

# Effet de la supplémentation en chlorelle et spiruline sur les performances de croissance et la santé digestive du porcelet sevré

Hauteclaire FURBEYRE (1,2), Jaap VAN MILGEN (1), Mathieu GLOAGUEN (2), Thierry MENER (2), Etienne LABUSSIÈRE (1)

(1) INRA – Agrocampus Ouest, UMR 1348 PEGASE, Domaine de la Prise, 35590 Saint-Gilles, France

(2) Cooperl Arc Atlantique, 1, rue de la Gare, 22640 Plestan, France

[etienne.labussiere@rennes.inra.fr](mailto:etienne.labussiere@rennes.inra.fr)

Avec la collaboration technique de Maurice ALIX, Georges GUILLEMOIS, Yolande JAGUÉLIN-PEYRAUD, Jérôme LIGER, Alain MARCHAIS, Vincent PIEDVACHE, Henri RENOULT, Jean-François ROUAUD, Agnès STARCK, Patrick TOUANÉL (1).

## Effet de la supplémentation en chlorelle et spiruline sur les performances de croissance et la santé digestive du porcelet sevré

Les troubles digestifs liés au sevrage sont la cause d'une forte utilisation préventive de traitements médicamenteux pour maintenir la santé des animaux. Cette étude porte sur la supplémentation en microalgues chez le porcelet en alternative aux antibiotiques. Deux essais ont été conduits sur des porcelets sevrés à 28 jours. Le premier essai a impliqué 96 animaux affectés à l'un des quatre aliments suivants pendant 14 jours : un aliment standard (TN), supplémentation avec 0,02 % de colistine (TP) ou 1 % de spiruline (S-A) ou chlorelle (C-A) séchées par atomisation. Les animaux ont ensuite reçu un aliment standard jusqu'à 56 jours d'âge. Les performances de croissance n'étaient pas différentes entre les groupes ( $P > 0,10$ ) mais l'incidence des diarrhées a été réduite ( $P < 0,05$ ) chez les animaux du groupe C-A. La hauteur des villosités jéjunales a été augmentée chez les animaux des groupes C-A et S-A ( $P < 0,05$ ). Afin d'évaluer l'effet du broyage et de la lyophilisation des microalgues sur leur efficacité, un second essai a été réalisé sur 80 animaux recevant un aliment TN ou supplémentation avec 1 % de spiruline (S-) ou chlorelle (C-), atomisées (-A) ou broyées puis lyophilisées (-B). L'expérience a été conduite en conditions d'hygiène dégradées. La supplémentation en microalgues entraîne une réduction de la vitesse de croissance ( $P < 0,05$ ) mais n'a aucun effet sur l'incidence des diarrhées, le statut inflammatoire, la morphologie et la perméabilité intestinale ( $P > 0,10$ ). Le prétraitement de la biomasse algale tend à augmenter la hauteur des villosités et la profondeur des cryptes jéjunales ( $P < 0,05$ ). Ces résultats suggèrent un intérêt de la supplémentation en microalgues sur le développement de la muqueuse intestinale et la valorisation de cet effet par le prétraitement de la biomasse algale.

## Effects of chlorella and spirulina supplementation on growth performances and digestive health in the weaned piglet

Digestive troubles associated with weaning lead to high antibiotic use to maintain intestinal health. Dietary microalgae supplementation as an alternative to antibiotic use was studied. Two trials were conducted on weaning piglets (28 days of age). In the first trial, 96 piglets were allocated to four diets during 2 weeks after weaning: a standard diet with no supplementation (TN), supplemented with 0.02% of colistin (TP), or 1% of spirulina (S-A), or chlorella (C-A). Thereafter the animals received a standard diet until 56 days of age. Growth performance did not differ between groups ( $P > 0.10$ ), but diarrhea incidence was reduced in the C-A group ( $P < 0.05$ ). Jejunum villus height was increased in both C-A and S-A groups ( $P < 0.05$ ). To study the effect of bead-milling and freeze-drying of microalgae on the effectiveness of intracellular components, a second trial was conducted with 80 piglets allocated to five experimental diets: TN, or supplemented with 1% spirulina (S), or chlorella (C), spray-dried (-A), or bead-milled and freeze-dried (-B). This experiment was conducted in poor sanitary conditions. Average daily gain was reduced in supplemented groups compared with TN group ( $P < 0.05$ ) but no differences were observed on diarrhea incidence, inflammatory status, intestinal morphology or permeability ( $P > 0.10$ ). Supplementation with bead-milled and freeze-dried microalgae tended to increase villus height and crypt depth at jejunum site ( $P < 0.10$ ). These results show a potential for microalgae supplementation in intestinal development, especially with pretreated microalgae.

## INTRODUCTION

Le sevrage représente une étape critique en élevage porcin. Le passage d'une alimentation lactée à une alimentation solide et les modifications environnementales qui l'accompagnent peuvent provoquer des désordres intestinaux majeurs, renforcés par l'immaturité des systèmes digestif et immunitaire chez le porcelet (Lallès *et al.*, 2004). La fragilisation de la barrière intestinale du porcelet entraîne une susceptibilité à la colonisation par des organismes pathogènes, majoritairement de type *E. coli*. Les troubles digestifs associés sont la première cause de pertes économiques en post-sevrage, car ils entraînent une baisse des performances de croissance, voire de la mortalité et une forte utilisation de traitements médicamenteux. Dans le cadre de la réduction de l'utilisation des antibiotiques en élevage, de nombreux projets de recherche sont conduits afin d'évaluer des méthodes alternatives permettant de maintenir la santé des animaux. Les microalgues, bien que peu référencées en santé animale, ont montré un intérêt en santé humaine pour leurs diverses propriétés pharmacologiques. La chlorelle et la spiruline ont été largement étudiées pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et antivirales *in vivo* chez l'Homme et les rongeurs (Tanaka *et al.*, 1986 ; Pak *et al.*, 2012 ; Hoseini *et al.*, 2013) et *in vitro* (Mendiola *et al.*, 2007; Kitada *et al.*, 2009). L'étude vise à déterminer si la chlorelle et la spiruline pourraient représenter une alternative à l'utilisation d'antibiotiques au moment du sevrage. Deux essais ont été conduits sur des porcelets sevrés à 28 jours d'âge et recevant un régime supplémenté ou non en l'une des deux microalgues. L'application d'un prétraitement de la biomasse algale par broyage puis lyophilisation a également été étudiée afin de déterminer son intérêt pour améliorer l'efficacité des constituants intracellulaires.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Dispositif expérimental

Deux essais ont été conduits sur des porcelets croisés (Large White x Landrace) x Piétrain sevrés à 28 jours d'âge, logés en cages individuelles. Aucun traitement médicamenteux n'a été apporté aux mères et aux porcelets avant le sevrage. A 32 jours d'âge, la température ambiante a été abaissée de 28 à 22°C correspondant à la limite basse d'inconfort thermique (van Wagenberg *et al.*, 2005) à raison d'une diminution de 2°C toutes les heures et maintenue à 22°C pendant 4 heures consécutives avant un retour à 28°C, ce qui a favorisé l'apparition de troubles digestifs.

L'essai 1 a été conduit sur un effectif de 96 porcelets sevrés (poids vif (PV) de 9,0 ± 1,0 kg en début d'expérience) sur une période de 4 semaines après le sevrage. Les animaux ont été sélectionnés selon 12 blocs de quatre frères ou demi-frères et 12 blocs de quatre sœurs ou demi-sœurs de PV homogène, répartis intra-bloc entre quatre régimes expérimentaux durant les 2 premières semaines suivant le sevrage : un aliment standard premier âge (témoin négatif ; TN), supplémenté avec 1 % de chlorelle (C-A) ou 1 % de spiruline (S-A) séchées par atomisation, ou supplémenté en colistine à raison de 0,02 % (témoin positif ; TP). Tous les animaux ont ensuite reçu un aliment standard deuxième âge jusqu'à la fin de l'expérience.

L'essai 2 a été conduit pendant 2 semaines suivant le sevrage sur un effectif de 80 animaux (PV de 9,5 ± 0,9 kg) répartis selon

huit blocs de cinq frères ou demi-frères et huit blocs de cinq sœurs ou demi-sœurs de PV homogène affectés à cinq régimes expérimentaux : un aliment standard premier âge (TN), supplémenté avec 1 % de chlorelle séchée par atomisation (C-A) ou broyée puis lyophilisée (C-B) ou 1 % de spiruline séchée par atomisation (S-A) ou broyée puis lyophilisée (S-B). L'expérience a été réalisée dans des conditions d'hygiène dégradée telles que décrites par Le Floc'h *et al.* (2009) afin d'augmenter l'occurrence et la sévérité des troubles digestifs.

### 1.2. Mesures en cours d'expérience

Le PV des animaux a été mesuré dans les deux essais à 28 jours d'âge, puis chaque semaine jusqu'à la fin de l'expérience. L'ingestion rapportée à un aliment à 87 % de matière sèche (MS) a été mesurée quotidiennement. Les déjections ont été observées et un score attribué individuellement et quotidiennement selon une échelle de notation allant de 0 (fèces dures) à 4 (diarrhée aqueuse). Chaque jour et pour chaque individu, le score maximal atteint depuis le début de l'expérience a été calculé pour analyser la fréquence d'apparition des diarrhées selon leur niveau de sévérité. Une incidence a été calculée *a posteriori* pour chaque score et par régime, comme le nombre de recensements du score rapporté au nombre de recensements totaux pendant la période expérimentale.

### 1.3. Mesures à l'abattage

Respectivement pour les essais 1 et 2, six et huit porcs par lot ont été abattus par électroanesthésie puis exsanguination à 42 jours d'âge. Un prélèvement de sang a été réalisé à l'abattage, pour mesurer la concentration plasmatique en haptoglobine par dosage colorimétrique (Konélab 20i). Des échantillons de tissu intestinal ont été prélevés au niveau du jéjunum (milieu de l'intestin grêle) et de l'iléon (à 10 cm de la jonction iléo-caecale), fixés dans une solution de formol 4 %, déshydratés puis inclus en paraffine. Les coupes histologiques obtenues ont subi une coloration hématoxyline/éosine. La hauteur de 15 villosités et la profondeur de 15 cryptes ont été mesurées pour chaque échantillon. Des mesures de perméabilité intestinale *ex vivo* ont été réalisées sur les animaux abattus lors de l'essai 2. Un échantillon de jéjunum a été prélevé et immédiatement monté en chambre d'Ussing (Boudry, 2005). Les perméabilités paracellulaire et transcellulaire ont été mesurées à l'aide de deux marqueurs, respectivement le FITC-dextran 4000 (FD4) et la peroxydase du raifort (HRP).

### 1.4. Analyses statistiques

Les données des deux essais ont été analysées sous SAS (v9.4., Inst. Inc. Cary, NC). Une analyse de variance (procédure MIXED) a été réalisée sur les performances de croissance (gain moyen quotidien - GMQ, consommation moyenne journalière - CMJ, indice de consommation - IC) et les mesures après abattage (concentration plasmatique en haptoglobine, morphologie et perméabilité intestinale) en prenant en compte l'effet du régime et du bloc. Le poids au sevrage a été pris en covariable dans l'analyse statistique des performances. Des contrastes orthogonaux ont été calculés dans l'analyse des données de l'essai 2 afin de discriminer les effets de la supplémentation (Sup), du prétraitement de la biomasse algale (T), de l'espèce algale (M) et de l'interaction prétraitement × microalgue (T×M). Les variables CMJ 42-56 j dans l'essai 1 ainsi que la variable IC 28-42 j dans l'essai 2 ont subi une

**Tableau 1** - Effet du régime expérimental sur le poids vif (PV), la consommation moyenne journalière (CMJ), le gain moyen quotidien (GMQ) et l'indice de consommation (IC) selon la période expérimentale (âge)

	Essai 1 (n = 68)						Essai 2 (n = 71)										
	Régime <sup>1</sup>				ETR <sup>2</sup>	P <sup>2</sup>	Régime <sup>1</sup>					ETR <sup>2</sup>	P <sup>2</sup> (contrastes)				
	TN	S-A	C-A	TP			TN	S-A	S-B	C-A	C-B		Sup	T	M	T×M	
Nb. porcs	17	17	17	17			13	15	14	14	15						
PV, kg																	
28 j	8,9	8,9	8,9	8,7	1,0	0,88	9,5	9,4	9,6	9,5	9,3	0,9	0,96	0,86	0,75	0,35	
42 j	12,5	12,3	12,8	12,5	0,9	0,52	13,1	12,2	12,1	12,3	12,2	1,1	0,04	0,78	0,73	0,90	
56 j	20,9	20,6	20,9	20,8	1,6	0,91											
CMJ, g/j																	
28-42 j	366	361	360	356	56	0,96	359	313	328	319	321	80	0,13	0,68	0,99	0,76	
42-56 j	953	973	934	963	137	0,87											
28-56 j	716	722	700	713	102	0,94											
GMQ, g/j																	
28-42 j	247	232	264	245	62	0,52	268	212	232	213	209	80	0,04	0,71	0,61	0,60	
42-56 j	599	589	581	594	74	0,90											
28-56 j	423	411	422	419	58	0,91											
IC																	
28-42 j	1,51	1,59	1,41	1,49	0,22	0,13	1,46	1,60	1,55	1,58	1,60	0,49	0,29	0,89	0,93	0,76	
42-56 j	1,60	1,67	1,63	1,63	0,17	0,72											
28-56 j	1,69	1,76	1,66	1,71	0,12	0,11											

<sup>1</sup> TN = témoin négatif, TP = aliment supplémenté en colistine, S = aliment standard supplémenté avec 1 % de spiruline, C = aliment standard supplémenté avec 1 % de chlorelle, -A = biomasse microalgale atomisée, -B = biomasse microalgale broyée puis lyophilisée.

<sup>2</sup> Analyses de variance prenant en compte l'effet du régime expérimental et du bloc. Essai 1 : P = effet du régime. Essai 2 : analyse par contrastes calculant les effets de la supplémentation en microalgues (Sup), du prétraitement de la biomasse microalgale (T), du type de microalgue (M) et de l'interaction prétraitement×microalgue (T×M). Le tableau présente les moyennes ajustées calculées. ETR : écart-type résiduel.

transformation logarithmique pour l'analyse (les valeurs présentées sont les moyennes des valeurs prédites par le modèle après transformation exponentielle). L'incidence calculée pour chaque score fécal et par traitement a été analysée en utilisant un test de khi-deux (procédure FREQ).

Les animaux abattus à 42 jours d'âge dans l'essai 1 n'ont pas été pris en compte dans l'analyse statistique des performances de croissance. Les animaux morts ou ayant reçu un traitement antibiotique en cours d'expérience ont été exclus des analyses. Lors de l'essai 1, un porcelet de chaque groupe expérimental a nécessité un traitement antibiotique. Lors de l'essai 2, trois animaux dont les caractéristiques zootechniques ne remplissaient pas les conditions de sélection ont été exclus du dispositif en début d'expérience et six animaux ont présenté les symptômes de la maladie de l'œdème (congestion et ataxie) en cours d'expérience et ont reçu un traitement antibiotique. Quatre d'entre eux sont morts dans les 48 heures qui ont suivi le traitement.

## 2. RESULTATS

### 2.1. Essai 1

#### 2.1.1. Performances de croissance

Pour les deux essais, la CMJ, le GMQ et l'IC ne diffèrent pas significativement entre les régimes expérimentaux (Tableau 1). Le PV moyen des animaux est augmenté de  $9,1 \pm 1,1$  kg à  $12,4 \pm 1,5$  kg entre le sevrage et la fin de la période de distribution de l'aliment expérimental, à 42 jours d'âge, ce qui correspond à un GMQ de  $240 \pm 61$  g/j. Le PV moyen est de  $20,1 \pm 1,6$  kg en fin d'expérience à 56 jours d'âge, ce qui représente un GMQ de  $394 \pm 63$  g/j sur la période totale de l'expérience. Les IC pour la période de distribution de l'aliment expérimental et la période totale sont, respectivement, de 1,52 et 1,44 kg

d'aliment par kg de gain de PV.

#### 2.1.2. Incidence des diarrhées

A la fin des 2 semaines de distribution des aliments expérimentaux, la proportion d'animaux ayant présenté des troubles digestifs est de 94 %, avec une fréquence maximale de 68 % des animaux en diarrhée à 33 jours d'âge (Figure 1). Aucune diarrhée de type aqueuse, correspondant à un niveau d'affection sévère, n'est recensée. L'incidence des diarrhées est reportée dans le tableau 2. Les animaux ayant reçu l'aliment C-A montrent une incidence de diarrhées plus faible que les autres groupes expérimentaux ( $P < 0,05$ ), et ce tant sur la période de distribution de l'aliment expérimental (28 à 42 jours d'âge) que sur la période totale (28 à 56 jours d'âge). De même, l'incidence des diarrhées de type sévère tend à être plus faible chez les animaux du groupe C-A ( $P < 0,10$ ) en comparaison avec les groupes TN, TP et S-A sur la période totale de l'expérience.

#### 2.1.3. Statut inflammatoire et morphologie intestinale

A 42 jours d'âge la concentration moyenne en haptoglobine plasmatique est de  $1,6 \pm 0,8$  mg/L chez les porcelets de tous les régimes ( $P > 0,10$ ; Tableau 3). Les animaux ayant reçu les régimes C-A et S-A présentent des villosités plus hautes au niveau jéjunal ( $P = 0,02$ ) en comparaison aux animaux recevant le régime supplémenté en antibiotiques (TP; Tableau 3). Le ratio hauteur des villosités sur profondeur des cryptes (v:c) est également augmenté chez les animaux supplémentés en microalgues en comparaison avec les animaux du groupe TP ( $P = 0,01$ ). La profondeur des cryptes jéjunales est en moyenne de  $295 \pm 42$   $\mu$ m et ne diffère pas significativement entre les groupes expérimentaux. Au niveau iléal, aucune différence n'est observée sur la morphologie de la muqueuse ( $P > 0,10$ ). En moyenne, la hauteur des villosités s'élève à  $443 \pm 110$   $\mu$ m et la profondeur des cryptes est de  $279 \pm 39$   $\mu$ m.

## 2.2. Essai 2

### 2.2.1. Performances de croissance

La CMJ des animaux ne montre aucun effet de la supplémentation en chlorelle (C) et spiruline (S), quel que soit le prétraitement de la biomasse microalgale (A ou B ; Tableau 1). Aucune différence ( $P < 0,10$ ) n'est non plus observée entre les deux microalgues. La CMJ est de  $328 \pm 80$  g entre 28 et 42 jours d'âge. Le PV moyen des animaux est de  $9,5 \pm 0,9$  kg en début d'expérience et de  $12,8 \pm 1,4$  kg à 42 jours d'âge. Le GMQ est significativement réduit chez les animaux recevant une supplémentation en microalgues en comparaison avec les animaux du groupe TN ( $216$  vs  $268$  g/j,  $P = 0,04$  ; Tableau 1). L'IC est de  $1,63 \pm 0,71$  kg d'aliment/kg de gain pondéral et ne diffère pas entre les régimes, quelle que soit la supplémentation et le type de biomasse microalgale ( $P < 0,10$ ).

### 2.2.2. Incidence des diarrhées

La fréquence d'animaux ayant présenté des signes de diarrhées au cours de l'expérience s'élève à 87 %, avec une incidence maximale observée à 36 et 37 jours d'âge, qui s'élève à 43 % d'animaux atteints. Au cours des deux semaines, 66 % des animaux déclarent un épisode de diarrhée sévère et, parmi eux, 22 % de la diarrhée de type aqueuse (Figure 1). L'incidence des diarrhées ne diffère cependant pas entre les groupes expérimentaux ( $P > 0,10$ ) sur la période totale de l'expérience (Tableau 2).

### 2.2.3. Statut inflammatoire, morphologie et perméabilité intestinales

La concentration moyenne en haptoglobine plasmatique s'élève à  $1,58 \pm 0,35$  mg/L à 42 jours d'âge. Aucune différence significative n'est observée entre les groupes expérimentaux (Tableau 3).

La hauteur des villosités, la profondeur des cryptes et le ratio v:c ne présentent aucune différence significative entre les animaux supplémentés en microalgues et le groupe témoin ( $P > 0,10$  ; Tableau 3). En revanche, la hauteur des villosités tend à être augmentée ( $P = 0,07$ ) et la profondeur des cryptes est plus élevée ( $P = 0,05$ ) chez les animaux recevant une supplémentation en biomasse microalgale broyée et lyophilisée (-B), en comparaison avec ceux qui reçoivent des régimes supplémentés en biomasse microalgale atomisée (-A). Egalement, les animaux ayant reçu les régimes S-A et S-B présentent des villosités plus hautes que les animaux des groupes C-A ou C-B et un ratio v:c également plus élevé ( $P = 0,02$ ). Aucune différence n'est observée entre les traitements au niveau iléal ( $P > 0,10$ ).

**Tableau 2** - Effet du régime expérimental sur l'incidence (%)<sup>1</sup> des scores fécaux dans les deux essais

	Essai 1 (n = 92)					$P^3$	Essai 2 (n = 71)					$P^3$
	Régime <sup>2</sup>				$P^3$		Régime <sup>2</sup>					
	TN	S-A	C-A	TP			TN	S-A	S-B	C-A	C-B	
Score 0	8,5	5,4	8,3	6,8	0,04	11,5	11,9	9,2	9,2	8,6	0,32	
Score 1	52,9	53,3	61,0	52,9		39,0	40,0	37,8	39,3	38,6		
Score 2	24,9	26,1	19,6	24,4		16,5	13,3	13,8	16,3	17,6		
Score 3	8,7	7,7	4,9	8,7		10,4	6,2	9,7	12,2	7,1		
Score 4	-	-	-	-		2,7	0,9	0,0	0,5	2,4		
Diarrhées (scores 2, 3 et 4)	33,6 <sup>a</sup>	33,8 <sup>a</sup>	24,5 <sup>b</sup>	33,1 <sup>a</sup>	<0,01	29,7	20,5	23,5	29,1	27,1	0,17	
Diarrhées sévères (scores 3 et 4)	8,7 <sup>a</sup>	7,7 <sup>a</sup>	4,9 <sup>b</sup>	8,7 <sup>a</sup>	0,09	13,2	7,1	9,7	12,8	9,5	0,25	

<sup>1</sup> Incidence calculée pour chaque traitement expérimental selon la formule :

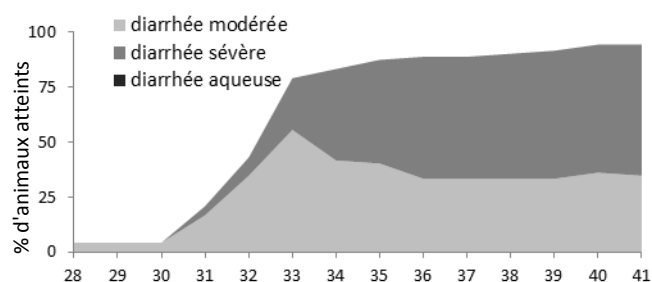
$$\text{Incidence du score } x = \frac{\text{Nombre de scores } x \text{ recensés sur la période d'observation}}{\text{Nombre total de recensements sur la période d'observation}}$$

<sup>2</sup> Régimes expérimentaux : TN = témoin négatif, TP = aliment supplémenté en colistine, S = aliment standard supplémenté avec 1 % de spiruline, C = aliment standard supplémenté avec 1 % de chlorelle, -A = biomasse microalgale atomisée, -B = biomasse microalgale broyée puis lyophilisée.

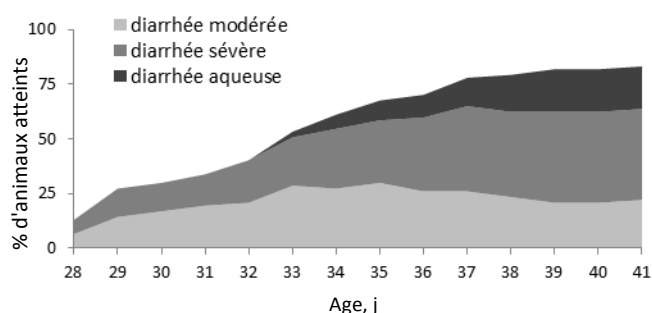
<sup>3</sup> Test du Khi-deux.

Les perméabilités paracellulaire et transcellulaire au niveau du jéjunum à 42 jours d'âge ne sont pas affectées par la supplémentation en microalgues ni par le prétraitement réalisé sur la biomasse algale (Tableau 3).

### Essai 1



### Essai 2



**Figure 1** - Evolution de la sévérité des diarrhées recensées en cours d'expérience, en pourcentage d'animaux atteints en fonction de l'âge.

## 3. DISCUSSION

### 3.1. Hygiène dégradée et induction des troubles digestifs

La chute de température réalisée à 32 jours d'âge a conduit à une incidence élevée des diarrhées au cours de l'essai 1. Cependant, les conditions d'hygiène élevée n'ont pas favorisé le développement de diarrhées infectieuses, ce qui se confirme par l'absence de diarrhée de type aqueuse (score 4), synonyme d'affection sévère et par des performances zootechniques et une incidence des diarrhées similaires entre les groupes témoins sans antibiotique (TN) et supplémenté en colistine (TP). L'application de conditions sanitaires dégradées du logement lors de l'essai 2 a induit des troubles digestifs plus sévères en comparaison avec l'essai 1.

**Tableau 3** - Effet du régime expérimental sur la morphologie et la perméabilité intestinale et sur le statut inflammatoire à 42 jours d'âge.

	Essai 1 (n=92)						Essai 2 (n=71)										
	Régime <sup>1</sup>				ETR <sup>2</sup>	P <sup>2</sup>	Régime <sup>1</sup>					ETR <sup>2</sup>	P <sup>2</sup> (Contrastes)				
	TN	S-A	C-A	TP			TN	S-A	S-B	C-A	C-B		Sup	T	M	T×M	
Nb. porcs	6	6	6	6			8	8	8	8	8						
Morphologie intestinale																	
Hauteur des villosités, µm																	
Jéjunum	481	524	523	356	102	0,04	336	323	357	279	314	52	0,39	0,07	0,02	0,98	
Iléon	415	484	435	440	108	0,73	298	260	283	244	270	59	0,16	0,25	0,49	0,93	
Profondeur des cryptes, µm																	
Jéjunum	295	275	295	316	47	0,54	284	278	286	268	295	24	0,86	0,05	0,89	0,28	
Iléon	299	257	278	283	36	0,29	238	255	237	231	238	28	0,86	0,20	0,25	0,59	
Ratio v:c																	
Jéjunum	1,59	1,93	1,85	1,13	0,45	0,03	2,57	2,59	2,77	2,21	2,33	0,47	0,63	0,36	0,02	0,86	
Iléon	1,42	1,89	1,63	1,58	0,47	0,40	1,25	1,15	1,13	1,06	1,16	0,32	0,33	0,72	0,82	0,63	
Perméabilité intestinale, ng/cm <sup>2</sup> /h																	
FD4							1495	1457	1551	1411	1457	706	0,58	0,87	0,42	0,54	
HRP							313	284	422	332	264	288	0,92	0,75	0,60	0,34	
Statut inflammatoire, concentration plasmatique, mg/L																	
Haptoglobine	1,99	1,25	1,57	1,64	0,68	0,35	1,66	1,69	1,40	1,54	1,64	0,35	0,52	0,49	0,74	0,14	

<sup>1</sup> Régimes expérimentaux : TN = témoin négatif, TP = aliment supplémenté en colistine, S = aliment standard supplémenté avec 1 % de spiruline, C = aliment standard supplémenté avec 1 % de chlorelle, -A = biomasse microalgale atomisée, -B = biomasse microalgale broyée puis lyophilisée.

<sup>2</sup> Analyses de variance prenant en compte l'effet du régime expérimental et du bloc. Essai 1 : P = effet du régime. Essai 2 : analyse de variance par contrastes calculant les effets de la supplémentation en microalgues (Sup), du prétraitement de la biomasse microalgale (T), du type de microalgue (M) et de l'interaction prétraitement×microalgue (T×M). Le poids de sevrage est pris en compte en covariable. Le tableau présente les moyennes ajustées calculées. ETR : écart-type résiduel.

En l'occurrence, durant l'essai 2, 22 % des animaux ont déclaré une diarrhée aqueuse et les animaux ayant nécessité un traitement antibiotique ont présenté les symptômes de la maladie de l'œdème, causée par des bactéries productrices de shigatoxines (Imberechts et al., 1992). En conséquence, le GMQ est réduit de 18 % dans l'essai 2 en comparaison à l'essai 1. La dégradation du niveau sanitaire couplée à la baisse de la température ambiante à 32 jours d'âge a induit des troubles digestifs sévères et une altération du développement de la muqueuse intestinale, avec une hauteur des villosités réduite de 32 % dans l'essai 2 en comparaison à l'essai 1. L'utilisation du modèle d'hygiène dégradée précédemment décrit par Le Floc'h et al. (2009) a donc bien permis une détérioration de la santé et de la fonction digestive. Les performances de croissance présentent cependant plus de variabilité individuelle dans l'essai 2 que dans l'essai 1, avec des écarts-types augmentés de 40 et 32 % respectivement pour le PV et la CMJ. Cette constatation implique une discrimination statistique des régimes moins puissante.

### 3.2. Effet de la supplémentation en spiruline et chlorelle après le sevrage sur la santé digestive du porcelet

La supplémentation en microalgues n'a pas influencé les performances zootechniques des animaux dans le cadre de l'essai 1. Dans l'essai 2, le GMQ est réduit chez les animaux recevant une supplémentation en microalgues, quelle que soit l'espèce et la forme de supplémentation. D'après la littérature, la supplémentation en chlorelle ou spiruline tend à diminuer la croissance et l'efficacité alimentaire lorsque l'on élève le taux d'incorporation des microalgues dans la ration (Lipstein et Hurwitz, 1980 ; Ross et Dominy, 1990), suggérant une faible digestibilité des nutriments d'origine algale. Dans notre étude,

nous avons fixé un niveau d'incorporation faible (1 %), ce qui exclut cette hypothèse. La réduction du GMQ chez les animaux supplémentés en microalgues semble être corrélée à une consommation journalière plus faible chez ces mêmes individus, ce qui pourrait signifier une baisse d'appétence des régimes supplémentés en microalgues dans l'essai 2. La biomasse algale utilisée dans les deux essais provenant de deux productions distinctes, cette hypothèse peut s'expliquer par une teneur plus élevée en molécules impactant l'appétence de la biomasse dans le cadre de l'essai 2.

En termes de santé digestive, l'essai 1 a permis de montrer une réduction de l'incidence des diarrhées chez les animaux supplémentés en chlorelle, en comparaison aux autres groupes expérimentaux. En parallèle, des observations sur la morphologie intestinale montrent une augmentation de la taille des villosités à 42 jours d'âge chez les animaux supplémentés en biomasse algale atomisée dans l'essai 1. Ces observations ne sont pas validées dans les conditions sanitaires dégradées de l'essai 2. L'absence d'affections digestives d'origine bactérienne dans l'essai 1, confirmées par l'absence de réponse à la supplémentation en colistine, suggère que les effets observés dans cet essai ne sont pas expliqués par la présence de molécules à activité antibactérienne dans la biomasse algale, comme il l'est suggéré dans de nombreuses études *in vitro* ou *in vivo* sur des bactéries gram positif ou négatif (Tanaka et al., 1986 ; Mendiola et al., 2007 ; Kitada et al., 2009 ; Yan et al., 2012). La supplémentation en microalgues semble donc agir sur le développement ou le maintien de la muqueuse intestinale par une action directe ou *via* la flore commensale. La sensibilité aux entérotoxines et à l'apparition de troubles digestifs est étroitement liée à la morphologie intestinale au sevrage (Miller et al., 1984). Un meilleur développement de la

muqueuse intestinale pourrait limiter les prédispositions aux désordres digestifs au sevrage. Le rôle préventif de la supplémentation en microalgues sur la santé digestive n'a pu être mis en évidence dans le cadre de l'essai 2, où les troubles digestifs sévères sont apparus dès le premier jour après le sevrage.

### 3.3. Effet du prétraitement de la biomasse sur l'efficacité des microalgues

Les microalgues, notamment la chlorelle, sont reconnues pour posséder une paroi cellulaire rigide et fortement résistante à la dégradation (Safi *et al.*, 2015). Des études ont montré une amélioration de la digestibilité de la biomasse après rupture préalable de la paroi cellulaire (Komaki *et al.*, 1998 ; Janczyk *et al.*, 2007). Les traitements thermiques dégradent la paroi cellulaire, mais altèrent également l'intégrité des acides aminés et composés actifs contenus dans les microalgues (Grinstead *et al.*, 2000 ; Janczyk *et al.*, 2007). Dans notre étude, un prétraitement de la biomasse algale a été testé. Le broyage à billes augmente la biodisponibilité des constituants intracellulaires par rupture de la paroi microalgale à faible température (Safi *et al.*, 2015 ; Postma *et al.*, 2015). La lyophilisation préserve les constituants sensibles à l'application de traitements thermiques (Molina Grima *et al.*, 2003). Nous n'avons observé aucun effet bénéfique du type de prétraitement de la biomasse algale sur les performances zootechniques, l'incidence des diarrhées, le statut inflammatoire et la perméabilité intestinale. Cependant, la muqueuse intestinale présente une hauteur des villosités et

une profondeur des cryptes plus élevée chez les animaux supplémentés avec une biomasse broyée puis lyophilisée, en comparaison aux animaux recevant une biomasse atomisée. L'amélioration de la structure de la muqueuse intestinale chez les animaux recevant la biomasse broyée et lyophilisée montre donc que la préservation des constituants intracellulaires présente un intérêt sur le développement du système digestif.

### CONCLUSION

La supplémentation en chlorelle et en spiruline dans l'aliment premier âge montre un effet restreint sur les performances de croissance et la santé digestive du porcelet en post-sevrage. La supplémentation en chlorelle réduit l'incidence des diarrhées mais ce potentiel n'est avéré qu'en l'absence d'affections digestives sévères. Aucun effet antibactérien ou en faveur d'un renforcement de la barrière intestinale n'a été mis en évidence dans cette étude. La supplémentation en microalgues des régimes présente néanmoins un intérêt potentiel sur le développement ou le maintien de la muqueuse intestinale. Cette observation chez des animaux indemnes de pathologies digestives sévères pourrait constituer une méthode de prévention des troubles digestifs, en amont du sevrage. L'application d'un broyage et d'une lyophilisation de la biomasse algale semble apporter un effet positif sur la préservation des constituants intracellulaires d'intérêt dans le développement de la muqueuse intestinale.

### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Boudry G., 2005. The Ussing chamber technique to evaluate alternatives to in-feed antibiotics for young pigs. *Anim. Res.*, 54, 219-230.
- Grinstead G.S., Tokach M.D., Dritz S.S., Goodband R.D., Nelssen J.L., 2000. Effects of *Spirulina platensis* on growth performance of weanling pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 83, 237-247.
- Hoseini S.M., Khosravi-Darani K., Mozafari M.R., 2013. Nutritional and medical applications of *Spirulina* microalgae. *Mini Rev. Med. Chem.*, 13, 1231-1237.
- Imberechts H., De Greve H., Lintermans P., 1992. The pathogenesis of edema disease in pigs. A review. *Vet. Microb.*, 31, 221-233.
- Janczyk P., Franke H., Souffrant W.B., 2007. Nutritional value of *Chlorella vulgaris*: effects of ultrasonication and electroporation on digestibility in rats. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 132, 163-169.
- Kitada K., Machmudah S., Sasaki M., Goto M., Nakashima Y., Kumamoto S., Hasegawa T., 2009. Antioxidant and antibacterial activity of nutraceutical compounds from *Chlorella vulgaris* extracted in hydrothermal condition. *Sep. Sci. Technol.*, 44, 1228-1239.
- Komaki H., Yamashita M., Niwa Y., Tanaka Y., Kamiya N., Ando Y., Furuse M., 1998. The effect of processing of *Chlorella vulgaris*: K-5 on in vitro and in vivo digestibility in rats. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 70, 363-366.
- Lallès J.-P., Boudry G., Favier C., Floc'h N., Luron I., Montagne L., Oswald I., Pié S., Piel C., Sève B., 2004. Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. *Anim. Res.*, 53, 301-316.
- Le Floc'h N., Le Bellego L., Matte J.J., Melchior D., Sève B., 2009. The effect of sanitary status degradation and dietary tryptophan content on growth rate and tryptophan metabolism in weaning pigs. *J. Anim. Sci.*, 87, 1686-1694.
- Lipstein B., Hurwitz S., Bornstein S., 1980. The nutritional value of algae for poultry. Dried chlorella in layer diets. *Brit. Poultry Sci.*, 21, 23-27.
- Mendiola J.A., Jaime L., Santoyo S., Reglero G., Cifuentes A., Ibañez E., Señoráns F.J., 2007. Screening of functional compounds in supercritical fluid extracts from *Spirulina platensis*. *Food Chem.*, 102, 1357-1367.
- Miller B.G., Newby T.J., Stokes C.R., Bourne F.J., 1984. Influence of diet on postweaning malabsorption and diarrhoea in the pig. *Res. Vet. Sci.*, 36, 187-193.
- Molina Grima E., Belarbi E.H., Ación Fernández F.G., Robles Medina A., Chisti Y., 2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotech. Adv.*, 20, 491-515.
- Pak W., Takayama F., Mine M., Nakamoto K., Kodo Y., Mankura M., Egashira T., Kawasaki H., Mori A., 2012. Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of *Spirulina* on rat model of non-alcoholic steatohepatitis. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 51, 227-234.
- Postma P.R., Miron T.L., Olivier G., Barbosa M.J., Wijffels R.H., Eppink M.H.M., 2015. Mild disintegration of the green microalgae *Chlorella vulgaris* using bead milling. *Bioresour. Technol.*, 184, 297-304.
- Ross E., Dominy W., 1990. The nutritional value of dehydrated, blue-green algae (*Spirulina platensis*) for poultry. *Poultry Sci.*, 69, 794-800.
- Safi C., Frances C., Ursu A.V., Laroche C., Pouzet C., Vaca-Garcia C., Pontalier P.-Y., 2015. Understanding the effect of cell disruption methods on the diffusion of *Chlorella vulgaris* proteins and pigments in the aqueous phase. *Algal Res.*, 8, 61-68.
- Tanaka K., Koga T., Konishi F., Nakamura M., Mitsuyama M., Himeno K., Nomoto K., 1986. Augmentation of host defense by a unicellular green alga, *Chlorella vulgaris*, to *Escherichia coli* infection. *Infect. Immun.*, 53, 267-271.
- Wagenberg A.V.v., Metz J.H.M., Hartog L.A.d., 2005. Methods for evaluation of the thermal environment in the animal occupied zone for weaned piglets. *T. of the ASAE*, 48, 2323-2332.
- Yan L., Lim S.U., Kim I.H., 2012. Effect of fermented chlorella supplementation on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, fecal microbial and fecal noxious gas content in growing pigs. *Asian Australas. J. Anim. Sci.*, 25, 1742-1747.