMG_s*, cette dernière consommant moins de 40% pour l'ensemble des structures d'oligosaccharides. Enfin la dégradation des oligosaccharides du lait entraîne une nette augmentation de la production de propionate, isobutyrate, isovalérate, 2-méthylbutyrate et 1,2-propanediol comparativement au glucose. La production de 1,2-propanediol était fortement augmentée après dégradation du 2'-fucosyllactose. Cette étude a permis de mettre en évidence la capacité de bactéries intestinales commensales du lapereau à dégrader diverses structures d'oligosaccharides du lait, avec des différences notables entre les structures. Ces résultats apportent les premiers éléments de caractérisation de ces molécules pour leur utilisation en tant que prébiotiques dans l'alimentation des lapereaux.

Abstract – The structure of milk oligosaccharides influences their degradation by rabbit intestinal bacteria. Mammalian milk oligosaccharides are the first prebiotics available to newborns. However, the influence of their structure on their degradation by intestinal bacteria has not been described. The aim of our study was to evaluate *in vitro* the ability of cecal commensal bacteria from suckling rabbits to metabolize 3 milk oligosaccharides of different structures, compared to glucose. Isolation of strict anaerobic bacteria was performed from the cecal contents of 3 rabbit pups of 16 or 23 days of age. Among the 149 isolates, 5 strains (*Bacteroides fragilis*, *NQMG_s*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Hungatella hathewayi* et *Phocaeicola dorei*) were cultivated in the presence of lacto-N-tetraose, 2'-fucosyllactose and 6'-sialyllactose. The metabolites resulting from oligosaccharides degradation were measured using gas chromatography and ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy. With the exception of *H. hathewayi*, the 4 bacterial strains cultivated were able to use milk oligosaccharides as their sole carbon source, although at a lower growth rate than observed in the presence of glucose. The final bacterial biomasses varied depending on the type of milk oligosaccharide. *B. fragilis* and *P. dorei* degraded more than 40% of all 3 milk oligosaccharides. In contrast, *B. thetaiotaomicron* and *NQMG_s* exhibited lower degradation of 6'-sialyllactose compared to the other milk oligosaccharides with *NQMG_s* showing consumptions rates below 40% for all structures. Finally, milk oligosaccharides degradation resulted in an increased production of propionate, isobutyrate, isovalerate, 2-methylbutyrate and 1,2-propanediol compared to glucose. Notably, 2'-fucosyllactose degradation led to a markedly increased production of 1,2-propanediol. This study highlights the ability of intestinal commensal bacteria from rabbit pups to degrade various milk oligosaccharide structures, with notable differences between structures. These findings provide a first insight into the potential use of these molecules as prebiotics in rabbit pup nutrition.

Introduction

En tant que première et unique source d'énergie pour les nouveau-nés, le lait fournit des nutriments essentiels ainsi que des composés bioactifs non nutritionnels, dont les oligosaccharides du lait (OLs). Troisième composés les plus abondants du lait humain, après le lactose et les lipides (Xu et al., 2017), les OLs ont été découverts dans le lait d'un grand nombre d'espèces de mammifères, avec d'importantes variations de concentration et de composition de structures (Urashima et al., 2001). Ces molécules sont un assemblage de plusieurs unités de 5 monosaccharides liés entre eux par divers types de liaisons glycosidiques. Face à cette complexité de structure il est d'usage de classer les OLs en 3 groupes : (i) neutres composés uniquement de glucose, galactose et N-acetylglucosamine ; (ii) fucosylés lorsqu'au moins un fucose est présent dans la molécule ; (iii) sialylés lorsqu'au moins un acide sialique est présent. Les OLs ne sont pas digérés par les enzymes de l'hôte (Engfer et al., 2000) et atteignent l'intestin intacte où l'adhésion des pathogènes s'en voit ainsi limitée, la barrière intestinale renforcée et la réponse immunitaire modulée (Coppa et al., 2006; Apostolidis et al., 2011). Les OLs sont également des prébiotiques, puisque dégradables par plusieurs espèces de bactéries considérées comme bénéfiques (LoCascio et al., 2009; Salli et al., 2021). Cette capacité de dégradation des OLs repose sur l'expression de glycoside hydrolases (GHs), enzymes catalysant la lyse des liaisons des OLs (Ioannou et al., 2021). Cette dégradation produit des métabolites tels que les acides gras à chaînes courtes (AGCCs), également bénéfiques pour la santé de l'hôte (den Besten et al., 2013). Des études semblent indiquer que les profils de dégradation bactérienne dépendent de la structure des OLs (Cheng et al., 2020).

Les OLs peuvent être une piste dans la prévention des troubles digestifs (Rashwan & Marai, 2000) autour du sevrage chez le lapin. La présente étude s'intéresse à la capacité métabolique des bactéries commensales intestinales du lapin à dégrader les OLs en fonction de leur structure.

1. Matériel et méthodes

1.1. Prélèvement des échantillons

Les contenus cœcaux de 3 lapereaux allaités (souche INRAE 1777, IE GenPhySE INRAE) de 16 (n = 1) et 23 (n = 2) jours d'âge ont été prélevés et transférés dans un dispositif de collecte du microbiote intestinal anaérobie GutAlive (Microviable therapeutics ; Oviedo, Espagne). Les échantillons ont été traités dans une chambre anaérobie ($N_2 = 90\%$, $CO_2 = 5\%$ et $H_2 = 5\%$) au laboratoire ProbiHôte de l'institut MICALIS (Jouy-en-Josas, France).

1.2. Isolement et identification des bactéries commensales intestinales

Les souches bactériennes ont été isolées dans 3 milieux commerciaux riches (RCM, GAM, BHIS) et 3 milieux

commerciaux sélectifs (MRS, BBE, LKV). Après dilution sériée, les échantillons cœcaux ont été distribués sur les 6 milieux solides à 37°C. Après 48h d'incubation, 10 colonies par milieu solide, de forme, couleur et taille variables, ont été sélectionnées et transférées dans les milieux liquides et incubées 24h à 37°C à deux reprises. Les souches ont été congelées à -80°C pour constituer une collection d'isolats. Un séquençage Sanger des gènes de l'ARNr 16S a été réalisé afin d'identifier les souches bactériennes. Les résultats du séquençage d'une moyenne de 1 000 paires de bases ont été assignés taxonomiquement grâce à l'outil ID blast 16S de la base de données EzBiocloud.

1.3. Dégradation des oligosaccharides du lait par les bactéries isolées

Après analyse de la base de données CAZy, cataloguant les enzymes impliquées dans le métabolisme des glucides, 5 souches ont été sélectionnées, possédant un répertoire de potentielles glycosides hydrolases permettant la dégradation spécifique des OLs, à savoir *Bacteroides fragilis*, *NQMG_s*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Hungatella hathewayi* et *Phocaeicola dorei*. Les souches ont été inoculées dans un milieu semi-défini (YCFAm) supplémenté avec 0.5 % (5 mg/ml) d'un OL représentatif d'un des trois types, i.e., Lacto-N-tetraose (LNT) pour les OLs neutres, 2'-fucosyllactose (2'-FL) pour les OLs fucosylés et 6'-sialyllactose (6'-SL) pour les OLs sialylés (Inbiose ; Zwijnaarde, Belgique) comme unique source de carbone utilisable pour la croissance. La variabilité de la biomasse bactérienne a été évaluée par spectrophotométrie en mesurant la densité optique (DO_{600nm}) tout au long de la dégradation (0 à 48h). Le milieu supplémenté avec 0,5% de glucose a été utilisé comme contrôle positif et le milieu sans glucide ni OL comme contrôle négatif pour s'assurer que les bactéries ne poussent pas avec les seuls constituants du milieu.

1.4. Analyse des métabolites produits après dégradation des oligosaccharides du lait

Au cours de la phase stationnaire de croissance, le surnageant de culture a été prélevé afin de mesurer la production de métabolites. La concentration en AGCCs a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse. Le métabolome a été analysé par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire ^1H (^1H -RMN).

1.5. Analyse des données

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel R (version 4.3.2). Les mesures de croissance ont été analysées avec le package Growthcurver (Sprouffske & Wagner, 2016) et les données de RMN avec le package ASICS (Lefort et al., 2019). Les analyses statistiques ont été réalisées avec le test de Kruskal-Wallis, suivi d'une comparaison par paire post-hoc avec le test de Dunn afin d'évaluer les différences entre les groupes d'OLs.

2. Résultats et discussion

2.1. Constitution d'une collection de souches bactériennes isolées du cæcum de lapereaux

Une collection de 149 isolats bactériens a été constituée à partir du cæcum de lapereaux allaités. Les souches appartenaient majoritairement aux familles *Bacteroidaceae* (48%), *Enterobacteriaceae* (36%) et *Enterococcaceae* (13%) (Figure 1). La dominance de *Bacteroidaceae* est cohérente avec la dominance de ce genre dans le microbiote cæcal des lapereaux allaités (Paës et al., 2022).

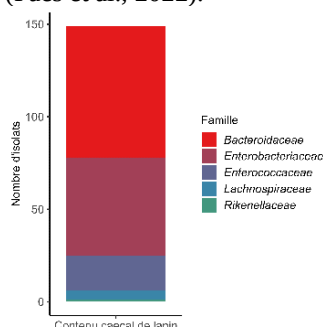


Figure 1 : Nombre de souches par familles bactériennes isolées du cæcum de lapereaux allaités

2.2. La croissance bactérienne dépend de la structure des oligosaccharides du lait

Les 5 souches bactériennes sélectionnées dégradent le glucose. Comme observé précédemment (Marcobal et al., 2010; Yu et al., 2013; Salli et al., 2021), les espèces de *Bacteroides* et *Phocaeicola* (anciennement *Bacteroides* (García-López et al., 2019)) montrent une croissance notable avec les OLs. En revanche, *H. hathewayi* ne croît pas avec les OLs, indépendamment de leur structure. La croissance de *Bacteroides* et *Phocaeicola* avec le glucose est globalement plus rapide qu'avec les OLs, comme l'indiquent les valeurs de temps de génération, temps moyen entre deux générations bactériennes (Tableau 1 ; Figure 2). Le taux de croissance est cependant variable entre les OLs. Les temps de génération de *B. fragilis* sont similaires entre les 3 OLs et avec le glucose. *NQMG_s* et *P. dorei* ont une croissance plus lente lors de la dégradation du 2'-FL par rapport au 6'-SL et au LNT, le temps de génération étant particulièrement élevé pour *NQMG_s*. Pour *B. thetaiotaomicron* la croissance est ralentie avec le 6'-SL comparativement aux autres OLs et au glucose. Il est probable que la croissance soit plus lente avec les OLs par rapport au glucose en raison du temps nécessaire pour hydrolyser les liaisons des OLs. En revanche, comparativement au glucose, la biomasse bactérienne est plus élevée en présence des OLs (Tableau 1) à l'exception de *NQMG_s* en présence de 6'-SL. On note toutefois une différence entre les OLs. En particulier, la biomasse maximale est plus élevée lors de la dégradation du 2'-FL par rapport au LNT et au 6'-SL pour les 4 souches métabolisant les OLs. *B. fragilis* atteint une biomasse maximale importante avec les 3 structures d'OLs, ce qui est cohérent avec les

résultats obtenus par Marcobal et al., (2010) qui ont montré que *B. fragilis* possède un fort taux de consommation de 14 structures d'OLs. Aussi, malgré une croissance plus lente avec le 2'-FL, la plus forte biomasse maximale de *NQMG_s* est atteinte avec cet OL. La croissance maximale de *B. thetaiotaomicron* est également atteinte avec le 2'-FL mais la croissance de cette souche est modérée avec le 6'-SL ce qui s'oppose aux résultats de Chia et al., (2020) qui montrent une utilisation efficace de 6'-SL par cette bactérie. La dégradation des OLs par *P. dorei* conduit à des biomasses importantes pour les 3 structures, ce qui a déjà été observé par Kijner et al., (2022). En conclusion, bien que la dégradation du glucose soit plus rapide, la biomasse est supérieure avec les OLs, particulièrement avec le 2'-FL (Figure 2).

Tableau 1 : Métriques associées à la croissance des bactéries avec différentes sources de carbone

Bactérie	Traitement	Temps de génération (h)	Biomasse Max DO _{600nm}
<i>B. fragilis</i>	Glucose	1,58	1,03
	LNT	2,22	1,6
	2'-FL	2,15	1,9
	6'-SL	1,86	1,4
<i>NQMG_s</i>	Glucose	0,95	0,75
	LNT	5,26	1
	2'-FL	11,7	1,4
	6'-SL	2,24	0,53
<i>B. thetaiotaomicron</i>	Glucose	1,27	0,65
	LNT	2,32	1,3
	2'-FL	3,78	2,1
	6'-SL	8,68	0,96
<i>P. dorei</i>	Glucose	2,33	0,85
	LNT	4,48	1,6
	2'-FL	5,55	2,1
	6'-SL	4,37	1,6

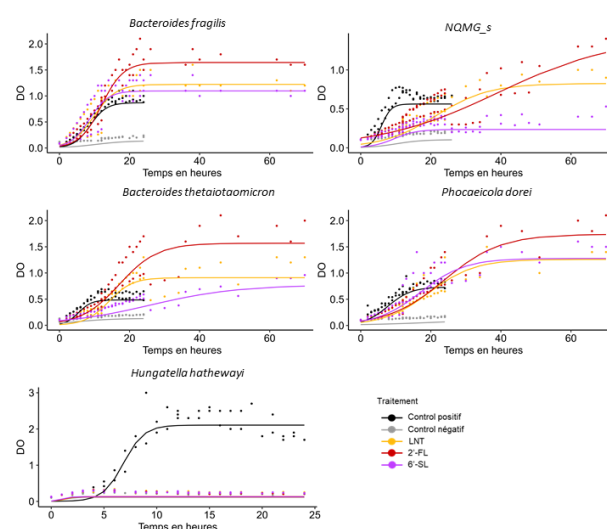


Figure 2 : Courbes de croissance des bactéries cultivées dans le milieu YCFAM supplémenté avec 0,5% de glucose, LNT, 2'-FL ou 6'-SL. Les données ont été normalisées par rapport aux milieux sans bactéries. Les points représentent la DO_{600nm} mesurée pour chaque réplicat (n = 2 ou 3 par bactérie et source de carbone), les lignes représentent les valeurs prédites à partir du modèle de régression logistique.

2.3. La consommation des oligosaccharides du lait varie en fonction de leur structure

En accord avec les courbes de croissance, la quantité d'OLs est réduite dans le surnageant de culture pour l'ensemble des OLs (Figure 3). *B. fragilis* est particulièrement efficace dans la dégradation des 3 OLs (61% LNT, 48% 2'-FL et 41% 6'-SL). *NQMG_s* est la moins efficace dans la consommation des OLs, en particulier de 6'-SL (5%). La consommation du 6'-SL par *B. thetaiotaomicron* est également faible (19%), contrairement à Chia et al., (2020) qui constatent une consommation de 6'-SL supérieure à 50%. Cependant, l'étude de Chia et al., (2020) s'intéresse à la dégradation d'un mélange de plusieurs OLs et la souche de *B. thetaiotaomicron* n'est pas la même, ce qui pourrait expliquer ces différences. A l'inverse, *P. dorei* affiche une préférence pour le 6'-SL (79%) par rapport au 2'-FL (63%) et au LNT (57%), dont les valeurs de consommation restent tout de même très élevées. Cette efficacité d'hydrolyse des OLs par les *Bacteroides* a déjà été démontrée *in vitro* (Yu et al., 2013; Chia et al., 2020; Salli et al., 2021; Kijner et al., 2022) et est attendue puisque ces espèces contiennent dans leur génome des loci d'utilisation de polysaccharides (PULs) adaptés à la dégradation des oligosaccharides des mucines, qui possèdent des structures similaires aux OLs (Marcobal et al., 2011).

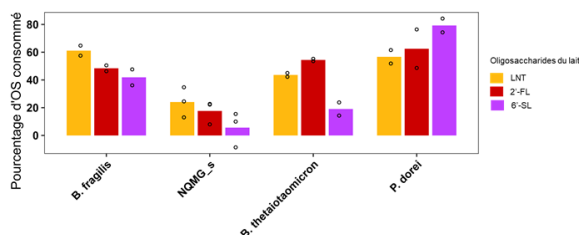


Figure 3 : Pourcentage d'OLs consommés après croissance dans le milieu YCFAM supplémenté avec 0,5% d'OLs. Les concentrations d'OLs ont été mesurées par RMN et normalisées en soustrayant la concentration avant inoculation (temps 0) à la concentration des échantillons. Les résultats sont représentés par rapport aux valeurs dans le milieu non inoculé. Les histogrammes représentent les valeurs moyennes et les points représentent les valeurs de chaque réplicats (n = 2 ou 3 par bactérie et source de carbone).

2.4. La production de métabolites par les bactéries intestinales est influencée par la structure des oligosaccharides du lait

Pour les 4 bactéries capables de dégrader les OLs, la dégradation des OLs a pour conséquence une production de propionate numériquement plus élevée qu'en présence du glucose (Figure 4). C'est également le cas pour les acides gras à chaînes ramifiées, isovalérate et 2-méthylbutyrate dont la production s'explique par la dégradation des acides aminés à chaînes ramifiées, valine, leucine et isoleucine (Ríos-Covián et al., 2016), présents dans le milieu YCFAM avant inoculation mais dont la concentration est réduite après dégradation des OLs (données non présentées). Il convient de noter la production significative d'isobutyrate et 1,2-propanediol par toutes les bactéries

uniquement après dégradation de 2'-FL ($p < 0.05$). Le 1,2-propanediol a déjà été associé au métabolisme du fucose dans des espèces de *Bifidobacterium* (Bunesova et al., 2016; Schwab et al., 2017; James et al., 2019). Il s'agit d'un métabolite intermédiaire de la production de propionate (Louis & Flint, 2017), bien que Saxena et al., (2010) suggèrent que le 1,2-propanediol est un produit final du métabolisme des *Bacteroides*.

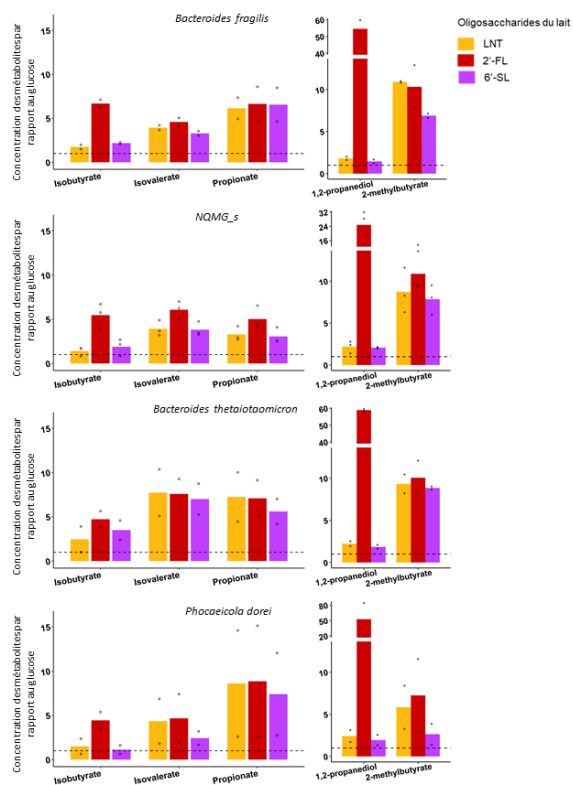


Figure 4 : Production de métabolites par les souches bactériennes après dégradation des OLs. Les données ont été normalisées en soustrayant la concentration avant inoculation (temps 0) à la concentration des échantillons. Les résultats sont représentés par rapport aux valeurs après dégradation du glucose. Les histogrammes représentent les valeurs moyennes et les points représentent les valeurs de chaque réplicats (n = 2 ou 3 par bactérie et source de carbone).

Conclusions

La mise en place de méthodes préventives en élevage cynicole visant à réduire les troubles digestifs autour du sevrage est une priorité. Les OLs ont montré des rôles bénéfiques sur la santé à court et long terme des nouveau-nés de certaines espèces mammifères. Un des mécanismes clés repose sur la modulation du microbiote intestinal, favorisant l'installation de bactéries considérées comme bénéfiques pour la santé telles que les *Bacteroides*. Une supplémentation en OLs permettrait de moduler positivement le microbiote des lapereaux en amont du sevrage, à condition de choisir des OLs utilisables par le microbiote des lapereaux. Nous avons montré que des espèces commensales intestinales du lapereau métabolisent les OLs et le profil de dégradation semble dépendre de la structure de ces molécules. Afin de caractériser les

mécanismes impliqués dans la dégradation des OLs, un séquençage du génome complet des bactéries étudiées est en cours. Nos résultats suggèrent enfin que la dégradation des OLs par certaines *Bacteroides* et *Phocaeicola* entraîne une production accrue de certains métabolites. L'étude des effets de ces métabolites sur la fonction de barrière intestinale des lapereaux est en cours et permettra de mieux comprendre le rôle des OLs sur la santé.

Remerciements

Ces travaux de recherche ont été soutenus par l'ANR HoloOLIGO. Nous remercions l'ensemble du personnel de l'unité expérimentale de GenPhySE pour le soin apporté aux animaux et l'institut de recherche MICALIS pour leur expertise en microbiologie.

Références

- Apostolidis E., Kwon Y., Shinde R., Ghaedian R., Shetty K. 2011. Inhibition of *Helicobacter pylori* by Fermented Milk and Soymilk Using Select Lactic Acid Bacteria and Link to Enrichment of Lactic Acid and Phenolic Content. *Food Biotechnology* 25: 58–76.
- den Besten G., van Eunen K., Groen A. K., Venema K., Reijngoud D.-J., Bakker B. M. 2013. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of Lipid Research* 54: 2325–2340.
- Bunesova V., Lacroix C., Schwab C. 2016. Fucosyllactose and L-fucose utilization of infant *Bifidobacterium longum* and *Bifidobacterium kashiwanohense*. *BMC Microbiol* 16: 248.
- Cheng L., Kiewiet M., Logtenberg M., Groeneveld A., Nauta A., Schols H., Walvoort M., Harmsen H., de Vos P. 2020. Effects of Different Human Milk Oligosaccharides on Growth of *Bifidobacteria* in Monoculture and Co-culture With *Faecalibacterium prausnitzii*. *Frontiers in Microbiology* 11.
- Chia L. W., Mank M., Blijenberg B., Aalvink S., Bongers R. S., Stahl B., Knol J., Belzer C. 2020. *Bacteroides thetaiotaomicron* Fosters the Growth of Butyrate-Producing *Anaerostipes caccae* in the Presence of Lactose and Total Human Milk Carbohydrates. *Microorganisms* 8: 1513.
- Coppa G. V., Zampini L., Galeazzi T., Facinelli B., Ferrante L., Capretti R., Orazio G. 2006. Human Milk Oligosaccharides Inhibit the Adhesion of *Caco-2* Cells of Diarrheal Pathogens: *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, and *Salmonella typhi*. *Pediatr Res* 59: 377–382.
- Engfer M. B., Stahl B., Finke B., Sawatzki G., Daniel H. 2000. Human milk oligosaccharides are resistant to enzymatic hydrolysis in the upper gastrointestinal tract. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71: 1589–1596.
- García-López M., Meier-Kolthoff J. P., Tindall B. J., Gronow S., Woyke T., Kyrpides N. C., Hahnke R. L., Göker M. 2019. Analysis of 1,000 Type-Strain Genomes Improves Taxonomic Classification of *Bacteroidetes*. *Front Microbiol* 10: 2083.
- Ioannou A., Knol J., Belzer C. 2021. Microbial Glycoside Hydrolases in the First Year of Life: An Analysis Review on Their Presence and Importance in Infant Gut. *Front. Microbiol.* 12: 631282.
- James K., Bottacini F., Contreras J. I. S., Vigoureux M., Egan M., Motherway M. O., Holmes E., van Sinderen D. 2019. Metabolism of the predominant human milk oligosaccharide fucosyllactose by an infant gut commensal. *Sci Rep* 9: 15427.
- Kijner S., Cher A., Yassour M. 2022. The Infant Gut Commensal *Bacteroides dorei* Presents a Generalized Transcriptional Response to Various Human Milk Oligosaccharides. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 12.
- Lefort G., Liaubet L., Canlet C., Tardivel P., Père M.-C., Quesnel H., Paris A., Iannuccelli N., Vialaneix N., Servien R. 2019. ASICS: an R package for a whole analysis workflow of 1D 1H NMR spectra. *Bioinformatics* 35: 4356–4363.
- LoCascio R. G., Niñonuevo M. R., Kronewitter S. R., Freeman S. L., German J. B., Lebrilla C. B., Mills D. A. 2009. A versatile and scalable strategy for glycoprofiling bifidobacterial consumption of human milk oligosaccharides. *Microbial Biotechnology* 2: 333–342.
- Louis P., Flint H. J. 2017. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environmental Microbiology* 19: 29–41.
- Marcobal A., Barboza M., Froehlich J. W., Block D. E., German J. B., Lebrilla C. B., Mills D. A. 2010. Consumption of Human Milk Oligosaccharides by Gut-Related Microbes. *J. Agric. Food Chem.* 58: 5334–5340.
- Marcobal A., Barboza M., Sonnenburg E. D., Pudlo N., Martens E. C., Desai P., Lebrilla C. B., Weimer B. C., Mills D. A., German J. B., Sonnenburg J. L. 2011. *Bacteroides* in the Infant Gut Consume Milk Oligosaccharides via Mucus-Utilization Pathways. *Cell Host & Microbe* 10: 507–514.
- Paës C., Gidenne T., Bébin K., Duperray J., Gohier C., Guené-Grand E., Rebours G., Barilly C., Gabinaud B., Cauquil L., Castinel A., Pascal G., Darbot V., Aymard P., Debrusse A.-M., Beaumont M., Combes S. 2022. Early Introduction of Plant Polysaccharides Drives the Establishment of Rabbit Gut Bacterial Ecosystems and the Acquisition of Microbial Functions. *mSystems* 7: e00243-22.
- Rashwan A. A., Marai I. F. M. 2000. Mortality in young rabbits: a review. *World Rabbit Science* 8: 111–124.
- Ríos-Covián D., Ruas-Madiedo P., Margolles A., Gueimonde M., de los Reyes-Gavilán C. G., Salazar N. 2016. Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health. *Front. Microbiol.* 7.
- Salli K., Hirvonen J., Siitonen J., Ahonen I., Anglenius H., Maukonen J. 2021. Selective Utilization of the Human Milk Oligosaccharides 2'-Fucosyllactose, 3-Fucosyllactose, and Difucosyllactose by Various Probiotic and Pathogenic Bacteria. *J. Agric. Food Chem.* 69: 170–182.
- Saxena R. K., Anand P., Saran S., Isar J., Agarwal L. 2010. Microbial production and applications of 1,2-propanediol. *Indian J Microbiol* 50: 2–11.
- Schwab C., Ruscheweyh H.-J., Bunesova V., Pham V. T., Beerenwinkel N., Lacroix C. 2017. Trophic Interactions of Infant *Bifidobacteria* and *Eubacterium hallii* during L-Fucose and Fucosyllactose Degradation. *Front Microbiol* 8: 95.
- Sprouffske K., Wagner A. 2016. Growthcurver: an R package for obtaining interpretable metrics from microbial growth curves. *BMC Bioinformatics* 17: 172.
- Urashima T., Saito T., Nakamura T., Messer M. 2001. Oligosaccharides of milk and colostrum in non-human mammals. *Glycoconjugate Journal* 18: 357–371.
- Xu G., Davis J. C., Goonatileke E., Smilowitz J. T., German J. B., Lebrilla C. B. 2017. Absolute Quantitation of Human Milk Oligosaccharides Reveals Phenotypic Variations during Lactation. *J. Nutr.* 147: 117–124.
- Yu Z.-T., Chen C., Newburg D. S. 2013. Utilization of major fucosylated and sialylated human milk oligosaccharides by isolated human gut microbes. *Glycobiology* 23: 1281–1292.