

# Effet de la supplémentation en levure vivante sur la fermentation *in vitro* d'ingrédients alimentaires non digérés par le microbiote fécal de porcs

Géraldine KUHN, Romain D'INCA, Tadele G. KIROS, Eric AUCLAIR

Phileo by Lesaffre, 137 rue Gabriel Peri 59700 Marcq en Baroeul, France

[g.kuhn@phileo.lesaffre.com](mailto:g.kuhn@phileo.lesaffre.com)

## Effect of live yeast supplementation on *in vitro* fermentation of nondigested feed ingredients by fecal microbiota of pigs

Two studies were conducted at the Prairie Swine Center, Inc., Saskatoon, Saskatchewan, Canada, to investigate the abilities of live yeast (LY) to promote a suitable microbiota composition for supporting the fermentation of wheat and barley. In study 1, conducted in two blocks, feces from lactating sows were inoculated *in vitro* with LY to assess the fermentation, while study 2, feces collected from LY-fed lactating sows were used. In the 1<sup>st</sup> study, *in vitro* addition of LY increased ( $P < 0.001$ ) the rate of gas production ( $R_{max}$ ). However, a yeast  $\times$  substrate effect ( $P < 0.05$ ) observed for total gas accumulated ( $A$ ), time to half asymptote ( $B$ ), and time required to reach maximum rate of fermentation ( $T_{max}$ ) suggested that yeast-mediated increases in extent and rate of fermentation varied by substrate. In Study 2, after 3 weeks of supplementation, LY decreased ( $P < 0.05$ )  $B$  and  $T_{max}$ . However, a yeast  $\times$  substrate effect ( $P < 0.05$ ) was observed for only  $A$  and  $R_{max}$ . After 4 weeks of supplementation, LY increased ( $P < 0.01$ )  $A$  and decreased  $B$ . Yeast supplementation increased ( $P < 0.05$ ) VFA production at 12 and 72 h of incubation and Yeast increased ( $P < 0.05$ ) the molar ratios of acetic acid and branch-chain fatty acids at 12 h of incubation. In conclusion, LY supplementation increased the rate and extent of *in vitro* fermentation of substrates prepared from common feedstuffs. Greater effects were observed when LY was fed to sows than added directly *in vitro*, suggesting effects on fermentation were not mediated directly.

## INTRODUCTION

L'intérêt de l'utilisation de levures vivantes *Saccharomyces cerevisiae* (Sc) dans l'alimentation animale pour améliorer la fermentation des fibres, la santé intestinale et la performance de certaines espèces a été décrit dans la littérature scientifique (Broadway *et al.*, 2015). Cependant, les résultats obtenus chez les monogastriques sont encore limités (Mathew *et al.*, 1998) ou contradictoires. Ces résultats contrastés pourraient être liés à la souche de levure utilisée, à la dose ou à la formule alimentaire testées. Par ailleurs, il n'a pas été établi si la supplémentation en levures vivantes exerçait un effet positif en influant directement sur l'immunité intestinale ou indirectement par une modification de la composition du microbiote intestinal favorisant la fermentation des fibres générant des métabolites notamment les acides gras volatiles à chaîne courte (SCVFA) connus pour améliorer la santé intestinale et contribuer à l'apport en énergie. Chez les ruminants, l'apport de levures améliore la fermentation des fibres et la production de SCVFA stabilisant le pH du rumen. Ces effets sont plus importants dans un régime fibreux que dans un régime très concentré, confirmant l'intérêt de l'apport de Sc pour améliorer la fermentation des aliments fibreux.

Pour mieux comprendre les mécanismes chez le porc adulte, deux études complémentaires ont été menées pour mesurer l'effet de la supplémentation en Sc sur la dégradabilité des fibres, en utilisant un modèle *in vitro* simulant la digestion dans l'intestin distal. L'objectif était d'évaluer l'effet de Sc ajoutée directement sur des substrats ou fournie quotidiennement à des truies allaitantes sur les caractéristiques de fermentation *in vitro* de deux ingrédients utilisés dans l'alimentation des porcs.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Animaux et alimentation

Dans l'étude 1, des échantillons de matières fécales fraîches ont été prélevés dans le rectum de 6 truies allaitantes (3 x 2 blocs) nourries avec un régime à base de blé. Ils ont été directement transférés du rectum dans des tubes à essai hermétiques de 50 ml à l'intérieur d'une chambre aérobie saturée en azote et CO<sub>2</sub>. Dans l'étude 2, les échantillons de fèces fraîches ont été collectés sur 16 truies appartenant au même troupeau mais alimentées avec un régime à base de blé supplémenté avec ( $n = 8$ ) ou sans ( $n = 8$ ) levure probiotique (Actisaf® Sc 47 ; Phileo by Lesaffre, France) à 10<sup>10</sup> CFU/kg d'aliment complet.

Le transfert des échantillons directement du rectum dans les tubes à essai a été réalisé après 3 (étude 1) ou 4 semaines (étude 2) de supplémentation en levure. Après collecte, tous les échantillons ont été apportés au laboratoire dans des conditions anaérobies.

### 1.2. Traitements, Mesures et analyses statistiques

#### 1.2.1. Substrats et Digestion enzymatique *In vitro*

Deux ingrédients ont été utilisés comme substrats pour la digestion *in vitro* et les expériences de fermentation : l'orge, et le blé. L'ensilage d'herbe a été utilisé comme témoin positif pour les ingrédients riches en fibres. Quatre grammes de chacun de ces ingrédients ont été broyés pour passer à travers un tamis de 1 mm puis ont été séchés et pesés dans des fioles coniques, en triple exemplaires. Les échantillons ont été soumis à une digestion chimique et enzymatique *in vitro*, conformément au protocole de Boisen *et al.*, 1997.

### 1.2.2. Préparation de l'inoculum et fermentation *In vitro*

Pour étudier l'effet de la levure sur la production de gaz *in vitro* les fèces de truies ont été utilisées comme source d'inoculum. Dans l'étude 1, la levure a été ajoutée aux jarres de fermentation en même temps que les substrats. Dans l'étude 2, les échantillons fécaux ont été prélevés dans le groupe Témoin (sans levure) et dans le groupe Levure lors de la 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> semaines d'essai.

### 1.2.3. Mesure de la production de gaz et des AGV.

La pression de gaz libérée en raison de la fermentation des substrats a été enregistrée (de 0 à 72h d'incubation) et convertie en ml/g de MS pour chaque période de temps. Ces valeurs ont ensuite été intégrées dans une équation pour obtenir des courbes d'accumulation de gaz. Le Rmax, (taux max. de production de gaz (ml g<sup>-1</sup> DM × h)) et le Tmax (Rmax atteint) ont été analysés pour comparer le taux de fermentation des deux ingrédients et des groupes de traitement. Seuls les échantillons de bouillons de fermentation obtenus lors de l'étude 2, ont été utilisés pour la détermination des SCVFA. Les SCFA et les acides gras ramifiés (BCFA) ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse.

### 1.3. Mesures et analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS 9.3 (SAS Inc., Cary, NC). L'effet des conditions testées a été évalué par une ANOVA. La comparaison des moyennes a été effectuée par le test LSD de Fisher. Les données ont été considérées comme significative lorsque  $P < 0,05$ .

## 2. RESULTATS

### 2.1. Production de Gaz

Les fèces incubées sans substrat de truies supplémentées avec de la levure pendant 3 ou 4 semaines ont tendance à produire un volume de gaz plus élevé que celui des truies témoins (figures 1a et 1b). De même l'effet levure augmente le Rmax (de 5,4 à 6,9ml g<sup>-1</sup> DM h<sup>-1</sup>) et diminue le Tmax (de 13,6 à 9,1 h)

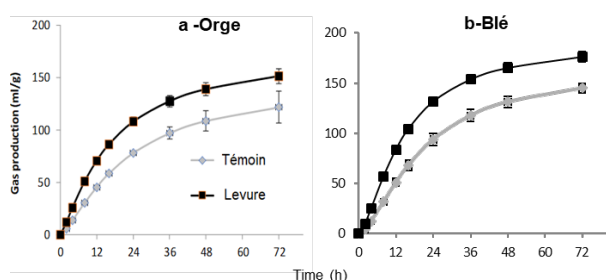


Figure 1 a et b - Courbes de production de gaz (orge et blé)

Les résultats étaient similaires pour les suspensions fécales récoltées après 3 ou 4 semaines de supplémentation *in vivo*.

### 2.2. Production d'acides gras volatiles et rapports molaires

De manière générale, l'apport de levures augmente la production totale d'AGV après 72h de fermentation suggérant un effet à long terme. Ces résultats sont les mêmes quels que soit les matières 1<sup>ères</sup> testées (Table 1).

Une diminution significative des rapports molaires des BCFA observée pour l'orge et le blé après 72h de fermentation avec la levure par rapport au témoin suggère que cet apport pourrait réduire la fermentation protéique dans le gros intestin en favorisant le développement de bactéries fermentant les fibres.

Table 1 – Production totale d'AGV et rapports molaires (%) d'AGV après 72h de fermentation *in vitro* de l'orge et du blé dans les fèces de truies témoin (T) ou supplémentées (L)

Substrat	t (h)	Total AGV (mg/g MS)		% Acétique		% Propionique		% Butyrique	
		T	L	T	L	T	L	T	L
Orge	72	272,9	309,9	68,3	65,0	18,3	20,7	8,1	9,7
Blé	72	280,6	269,9	65,5	63,9	19,9	21,6	9,7	11,1
P-value (L*S*t)		0,097		< 0,001		< 0,001		< 0,001	

## CONCLUSION

Les deux études montrent que l'apport de levures a amélioré la fermentation *in vitro* de l'orge et du blé, tant sur la vitesse de production que sur le volume total produit (différences significatives entre les valeurs de Rmax et de Tmax). Ces résultats sont confirmés *in vivo*, les effets étant plus importants lorsque la levure est administrée directement aux truies. Ceci suggère que la levure agirait sur le microbiote des truies en favorisant le développement des bactéries capables de fermenter les fibres. Par conséquent, la supplémentation quotidienne des truies en levures probiotiques Sc47 modifie la composition microbienne de l'intestin postérieur en créant un environnement favorable aux bactéries fermentant les fibres et, augmentant l'ampleur et la vitesse de fermentation de ces 2 ingrédients de l'aliment.

Une autre observation intéressante était la diminution significative de la concentration en BCFA observée pour l'orge et le blé à 72 h de fermentation dans le groupe Levure comparé au Témoin. Les BCFA étant le produit final de la fermentation protéique dans l'intestin postérieur des porcs, leur diminution en présence de levure peut suggérer que la supplémentation réduirait la fermentation protéique dans l'intestin postérieur. Cela peut également suggérer qu'en diminuant cette fermentation protéique, la levure diminuerait la production de produits finaux de la fermentation protéique tels que l'ammoniac, le sulfure d'hydrogène, les composés phénoliques et les amines connus pour nuire à la santé animale et aussi améliorer l'impact des élevages porcins sur l'environnement. Mais cela nécessiterait une étude plus approfondie.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Boisen, S. and J. A. Fernandez. 1997. Prediction of the total tract digestibility of energy in feedstuffs and pig diets by *in vitro* analyses. Anim. Feed Sci. Technol. 68,277–286.
- Broadway, P. R., J. A. Carroll, and N. C. Sanchez. 2015. Live yeast and yeast cell wall supplements enhance immune function and performance in food-producing livestock: a review. Microorganisms. 3,417–427.
- Mathew, A. G., S. E. Chatten, C. M. Robbins, and D. A. Golden. 1998. Effects of a direct-fed yeast culture on enteric microbial populations, fermentation acids, and performance of weanling pigs. J. Anim. Sci. 76,2138–2145.