HAL open science

Influence des conditions de logement sur la production et le stockage du scatol et de l'indole chez le porc mâle entier

Séverine Parois, Olivier Zemb, Armelle Prunier

To cite this version:

Séverine Parois, Olivier Zemb, Armelle Prunier. Influence des conditions de logement sur la production et le stockage du scatol et de l'indole chez le porc mâle entier. 49. Journées de la Recherche Porcine, Jan 2017, Paris, France. IFIP - Institut du Porc, Journées de la Recherche Porcine en France, 2017, Journées de la Recherche Porcine en France. hal-01608261

HAL Id: hal-01608261

https://hal.science/hal-01608261v1

Submitted on 2 Jun 2020

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.

2017. Journées Recherche Porcine, 49, 163-168.

Influence des conditions de logement sur la production et le stockage du scatol et de l'indole chez le porc mâle entier

Séverine PAROIS (1), Olivier ZEMB (2), Armelle PRUNIER (1)

(1) PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, 35590 Saint-Gilles, France
(2) GenPhyse, INRA, INPT, INPT-ENV, Université de Toulouse , 31326 Castanet-Tolosan, France

armelle.prunier@inra.fr

Influence des conditions de logement sur la production et le stockage du scatol et de l'indole chez le porc mâle entier

Le scatol et l'indole participent à l'odeur désagréable présente dans le tissu gras chez certains porcs mâles entiers. Ces molécules sont synthétisées par des bactéries dans le colon. Les conditions d'hygiène pourraient influencer leur concentration dans le gras. L'étude porte sur 115 porcs croisés Piétrain x (Large White x Landrace), élevés pendant 4 à 6 semaines dans deux conditions d'hygiène contrastées : une salle sale et une salle propre. Le traitement est appliqué entre 81±6 kg (139±1 jours d'âge) et 117±5 kg de poids vif (173±5 jours d'âge). Les animaux sont plus sales en salle sale que propre (P < 0,01). Les concentrations en scatol (0,28±0,02 *vs.* 0,05±0,02 µg/g de gras liquide, P < 0,01) et en indole (0,071±0,004 *vs*. 0,038±0,004 µg/g de gras liquide, P < 0,05) sont plus élevées en salle sale que propre. Par contre, les conditions d'hygiène n'ont pas d'effet sur les concentrations en scatol et en indole dans les contenus digestifs prélevés en milieu de colon. Les effets du traitement sur la composition en acides gras volatiles des contenus digestifs prélevés au même site diffèrent d'une répétition à l'autre. La composition du microbiote au même site diffère entre les deux traitements. Ce sont essentiellement des bactéries appartenant au phylum *Firmicutes* qui expliquent la différence. L'abondance relative en *Lactobacillus helveticus*, bactérie productrice de scatol, est plus élevée en salle sale que propre même si la différence n'est significative qu'après 4 semaines de traitement. Une modification du microbiote intestinal mais aussi une absorption accrue de scatol et d'indole par ingestion, inhalation ou *via* la peau pourrait expliquer l'augmentation de la concentration en composés indolés du gras des porcs élevés en salle sale.

Influence of degraded hygiene measures on the production and storage of skatole and indole of entire male pigs

Skatole and indole are involved in the problem of boar taint in entire male pigs. These molecules are produced by bacteria in the hind gut. The hygiene conditions could influence the skatole and indole levels in the fat of boars. The study was based on 115 Pietrain x (Large White x Landrace) crossbred boars, raised for 4 to 6 weeks in two contrasted hygiene conditions: a dirty and a clean room. Treatment was applied between 81±6 kg (139±1 days of age) and 117±5 kg of live weight (173±5 days of age). Pigs were dirtier in the dirty room compared with the clean one (P < 0.01). Concentrations of skatole (0.28±0.02 *vs.* 0.05±0.02 µg/g of liquid fat, P < 0.01) and indole (0.071±0.004 *vs*. 0.038±0,004 µg/g of liquid fat, P < 0.05) were higher in the dirty room. However, the hygiene conditions had no effect on the concentrations of skatole and indole in the gut contents sampled in the middle of the hindgut. Treatment effect on the volatile fatty acids composition of gut contents at the same location differed from one repetition to the next. The gut microbial composition at the same location was different for the two treatments. The difference was essentially due to bacteria belonging to the phylum *Firmicutes*. The relative abundance of *Lactobacillus helveticus*, a bacterium that produces skatole, was higher in the dirty room compared with the clean one even if the difference was significant only at four weeks of treatment. A change in gut microbiota but also an increased absorption of skatole and indole by ingestion, inhalation or through the skin could explain the higher fat concentration of both indolic compounds in the pigs maintained in the dirty environment.

INTRODUCTION

L'élevage de porcs mâles entiers est une alternative prometteuse à la castration chirurgicale des porcelets (Prunier et Bonneau, 2006). Bien que cette solution offre des avantages importants en termes économiques et de bien-être animal, la présence d'odeurs sexuelles dans la viande reste un problème majeur. Ces odeurs proviennent principalement de trois molécules : l'androsténone, le scatol et l'indole (Lundström *et al.*, 2009). Contrairement à l'androsténone qui est produit par les testicules, le scatol et l'indole sont synthétisés dans le colon par des bactéries à partir du L-tryptophane. Ces molécules sont ensuite stockées dans le tissu adipeux compte tenu de leurs propriétés lipophiles (Deslandes *et al.*, 2001).

Hansen *et al*. (1994) ont montré que des porcs mâles entiers, élevés à forte densité dans des loges sales, présentaient des concentrations en scatol du tissu gras plus fortes. Même si une étude plus récente n'a pas montré de différence significative des teneurs en scatol et indole du gras entre des porcs nettoyés ou salis quotidiennement avec des fèces (Aluwé *et al.*, 2011), l'effet de la propreté des loges mérite d'être à nouveau évalué car plusieurs travaux suggèrent que la présence de déjections en grande quantité favorise l'accumulation de composés indolés dans le tissu gras. Ainsi, Wesoly et al. (2016) ont montré l'existence d'une absorption des composés indolés *via* la peau. De plus, Bray et Carlson (1980) ont mis en évidence une absorption de ces composés volatiles *via* le système respiratoire. Par ailleurs, on peut envisager une ingestion des composés indolés contenus dans les fèces. Enfin, il a été montré que le microbiote intestinal de porcs placés dans des loges où les fèces ne sont pas enlevées régulièrement est modifié par rapport à ceux maintenus dans des loges propres (Le Floc'h *et al.*, 2014).

Les objectifs de notre étude sont d'évaluer, chez le porc mâle entier, l'effet de conditions d'hygiène dégradée sur les concentrations en scatol et en indole du tissu adipeux et des contenus digestifs. Les compositions en acides gras volatiles (AGV) des contenus digestifs et du microbiote intestinal sont évaluées en parallèle.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux et conduite d'élevage

Cette étude a été réalisée sur 115 porcs mâles entiers croisés de type Piétrain x (Large White x Landrace), élevés en deux répétitions (R1 : n = 56 ; R2 : n = 59), au sein de l'Unité Expérimentale Porcs de l'INRA à Saint-Gilles (35590).

Les détails de la conduite des animaux sont développés dans l'article de Parois *et al*. (2016). De façon succincte, les porcs issus de 30 portées sont transférés, à 69 jours d'âge, dans un bâtiment d'engraissement où ils sont d'abord logés par paires puis individuellement. A 81,3 ± 5,9 kg de poids vif (139,0 ± 0,9 jours d'âge) (= J0), les porcs sont répartis dans deux salles aux conditions d'hygiène contrastées (Propre : n = 54 ; Sale : n = 61) en équilibrant le poids vif et en répartissant les portées d'origine. Le traitement dure de 4 à 6 semaines jusqu'à atteindre 116,7 ± 4,5 kg de poids vif (172,9 ± 4,8 jours d'âge). Les animaux sont nourris avec un aliment de composition standard (15,3% de MAT, 12 640 kJ de ME, et 9,5 g de lysine par kilogramme d'aliment) et reçoivent au maximum 3 kg/jour. Ils ne reçoivent aucun antibiotique.

Le modèle de salles propre et sale correspond à celui développé par Le Floc'h *et al*. (2014). Brièvement, la salle sale est salie, au préalable, par des porcs d'autres bandes, et a une ventilation réduite. Aucun nettoyage des fèces et de l'urine avant et pendant la phase expérimentale n'est effectué. A l'opposé, la salle propre est désinfectée avant l'entrée des animaux, nettoyée quotidiennement, ventilée correctement, l'accès à la salle est restreint et les soigneurs revêtent des tenues particulières pour y entrer. De plus, la salle sale est complétée avec des porcs non contemporains, tandis que la salle propre n'est pas remplie entièrement.

1.2. Prélèvements et mesures

1.2.1. *Sur animaux vivants*

Les porcs sont pesés à J0, J27 et avant le départ pour l'abattoir. La durée entre le retrait de l'aliment (11h00 la veille de l'abattage) et l'abattage est enregistrée. Un score de salissure est attribué avant le traitement (J-1 et J0), chaque semaine entre J7 et J27, et juste avant le départ à l'abattoir (J28, J35 ou J42). Le score varie de 0 (< 10% du corps sali) à 4 (>75% du corps sali) pour chacun des côtés. Les notes des deux côtés sont additionnées puis les moyennes avant et pendant le traitement sont calculées et utilisées pour l'analyse statistique.

1.2.2. *Sur animaux abattus*

Des échantillons de contenus digestifs sont prélevés dans le colon ascendant : au début à la jonction entre l'intestin grêle et le cæcum, et au milieu de colon à la jonction entre les parties concentrique et excentrique.

Les échantillons (environ 10 g/porc/site) sont stockés à -20°C pour l'analyse des concentrations en scatol et en indole par HPLC en adaptant la méthode décrite par Batorek *et al*. (2012). L'analyse s'effectue sur le surnageant obtenu après mélange de 0,5 g de contenu digestif dans 2 ml de méthanol, immersion dans un bain d'ultrasons pendant 5 minutes et centrifugation pendant 20 minutes à 4200 g à 4°C puis ajout d'une solution d'extraction (méthanol et étalon interne). Ces mesures ne sont effectuées que sur un échantillon de 45 et 77 porcs, respectivement pour le début et le milieu du colon. Ces porcs ont été sélectionnés en se basant sur leur concentration en scatol dans le tissu gras, afin d'éviter de travailler sur un grand nombre de porcs avec des concentrations négligeables. D'autres échantillons collectés dans le milieu du colon (environ 3 g/porc) sont stockés à -20°C après addition d'acide phosphorique pour réaliser une analyse de la composition en acides gras volatiles (AGV) par chromatographie en phase gazeuse (Jouany *et al.*, 1981). La limite de détection est de 0,01 mmol/l. Pour chaque AGV (acétate, propionate, butyrate, isobutyrate, valerate, isovalerate), on calcule le pourcentage par rapport au total. Les mesures sont faites sur les 115 porcs. L'ADN 16S microbien est extrait à partir d'échantillons de 200 mg de contenu digestif prélevé dans le milieu du colon et stockés à -80°C. L'extraction est réalisée grâce au kit ZR Fecal DNA MiniPrep® (Zymo Research Corporation, Irvine, CA, USA). Les extraits sont ensuite amplifiés, puis les produits de la PCR sont purifiés et déposés sur la puce Illumina MiSeq (Illumina Inc., San Diego, CA, USA). Les 18 123 séquences sont alors nettoyées et une clusterisation est effectuée par usearch (v8.1.1861) pour créer les unités taxonomiques opérationnelles (OTU), les singletons sont éliminés (Edgar, 2010). Ces mesures sont effectuées sur les 77 porcs utilisés pour la mesure des composés indolés dans le milieu du colon à l'exception de deux porcs de la salle sale.

Un morceau de gras dorsal est collecté dans la région du cou des porcs afin de mesurer les concentrations en scatol et en indole par HPLC (Batorek *et al*., 2012). La limite de détection du scatol et de l'indole est de 0,03 µg/g de gras liquide.

1.2.3. *Analyses statistiques*

Les analyses statistiques sont réalisées à partir du logiciel statistique R (R Core Team, 2015). Les valeurs des limites de détection sont attribuées aux échantillons en-dessous de ces limites. Les analyses de variance sont réalisées avec la fonction Anova du package « car » en utilisant des modèles linéaires (Fox et Weisberg, 2011). Le modèle inclut : le traitement expérimental (salles sale ou propre), la répétition (1 ou 2) et la durée totale du traitement (courte : 28 jours ou longue : 35 ou 42 jours, regroupés pour équilibrer les effectifs sachant que des analyses préalables n'ont pas montré de différence claire) en effets fixes, et la durée de la mise à jeun avant abattage (21 à 27,75 h) en covariable, toutes les interactions entre le traitement et la répétition ou les deux durées. Un effet ou une interaction est retiré du modèle si $P > 0,1$. Lorsque les interactions traitement x répétition et traitement x durée du traitement sont significatives, des comparaisons multiples sont ensuite réalisées avec la fonction lsmeans du package lsmeans avec un ajustement de Scheffe (Lenth et, Hervé, 2015). La différence de teneur en composés indolés entre les deux sites du colon est analysée avec un test de Student apparié.

L'effet du traitement expérimental sur le microbiote intestinal est testé par une analyse discriminante en composantes principales (DAPC), en gardant les 42 premières dimensions et en effectuant 500 randomisations, en utilisant la méthode du a-score intégré pour déterminer l'importance statistique de la séparation (Jombart *et al.*, 2010). Le 16S partiel de six bactéries (*Clostridium aminophilum, disporicum, drakei,* and *scatologenes; Lactobacillus helveticus; Olsenella scatoligenes*) identifiées comme étant des productrices potentielles de scatol (Deslandes *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2015; Wesoly et Weiler, 2012) a été cartographié sur les séquences étudiées afin de connaître leurs abondances relatives chez les porcs étudiés. Pour deux d'entre elles, la distribution est normale, ce qui a permis de réaliser des analyses de variance en utilisant les modèles décrits précédemment.

2. RESULTATS

2.1. Performances, état de salissure des porcs et teneur en composés indolés du tissu gras de l'ensemble des porcs

Le traitement expérimental n'a pas d'effet significatif sur le poids vif ou l'âge des animaux (Tableau 1). Le score de salissure des porcs de la salle sale pendant le traitement est supérieur à celui de ceux de la salle propre ($P < 0,001$) (Tableau 1). L'interaction traitement x répétition est significative pour cette dernière variable mais la comparaison des moyennes deux à deux montre que le score de salissure est plus élevé en salle sale que propre dans les deux répétitions ($P < 0,001$) même si la différence est plus marquée en répétition 1 que 2.

Tableau 1 – Effet du traitement expérimental (Trt : Propre, n = 61 *vs.* Sale, n = 54) appliqué à partir de J0, de la répétition (Rep : 1 *vs.* 2), de la durée totale du traitement (dTrt, courte : 28 jours *vs.* longue : 35 ou 42 jours), de la durée de la mise à jeun (dJeun : 21 à 27,75 h), et des interactions entre ces facteurs de variation sur les performances, le score de salissure (SS), la composition en acides gras volatiles du contenu digestif en milieu de colon, les concentrations en scatol et en indole du tissu gras dorsal

Variables	Propre[1]	Sale[1]	Trt[2]	Rep[2]	Rep *Trt[2]	dTrt[2]	dTrt *Trt[2]	dJeun[2]	dJeun *Trt[2]
Âge J0 (jours)	138,9 ± 0,1	139,1 ± 0,1	0,088	**1,8e-03**	> 0,1	> 0,1	0,082	> 0,1	> 0,1
Âge abattage (jours)	172,5 ± 0,3	172,1 ± 0,3	> 0,1	> 0,1	> 0,1	**<2e-16**	> 0,1	**2,2e-03**	> 0,1
Poids J0 (kg)	82,1 ± 0,5	81,8 ± 0,5	> 0,1	**6,8e-07**	> 0,1	**<2e-16**	> 0,1	0,080	> 0,1
Poids J27 (kg)	111,2 ± 0,5	111,6 ± 0,5	> 0,1	0,059	> 0,1	**<2e-06**	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Poids abattage (kg)	116,9 ± 0,5	117,2 ± 0,5	> 0,1	**4,6e-06**	> 0,1	**4,9e-08**	> 0,1	**3,9e-03**	> 0,1
SS J-1 et J0	2,5 ± 0,4	3,1 ± 0,4	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
SS de J7 à 27 et abattage	6,4 ± 0,8	24,0 ± 0,8	**<2e-16**	> 0,1	**1,3e-03**	**0,027**	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Acétate (%)	58,8 ± 0,3	59,1 ± 0,3	**0,016**	**0,022**	**1,5e-04**	**5,9e-08**	> 0,1	> 0,1	**0,041**
Propionate (%)	19,9 ± 0,2	19,9 ± 0,2	0,095	0,14	**8,9e-03**	0,069	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Isobutyrate (%)	3,5 ± 0,09	3,3 ± 0,09	0,11	**<2e-16**	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Butyrate (%)	11,1 ± 0,2	11,2 ± 0,2	**0,046**	> 0,1	**5,6e-03**	**5,0e-05**	> 0,1	**0,016**	0,073
Isovalérate (%)	4,0 ± 0,09	3,9 ± 0,1	> 0,1	**0,041**	> 0,1	> 0,1	> 0,1	**3,9e-04**	> 0,1
Valérate (%)	2,7 ± 0,06	2,6 ± 0,06	> 0,1	**7,9e-03**	> 0,1	**3,5e-04**	> 0,1	**1,5e-04**	> 0,1
Scatol (µg/g)	0,052 ± 0,02	0,279 ± 0,02	**1,1e-05**	> 0,1	**1,8e-03**	**0,038**	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Indole (µg/g)	0,038 ± 0,004	0,071 ± 0,004	**0,038**	> 0,1	> 0,1	> 0,1	**0,020**	> 0,1	> 0,1

*[1]Moyennes ajustées ± Erreurs standards de la moyenne ajustée. [2]Valeurs de la P. Le modèle statistique est un modèle linéaire. En **gras** : P < 0,05.*

Le traitement expérimental a un effet significatif sur les teneurs en scatol et en indole dans le tissu gras (Tableau 1). L'interaction avec la répétition est significative pour le scatol mais pas pour l'indole. La comparaison des moyennes de scatol deux à deux montre que la teneur est plus élevée en salle sale qu'en salle propre dans les deux répétions ($P < 0,001$) même si la différence est plus marquée en répétition 2 que 1. La durée du traitement a une influence significative sur les teneurs en scatol et en indole du tissu gras (Tableau 1). Ces teneurs augmentent avec la durée du traitement. Par contre, la durée de la mise à jeun n'a pas d'effet sur ces teneurs ($P > 0,1$).

Si l'on considère le seuil d'acceptabilité de 0,2 µg/g de tissu gras pour le scatol (Babol et Squires, 1995), 27,8% des carcasses de la salle sale auraient été déclassées contre 0% en salle propre.

2.2. Teneurs en AGV des contenus digestifs

L'interaction entre le traitement et la répétition est significative pour l'acétate, le propionate et le butyrate (Tableau 1).

La comparaison des moyennes deux à deux montre que l'effet du traitement est significatif seulement en répétition 1 pour l'acétate (propre : 58,2 *versus* sale : 60,0%, *P* = 0,02). Pour le propionate et le butyrate, les effets du traitement s'inversent d'une répétition à l'autre. Pour les autres AGV, l'interaction traitement x répétition n'est pas significative de même que l'effet du traitement. En revanche, la répétition a un effet significatif sur l'isobutyrate, le valérate et l'isovalérate (Tableau 1) avec des pourcentages plus faibles pour les deux acides gras volatiles iso mais un pourcentage plus élevé pour le valérate en répétition 2 par rapport à la 1. Le butyrate et le valérate diminuent de façon significative avec la durée totale du traitement, tandis que l'acétate augmente. Par ailleurs, le pourcentage en butyrate diminue tandis que celui en isobutyrate et en valérate augmente avec la durée du jeûne. Le pourcentage d'acétate diminue en salle sale mais augmente en salle propre avec la durée du jeûne.

2.3. Teneurs en composés indolés dans les contenus digestifs

Le sous-groupe de porcs utilisés pour ces mesures est proche de l'ensemble des porcs pour l'âge et le poids vif à l'abattage ainsi que les teneurs en composés indolés du tissu gras (Tableaux 1 et 2).

Tableau 2 – Effet, sur un sous-groupe de porcs, du traitement expérimental (Trt : Propre, n = 44 *vs.* Sale, n = 33) appliqué à partir de J0, de la répétition (Rep : 1 *vs.* 2), de la durée totale du traitement (dTrt, courte : 28 jours *vs.* longue : 35 ou 42 jours), de la durée de la mise à jeun (dJeun : 21 à 27,75 h), et des interactions entre ces facteurs de variation sur les performances, le score de salissure (SS), les concentrations en scatol et en indole du tissu gras dorsal et du milieu du colon ascendant

Variables	Propre[1]	Sale[1]	Trt[2]	Rep[2]	Rep *Trt[2]	dTrt[2]	dTrt *Trt[2]	dJeun[2]	dJeun *Trt[2]
Âge J0 (jours)	138,9 ± 0,1	139,0 ± 0,1	> 0,1	**8,4e-03**	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Âge abattage (jours)	172,8 ± 0,4	172,1 ± 0,4	> 0,1	> 0,1	> 0,1	**<2e-16**	0,094	**4,1e-03**	> 0,1
Poids J0 (kg)	81,7 ± 0,5	80,8 ± 0,6	> 0,1	**1,2e-03**	0,079	**3,0e-12**	**0,017**	> 0,1	> 0,1
Poids abattage (kg)	116,9 ± 0,6	116,8 ± 0,7	> 0,1	**6,5e-04**	> 0,1	**6,9e-05**	> 0,1	**7,4e-03**	> 0,1
SS J-1 et J0	2,6 ± 0,4	3,2 ± 0,5	**0,021**	> 0,1	**0,029**	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
SS de J7 à 27 et abattage	7,2 ± 0,8	24,1 ±1,0	**7,9e-13**	> 0,1	**1,7e-03**	**0,017**	0,089	> 0,1	> 0,1
Scatol tissu gras (µg/g)	0,060 ± 0,019	0,28 ± 0,023	**6,0e-04**	> 0,1	**0,014**	0,060	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Indole tissu gras (µg/g)	0,041 ± 0,005	0,071 ± 0,006	0,071	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,063	> 0,1	0,050
Scatol milieu colon (µg/g)	8,3 ± 0,5	8,0 ± 0,6	> 0,1	**0,020**	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Indole milieu colon (µg/g)	6,2 ± 0,3	6,8 ± 0,3	0,16	> 0,1	> 0,1	**9,8e-03**	> 0,1	**0,013**	> 0,1

*[1]Moyennes ajustées ± Erreurs standards de la moyenne ajustée. [2]Valeurs de la p-value. Le modèle statistique est un modèle linéaire. En **gras** : P < 0,05.*

La concentration en scatol est plus faible (*P* < 0,0001) dans les deux salles en début (Propre : 4,0 ± 0,4 µg/g, n = 30 ; Sale : 3,0 ± 0,5 µg/g, n = 15) qu'en milieu de colon (Propre : 8,3 ± 0,6 µg/g, n = 30 ; Sale : 8,2 ± 0,5 µg/g, n = 15) (données non montrées) alors que celle d'indole ne varie pas (*P* > 0,1). Compte tenu d'un nombre insuffisant de mesures en début de colon, d'autres analyses statistiques n'ont pas été effectuées à ce niveau. L'interaction traitement x répétition ou l'effet du traitement ne sont jamais significatifs pour les teneurs des contenus digestifs en indole ou en scatol au milieu du colon (Tableau 2). La concentration en scatol en milieu de colon est supérieure en répétition 1 par rapport à la répétition 2 alors que celle de l'indole n'est pas influencée par la répétition. La concentration en scatol n'est pas influencée par la durée du traitement ou celle du jeûne alors que celle de l'indole l'est (Tableau 2). Cette dernière diminue avec la durée du traitement et celle du jeûne.

2.4. Caractéristiques du microbiote intestinal

Une DAPC sur les abondances relatives des OTUs (Unité Taxonomique Opérationnelle) présents chez les porcs mâles entiers a permis de distinguer significativement les deux groupes de porcs (Figure 1). Les treize OTUs qui contribuent le plus à la DAPC suffisent à séparer significativement les porcs des deux salles. Ce sont principalement des bactéries appartenant au phylum *Firmicutes* (8 sur 13).

Parmi les six espèces de bactéries identifiées comme étant productrices potentielles de scatol, *Olsenella scatoligenes*, *Clostridium aminophilum, drakei* et *scatologenes* sont absentes ou présentent des abondances relatives négligeables dans la population de porcs mâles entiers étudiée (Tableau 3).

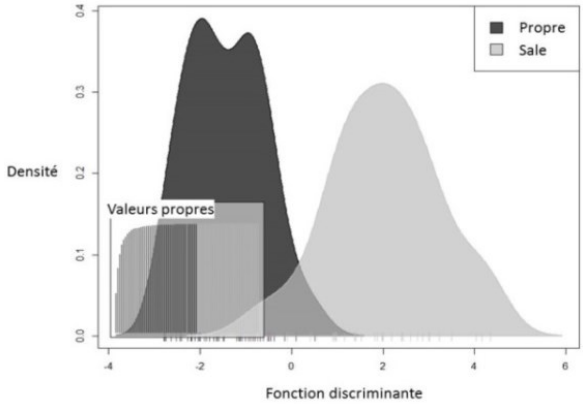

Figure 1 – Séparation des deux groupes par DAPC, avec les 42 premières dimensions, basée sur les OTUs observées chez les porcs mâles entiers soumis au traitement expérimental (Propre n = 44 *vs.* Sale n = 31).

Les deux autres espèces, *Clostridium disporicum* et *Lactobacillus helveticus,* sont présentes chez tous les individus (Tableau 3). L'interaction entre le traitement et la durée totale du traitement est significative pour la bactérie *Lactobacillus helveticus*. Le traitement a un effet significatif uniquement lorsque la durée de traitement est courte (28 j), avec des porcs en salle sale ayant une abondance relative supérieure. Concernant *Clostridium disporicum*, l'effet de la répétition et de la durée totale du traitement sont significatifs (Tableau 3) : l'abondance relative est plus élevée en répétition 1 que 2, et elle augmente avec la durée du traitement.

Tableau 3 – Effet du traitement expérimental sur un sous-échantillon de porcs (Trt : Propre, n = 44 *vs.* Sale, n = 31) appliqué à partir de J0, de la répétition (Rep : 1 *vs.* 2), de la durée totale du traitement (dTrt, courte : 28 jours *vs.* longue : 35 ou 42 jours), de la durée de la mise à jeun (dJeun : 21 à 27,75 h), et des interactions entre ces facteurs de variation sur les abondances relatives, dans le contenu digestif prélevé au milieu du colon ascendant, de six bactéries connues pour produire du scatol

Variables[3]	Propre[1]	Sale[1]	Trt[2]	Rep[2]	Rep*Trt[2]	dTrt[2]	dTrt*Trt[2]	dJeun[2]	dJeun*Trt[2]
L. helveticus	0,064 ± 0,009	0,14 ± 0,01	**5,2e-07**	> 0,1	> 0,1	**0,016**	**2,5e-03**	> 0,1	> 0,1
C. aminophilum	Présente en quantité négligeable								
C. disporicum	0,060 ± 0,008	0,071 ± 0,009	> 0,1	**0,016**	> 0,1	**1,2e-03**	> 0,1	> 0,1	> 0,1
C. drakei	Présente en quantité négligeable								
C. scatologenes	Absente dans la population de porcs								
O. scatoligenes	Absente dans la population de porcs								

*[1]Moyennes ajustées ± ESM ajustées. [2]Valeurs de la p-value. Le modèle statistique est un modèle linéaire. En **gras** : P < 0,05. [3]C. = Clostridium ; L. = Lactobacillus ; O. = Olsenella.*

3. DISCUSSION

Nos résultats montrent une augmentation marquée des concentrations en scatol et en indole du tissu gras ainsi qu'une modification du microbiote intestinal en situation d'hygiène dégradée. L'influence des conditions d'hygiène sur la composition en AGV et la teneur en composés indolés des contenus digestifs sont moins clairs.

3.1. Comparaison des teneurs en composés indolés entre sites intestinaux et effet de la durée du jeûne

Il existe un gradient des concentrations en composés indolés dans le tube digestif du porc avec une augmentation des concentrations le long du colon (Knarreborg *et al*., 2002). Dans notre étude, cette augmentation est visible entre le début et le milieu du colon pour le scatol. Le milieu de colon représente donc, a priori, un site de prélèvement plus approprié pour analyser l'effet du traitement sur la production de scatol.

La durée du jeûne n'affecte pas les teneurs en scatol et en indole du tissu gras, contrairement à ce qui est communément admis. Ceci pourrait être dû au fait que notre fourchette de variation est relativement faible (21 à 27,75 h). Toutefois, le jeûne affecte les contenus digestifs des porcs, comme en témoignent l'évolution des pourcentages en AGV, et la diminution de la concentration en indole dans le colon lorsque la durée du jeûne augmente.

3.2. Influence des conditions de logement sur la teneur en scatol et en indole dans le tissu gras

Malgré l'absence d'impact sur les performances, le développement sexuel et, en particulier, la teneur en androsténone du tissu gras (Parois *et al.*, 2016), les porcs mâles entiers élevés dans des conditions de logement contrastées présentent de fortes variations des concentrations en scatol et en indole du tissu gras avec des valeurs plus grandes pour les porcs élevés en salle sale. Ces résultats sont en conformité avec les études de Hansen *et al*. (1994) et de Wesoly *et al*. (2016) mais en contradiction avec celle de Aluwé *et al*. (2011). Toutefois, dans cette dernière étude, les porcs sont salis « manuellement » en les frottant avec leurs déjections. Ceci n'est pas précisé mais il est très probable, pour des raisons pratiques, que les déjections aient été déposées sur le dos et les flancs et pas sur le ventre. Or, la peau du ventre est beaucoup plus fine et pourrait avoir une capacité d'absorption plus importante. Dans notre étude, toute la surface du sol était salie par les déjections et la peau du ventre des porcs étaient en contact direct avec les déjections lorsqu'ils se couchaient. Une autre explication possible est une absorption augmentée par les poumons en salle sale. Trois arguments vont dans ce sens. D'abord, le scatol peut être présent en concentration relativement élevée dans l'air ambiant des porcheries (Hansen *et al*. 1994) et être absorbé par les poumons puis véhiculé par le sang vers le tissu gras comme cela a été montré chez le lapin (Bray et Carlson, 1990). Ensuite, il est probable que la teneur en scatol ait été augmentée en salle sale du fait de la réduction de la ventilation et de l'augmentation du nombre de porcs présents dans la salle. C'est d'ailleurs ce qu'on observe pour l'ammoniac et le sulfure d'hydrogène (Parois *et al.*, 2016). Une dernière hypothèse qui pourrait expliquer l'augmentation des teneurs du tissu gras en scatol et en indole en salle sale pourrait être l'ingestion plus importante en salle sale de ces composés à partir des excréments. En effet, les excréments sont plus abondants en salle sale et l'observation ponctuelle des animaux suggère qu'ils en ingèrent davantage en salle sale. Par ailleurs, il a été montré que du scatol ingéré par voie orale est absorbé dès l'estomac (Laue *et al.*, 1998).

3.3. Influence des conditions de logement sur les compositions en AGV et en microbiote intestinal

Des modifications liées au traitement expérimental en termes de composition en AGV sont mises en évidence mais elles ne sont pas répétables d'une répétition à l'autre. On note une augmentation du pourcentage en acétate chez les porcs de la salle sale pour la répétition 1 et pas de différence pour la 2. Dans l'étude de Montagne *et al*. (2012), les porcelets étudiés en une seule répétition, présentaient un pourcentage en acétate plus faible et un pourcentage en butyrate plus fort dans la salle sale. Cette divergence entre études pourrait s'expliquer par un effet de type répétition ou par le fait que les animaux sont plus âgés au moment du traitement. Quoiqu'il en soit, les profils sont assez proches dans les deux expériences avec environ 59 à 63% d'acétate et 6 à 11% de butyrate. Dans notre expérience, on observe un effet marqué de la durée du traitement avec une augmentation du pourcentage en acétate et une diminution des pourcentages en butyrate et valérate qui suggère une modification du microbiote due probablement au vieillissement des animaux puisque cet effet est indépendant du traitement expérimental.

La composition du microbiote intestinal des porcs diffère entre les salles propre et sale comme le montre la différence des abondances relatives en bactéries. Cet écart entre les deux salles confirme les résultats de Le Floc'h *et al*. (2014) chez des porcelets en post-sevrage. L'environnement d'élevage semble pouvoir modifier le microbiote intestinal de porcs plus âgés, contrairement à ce qui avait été suggéré par Thomspon *et al*. (2008). Ce sont principalement les abondances relatives de bactéries appartenant au phylum *Firmicutes* qui sont modifiées. Ces modifications pourraient provenir de l'ingestion régulière

des déjections lors notamment de l'expression des comportements fouisseurs. Toutefois, après quatre à six semaines de traitement, le microbiote continue à évoluer comme le montre un effet marqué de la durée du traitement sur l'abondance relative de certaines OTUs et les proportions d'AGV, comme détaillé précédemment.

Concernant les bactéries potentiellement impliquées dans la production de scatol, on observe une augmentation de l'abondance relative en *Lactobacillus helveticus* en salle sale mais l'ampleur de la différence varie avec la durée du traitement : elle est significative pour 4 semaines mais ne l'est plus pour 5 ou 6 semaines. Après avoir été fortement modifié, le microbiote intestinal des porcs de salle sale pourrait avoir évolué pour se rapprocher de celui des porcs en salle propre. Compte tenu du rôle de cette bactérie dans la production de scatol (Deslandes *et al.*, 2001), on peut supposer que l'abondance relative plus élevée explique, au moins en partie, l'augmentation de la production dans le colon et du stockage dans le tissu adipeux du scatol pour les porcs de la salle sale. L'absence de différence de teneur en scatol dans les contenus digestifs entre les deux salles pourrait ne pas être visible malgré une production différente du fait d'une absorption très rapide du scatol à travers la muqueuse intestinale.

CONCLUSION

L'élevage de porcs mâles entiers dans des conditions d'hygiène contrastées aboutit à d'importantes variations des concentrations en scatol dans le tissu gras en défaveur des porcs élevés en conditions dégradées. Cette différence entre les groupes pourrait provenir d'une orientation du microbiote intestinale en faveur de populations bactériennes productrices de scatol, en raison de l'ingestion de fèces par les animaux. Toutefois, ces variations de microbiote s'estompent lorsque la durée de traitement augmente. D'autres facteurs comme une absorption accrue de scatol à travers la peau ou les poumons contribuent probablement à expliquer l'augmentation de la teneur en composés indolés du tissu gras.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le personnel de l'Unité Expérimentale Porcs de Saint-Gilles, J. Delamarre, P. Knapen, et P. Roger pour l'aide apportée dans l'élevage des porcs et la réalisation des mesures sur animaux vivants. Ils remercient aussi R. Comte et A. Lecorgne de l'Unité de Recherche PEGASE pour les analyses de laboratoire ; B. Gabinaud de l'Unité de Recherche GenPhySE pour l'analyse du microbiote ; ainsi que A. Faoüen pour son aide tout au long de l'expérimentation.

FINANCEMENTS

Ce travail a été réalisé grâce à une bourse de thèse INRA, de type Contrat Jeune Scientifique et à des financements internes pour les analyses de laboratoire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aluwé M., Bekaert K.M., Tuyttens F.A.M., Vanhaecke L., De Smet S., De Brabander H.F., De Brabander D.L., Millet S., 2011. Influence of soiling on boar taint in boars. Meat Sci., 87, 175-179.
- Babol J., Squires E.J., 1995. Quality of meat from entire male pigs. Food Res. Int., 28, 201-212.
- Batorek N., Škrlep M., Prunier A., Louveau I., Noblet J., Bonneau M., Čandek-Potokar M., 2012. Effect of feed restriction on hormones, performance, carcass traits, and meat quality in immunocastrated pigs. J. Anim. Sci., 90, 4593-4603.
- Bray T.M., Carlson J.R., 1980. Tissue and subcellular distribution and excretion of 3-[14C] methylindole in rabbits after intratracheal infusion. Can. J. Physiol. Pharmacol., 58, 1399-1405.
- Deslandes B., Gariépy C., Houde A., 2001. Review of microbiological and biochemical effects of skatole on animal production. Livest. Prod. Sci., 71, 193-200.
- Edgar R.C., 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. Bioinformatics, 26, 2460-2461.
- Fox, J. and Weisberg, S. (2011). An {R} Companion to Applied Regression.
- Hansen L.L., Larsen A.E., Jensen B.B., Hansenmoller J., Bartongade P., 1994. Influence of stocking rate and feces deposition in the pen at different temperatures on skatole concentration (boar taint) in subcutaneous fat. Anim. Prod., 59, 99-110.
- Jombart T., Devillard S., Balloux F., 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. BMC Genet., 11, 1.
- Jouany J.P., Zainab B., Senaud J., Groliere C.A., Grain J., Thivend P., 1981. Role of the rumen ciliate protozoa Polyplastron multivesiculatum, Entodinium sp. and Isotricha prostoma in the digestion of a mixed diet in sheep. Reprod. Nutr. Dévelop., 21, 871-884.
- Knarreborg A., Beck J., Jensen M.T., Laue A., Agergaard N., Jensen B.B., 2002. Effect of non-starch polysaccharides on production and absorption of indolic compounds in entire male pigs. Anim. Sci., 445-453.
- Laue A., Hansen-Møller J., Agergaard N., 1998. The effect of peroral and intracaecal 3-methylindole administration on the quantitative absorption to the portal vein in growing intact male pigs. Can. J. Anim. Sci., 78, 69-79.
- Le Floc'h N., Knudsen C., Gidenne T., Montagne L., Merlot E., Zemb O., 2014. Impact of feed restriction on health, digestion and faecal microbiota of growing pigs housed in good or poor hygiene conditions. Animal, 8, 1632-1642.
- Lenth, R. V. and Hervé, M. (2015). lsmeans: Least-Squares Means.
- Li X., Jensen R.L., Hojberg O., Canibe N., Jensen B.B., 2015. Olsenella scatoligenes sp. nov., a 3-methylindole- (skatole) and 4-methylphenol- (p-cresol) producing bacterium isolated from pig faeces. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 65, 1227-1233.
- Lundström K., Matthews K.R., Haugen J.-E., 2009. Pig meat quality from entire males. Animal, 3, 1497-1507.
- Montagne L., Le Floc'h N., Arturo-Schaan M., Foret R., Urdaci M.C., Le Gall M., 2012. Comparative effects of level of dietary fiber and sanitary conditions on the growth and health of weanling pigs. J. Anim. Sci., 90, 2556-2569.
- Parois S.P., Faoüen A., Le Floc'h N., A P., 2016. Influence of the inflammatory status of entire male pigs on their pubertal development and fat androstenone. Animal, In press.
- Prunier A., Bonneau M., 2006. Quelles alternatives à la castration des porcelets ? Journées de la Recherche Porcine, 38, 427-436.
- Thompson C.L., Wang B., Holmes A.J., 2008. The immediate environment during postnatal development has long-term impact on gut community structure in pigs. ISME J, 2, 739-748.
- Wesoly R., Weiler U., 2012. Nutritional Influences on skatole formation and skatole metabolism in the pig. Animals, 2, 221-242.
- Wesoly R., Stefanski V., Weiler U., 2016. Influence of sampling procedure, sampling location and skin contamination on skatole and indole concentrations in adipose tissue of pigs. Meat Sci., 111, 85-91.