



HAL
open science

Alternatives à l'utilisation d'animaux fistulés pour les essais de fermentation ruminale in vitro

Vincent Niderkorn, Didier Macheboeuf, Angélique Torrent, Evelyne Forano,
Frédérique Chaucheyras-Durand

► **To cite this version:**

Vincent Niderkorn, Didier Macheboeuf, Angélique Torrent, Evelyne Forano, Frédérique Chaucheyras-Durand. Alternatives à l'utilisation d'animaux fistulés pour les essais de fermentation ruminale in vitro. Master. Lempdes, France. 2023. hal-04733351

HAL Id: hal-04733351

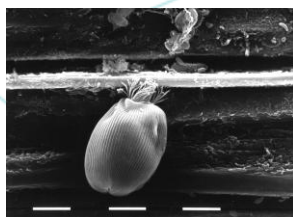
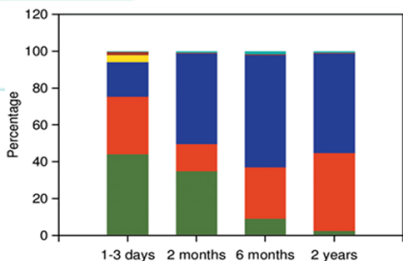
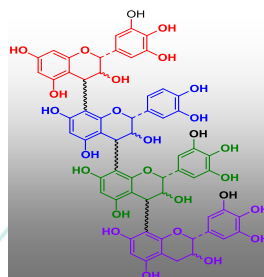
<https://hal.inrae.fr/hal-04733351v1>

Submitted on 12 Oct 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

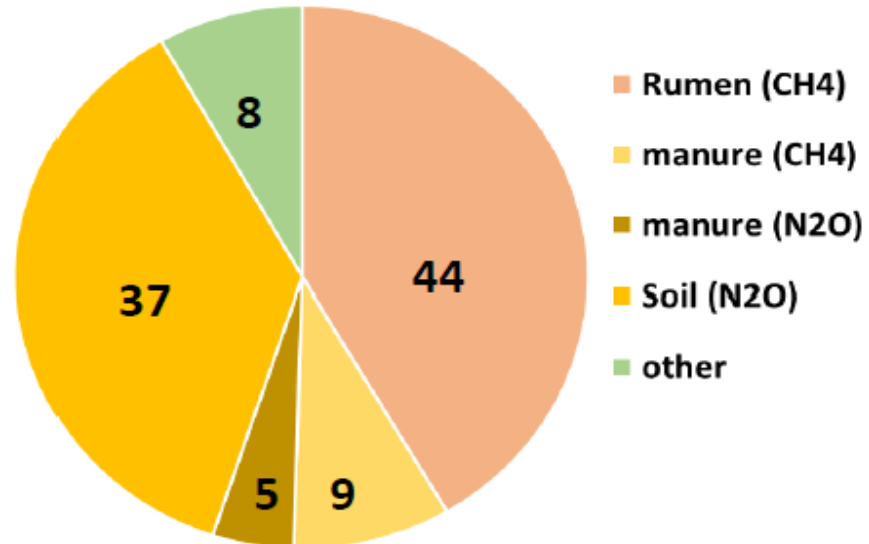
Alternatives à l'utilisation d'animaux fistulés pour les essais de fermentation ruminale *in vitro*



V. Niderkorn, D. Macheboeuf, A. Torrent, E. Forano, F. Chaucheyras-Durand et al.
UMR Herbivores, UMR Medis, Lallemand SA

Intérêts des fermentations ruminales *in vitro*

Principales sources de GES en élevage



European Environment Agency (2019)

- Méthane (CH₄) entérique (rumen)
- Protoxyde d'azote (N₂O) (transformation de l'azote apporté ou rejeté dans les sols)

➤ Parmi les leviers de mitigation: solutions alimentaires

Mimer la digestion ruminale et mesurer l'activité de l'écosystème microbien ruminal dans différentes situations

Mesurer l'effet de solutions alimentaires sur des indicateurs des 2 principaux GES liés aux ruminants (CH₄ et NH₃)

- En conditions contrôlées
- Sans/Avant avoir recours à des essais *in vivo* d'alimentation
- **Comparer** un grand nombre d'échantillons (screenings)
- **Elucider** des mécanismes d'action

Méthodologie de référence

FERMENTATION RUMINALE *in vitro*

Plantes ou rations de base
+ Extraits de plantes, additifs, molécules ...

- Incubation 24h en fermenteur dans mélange de fluide ruminal et salive artificielle
- Conditions simulant l'environnement ruminal (pH, anaérobiose, agitation, 39°C)



MESURE

^S *Paramètres fermentaires*

- Dégradabilité MS & macro-constituants
- Production de gaz et composition (CH_4 , CO_2)
- Produits fin de fermentation des fibres, sucres -> AGV
- Indicateur dégradation des protéines (NH_3) --> N_2O

Paramètres microbiologiques

- Analyse communautés microbiennes



Méthode basée sur un inoculum représentatif de l'écosystème microbien ruminal (complexité)
Référence = prélèvement de contenu ruminal grossièrement filtré (animaux fistulés)

Alternatives pour l'obtention de l'inoculum

1. Prélever autrement

- *Avec une sonde gastro-oesophagienne*

Caractère invasif ? Effet de dilution (salive) ?
Impact sur fermentations ?

- *A l'abattoir*

Ethique ? Maitrise du régime des animaux ?
Répétabilité ?

2. Conserver des inoculum prélevés à l'abattoir

- *Congélation*

Intégrité de l'écosystème microbien ?
Activités microbiennes ?

3. Reconstituer et maintenir des inoculum

- *Culture continue*

Représentativité ? Main d'œuvre ?



Travaux en cours (Alterfi)

Prélèvement par sonde gastro-oesophagienne

Essais de fermentations *in vitro* avec différents modes de prélèvement de l'inoculum

- Méthode de référence (canule rumen)
- Sonde gastro-oesophagienne



INRAE



Équipe « Ruminant »
Sandra POINT

Analyse des paramètres fermentaires lors de la fermentation de substrats contrastés

- 6 substrats « ration » : 3 rations complètes riches en fibres et 3 rations acidogènes
- 6 substrats « fourrage » : 2 graminées, 3 légumineuses et 1 foin de prairie permanente



Quelles différences ?

Prélèvement par sonde gastro-oesophagienne

	Effet substrat	Effet type de prélèvement	Effet substrat × type de prélèvement
Prog gaz-24h	***	**	NS
CH ₄ , %	***	***	NS
<i>Dégradabilité</i>			
MS	***	NS	NS
NDF	***	NS	NS
ADF	***	NS	NS
<i>AGV</i>			
Totaux	***	NS	NS
Acetate	***	NS	NS
Propionate	***	NS	NS
Butyrate	***	NS	NS
Isobutyrate	***	***	NS
Valerate	***	NS	NS
Isovalerate	***	***	NS
NH ₃	***	*	NS

*** P<0.001, **P<0.01, *P<0.05, NS : non significatif

Conservation d'inoculum par congélation

Trouver des conditions de conservation d'échantillons ruminants (en cours)

- **Stables** dans le temps
 - Permettant de garder des **activités microbiennes** aussi proches que possible de l'échantillon de départ (non conservé)
-
- Tests avec échantillons ruminants bovins
 - Test de différentes conditions de congélation/décongélation
 - Impact sur la composition du microbiote dans le temps
 - Impact sur la fermentation ruminale de différents substrats *in vitro*



Conservation d'inoculum par congélation

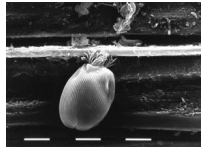
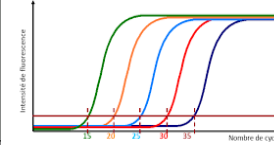
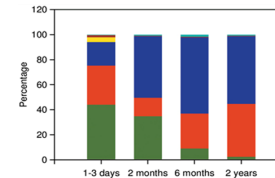
Paramètres testés

- Mode de congélation -20°C, -80°C, N₂ liquide puis -80°C
- Ajout de différents cryoprotecteurs
- Temps de conservation : 1, 6 et 12 mois
- Différentes températures de décongélation



Analyse communauté microbienne

Métataxonomie 16S/18S, qPCR, culture, comptage protozoaires



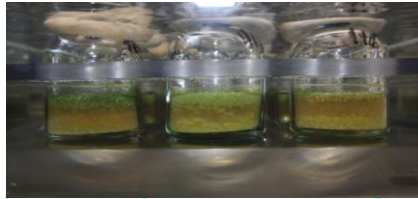
Fermentations *in vitro* (paramètres fermentaires)



- 1) Étude de la phase de latence induite par la congélation et détermination des conditions de conservation
- 2) Effet de la durée de conservation de l'inoculum
- 3) Validation de la méthode de fermentation avec de l'inoculum conservé sur une gamme de 30 substrats



RESULTATS / CHOIX METHODOLOGIQUES POUR 2025



Merci pour votre attention

