

Effet de la supplémentation en vitamine E et en sélénium organique sur la mesure du potentiel global de défense anti-radicalaire des porcelets

David GUILLOU (1), Claire LAUNAY (2), Philippe DURAND (3), Michel PROST (3)

(1) INZO°, 1 rue de la Marébaudière, Montgermont, BP 96669, F-35766 Saint Grégoire Cedex

(2) INZO°, rue de l'église, Chierry, BP 19, F-02402 Château Thierry Cedex

(3) Kirial International, 3 rue des Mardors, F-21560 Couternon

dguillou@inzo-net.com

Avec la collaboration technique de Léna Charles (2), Nathalie Lebas(2), Christian Minette(2) et Fanny Viard(2)

Effect of supplemental vitamin E and organic selenium on the measurement of global potential of defences against free radicals in piglets

Free radicals (FR) originate from various metabolic sources and several defence pathways prevent their adverse effects on health and performance. The objective of this trial was to adapt a method of *ex-vivo* assessment of global defences against FR. 128 piglets, weaned at 4 weeks, were housed in pens of 4 in the same room throughout the experiment. They received a commercial diet for 10 days post-weaning, and were then affected either to a control diet (CON) providing 12.5 mg/kg vitamin E and 0.2‰ selenium from sodium selenite or to an antioxidant diet (AOX), derived from CON with extra 150 mg/kg vitamine E and 0.3‰ selenium from an organic source. Piglets were weighed at weaning and day 11, 21, 28, 35 and 41 post-weaning. Feed intake was assessed on the same schedule. On a selection of 6 pens per treatment, blood samples were taken at day 11 and 39 post-weaning. On whole blood and red cells, hemolysis was induced with a free radical generator under controlled conditions of dilution and light (KRL® test). Supplementation with antioxidants did not affect health or performance (growth rate, feed intake, feed conversion ratio). However, the kinetics of hemolysis differed significantly on whole blood: latency and hemolysis half-life at day 39 were significantly lower than at d11 with CON, while initial levels were maintained with AOX. The KRL® test proved its efficacy in assessing the status of piglets for FR management in a protocol without stress challenge.

INTRODUCTION

La gestion des radicaux libres produits par le métabolisme semble être une clé pour comprendre et favoriser l'adaptation des porcs à diverses situations de stress rencontrées en élevage. La multiplicité des sources de radicaux libres et des voies de défenses antioxydantes (Aurousseau, 2002) impose une approche globale pour évaluer l'influence de suppléments nutritionnelles sur le statut des défenses antiradicalaires. L'objectif de cet essai était d'adapter une méthode *ex-vivo* de mesure du potentiel global de défense antiradicalaire (Prost, 1989 ; Blache et Prost, 1992 ; Durand et al., 1997 ; Lesgards et al., 2002 ; Stocker et al., 2003) à l'évaluation de l'efficacité de nutriments antioxydants chez le porcelet.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. Animaux et logement

L'essai a été conduit au Centre de Recherches Zootechniques Appliquées à Montfaucon (Aisne), dans une salle de post-sevrage. 128 porcelets nés sur l'exploitation étaient sélectionnés le jour du sevrage (4 semaines) sur la base de leur poids vif, sexe et de l'origine maternelle, afin de constituer 16 blocs de 2 cases homologues de 4 porcelets.

1.2. Alimentation

Pendant les dix premiers jours suivant le sevrage, les porcelets recevaient tous un même aliment de premier âge, formule commerciale sans antibiotique, apportant 160 mg de vitamine E (D,L-alpha tocophéryl acétate) et 300 µg de sélénium organique (SelPlex®) par kilo. A partir du onzième jour, les aliments expérimentaux étaient offerts *ad libitum* jusqu'à la sortie du post-sevrage (10 semaines d'âge) : soit un aliment « témoin », apportant 12,5 mg de vitamine E et 200 µg de sélénium inorganique (sélénite de sodium), soit un aliment « AOX » de même formule que le témoin, supplémenté de 300 µg de sélénium organique et 150 mg de vitamine E par kg.

Les aliments étaient échantillonnés sur le centre de recherches selon la méthode des repas fictifs; les teneurs analysées en vitamine E et sélénium étaient conformes (Tableau 1).

1.3. Mesures et calculs

1.3.1. Performances

Les porcelets étaient pesés individuellement au sevrage (j0), le premier jour de la distribution des aliments expérimentaux (j11), puis une fois par semaine pendant le déroulement de l'essai (j21, j28, j35, j41). Le bilan des consommations d'aliments était

Tableau 1 - Résultats des valeurs contrôlées sur les aliments expérimentaux

	Témoin	AOX
Humidité, %	11,95	11,90
Nx6,25, %	18,30	18,55
Calcium, %	0,76	0,77
Zinc, mg.kg ⁻¹	80,0	81,3
Sélénium, µg.kg ⁻¹	236	516
Vitamine E, mg.kg ⁻¹	19,2	163,0

réalisé sur les mêmes périodes, par case. Ainsi, les gains moyens quotidiens, consommations et indices de consommation pouvaient être calculés par case et par période. Les soins réalisés et les symptômes observés étaient enregistrés individuellement.

1.3.2. Analyse de la résistance anti-radicalaire

Le jour du sevrage, 6 cases (24 porcelets) par traitement, représentatives de la variabilité du poids au sevrage, étaient sélectionnées pour l'étude de la résistance anti-radicalaire. Deux prises de sang étaient réalisées : une le premier jour de la distribution des aliments expérimentaux (j11), la seconde deux jours avant la dernière pesée (j39). Les échantillons de sang étaient divisés en deux. Un sous-échantillon de sang complet était soumis à une hémolyse induite par les radicaux libres, à l'aide d'un générateur de radicaux libres fonctionnant en conditions contrôlées (méthode KRL[®], Prost, 1989 ; Blache et Prost, 1992). Le second sous-échantillon était centrifugé, le plasma éliminé, et le culot d'hématies re-dilué dans un tampon, puis soumis à la même procédure d'hémolyse. De chaque courbe individuelle d'hémolyse, on extrayait les informations suivantes : temps de latence (Latence), pente maximale de la courbe (Vmax), temps de demi-hémolyse (TDH).

1.3.3. Statistiques

L'effet du traitement sur les performances était étudié par analyse de la variance, selon un dispositif en blocs complets. L'effet

du traitement sur les paramètres de la courbe d'hémolyse était étudié par analyse de la variance, dans un modèle mixte de mesures répétées, prenant en compte l'effet du jour de prélèvement, de l'aliment, de l'interaction et l'effet de l'individu en covariable. Les moyennes ajustées étaient ensuite comparées 2 à 2 par un test de Student. Les calculs étaient réalisés avec le logiciel SAS v.8.02.

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Avec un poids moyen de 8,3 kg au sevrage, les porcelets pesaient 11,5 kg à j11 et 28,1 kg en sortie de post-sevrage. Ni les consommations, ni les croissances, ni l'indice de consommation n'étaient affectés par la supplémentation en anti-oxydants. Toutefois, cette supplémentation affectait les paramètres de l'hémolyse du sang complet (Tableau 2). Le temps de latence et le temps de demi-hémolyse étaient significativement réduits avec l'aliment témoin lors de la deuxième prise de sang, alors que la supplémentation en antioxydants permettait de maintenir ces paramètres au même niveau pendant la durée de l'essai. En revanche, l'hémolyse des hématies n'était pas modifiée par le traitement alimentaire. Ces données suggèrent que les défenses anti-radicalaires circulantes dans le sang des porcelets, sensibles aux apports alimentaires de vitamine E et sélénium, proviennent principalement de facteurs plasmatiques. Ces résultats sont conformes aux observations de Young et al. (1976) qui ne rapportaient pas d'effet zootechnique des apports de vitamine E et sélénium aux porcelets en l'absence de stress, mais montraient une influence des antioxydants sur la sensibilité du sang à l'hémolyse en présence de peroxyde d'hydrogène.

CONCLUSION

Le test d'hémolyse induite par les radicaux libres semble donc adapté à l'évaluation de l'apport de nutriments antioxydants à des porcelets en post sevrage, dans un protocole sans challenge susceptible de causer du tort aux animaux.

Tableau 2 - Influence de la supplémentation de l'aliment des porcelets en antioxydants (vitamine E, sélénium organique) sur les cinétiques d'hémolyse (méthode KRL)

		Témoin		AOX		Effets statistiques
		j11	J39	j11	j39	
Sang	Latence, min	79,0 ^a	69,6 ^b	77,2 ^a	80,2 ^a	Alim*time (P<0,0001)
	Vmax,%·min ⁻¹	-17,9 ^a	-25,6 ^b	-16,8 ^a	-22,5 ^b	Time (P<0,0001)
	TDH, min	108,1 ^a	91,6 ^b	106,6 ^a	103,8 ^a	Alim*time (P=0,0061)
Hématies	Latence, min	55,4 ^a	52,0 ^b	56,2 ^a	53,8 ^{ab}	Time (P=0,0055)
	Vmax,%·min ⁻¹	-34,2	-37,0	-34,5	-34,1	n.s.
	TDH, min	72,0	67,6	72,8	70,0	n.s.

a,b : P < 0,05

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aurousseau B., 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA Prod. Anim., 15, 67-82.
- Blache, D. and M. Prost. 1992. Free radical attack: Biological test for human resistance capability. In Proceedings of the IX College Park Colloquium on Chemical Evolution: A Lunar-Based Chemical Analysis Laboratory (LBCAL 1989). C. Ponnampuruma and C. W. Gehrke, editors. NASA, Washington D.C., 82-98.
- Durand P., Prost M., Blache D., 1997. Folic acid efficiency enhances oral contraceptive induced platelet hyperactivity. Arterioscler. Thromb.Vasc. Biol., 17, 1939-1946.
- Lesgards, J.F., P. Durand, M. Lassare, P. Stocker, G. Lesgards, A. Lanteaume, M. Prost., and M.P. Lehucher-Michel. 2002. Assessment of lifestyle effects on the overall antioxidant capacity of healthy subjects. Environ. Health Perspect. 110, 479-487.
- Prost, M. 1989. Utilisation de générateur de radicaux libres dans le domaine des dosages biologiques. FR patent 2, 642, 526.
- Stocker P., Lesgards J.F., Vidal N, Chaliel F., Prost M., 2003. ESR study of a biological assay on whole blood: antioxidant efficiency of various vitamins. Biochim. Biophys. Acta, 1621, 1-8.
- Young L.G., Lumsden J.H., Lun A., Claxton J., Edmeades D.E., 1976. Influence of dietary levels of vitamin E and selenium on tissue and blood parameters in pigs. Can. J. Comp. Med., 40, 92-97.