



Incorporation des restes de l'industrie alimentaire sucrés vs salés chez les porcelets en post-sevrage: effets sur le microbiote intestinal et la production d'acides gras volatils

Marco TRETOLA (1,2), Sharon MAZZOLENI (1), Peng LIN (1,2), Luca FERRARI (1), Alice LUCIANO (1), Nicoletta ROVERE (1),
Francesca FUMAGALLI (1), Matteo OTTOBONI (1), Luciano PINOTTI (1)

(1) University of Milan, 26900 Lodi, Italie.

(2) Agroscope, 1725 Posieux, Suisse

marco.tretola@agroscope.admin.ch

Salty vs. sugary food industry leftovers in post-weaning piglets: effects on gut microbiota and intestinal volatile fatty acid production

Awareness of the need to improve the sustainability of livestock production by reducing the loss of natural resources has increased significantly. This study investigated effects of two categories of food industry leftovers (i.e. "former foodstuff" (FFPs)) on pig gut microbiota and intestinal volatile fatty acid (VFA) production. Thirty-six female post-weaning piglets (28 days old, Large White x Landrace, 6.5 ± 1.1 kg) were separated into three groups and fed a conventional diet (CTR) or a diet in which cereals were partially replaced (30% w/w) by sugary confectionery products (FFPs-C) or salty bakery products (FFPs-B), respectively. After 42 days of dietary treatments, faeces were collected from the rectal ampulla, snap-frozen, and used for next-generation sequencing to analyse the composition and alpha and beta diversity indexes of the microbial population. The concentration of VFAs in the intestinal content collected at the slaughterhouse was also analysed. Neither the FFPs-C or FFPs-B diets influenced the abundance or biodiversity indexes of the microbial community. The experimental diets had no impact on the production of VFAs in the intestine. In contrast, the FFPs-C and FFPs-B diets slightly influenced the gut microbiota. FFPs could thus be used as a promising alternative to traditional ingredients in pig diets; however, additional analyses are needed to further investigate the presence of potentially pathogenic bacteria. Effects of using such ingredients during the fattening period on other markers of gut health and on product quality also need to be investigated.

INTRODUCTION

Les aliments peuvent être perdus ou gaspillés au cours des différentes étapes de la fabrication. Les pertes alimentaires sont définies comme des aliments perdus en raison de contraintes techniques/logistiques ou de systèmes de commercialisation inefficaces (McGuire, 2015). Dans le monde, il y a plus d'un milliard de tonnes/an de denrées alimentaires produites mais non consommées (McGuire, 2015). L'Agenda 2030 pour le développement durable a proposé le recyclage des pertes alimentaires, également appelées anciens produits alimentaires (FFP). La valorisation des FFP en tant qu'aliments pour animaux répond à la fois aux défis de la réduction des pertes de denrées alimentaires et à ceux de la sécurité alimentaire. La présente étude vise à vérifier l'hypothèse selon laquelle la teneur élevée en sucres simples et la haute digestibilité des FFP sucrés et salés dans l'alimentation des porcs en post-sevrage et en croissance n'altèrent pas la composition du microbiote intestinal et n'ont pas d'impact sur la production d'acides gras volatils intestinaux.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Ingrédients des anciens produits alimentaires utilisés

Deux types différents de FFP ont été utilisés pour remplacer le

30 % des céréales dans les deux régimes expérimentaux. Les FFP sucrés (FFPs-C) étaient principalement composés de chocolat, de biscuits et de snacks sucrés. Le pain, les pâtes et les snacks salés ont été utilisés pour les produits FFP salés (FFPs-B). Les teneurs des trois régimes (FFPs-C, FFPs-B, CTR) étaient conformes aux exigences du NRC (2012), notamment une quantité similaire d'énergie et d'azote.

1.2. Animaux, logement et traitement

Trente-six porcs en post-sevrage (femelles Grand Porc Blanc suisse X Landrace suisse âgées de 28 jours, 6,5 ± 1 kg de poids vif) ont été utilisés dans cette étude. Les animaux ont été répartis dans des enclos individuels avec un accès à l'eau en permanence. Après une période d'adaptation de sept jours, les porcelets ont été assignés de manière aléatoire à un régime standard post-sevrage (CTR), à base de confiseries sucrées (30% de FFP-C) ou à base de produits de boulangerie salés (30% de FFPs-B). Les porcelets ont reçu les trois régimes alimentaires *ad libitum*. Après 42 jours d'essai, lors de l'abattage par étourdissement au CO₂ (24 ± 2.5 kg), environ 50 g de digesta intestinal au niveau du gros intestin ont été prélevés sur chaque animal, immédiatement congelés dans de l'azote liquide et conservés à - 80 °C pour l'analyse de microbiote ou directement stocké à - 80 °C pour l'analyse des AGV.

1.3. Collecte des échantillons, extraction de l'ADN et séquençage

À partir de 200 µg de selles, l'ADN a été extrait avec le QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (QIAGEN, Germantown, USA) et quantifié avec le Nanodrop ND2000. Les amorces universelles pour procaryotes ont été utilisées pour amplifier les régions V3 et V4 du gène de l'ARNr 16S par PCR. Les amplicons ont été séquencés à l'aide de la plateforme Illumina MiSeq (San Diego, CA, USA).

1.4. Quantification des acides gras volatils intestinaux

Les acides gras volatils ont été déterminés par analyse simultanée par GC-MS (VWR International, Leuven, Belgique) d'après Fiori et al. (2018) avec quelques modifications. Brièvement, 1 g de digesta a été combiné avec 5 ml de solution d'acide perchlorique (10% v/v dans l'eau), homogénéisé et centrifugé pendant 5 min, 4 °C, 15 000 rpm. Enfin, une aliquote de 500 µL de surnageant a été diluée au 1:10 dans de l'eau distillée pour atteindre la concentration finale. Les AGV ont été extraits avec 75 µm de fibre carboxen/polydiméthylsiloxane pendant 10 min d'équilibrage, 70 °C, et 30 min d'extraction. Les analytes obtenus ont été désorbés en phase gazeuse à 250 °C pendant 10 min, y compris le nettoyage des fibres.

1.5. Analyse statistique

Toutes les analyses de données sur le microbiote ont été effectuées en R v4.0.3 (Boston, MA, USA). Les indices de diversité alpha utilisés étaient les OTU observées et Chao1, Simpson et Shannon. Les distances Unifrac pondérées et non pondérées ont été calculées sur les OTU raréfiées. L'ampleur de l'effet de l'analyse discriminante linéaire (LEfSe) entre groupes a été calculée (Segata et al., 2011). Une analyse multivariée a été réalisée à l'aide de MaAsLin (<https://huttenhower.sph.harvard.edu/maaslin/>) pour étudier les associations entre les abondances microbiennes et les AGV fécaux.

2. RESULTATS

2.1. Microbiote intestinal

Les régimes alimentaires n'ont pas affecté la communauté microbienne intestinale au niveau des familles. Chez tous les porcs, les familles les plus représentatives étaient *Prevotellaceae*, *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Veillonellaceae* et *Lactobacillaceae*. Aucune différence significative dans les indices de diversité alpha ou bêta n'a été observée entre les groupes. Différentes bactéries comme biomarqueurs potentiels entre les trois groupes ont été identifiées à la fin de l'expérience (Figure 1).

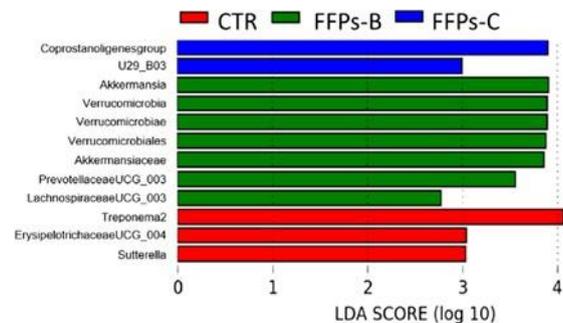


Figure 1 – Analyse discriminante linéaire (ADL) couplée à des mesures de la taille de l'effet (LEfSe)

2.2. Teneur en acides gras volatils intestinaux, et corrélations avec le microbiote intestinal

Aucune différence significative ($P > 0,05$) n'a été trouvée entre les traitements alimentaires pour les acides gras volatils acétate, propionate, butyrate et valérate quantifiés dans le contenu intestinal. Comme indiqué dans la figure 2, le genre *Ruminococcaceae UCG-008* était corrélé positivement ($P < 0,01$) avec la concentration d'acétate intestinale. En revanche les genres *Oscillospira* et *Lachnoanaerobaculum* ont montré une corrélation négative ($P < 0,01$) avec la concentration intestinale de valérate.

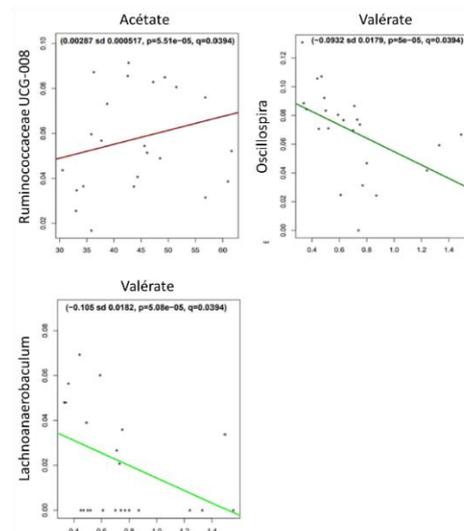


Figure 2 – Corrélations entre des taxons bactériens spécifiques de l'intestin du porc et l'acétate et le valérate intestinaux

CONCLUSION

Aucune différence significative n'a été observée entre les FFPs-C, FFPs-B et le régime standard sur la composition du microbiote intestinal et la concentration intestinale en AGV. Des modifications mineures dans des taxons bactériens spécifiques suggèrent une croissance potentiellement limitée de bactéries possiblement pathogènes avec les FFPs-C et FFPs-B. Les résidus industriels peuvent donc remplacer partiellement les céréales pour des régimes durables chez les porcs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Fiori J., Turrone S., Candela M., Brigidi P., Gotti R., 2018. Simultaneous HS-SPME GC-MS determination of short chain fatty acids, trimethylamine and trimethylamine N-oxide for gut microbiota metabolic profile. *Talanta*. 189, 573-578.
- McGuire S., 2015. The State of Food Insecurity in the World 2015: Meeting the 2015 International Hunger Targets: Taking Stock of Uneven Progress. *Advances in Nutrition*. 6, (5), 623-624.
- Segata N., Izard J., Waldron L., Huttenhower C., 2011. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biol*. 12, R60