

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
21 novembre 2019 (21.11.2019)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2019/220052 A1

(51) Classification internationale des brevets :

A23L 33/14 (2016.01) A23K 50/75 (2016.01)
A23K 10/18 (2016.01) A23K 50/10 (2016.01)

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2019/051097

(22) Date de dépôt international :

14 mai 2019 (14.05.2019)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

1854046 15 mai 2018 (15.05.2018) FR

(71) Déposant : **LESAFFRE ET COMPAGNIE** [FR/FR] ; 41,
rue Etienne Marcel, 75001 PARIS (FR).

(72) Inventeurs : **AUCLAIR, Eric** ; 25 rue Honoré de Balzac,
59710 AVELIN (FR). **JULIEN, Christine** ; Les Carrières,
31360 SEPX (FR). **MARDEN, Jean-Philippe** ; 3 Impasse
des Terres Hautes, 31670 LABEGE (FR).

(74) Mandataire : **CABINET PLASSERAUD** ; 66 rue de la
Chaussée d'Antin, 75440 PARIS CEDEX 09 (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ,
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR,
HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR,
KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM),
européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES,
FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,
MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée:

- avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des
revendications, sera republiée si des modifications sont
reçues (règle 48.2(h))

(54) Title: PROBIOTIC FOR POULTRY OR CUD-CHEWING ANIMALS

(54) Titre : PROBIOTIQUE POUR VOLAILLE OU RUMINANT

(57) Abstract: The invention relates to active yeast adapted to weak organic acids and to the use thereof for poultry or cud-chewing animals. The invention also relates to a probiotic for poultry or cud-chewing animals, comprising an active yeast adapted to weak organic acids. The invention further relates to the use of such a yeast for improving the zootechnical performances of poultry and to the use thereof in a probiotic and/or food for poultry. Furthermore it relates to the use of such a yeast for improving the physico-chemical and fermentative parameters of the rumen of cud-chewing animals, and to the use thereof in a probiotic and/or food for cud-chewing animals. In addition, the invention relates to such a yeast for use in the prevention and/or the treatment of digestive disorders in cud-chewing animals and particularly in the prevention of acidosis in cud-chewing animals.

(57) Abrégé : La présente invention se rapporte à des levures actives adaptées à des acides organiques faibles et à leur utilisation chez la volaille ou chez les ruminants. L'invention se rapporte également à un probiotique pour volaille ou ruminant comprenant une levure active adaptée aux acides organiques faibles. La présente invention concerne également l'utilisation d'une telle levure pour améliorer les performances zootechniques de la volaille et son utilisation dans un probiotique et/ou un aliment pour volaille. Elle concerne encore l'utilisation d'une telle levure pour améliorer les paramètres physico-chimiques et fermentaires du rumen des ruminants, et son utilisation dans un probiotique et/ou un aliment pour ruminant. L'invention concerne encore une telle levure pour une utilisation dans la prévention et/ou le traitement des troubles digestifs du ruminant et en particulier dans la prévention de l'acidose chez le ruminant.



WO 2019/220052 A1

PROBIOTIQUE POUR VOLAILLE OU RUMINANT

DOMAINE DE L'INVENTION

La présente invention concerne le domaine des probiotiques pour volaille ou ruminant. Elle
5 concerne plus particulièrement un probiotique et un aliment pour volaille ou ruminant le
comprenant, l'utilisation d'une levure active adaptée aux acides organiques faibles et une
telle levure.

L'invention concerne encore plus particulièrement l'utilisation de ladite levure active
adaptée aux acides organiques faibles ou d'un probiotique comprenant une telle levure,
10 chez la volaille ou chez les ruminants.

Concernant la volaille, ladite levure ou probiotique est notamment utilisé(e) pour améliorer
les performances zootechniques de la volaille.

Concernant les ruminants, ladite levure ou probiotique est notamment utilisé(e) pour une
utilisation dans la prévention et/ou le traitement des troubles digestifs du ruminant, et
15 notamment dans la prévention de l'acidose chez le ruminant.

ARRIÈRE PLAN TECHNIQUE

Concernant la volaille

Durant de nombreuses années, les antibiotiques qui, à des doses non médicamenteuses, ont
20 un effet de facteur de croissance, ont été couramment utilisés pour améliorer les
performances zootechniques dans l'élevage de volaille. Cependant, une telle utilisation en
routine n'est pas sans conséquences, par exemple sur le développement des résistances aux
antibiotiques de la part des bactéries. Aussi, en 2006, l'Union Européenne a-t-elle décidé
d'interdire l'utilisation d'antibiotiques chez la volaille comme facteur de croissance, pour
25 limiter l'apparition de phénomènes de résistance.

Les industriels ont donc cherché des alternatives aux antibiotiques. C'est ainsi que
l'utilisation des probiotiques en volaille s'est étendue. La plupart des probiotiques
commercialisés pour la volaille sont d'origine bactérienne principalement de la famille des
Bacillus, compte tenu de leur capacité à sporuler et ainsi à résister aux contraintes
30 thermiques élevées de la fabrication des aliments avicoles.

S'il a été constaté que les levures, notamment *Saccharomyces cerevisiae*, peuvent avoir un
effet positif sur la croissance et les performances d'élevage des porcins et des bovins, leur
impact sur la croissance et le gain de poids des volailles n'a pas été démontré et était
souvent très limité et non significatif.

Par exemple, dans US2002/0146399, est proposé un produit pouvant être ajouté à l'alimentation animale notamment pour la volaille, comprenant de l'acide sorbique et au moins une culture de micro-organismes ayant une activité probiotique, telle que, par exemple, une culture de la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

5 Dans WO97/00017 est proposé un probiotique, notamment utile pour des poules, contenant de la farine d'algues, de la levure sèche active et un composant minéral, la levure pouvant appartenir à l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*.

En outre il n'existe actuellement dans l'Union Européenne aucune autorisation de levure comme probiotique pour les volailles.

10 Il existe donc un réel besoin de trouver des « probiotiques levures » efficaces permettant d'améliorer les performances de croissance, de gain de poids et l'indice de consommation (IC) de la volaille.

On entend par « probiotique levure », un probiotique comprenant une levure ou encore une levure qui a une fonction de probiotique. On peut également désigner le « probiotique

15 levure » par « levure probiotique ».

Concernant les ruminants

L'acidose, courante chez les ruminants, constitue une des préoccupations majeures de la nutrition moderne des animaux ruminants. En effet, l'accroissement des potentiels de production a entraîné l'apport de rations plus concentrées en énergie. De ce fait le rumen (la panse) des animaux doit traiter des quantités accrues de matières organiques fermentescibles et les fermentations plus intenses consécutives entraînent un état d'acidose aux effets zootechniques défavorables : interactions digestives négatives, dégradation du taux butyreux du lait, pathologies digestives et métaboliques etc.

25 L'acidose peut se résumer comme un trouble de l'équilibre acido-basique dû à une baisse de pH dans le rumen (pH ruminal), qui résulte de la dégradation des glucides fermentescibles dont la digestion rapide par les bactéries du rumen produit des Acides Gras Volatils (AGV) et de l'acide lactique.

Dans des conditions normales, les AGV et l'acide lactique sont absorbés par les papilles ruminales pour aider l'animal à produire du lait. L'acidose s'installe lorsque la production des AGV et d'acide lactique excède la capacité des papilles ruminales à les absorber.

Afin de contrer cet état d'acidose chez le ruminant, et notamment chez la vache laitière, différents additifs alimentaires ont été proposés dans la littérature, dont les levures probiotiques. Les levures probiotiques sont en effet reconnues pour leur rôle stabilisateur

du milieu ruminal. Plusieurs études^{1,2} ont démontré l'effet des levures vivantes sur le pH ruminal même si ce dernier est fortement dépendant du régime alimentaire et en particulier de la nature même des aliments qui le composent. Chez la vache laitière à haut niveau de production, la supplémentation des rations avec les levures vivantes est une solution
5 intéressante pour limiter les effets négatifs de l'utilisation de régimes acidogènes sur la digestion et les performances des ruminants.

Outre la mesure du pH ruminal, la mesure du potentiel d'oxydo-réduction (potentiel redox) ruminal (E_h en mV) s'est révélée être un outil clé pour comprendre le mode d'action des levures vivantes³. Le potentiel redox est un paramètre physico-chimique d'intérêt pour la
10 compréhension, non seulement du fonctionnement du rumen mais aussi de l'action ruminale de la levure probiotique. Il a ainsi été montré dans la littérature⁴ que la régulation du E_h ruminal par les levures vivantes est particulièrement effective lorsque le risque de dysfonctionnement du rumen est suffisamment élevé⁴.

Cependant, il existe toujours à ce jour le besoin de trouver des solutions efficaces pour
15 prévenir et/ou traiter l'acidose chez les ruminants.

RESUME DE L'INVENTION

Les Inventeurs ont développé et mis au point de nouvelles levures actives aux propriétés particulières, en ce sens qu'elles sont notamment adaptées aux acides organiques faibles.

20 Ainsi, selon un premier aspect, la présente invention concerne ces nouvelles levures actives adaptées aux acides organiques faibles.

Selon un deuxième aspect, l'invention concerne l'utilisation de ces levures actives adaptées chez la volaille ou chez le ruminant.

Selon un autre aspect, l'invention concerne un probiotique pour volaille ou pour ruminant
25 caractérisé en ce qu'il comprend une levure active adaptée aux acides organiques faibles.

Les Inventeurs ont également mis au point, un aliment pour volaille ou pour ruminant comprenant le probiotique selon l'invention.

Selon un autre aspect, la présente invention concerne l'utilisation d'une levure active adaptée aux acides organiques faibles pour améliorer les performances zootechniques de la
30 volaille.

On entend, au sens de la présente invention, par « amélioration des performances zootechniques de la volaille », une amélioration des performances de croissance, de gain de poids et l'indice de consommation (IC) de la volaille.

Selon un autre aspect, la présente invention concerne une levure active adaptée aux acides organiques faibles ou un probiotique la comprenant, pour une utilisation dans la prévention et/ou le traitement des troubles digestifs du ruminant, et en particulier dans la prévention de l'acidose chez le ruminant.

- 5 Selon un autre aspect, la présente invention concerne l'utilisation d'une levure active adaptée aux acides organiques faibles dans un aliment pour volaille ou pour ruminant. De façon avantageuse, l'utilisation d'une levure adaptée ou d'un probiotique selon l'invention permet d'éviter l'adjonction d'enzymes dans l'alimentation.

10 DESCRIPTION DETAILLÉE

La présente invention a pour objet une levure active *Saccharomyces cerevisiae* adaptée aux acides organiques faibles caractérisée en ce qu'elle est issue d'une souche choisie parmi les souches déposées à la CNCM respectivement sous les numéros I-4407 le 2 décembre 2010, I-5128, I-5129, I-5130, I-5131 le 31 août 2016, I-5222, I-5223 le 30 août 2017, et en ce
15 que le rapport entre l'activité selon le test A1 de ladite levure active adaptée issue d'une souche choisie parmi I-4407, I-5128, I-5129, I-5130, I-5131, I-5222, I-5223, et l'activité selon le test A1 de la levure active non adaptée issue de la même souche choisie parmi I-4407, I-5128, I-5129, I-5130, I-5131, I-5222, I-5223, est supérieur ou égal à 1.

- 20 Le terme « levure » désigne des levures obtenues par culture d'une souche de levure.

La culture de la souche de levure est effectuée dans un milieu de culture approprié à la croissance de la souche de levure.

L'homme du métier est capable de déterminer quelle est la composition d'un milieu de culture approprié à une souche de levure donnée selon le protocole décrit dans le livre de
25 référence « Yeast technology » par Gerald Reed et Tilak W. Nagodawithana (ISBN 0-442-31892-8) aux pages 284 à 293.

Un procédé de culture d'une souche et d'obtention d'une levure adaptée à un acide organique faible est décrit dans l'exemple 1.

Le terme « levure active », qui est synonyme de levure vivante, désigne une population de
30 cellules de levure qui sont métaboliquement actives.

Par « levure active ... issue d'une souche », on entend une levure obtenue par culture et adaptation d'une souche.

Par « levure active adaptée aux acides organiques faibles », on entend une levure dont la tolérance à un acide organique faible donné est augmentée grâce à une précédente

exposition à cet acide (Warth, 1988, Appl. Environ. Microbiol., 54 (8) : 2091-2095). La croissance et la capacité fermentaire de la levure adaptée ne sont ainsi pas inhibées lorsque la levure est en présence d'un acide organique faible pour au moins la seconde fois.

5 Au sens de la présente invention, les termes « levure active adaptée aux acides organiques faibles », « levure adaptée aux acides organiques faibles », « levure adaptée », « levure active adaptée » ont la même signification.

Par « acides organiques faibles », on entend les acides organiques en tant que tels et leurs sels. Ils sont choisis dans le groupe comprenant l'acide propionique, l'acide benzoïque, l'acide acétique, l'acide butyrique, l'acide citrique, l'acide formique, l'acide fumarique, l'acide lactique, l'acide malique, l'acide sorbique et leurs sels, notamment les sels de calcium ou de sodium.

10 A titre d'exemples plus particuliers, on citera les levures adaptées aux sels de l'acide propionique ou benzoïque, et de préférence au propionate de calcium ou au benzoate de sodium.

15

Un procédé d'obtention d'une levure adaptée à un acide organique faible est décrit dans l'exemple 1, basé sur le procédé décrit dans le brevet US 4 318 991.

L'adaptation des levures selon l'invention à la présence d'un acide organique faible est plus particulièrement effectuée lors des dernières heures de leur dernier stade de multiplication, par ajout de 0,1 g à 10 g d'acide organique faible et/ou leurs sels, par litre de milieu de culture.

20 Selon un mode de réalisation particulier de l'invention, la levure active *Saccharomyces cerevisiae* est plus particulièrement *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* également appelée *Saccharomyces boulardii*.

25

De façon avantageuse, la présente invention a pour objet une levure active adaptée, ou un probiotique la comprenant, dont le rapport de l'activité selon le test A1 (décrit ci-après) entre une levure dite « adaptée » et une levure non adaptée est supérieur ou égal à 1.

30 Ainsi, selon la présente invention, la levure active sélectionnée est une levure active, du genre *Saccharomyces*, qui se caractérise par un rapport de l'activité selon le test A1 entre cette levure active sélectionnée dite « adaptée » et la levure non adaptée, comme suit :

Activité de la levure adaptée selon le test A1

Activité de la levure non adaptée selon le test A1

supérieur ou égal à 1.

Ledit test A1 correspond au protocole suivant :

on mesure pendant 2 heures le volume de CO₂ dégagé par la levure active avec le fermentomètre de Burrows et Harrisson suivant la méthode standard décrite aux pages 579 à 584 du livre de référence « Guide pratique d'analyses dans les industries de céréales » coordonné par B.Godon et W.Loisel (Ed Lavoisier - Tec & Doc - 1997 - ISBN. 2-7430-0123-2 - 2^o édition) en utilisant le mode opératoire adapté suivant :

(a) Peser des lots de 20 g de farine, la farine étant une farine de froment ayant un temps de chute Hagberg de 200 à 300 secondes (tel que défini dans aux pages 680 et 681 du livre de référence cité ci-dessus), et les mettre dans des tubes propres et secs, puis ajouter dans chacun des tubes 2 g de saccharose et faire incuber ces tubes dans le râtelier du bain-marie, qui se trouve à 30°C, pendant au moins 30 minutes avant de commencer l'essai ;

(b) Prendre comme échantillon de levure l'équivalent de 1,066 g de matière sèche levure ;

(c) Préparer les échantillons délayés de levure dans 100 ml d'eau distillée (la méthode pour levure sèche est décrite à la page 583 dudit livre de référence) et ajouter 0,5 ml d'acide acétique à 6,6% (p/v) juste avant l'ajustement à 100 ml ;

(d) Pipeter les 15 ml de l'échantillon délayé bien mélangé nécessaires au malaxage, ces 15 ml apportant $1,066 \text{ g} \times 0,15 = 0,160 \text{ g}$ de matières sèches levure ; et suivre pour le reste les instructions du mode opératoire décrit dans le livre de référence, en réalisant la mesure sur 2 heures.

Afin de tenir compte de l'effet du séchage sur l'activité de la levure, l'activité de la levure active selon le test A1 est définie comme suit :

- la levure testée est sous forme sèche, c'est-à-dire à une teneur en matières sèches d'au moins 90%, son activité correspond au volume de CO₂ mesuré.

Selon un autre mode de réalisation particulier de l'invention, la levure adaptée aux acides organiques faibles, comprise de préférence dans un probiotique pour volaille ou ruminant, est obtenue par culture et adaptation d'une souche *Saccharomyces cerevisiae* choisie parmi les souches déposées auprès de la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes, 25 rue du Docteur Roux 75724 Paris cedex 15, respectivement sous les numéros CNCM I-5128, I-5129, I-5130 et I-5131, le 31 août 2016, sous les numéros CNCM I-5222 et I-5223, le 30 août 2017 et sous le numéro CNCM I-4407 le 2 décembre 2010.

Les Inventeurs ont en effet découvert de manière surprenante que des levures ayant subi un processus d'adaptation aux acides organiques faibles lors de leur culture sont plus efficaces chez la volaille ou chez le ruminant que des levures n'ayant pas subi ce processus.

Ces levures dites « adaptées » permettent ainsi notamment d'améliorer les performances de croissance, de gain de poids, et l'indice de conversion de la consommation de l'aliment par rapport au gain de poids de la volaille.

On entend par « indice de conversion de la consommation de l'aliment par rapport au gain de poids » de la volaille, l'indice de consommation de la volaille. L'indice de consommation (IC) est la quantité d'aliment ingéré (en kilogrammes) par une volaille pour prendre 1 kilogramme de poids vif.

De façon surprenante, chez le ruminant, les levures actives adaptées de l'invention permettent notamment d'améliorer la régulation de paramètres physico-chimiques du rumen tels que le pH ou le potentiel redox, et ainsi de prévenir et/ou traiter l'acidose du ruminant.

Selon un autre mode de réalisation particulier de l'invention, la levure adaptée aux acides organiques faibles est sous forme sèche.

On entend par levure sèche, toute levure ayant un taux de matière sèche supérieur à 90%.

La levure sèche active est une levure vivante, séchée de façon à conserver son pouvoir fermentaire et lui assurer une conservation très longue. Ladite levure sèche active présente une teneur élevée en cellules vivantes de levure et peut se présenter sous différentes formes, par exemple sous forme de sphérules, de granules ou de poudre, toutes ces formes ayant une teneur moyenne en eau comprise entre 4 et 8%.

Le séchage est effectué selon toute méthode connue de l'homme du métier et compatible avec la viabilité des cellules, c'est-à-dire permettant de conserver une teneur élevée en cellules vivantes. L'homme du métier sait également que, selon le type de séchage effectué, la teneur en cellules vivantes est plus ou moins élevée, et les performances dans le test A1 peuvent être affectées.

Le poids de matière sèche est déterminé par les méthodes classiques bien connues de l'homme du métier.

Selon encore un autre mode de réalisation de l'invention, la levure active adaptée se présente sous forme de granulés, de microsphérules, de farine ou sous forme hydrodispersible.

La présente invention a encore pour objet un probiotique comprenant une levure active adaptée aux acides organiques faibles telle que définie ci-dessus.

Par « probiotique », on entend des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en
5 quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, au-delà des effets nutritionnels traditionnels.

Le probiotique tel que défini ci-dessus comprend au moins 90% en masse de la matière sèche de la levure active adaptée.

Le probiotique de l'invention est plus particulièrement un probiotique pour volaille ou pour
10 ruminant.

Selon un autre aspect, la présente invention concerne un aliment pour volaille ou ruminant comprenant le probiotique décrit ci-dessus.

Le probiotique et l'aliment pour volaille ou ruminant selon l'invention peuvent également
15 comprendre un ou plusieurs ingrédients autres que ladite levure active adaptée, comme notamment des vitamines, des minéraux alimentaires, des oligo-éléments, des enzymes alimentaires, des acidifiants, des extraits végétaux, des parois de levure et des graisses alimentaires, ainsi que, le cas échéant, d'autres micro-organismes à effet probiotique.

Selon les connaissances de l'homme du métier de l'élevage de volailles, la période de
20 croissance d'un poulet est comprise de la naissance à 35 - 42 jours. Durant ce laps de temps, il passe d'une masse de 30 à 50 grammes à une masse de 2 à 3 kilogrammes, avec une masse qui est multipliée par 5 à 6 en 10 jours. Son alimentation, en termes de quantité, est fixée préférentiellement en fonction de son âge.

Selon un mode de réalisation particulier de l'invention et sur cette base de poids de la
25 volaille, l'animal reçoit entre 10^6 et 10^{11} CFU de levure active adaptée aux acides organiques faibles par kilogramme d'aliment par jour, de préférence entre 10^9 et 10^{11} CFU/kg d'aliment/jour, et encore plus de préférence entre 10^9 et 10^{10} CFU/kg d'aliment/jour.

Le terme CFU ou UFC signifie unité formant colonie, un CFU ou UFC correspond à une
30 colonie.

Selon un autre aspect, l'invention concerne une méthode pour améliorer les performances zootechniques de l'animal, notamment pour améliorer les performances de croissance, de gain de poids et l'indice de consommation de la volaille, consistant à fournir à l'animal une

levure active adaptée aux acides organiques faibles, notamment entre 10^6 et 10^{11} CFU de levure active adaptée aux acides organiques faibles par kilogramme d'aliment et par jour, de préférence entre 10^9 et 10^{11} CFU/kg d'aliment/jour, et encore plus de préférence entre 10^9 et 10^{10} CFU/kg d'aliment/jour.

5

Selon un autre aspect, l'invention concerne l'utilisation d'une levure active adaptée aux acides organiques pour améliorer les performances zootechniques de la volaille.

Par « performances zootechniques », on entend les performances de croissance, le gain de masse ou de poids de l'animal, l'indice de consommation, et les paramètres de reproduction des animaux.

10

Il a en effet été constaté que l'utilisation d'une levure adaptée chez la volaille permettait d'augmenter le gain de poids, la quantité d'aliment ingéré et d'améliorer l'indice de consommation de l'aliment par rapport au gain de poids, en particulier chez la volaille en croissance.

15

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation d'une levure active adaptée telle que définie ci-dessus ou d'un probiotique tel que défini ci-dessus, chez la volaille, notamment pour améliorer les performances de croissance, de gain de poids et l'indice de consommation (IC) de la volaille.

20

L'invention a également pour objet l'utilisation d'une levure active adaptée telle que définie ci-dessus ou d'un probiotique tel que défini ci-dessus, chez le ruminant.

Plus particulièrement une telle utilisation chez le ruminant permet d'agir sur les paramètres physico-chimiques du rumen tels que le pH, le potentiel redox, mais également sur les paramètres fermentaires tels que la teneur en AGV présents dans le rumen.

25

Selon un mode de réalisation avantageux de l'invention, l'utilisation de la levure active adaptée permet de maintenir et/ou de rétablir le pH du rumen à une valeur supérieure ou égale à 5,8².

30

Selon un autre mode de réalisation avantageux, l'utilisation de la levure active adaptée de l'invention permet de maintenir et/ou de rétablir le potentiel redox du rumen à une valeur allant de - 200 mV à - 150 mV.

Les valeurs de pH et de potentiel redox ci-dessus décrites correspondent à celles obtenues par la méthode de mesure décrite dans l'exemple 4 ci-après.

Selon encore un autre mode de réalisation avantageux, l'utilisation de la levure active adaptée de l'invention permet d'augmenter la concentration en AGV du rumen.

En agissant sur les paramètres physico-chimiques ou fermentaires tels que ci-dessus décrits, la levure active adaptée de l'invention permet avantageusement d'agir sur l'acidose
5 du ruminant, et plus particulièrement de prévenir l'acidose ruminale chez le ruminant.

L'invention a ainsi encore pour objet une levure active adaptée telle que définie ci-dessus ou un probiotique tel que défini ci-dessus, pour une utilisation dans la prévention et/ou le traitement des troubles digestifs du ruminant, et plus particulièrement dans la prévention de
10 l'acidose chez le ruminant.

Selon un autre aspect, l'invention concerne une méthode pour prévenir et/ou traiter l'acidose du ruminant, consistant à fournir à l'animal une levure active adaptée aux acides organiques faibles, notamment en une quantité allant de 0,5 g à 50 g de levure active adaptée par animal et par jour, de préférence de 1 g à 10 g de levure adaptée par animal et
15 par jour.

Selon un autre aspect, l'invention concerne l'utilisation d'une levure active adaptée aux acides organiques dans un probiotique et/ou dans un aliment pour volaille ou ruminant tels que décrits ci-dessus.

20 L'invention a pour objet l'utilisation d'une levure active adaptée telle que définie ci-dessus ou d'un probiotique tel que défini ci-dessus, dans un aliment pour volaille ou pour ruminant.

Selon un autre mode de réalisation particulier de l'invention, la levure active adaptée aux
25 acides organiques et/ou le probiotique sont mis en œuvre sous une forme adaptée à une utilisation dans une matrice alimentaire, ladite matrice étant par exemple des granulés, de la farine, ou de l'eau de boisson.

La levure adaptée aux acides organiques faibles et/ou le probiotique sont par exemple sous forme de granulés ou de farine lorsqu'ils sont mélangés à l'aliment et sous forme
30 hydrodispersible, lorsqu'ils sont mélangés à l'eau de boisson.

Selon un autre aspect, l'invention concerne l'utilisation d'une levure active adaptée aux acides organiques faibles dans laquelle l'animal, en particulier une volaille pesant entre 30 et 3000 g, reçoit entre 10^6 et 10^{11} CFU de levure active adaptée aux acides organiques

faibles par kilogramme d'aliment par jour, de préférence entre 10^9 et 10^{11} CFU/kg d'aliment/jour, et encore plus de préférence entre 10^9 et 10^{10} CFU/kg d'aliment/jour.

Le probiotique, l'aliment, l'utilisation de la levure adaptée et la levure adaptée suivant
5 l'invention sont notamment utiles dans le domaine de l'élevage de volailles choisies dans le groupe comprenant :

- les oiseaux de basse-cour et gallinacées, et notamment les poules, y compris les poussins, les coqs et coquelets, les chapons et les poules pondeuses, les dindes et les dindons,
- 10 - les ansériformes et notamment les canards, les canes, les oies, et les faisans, les pintades, les cailles et les perdrix,
- les colombins, notamment les pigeons,
- les ratites, notamment les autruches, les émeus et les kiwis.

15 Selon un autre aspect, l'invention concerne l'utilisation d'une levure active adaptée aux acides organiques faibles dans laquelle le ruminant reçoit de 0,5 g à 50 g de levure active adaptée aux acides organiques faibles par jour, et de préférence entre 1 g et 10 g de levure par jour.

20 Le probiotique, l'aliment, l'utilisation de la levure adaptée et la levure adaptée suivant l'invention sont notamment utiles dans le domaine de l'alimentation des ruminants de la famille des bovidés et des camélidés.

Les bovidés (Bovidae) comprennent plusieurs sous-familles, dont en particulier les bovinés (dont font partie les bovins) et les caprinés (qui englobent les caprins et les ovins).

25 Les camélidés (Camelidae) sont des mammifères artiodactyles englobant par exemple le dromadaire, le chameau ou le lama.

Le probiotique suivant l'invention comprend au moins 90% en masse de matière sèche de la levure active sélectionnée dite « adaptée ».

30

La présente invention va être illustrée à l'aide des exemples de réalisation qui suivent, étant entendu que ceux-ci n'ont aucune portée limitative.

EXEMPLES

Exemple 1 : Procédé d'obtention d'une levure active sèche adaptée à un acide organique faible

1.1. Procédé de culture « standard »

Les levures peuvent être obtenues par une culture sur mélasse de betteraves ou de cannes
5 par exemple, suivant le procédé discontinu alimenté (en anglais : fed-batch).

Le procédé de culture comporte une succession d'étapes de fermentation comme décrit aux
pages 284 à 293 du livre de référence « Yeast technology » par Gerald Reed et Tilak W.
Nagodawithana (ISBN 0-442-31892-8).

10 1.2. Procédé pour induire une adaptation

Le procédé pour induire l'adaptation à un acide organique faible correspond au procédé de
culture standard ci-dessus, modifié comme il suit selon les étapes suivantes :

1. Acidification : 2 à 3 h avant la fin de la culture (cf. ci-dessus le procédé de culture
« standard ») et avant la phase d'adaptation, ajuster le pH du milieu de culture à
15 une valeur comprise entre 4,0 et 5,5 et le maintenir jusqu'à la fin de la phase
d'adaptation, par exemple avec de l'acide sulfurique ;
2. Adaptation : ajouter dans le milieu de culture une quantité d'acide organique faible
ou de son sel associé de façon à obtenir entre 1500 et 3000 ppm (partie par million)
d'acide organique faible en poids dans le milieu de culture. La dose d'ajout d'acide
20 faible est liée à la composition de l'acide faible ou de son sel associé utilisé. Le
milieu de culture est dépourvu de tampon.

L'homme du métier saura ajuster le pH et la quantité d'acide organique faible à utiliser
sans déployer des efforts excessifs.

25 1.3. Séchage

Les levures sèches actives sélectionnées, c'est-à-dire levures sèches présentant une
teneur élevée en cellules vivantes de levure, sont obtenues par séchage selon une technique
connue de l'homme du métier pour obtenir un taux de matière sèche supérieur à 90%.

30 **Exemple 2 : Mesure du rapport de l'activité selon le test A1 entre une levure adaptée et une levure non adaptée**

Les levures a et b correspondent à 2 lots différents a et b de la souche de levure non
adaptée déposée à la CNCM le 31 août 2016 sous le numéro I-5131, c'est-à-dire une levure
n'ayant pas subi le procédé d'adaptation décrit dans l'exemple 1.2.

La levure dite « adaptée », selon le procédé décrit dans l'exemple 1.1 et 1.2, utilisée dans le test A1 correspond à 2 lots différents a et b de la même souche de levure I-5131.

Le test A1 est celui décrit *supra*.

Résultats du test A1 :

Souches	Activité (ml de CO ₂)
I-5131 non adaptée (a)	103
I-5131 non adaptée (b)	113
I-5131 adaptée (a)	106
I-5131 adaptée (b)	132

5

Tableau 1

Rapport de l'activité selon les tests A1 entre la levure I-5131 adaptée et la levure I-5131 non adaptée :

Lots	Rapport
Lot (a)	1,029
Lot (b)	1,168

Tableau 2

10

Conclusion : Les levures adaptées utilisées selon l'invention présentent ainsi un rapport supérieur à 1.

D'autres tests ont été effectués, tous lots confondus, sur respectivement :

- 15 - des lots de levures non adaptées issues de la souche I-5131,
- des lots de levures adaptées à l'acide propionique issues de la souche I-5131.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 3 ci-dessous :

Souches	Activité (ml de CO ₂) (moyenne)	Erreur Standard	Limite Inférieure	Limite Supérieure
I-5131 non adaptée	109,571	2,173	105,140	114,003
I-5131 adaptée à l'acide propionique	121,667	1,659	118,282	125,051

20 Conclusion : les levures actives adaptées utilisées selon l'invention présentent un rapport supérieur à 1, tous lots confondus.

D'autres tests ont été effectués, tous lots confondus, sur respectivement :

- des lots de levures non adaptées issues de la souche I-5129,
- des lots de levures adaptées à l'acide propionique issues de la souche I-5129.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 4 ci-dessous :

Souches	Activité (ml de CO ₂) (moyenne)
I-5129 non adaptée	112,3
I-5129 adaptée à l'acide propionique	126,3

5

Conclusion : les levures actives adaptées utilisées selon l'invention présentent un rapport supérieur à 1, tous lots confondus.

Exemple 3 : Essais d'une levure dite adaptée, pour l'alimentation de la volaille

10 Les levures sèches actives adaptées présentent des propriétés avantageuses surprenantes dans le domaine de l'aviculture.

Ces propriétés avantageuses surprenantes sont illustrées par les résultats du test suivant sur des poussins.

Classiquement, selon les connaissances de l'homme du métier de l'élevage de volailles, 15 l'alimentation utilisée pour les poussins est un blé viscosant, autrement dit un blé de qualité moyenne voire mauvaise. Ceci représente un challenge nutritionnel, autrement dit une sorte de stress. Selon les connaissances de l'homme du métier, l'un des moyens d'améliorer la digestibilité d'un tel blé est l'adjonction d'enzymes. Dans le cadre de la présente invention, il n'y a pas d'adjonction d'enzymes, ce qui représente un avantage non 20 négligeable en termes de coût.

Dans ce test, les résultats obtenus par l'adjonction d'un probiotique selon l'invention à un aliment farine pour poussins sont comparés avec les résultats obtenus avec cet aliment sans additif, et avec un mélange de cet aliment avec la même levure sèche active non adaptée.

Poussins

25 Le test a été effectué sur une période de 1 à 21 jours sur une population de poussins répondant aux critères suivants : poulets ROSS âgés au début de l'essai de 1 jour.

Composition de l'aliment farine pour poussins

L'aliment farine consiste principalement en du blé et du maïs sans enzymes anti-viscosantes (comme expliqué ci-dessus) selon la composition suivante :

Ingrédient	Quantité (%)
Blé	40,0
Maïs	39,8
Farine de soja	16,6
DL méthionine	0,1
Di-phosphate de calcium	1,5
Carbonate de calcium	1,0
Prémélange vitamines – minéraux	0,6
Sel	0,4

Tableau 5

La composition des différents mélanges pour poussins est donnée dans le tableau 6 ci-dessous.

Mélange testé	Additif ajouté par g d'aliment farine
Témoin	/
Mélange levure non adaptée	800 g/T soit 10^7 CFU/g d'aliment de la levure sèche active I-5128
Mélange levure adaptée	800 g/T soit 10^7 CFU/g d'aliment de la levure sèche active adaptée I-5128

Tableau 6

5

Protocole du test

La population de poussins a été divisée de manière aléatoire en 2 réplicats de 3 lots de 6 cages contenant chacune 20 poussins, chaque lot de poussins recevant un mélange à tester selon le tableau 5.

10 A partir du premier jour, les poussins de chaque groupe ont été alimentés *ad libitum* avec le mélange correspondant au lot d'essai. Les poussins disposaient également *ad libitum* d'eau.

Aucune autre source d'alimentation n'était mise à la disposition des poussins.

La quantité de farine consommée par chaque groupe était mesurée.

15 A différents moments durant le test, le poids vivant des poussins était mesuré, respectivement à J0 (poulet de 1 jour), J+7 jours, J+14 jours J+21 jours.

Résultats :

Les résultats du test, à J+21 jours, sont donnés dans le tableau 7, dans lequel :

- FI-x signifie la quantité totale moyenne (en g) de mélange consommé par poussin du groupe donné après x jours, en l'occurrence ici FI-21, après 21 jours ;
- LW-x signifie le poids vivant moyen (en g) des poussins du groupe donné après x jours, en l'occurrence ici LW-21 après 21 jours.
- FCR-x signifie le rapport entre, d'une part, le gain de poids vivant moyen (en g) des poussins du groupe donné après x jours et, d'autre part, la quantité totale moyenne de mélange consommé par poussin dudit groupe après x jours, en l'occurrence ici FCR-21 après 21 jours.

	Control	I-5128	I-5128 adaptée	SEM	ANOVA (P)
Initial LW	40	40	40		
LW-21	516,2a	514,6a	545,2b	6,9	0,036
FI-21	820,9	814,3	833,6	7,8	0,551
FCR-21	1,67a	1,65a	1,60b	0,01	0,021

SEM signifie standard error of the mean, appellation anglo-saxonne de l'écart type de la moyenne.

ANOVA signifie ANalysis Of VAriance

Les différentes lettres utilisées a, b indiquent si les valeurs sont statistiquement différentes ou non. Ainsi les résultats ne sont pas significativement différents lorsque la même lettre est reportée ($p > 0,05$).

Conclusion : Les résultats montrent que la supplémentation avec une levure adaptée améliore significativement les résultats de croissance (LW21) et de conversion alimentaire (FCR21) des poulets alors que la levure non adaptée n'a pas d'effet.

Exemple 4 : Influence d'une levure active adaptée sur les paramètres physico-chimiques et fermentaires des ruminants

Description du protocole/ méthodologie

L'outil *in vitro* choisi dans cet exemple est la méthode « Dual-Flow » (« double flux ») qui a démontré sa capacité à imiter efficacement la fermentation dans le rumen^{6,7}.

Dans un système traditionnel à double flux, le pH est maintenu constant à l'aide d'acide et

de base. Dans cet exemple, le pH n'est contrôlé que par la quantité et le pouvoir tampon de la salive artificielle injectée dans les réacteurs de fermentation, de sorte que les paramètres physico-chimiques de la cinétique évoluent de la même façon que s'ils étaient mesurés dans le rumen.

5 Dans le système de fermentation à double flux utilisé pour mesurer les paramètres de l'invention, le taux de dilution en liquide et le taux de dilution en solides peuvent être configurés par l'utilisateur pour mimer un rumen en situation de faible ou forte acidose.

Il est composé de 24 bioréacteurs de 1 L équipés de 2 bras latéraux pour évacuer les particules solides et pour alimenter et pomper le liquide. Chaque bioréacteur possède 4
10 entrées, à savoir, une alimentation de la salive, une sortie de gaz, une sonde de pH et une sonde redox.

La température est maintenue à 39°C en incubant le bioréacteur contenant du liquide ruminal dans un bain-marie et le contenu est agité à l'aide d'un agitateur.

Le pH est maintenu avec un tampon bicarbonate⁸.

15 Le pH et le potentiel redox (E_h) sont enregistrés en temps réel avec un enregistreur de données à entrées multiples

Après l'inoculation, le système est hermétiquement fermé et l'état anaérobie est évalué en mesurant le potentiel redox. Les effluents sont collectés quotidiennement.

20 Des vaches en lactation portant une canule au niveau du rumen ont été échantillonnées et le liquide a été recueilli, filtré à travers 2 couches de mousseline et mélangé avec un volume égal de tampon bicarbonate dans des conditions anaérobies.

Chaque bioréacteur est ensuite rempli jusqu'à ce qu'il déborde tout en étant soumis à du CO₂ et inoculé avec 15 g d'aliment composé d'ensilage de maïs, de tourteaux de soja, de foin et de maïs transformé.

25 L'alimentation (15 g de granulés) de chaque bioréacteur s'effectue quotidiennement à 09 heures à 16 heures.

Initialement, les expériences à double flux sont conçues conformément à ce qui est décrit dans Stern et al⁸.

30 Des essais antérieurs ont révélé qu'une adaptation à l'aliment d'au moins 7 jours est nécessaire pour obtenir un schéma de fermentation stable.

Les souches de levure vivantes I-5129 non adaptées et adaptées au propionate de calcium ou au benzoate de sodium ont été évaluées en UFC iso-équivalentes

Le nombre d'UFC a été ajusté pour avoir des UFC iso-équivalentes.

Des paramètres physico-chimiques tels que le pH, le potentiel redox (E_h) ont été mesurés et organisés sur la cinétique de mesure établie lors du seizième et dix-septième jour de fermentation corrigée par la période de covariable lors du sixième et septième jour de mesure.

- 5 L'analyse des AGV individuels et totaux a été effectuée sur le fluide du rumen (liquide ruminal) prélevé sur les mêmes bases que les mesures de pH et de potentiel redox. Des enregistrements diurnes du pH et de l'E_h ont été réalisés au cours des différentes phases (phases de stabilisation et d'adaptation) à l'aide du logiciel de mesure en continu. Les données ont été collectées et traitées à l'aide du modèle mixte linéaire par le logiciel
- 10 SPSS (IL, Chicago) et les paramètres de fermentation ont été traités à l'aide du modèle univarié. Chaque fermenteur individuel a été considéré comme une unité expérimentale. Pour chaque traitement (levure ou pas de levure), il y avait 6 répétitions. Les traitements sont montrés significativement différents à P <0,05 et les tendances à P
- 15 <0,10 ainsi que la comparaison par paires.

Résultats

Dans les tableaux ci-dessous :

- « I-5129 NA » désigne la levure non adaptée,
- 20 - « I-5129 Prop » désigne la levure adaptée au propionate de calcium,
- « I-5129 Benz » désigne la levure adaptée au benzoate de sodium.

Le contrôle représente un échantillon du liquide ruminal sans présence de levure.

pH du rumen

	Contrôle	I-5129 NA	I-5129 Prop
pH Moyenne sur 24 heures	5,62a	5,60a	5,84b

- a,b : les valeurs moyennes sur une même ligne affectée d'un même suffixe ne sont pas
- 25 statistiquement différentes entre elles.

L'effet pH est notable sur la levure adaptée au propionate de calcium.

Potentiel redox (E_h) du rumen

	Contrôle	I-5129 NA	I-5129 Prop	I-5129 Benz
E_h (mV) Moyenne sur 24 heures	-163,8b	-166,5b	-172,7a	-172,1a

a,b : les valeurs moyennes sur une même ligne affectées d'un même suffixe ne sont pas statistiquement différentes entre elles.

La cinétique du potentiel redox montre une chute significative vers des valeurs inférieures avec les levures adaptées I-5129 au propionate et au benzoate par rapport au contrôle (-

5 10mV) et à la levure non adaptée (-6mV).

La cinétique du potentiel redox E_h pour les levures adaptées a montré une différence significative (-6 mV) par rapport aux levures non adaptées.

	Contrôle	I-5129 NA	I-5129 Prop
E_h (mV) Moyenne sur 24 heures	-156,8b	-147,5b	-166,0a

a,b : les valeurs moyennes sur une même ligne affectées d'un même suffixe ne sont pas statistiquement différentes entre elles.

10

Les valeurs de E_h varient de -147,5 mV à -166,0 mV pour les levures respectivement non adaptée et adaptée.

Conclusion

Les levures adaptées ont montré des valeurs de potentiel redox plus faibles, ce qui montre que le pouvoir réducteur du milieu ruminal est renforcé.

15

Concentrations en AGV

	Contrôle	I-5129 NA	I-5129 Benz
Teneur totale en AGV (mM/L)	90,4a	92,4a	93,7b

Les concentrations totales en AGV varient de 90,4 mM pour le témoin sans levure à 93,7 mM avec la levure I-5129 adaptée au benzoate.

20

Les concentrations totales en AGV augmentent significativement avec la levure I-5129 adaptée au benzoate (+3,7% ou 3,3 mM/L) par rapport au contrôle ou par rapport à la levure I-5129 non adaptée (+1,4% ou 1,3 mM/L).

Conclusion :

La levure adaptée I-5129 au benzoate favorise un milieu ruminal (rumen) plus réducteur qui se traduit par une teneur en AGV plus conséquente.

25

Références bibliographiques

1. Marden, J.P., Julien, C., Monteils, V., Auclair, E., Moncoulon, R., Bayourthe, C., 2008, How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in
5 high yielding dairy cows? *J. Dairy Sci.* 91, 3528-3535.
2. Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Bertin, G., Duvaux-Ponter, C., Sauvant, D., 2009, Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *J. Dairy Sci.* 92(4), 1620-1632.
- 10 3. Marden, J.P., Bayourthe, C., Enjalbert, F., Moncoulon, R., 2005, A new device for measuring kinetics of ruminal pH and redox potential in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88, 277-281.
4. Pinloche, E., McEwan, N., Marden, J.P., Bayourthe, C., Auclair, E., Newbold, C.J., 2013, The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population
15 structure in the rumen of cattle. *PLoS ONE* 8(7): e67824. doi:10.1371/journal.pone.0067824.
5. Huang et al., Analyse quantitative de l'effet des levures vivantes sur le potentiel redox ruminal chez la vache laitière. *Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants* 23, 41.
- 20 6. Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Cardozo PW, Kamel C (2005) Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. *J Dairy Sci* 88: 2508-2516.
7. Cerrato-Sanchez M, Calsamiglia S, Ferret A (2008) Effect of the magnitude of the decrease of rumen pH on rumen fermentation in a dual-flow continuous culture
25 system. *J Anim Sci* 86: 378-383.
8. M.D. Stern, H.W. Hoover (1990). The dual flow continuous culture system. *Proc. Continuous Culture Fermenters: Frustration or fermentation, Northwest ADSA-ASAS Regional meeting, Chazy, NY (1990), pp. 17-32*

REVENDICATIONS

1. Levure active *Saccharomyces cerevisiae* adaptée aux acides organiques faibles caractérisée en ce qu'elle est issue d'une souche choisie parmi les souches déposées à la CNCM respectivement sous les numéros I-4407 le 2 décembre 2010, I-5128, I-5129, I-5130, I-5131 le 31 août 2016, I-5222, I-5223 le 30 août 2017, et en ce que le rapport entre l'activité selon le test A1 de ladite levure active adaptée issue d'une souche choisie parmi I-4407, I-5128, I-5129, I-5130, I-5131, I-5222, I-5223, et l'activité selon le test A1 de la levure active non adaptée issue de la même souche choisie parmi I-4407, I-5128, I-5129, I-5130, I-5131, I-5222, I-5223, est supérieur ou égal à 1.
5
2. Levure active adaptée selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle est adaptée aux acides choisis dans le groupe comprenant l'acide propionique, l'acide benzoïque, l'acide acétique, l'acide butyrique, l'acide citrique, l'acide formique, l'acide fumarique, l'acide lactique, l'acide malique, l'acide sorbique et leurs sels, notamment les sels de calcium ou de sodium.
15
3. Levure active adaptée selon la revendication 2, caractérisée en ce qu'elle est adaptée aux sels de l'acide propionique ou benzoïque, et de préférence au propionate de calcium ou au benzoate de sodium.
20
4. Levure active adaptée selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que la levure active adaptée est sous forme sèche.
25
5. Levure active adaptée selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce qu'elle se présente sous forme de granulés, de microsphérules, de farine ou sous forme hydrodispersible.
6. Probiotique caractérisé en ce qu'il comprend une levure active adaptée selon l'une quelconque des revendications 1 à 5.
30
7. Probiotique selon la revendication 6, caractérisé en qu'il comprend au moins 90% en masse de la matière sèche de la levure active adaptée.

8. Utilisation d'une levure active adaptée selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, ou d'un probiotique selon la revendication 6 ou 7, chez la volaille, notamment pour améliorer les performances de croissance, de gain de poids et l'indice de consommation (IC) de la volaille.
9. Utilisation d'une levure active adaptée selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, ou d'un probiotique selon la revendication 6 ou 7, chez les ruminants.
10. 10. Levure active adaptée selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, ou probiotique selon la revendication 6 ou 7, pour une utilisation dans la prévention et/ou le traitement des troubles digestifs du ruminant, et en particulier de l'acidose chez le ruminant.
- 15 11. Utilisation d'une levure active adaptée selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, ou d'un probiotique selon la revendication 6 ou 7, dans un aliment pour volaille ou pour ruminant.
- 20 12. Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que l'animal, en particulier la volaille, reçoit entre 10^6 et 10^{11} CFU de levure active adaptée par kilogramme d'aliment par jour, de préférence entre 10^9 et 10^{11} CFU/kg d'aliment/jour, et encore plus de préférence entre 10^9 et 10^{10} CFU/kg d'aliment/jour.
- 25 13. Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que l'animal, en particulier le ruminant, reçoit de 0,5 g à 50 g de levure active adaptée par jour, de préférence de 1 g à 10 g de levure active adaptée par jour.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR2019/051097

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A23L 33/14(2016.01)i; A23K 10/18(2016.01)i; A23K 50/75(2016.01)i; A23K 50/10(2016.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A23L; A23K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, FSTA		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 4318991 A (HILL FRANK) 09 March 1982 (1982-03-09) cited in the application abstract table 3 examples 1-3 claim 1	1-7, 11-13
X	K.-L. CHEN ET AL. "Effects of Bacillus subtilis var. natto and Saccharomyces cerevisiae mixed fermented feed on the enhanced growth performance of broilers" <i>POULTRY SCIENCE</i> , Oxford, Vol. 88, No. 2, 01 February 2009 (2009-02-01), pages 309-315 DOI: 10.3382/ps.2008-00224 ISSN: 0032-5791, XP055523492 abstract Introduction Materials and methods - Fermented feed preparation - Trial 1-Trial 3 Results and discussion table 2	8
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 06 September 2019		Date of mailing of the international search report 18 September 2019
Name and mailing address of the ISA/EP European Patent Office p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk Netherlands Telephone No. (+31-70)340-2040 Facsimile No. (+31-70)340-3016		Authorized officer de La Tour, Camille Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	W. CHEN ET AL. "Effects of Bacillus subtilis var. natto and Saccharomyces cerevisiae fermented liquid feed on growth performance, relative organ weight, intestinal microflora, and organ antioxidant status in Landes geese1" <i>JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE</i> , US, Vol. 91, No. 2, 01 February 2013 (2013-02-01), pages 978-985 DOI: 10.2527/jas.2012-5148 ISSN: 0021-8812, XP055523490 abstract page 979 figure 2 table 3	8
X	A. W. Zhang. "Effects of Graded Levels of Dietary Saccharomyces cerevisiae on Growth Performance and Meat Quality in Broiler Chickens" 10 January 2005 (2005-01-10), Retrieved from the Internet: https://www.ajas.info/upload/pdf/18_110.pdf [retrieved on 2018-11-13] XP055523496 abstract table 2 Results and discussion	8
X	KANWAL RAFIQUE ET AL. "Effect of dietary supplementation of different levels of saccharomyces cerevisiae on growth performance and hematology in broiler" <i>INDIAN JOURNAL OF ANIMAL RESEARCH</i> , INDIA, No. 00, 30 January 2018 (2018-01-30), DOI: 10.18805/ijar.B-695 ISSN: 0367-6722, XP055523501 abstract table 3 Results and discussion	8
X	CN 104988089 A (SRICK TIANJIN BIOTECHNOLOGY CO LTD) 21 October 2015 (2015-10-21) abstract page 1 example 1 claim 1	8
X	CN 105146205 A (SHENYANG CLASSFELLOW ANIMAL HUSBANDRY TECHNOLOGY CO LTD) 16 December 2015 (2015-12-16) abstract pages 1-4 claims 1-10	8
A	US 2002146399 A1 (RACZEK NICO N [DE]) 10 October 2002 (2002-10-10) cited in the application abstract claims 1, 3, 4, 15	1-13
A	FR 2909685 A1 (LALLEMAND SAS SOC PAR ACTIONS [FR]) 13 June 2008 (2008-06-13) example 1 example 2	1-13

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Huang. "Analyse quantitative de l'effet des levures vivantes sur le potentiel redox ruminal chez la vache laitière" 01 January 2016 (2016-01-01), Retrieved from the Internet: http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/Texte_14_affiche_Alimentation_Y-Huang.pdf [retrieved on 2019-09-06] XP055619593 the whole document	9, 10
X	Julien. "Addition de levures vivantes (ACTISAF Sc47) dans des rations à base de foin chez la vache laitière tarie : intérêts et limites." 01 January 2011 (2011-01-01), Retrieved from the Internet: http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/Texte13_alim_Julien.pdf [retrieved on 2019-09-06] XP055619594 the whole document	9, 10
X	JEAN PHILIPPE MARDEN ET AL. "A Bioenergetic-Redox Approach to the Effect of Live Yeast on Ruminal pH during Induced Acidosis in Dairy Cow" <i>AMERICAN JOURNAL OF ANALYTICAL CHEMISTRY</i> , Vol. 04, No. 10, 01 January 2013 (2013-01-01), pages 60-68 DOI: 10.4236/ajac.2013.410A1008 ISSN: 2156-8251, XP055619595 Results and discussion; abstract	9, 10
X	ERIC PINLOCHE ET AL. "The Effects of a Probiotic Yeast on the Bacterial Diversity and Population Structure in the Rumen of Cattle" <i>PLOS ONE</i> , Vol. 8, No. 7, 02 July 2013 (2013-07-02), page e67824 DOI: 10.1371/journal.pone.0067824 XP055619596 abstract Conclusion	9, 10
X	Kř?žov? ET AL. "The effect of feeding live yeast cultures on ruminal pH and redox potential in dry cows as continuously measured by a new wireless device" <i>Czech J. Anim. Sci.</i> , 01 January 2011 (2011-01-01), pages 37-45, Retrieved from the Internet: http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/33676.pdf [retrieved on 2015-02-23] XP055171511 abstract Results Discussion Conclusion	9, 10
A	Daniel Sauvant ET AL. "Approche quantitative de l'acidose chez les ruminants" , 01 January 2015 (2015-01-01), Retrieved from the Internet: https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01413564/document [retrieved on 2019-09-06] DOI: 10.4267/2042/57937iüü XP055619598 page 264 - page 265	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/FR2019/051097

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	4318991	A	09 March 1982	DE	2810601	A1	20 September 1979
				GB	2016045	A	19 September 1979
				NL	7901295	A	13 September 1979
				US	4318991	A	09 March 1982

CN	104988089	A	21 October 2015	NONE			

CN	105146205	A	16 December 2015	CN	103431226	A	11 December 2013
				CN	105146205	A	16 December 2015

US	2002146399	A1	10 October 2002	AU	1541002	A	08 August 2002
				DE	10105347	A1	22 August 2002
				EP	1228696	A1	07 August 2002
				JP	2002238465	A	27 August 2002
				KR	20020065368	A	13 August 2002
				US	2002146399	A1	10 October 2002
				ZA	200200728	B	05 August 2002

FR	2909685	A1	13 June 2008	DK	2099898	T3	09 October 2017
				EP	2099898	A1	16 September 2009
				ES	2639810	T3	30 October 2017
				FR	2909685	A1	13 June 2008
				HU	E034475	T2	28 February 2018
				LT	2099898	T	11 September 2017
				PL	2099898	T3	29 December 2017
				PT	2099898	T	19 September 2017
				US	2010092611	A1	15 April 2010
				US	2018044626	A1	15 February 2018
				US	2019071631	A1	07 March 2019
				WO	2008090270	A1	31 July 2008

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2019/051097

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. A23L33/14 A23K10/18 A23K50/75 A23K50/10 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) A23L A23K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, FSTA		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 4 318 991 A (HILL FRANK) 9 mars 1982 (1982-03-09) cité dans la demande abrégé tableau 3 exemples 1-3 revendication 1 ----- -/--	1-7, 11-13
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents		<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe
* Catégories spéciales de documents cités:		
"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée		"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 6 septembre 2019		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 18/09/2019
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé de La Tour, Camille

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>K.-L. CHEN ET AL: "Effects of Bacillus subtilis var. natto and Saccharomyces cerevisiae mixed fermented feed on the enhanced growth performance of broilers", POULTRY SCIENCE, vol. 88, no. 2, 1 février 2009 (2009-02-01), pages 309-315, XP055523492, Oxford ISSN: 0032-5791, DOI: 10.3382/ps.2008-00224 abrégé Introduction Materials and methods - Fermented feed preparation - Trial 1 -Trial 3 Results and discussion tableau 2</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	8
X	<p>W. CHEN ET AL: "Effects of Bacillus subtilis var. natto and Saccharomyces cerevisiae fermented liquid feed on growth performance, relative organ weight, intestinal microflora, and organ antioxidant status in Landes geese1", JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE, vol. 91, no. 2, 1 février 2013 (2013-02-01), pages 978-985, XP055523490, US ISSN: 0021-8812, DOI: 10.2527/jas.2012-5148 abrégé page 979 figure 2 tableau 3</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	8
X	<p>A. W. Zhang: "Effects of Graded Levels of Dietary Saccharomyces cerevisiae on Growth Performance and Meat Quality in Broiler Chickens", 10 janvier 2005 (2005-01-10), XP055523496, Extrait de l'Internet: URL:https://www.ajas.info/upload/pdf/18_110.pdf [extrait le 2018-11-13] abrégé tableau 2 Results and discussion</p> <p style="text-align: center;">-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	8

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>KANWAL RAFIQUE ET AL: "Effect of dietary supplementation of different levels of saccharomyces cerevisiae on growth performance and hematology in broiler", INDIAN JOURNAL OF ANIMAL RESEARCH, no. 00, 30 janvier 2018 (2018-01-30), XP055523501, INDIA ISSN: 0367-6722, DOI: 10.18805/ijar.B-695 abrégé tableau 3 Results and discussion</p>	8
X	<p>-----</p> <p>CN 104 988 089 A (SRICK TIANJIN BIOTECHNOLOGY CO LTD) 21 octobre 2015 (2015-10-21) abrégé page 1 exemple 1 revendication 1</p>	8
X	<p>-----</p> <p>CN 105 146 205 A (SHENYANG CLASSFELLOW ANIMAL HUSBANDRY TECHNOLOGY CO LTD) 16 décembre 2015 (2015-12-16) abrégé pages 1-4 revendications 1-10</p>	8
A	<p>-----</p> <p>US 2002/146399 A1 (RACZEK NICO N [DE]) 10 octobre 2002 (2002-10-10) cité dans la demande abrégé revendications 1,3,4,15</p>	1-13
A	<p>-----</p> <p>FR 2 909 685 A1 (LALLEMAND SAS SOC PAR ACTIONS [FR]) 13 juin 2008 (2008-06-13) exemple 1 exemple 2</p>	1-13
X	<p>-----</p> <p>Huang: "Analyse quantitative de l'effet des levures vivantes sur le potentiel redox ruminal chez la vache laitière", 1 janvier 2016 (2016-01-01), XP055619593, Extrait de l'Internet: URL:http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/Texte_14_affiche_Alimentation_Y-Huang.pdf [extrait le 2019-09-06] le document en entier</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	9,10

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>Julien: "Addition de levures vivantes (ACTISAF Sc47) dans des rations à base de foin chez la vache laitière tarie : intérêts et limites.",</p> <p>1 janvier 2011 (2011-01-01), XP055619594, Extrait de l'Internet: URL:http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/Texte_13_alim_Julien.pdf [extrait le 2019-09-06] le document en entier</p>	9,10
X	<p>-----</p> <p>JEAN PHILIPPE MARDEN ET AL: "A Bioenergetic-Redox Approach to the Effect of Live Yeast on Ruminant pH during Induced Acidosis in Dairy Cow", AMERICAN JOURNAL OF ANALYTICAL CHEMISTRY, vol. 04, no. 10, 1 janvier 2013 (2013-01-01), pages 60-68, XP055619595, ISSN: 2156-8251, DOI: 10.4236/ajac.2013.410A1008 Results and discussion; abrégé</p>	9,10
X	<p>-----</p> <p>ERIC PINLOCHE ET AL: "The Effects of a Probiotic Yeast on the Bacterial Diversity and Population Structure in the Rumen of Cattle", PLOS ONE, vol. 8, no. 7, 2 juillet 2013 (2013-07-02) , page e67824, XP055619596, DOI: 10.1371/journal.pone.0067824 abrégé Conclusion</p>	9,10
X	<p>-----</p> <p>K&rcaron;?&zcaron;ov? ET AL: "The effect of feeding live yeast cultures on ruminal pH and redox potential in dry cows as continuously measured by a new wireless device", Czech J. Anim. Sci, 1 janvier 2011 (2011-01-01), pages 37-45, XP055171511, Extrait de l'Internet: URL:http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/33676.pdf [extrait le 2015-02-23] abrégé Results Discussion Conclusion</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	9,10

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>Daniel Sauvart ET AL: "Approche quantitative de l'acidose chez les ruminants",</p> <p>1 janvier 2015 (2015-01-01), XP055619598, DOI: 10.4267/2042/57937iii</p> <p>Extrait de l'Internet: URL:https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01413564/document [extrait le 2019-09-06] page 264 - page 265</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-13

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2019/051097

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
US 4318991	A	09-03-1982	DE	2810601 A1	20-09-1979
			GB	2016045 A	19-09-1979
			NL	7901295 A	13-09-1979
			US	4318991 A	09-03-1982

CN 104988089	A	21-10-2015	AUCUN		

CN 105146205	A	16-12-2015	CN	103431226 A	11-12-2013
			CN	105146205 A	16-12-2015

US 2002146399	A1	10-10-2002	AU	1541002 A	08-08-2002
			DE	10105347 A1	22-08-2002
			EP	1228696 A1	07-08-2002
			JP	2002238465 A	27-08-2002
			KR	20020065368 A	13-08-2002
			US	2002146399 A1	10-10-2002
			ZA	200200728 B	05-08-2002

FR 2909685	A1	13-06-2008	DK	2099898 T3	09-10-2017
			EP	2099898 A1	16-09-2009
			ES	2639810 T3	30-10-2017
			FR	2909685 A1	13-06-2008
			HU	E034475 T2	28-02-2018
			LT	2099898 T	11-09-2017
			PL	2099898 T3	29-12-2017
			PT	2099898 T	19-09-2017
			US	2010092611 A1	15-04-2010
			US	2018044626 A1	15-02-2018
			US	2019071631 A1	07-03-2019
WO	2008090270 A1	31-07-2008			
