



## INTRODUCTION

Le sevrage du porc regroupe les différentes composantes de stress (nutritionnel, immunitaire et comportemental) qui induisent un stress oxydant important (Robert *et al.*, 2009). Celui-ci correspond à un déséquilibre entre espèces réactives de l'oxygène et défenses anti-oxydantes, et est étroitement lié au système immunitaire et à l'état inflammatoire. Les réponses à ce type de stress sont très variables d'un animal à l'autre (Marco-Ramell *et al.*, 2011 ; Michiels *et al.*, 2013) et rendent complexe la standardisation des expériences *in vivo*. Des paramètres sanguins tels que la capacité anti-radicalaire du sang, la concentration en produits terminaux d'oxydation, en protéines de la phase aiguë ou en enzymes anti-oxydantes ont déjà été proposés pour le suivi du stress oxydant des animaux (Guillou *et al.*, 2009; Robert *et al.*, 2009; Michiels *et al.*, 2013). Le but de ce travail est de proposer un modèle d'étude du stress oxydatif du sevrage utilisant les effets de la vaccination, du stress thermique et de la supplémentation en antioxydants sur les marqueurs sanguins, afin de disposer de stress d'intensité reproductible.

## 1. MATERIELS ET METHODES

### 1.1. Dispositif expérimental

Deux essais (exp. 1 et exp. 2) de 41 jours (j) sont réalisés à la station de Villefranche-de-Rouergue. Pour chaque essai, 360 porcelets femelles et mâles castrés (LW×Ld)×Piétrain sont mis en lots au sevrage [28 j d'âge et 8,4 puis 8,7 kg de poids vif (PV) moyen, respectivement pour les exp. 1 et 2.] sur la base du sexe, du PV et de la portée, puis répartis entre les traitements expérimentaux.

Lors de l'exp. 1, les porcs sont vaccinés ou non le jour du sevrage (j 1) contre le circovirus porcin de type 2 (PCV2) (PCV Suvaxyn<sup>®</sup>; Zoetis, Paris, France). Ils reçoivent un régime 1<sup>er</sup> âge à teneur standard en antioxydants (SA) contenant les niveaux de Se (0,10 mg/kg de sélénite de sélénium ajoutée) et de vitamine E (16 UI/kg d'acétate  $\alpha$ -tocophérol) recommandés par le NRC (2012), ou bien un régime élevé en antioxydants (HA) apportant 0,10 mg/kg de Se sous forme de sélénite de sélénium et 0,20 mg/kg sous forme de levure de sélénium (Alkosel<sup>®</sup>, Lallemand, Blagnac, France), 100 UI de vitamine E et 30 mg/kg d'un concentré de melon (Melofeed<sup>®</sup>, Lallemand, Blagnac, France) riche en superoxyde dismutase (SOD). L'exp. 2 compare les effets des régimes SA et HA, d'une double vaccination à j 1 contre le PCV2 et la grippe porcine (Gripovac<sup>®</sup> 3; Merial, Villeurbanne, France) ou non, d'un stress thermique (moyenne 36,5 °C) de 10:00 à 16:00 h à j 9, 10, 23, 24, 36 et 37 en dehors duquel la température est égale au contrôle (moyenne 27,2°C).

Les animaux sont logés dans deux salles identiques, ayant chacune 12 cases de 15 porcelets, affectées aux deux sexes lors de l'exp. 1 et aux deux conditions de température lors de l'exp. 2. Le dispositif comprend donc une case par classe de PV (lourds, moyens, légers) et par traitement pour chaque sexe lors de l'exp. 1, et une case en sexes mélangés par classe de PV et par traitement lors de l'exp. 2.

Deux aliments 1<sup>er</sup> âge sont préparés avec les prémix SA et HA, et un aliment 2<sup>ème</sup> âge avec le prémix SA. Pendant la dernière semaine d'allaitement, les porcelets ont accès à l'aliment 1<sup>er</sup> âge SA. En post-sevrage, les porcelets reçoivent *ad libitum* l'aliment 1<sup>er</sup> âge pendant 13 j, puis, sans transition après la pesée intermédiaire, l'aliment 2<sup>ème</sup> âge de j 14 à 41. Les aliments 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> âge sont formulés pour contenir

respectivement 10,6 et 9,8 MJ/kg d'énergie nette, et 1,26 et 1,20 g/MJ EN de lysine digestible (dig). L'apport de tryptophane est établi à un niveau légèrement limitant, soit 18,4 % de la lysine dig. Les rapports entre les autres acides aminés (méthionine, acides aminés soufrés, thréonine, valine, isoleucine, leucine et histidine) et la lysine dig. sont respectivement de 39, 60, 65, 70, 54, 96, 31% et 35, 60, 65, 68, 54, 93, 33% dans l'aliment 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> âge.

### 1.2. Mesures, prélèvements et analyses de laboratoire

Les porcs sont pesés individuellement au sevrage puis, après mise à jeun, à j 14, 29 et 41 et j 14, 28 et 41 respectivement, pour l'exp. 1 et 2. La consommation d'aliment est mesurée par période et par loge. Après chaque retrait ou mort, la quantité restant dans le nourrisseur est pesée afin d'affecter la consommation à un effectif connu. L'état sanitaire des porcelets est observé quotidiennement et des notations par case de la consistance des fèces sont réalisées une fois par semaine selon une grille de 1 à 5 (moulé segmenté à liquide). Les deux porcelets ayant le PV le plus proche du PV moyen de chaque case sont choisis pour les prélèvements sanguins. Ceux-ci sont effectués à la veine jugulaire, entre 08:30 et 10:00 h, à j 13, 28 et 40 pour l'exp. 1, et à j 13 et 40 pour l'exp. 2. Le sang est collecté dans trois tubes de 4 ml avec gel séparateur de phase pour la concentration d'haptoglobine, avec héparine de lithium (17 UI/ml) pour l'activité de la glutathion peroxydase (GPx), avec EDTA K<sub>2</sub>E (1,8 mg/ml) pour la détermination de la concentration en lipides et protéines oxydés et le test de capacité anti-radicalaire. Ce dernier consiste à soumettre le sang total, puis les hématies à une procédure d'hémolyse induite par les radicaux libres à l'aide d'un générateur de radicaux libres fonctionnant dans des conditions contrôlées, et décrite par Blache et Prost (1992). De chaque courbe individuelle d'hémolyse, le temps de demi-hémolyse (H50) a été extrait. La concentration en lipides peroxydés est déterminée après réaction des peroxydes biologiques avec la peroxydase et une réaction de coloration en utilisant la TMB, par photométrie à 450 nm (Kit OxyStat, Biomedica, Wien, Autriche). Pour la détermination des protéines carbonylées, les protéines plasmatiques sont dérivées par réaction avec de la DNPH, puis précipitées au TCA. L'absorbance de la protéine-hydrazone est mesurée par spectrophotométrie à 375 nm (Kit OxiSelect, Cell Biolabs Inc., San Diego, USA). L'haptoglobine est mesurée dans le sérum par un test colorimétrique (Phase Haptoglobin Assay, Tridelta Development Ltd, Maynooth, Ireland) et l'activité de la GPx est déterminée sur sang total avec le kit enzymatique Ransel (Randox, Crumlin, Royaume-Uni).

### 1.3. Analyses statistiques

Les performances zootechniques sont analysées pour les périodes j 1 à 14, j 14 à 41 et totale, par une analyse de variance (proc GLM de SAS 9.4, SAS Inst., Cary, NC) en utilisant la case comme unité expérimentale et en prenant en compte les effets fixes de l'aliment (A), de la simple ou double vaccination (V), de la classe de PV, du sexe (S<sub>x</sub>) pour l'exp. 1 ou du stress thermique (ST) pour l'exp. 2, des interactions d'ordre 2 et de l'interaction A × V × S<sub>x</sub> (ou ST). Le test de Tukey est utilisé pour les comparaisons de moyennes.

Une transformation par la méthode de Box-cox est appliquée aux teneurs en haptoglobine, et une transformation racine carrée aux valeurs GPx, protéines carbonylées (exp. 1) et lipides peroxydés (exp. 2).







