

Le besoin en acide folique chez la truie gravide

Utilisation métabolique des folates comme critère de mesure

J. J. MATTE, Christiane L. GIRARD

Agriculture et Agro-Alimentaire Canada,
Centre de Recherche et de Développement sur le Bovin Laitier et le Porc,
Lennoxville, Québec, Canada J1M 1Z3

avec la collaboration technique de M. GUILLETTE, L. VEILLEUX, C. PLANTE et le personnel opérationnel sous la direction de M. MORISSETTE

Le besoin en acide folique chez la truie gravide: l'utilisation métabolique des folates comme critère de mesure.

Trente-six truies de seconde parité ont été réparties en 5 groupes de 7 animaux chacun afin de déterminer le taux d'incorporation d'acide folique (AF) dans l'aliment qui optimise l'utilisation métabolique de la vitamine durant la gestation. La différence entre les 5 groupes se situait au niveau du taux d'incorporation d'AF dans l'aliment de gestation à 0, 5, 10, 15 et 20 mg/kg. La réponse des folates sériques (FS) et urinaires (FU) à une injection intraveineuse (i.v.) d'AF a été mesurée 4 semaines avant la saillie ainsi qu'à 1, 6, 11 et 15 semaines de gestation. À chacune des périodes, des prélèvements sanguins ont été faits avant l'injection i.v. et à 5 min., 3, 7 et 24 heures après l'injection. L'urine a été recueillie pendant la période post-injection afin de déterminer la quantité totale de folates excrétés. Les mesures de FS et de FU ont été corrigées en fonction de mesures identiques faites après une injection i.v. de saline, le jour précédant l'injection i.v. d'acide folique. Le volume sanguin a été déterminé à chaque période de collecte en utilisant le colorant inerte Bleu d'Evans afin d'estimer la quantité totale de folates circulants. La capacité de liaison du sérum pour les folates a également été mesurée. L'amplitude du pic de FS après l'injection i.v. et sa diminution jusqu'à 7 h post-injection n'a pas été influencé ($P > 0,16$) par les suppléments d'acide folique. La capacité totale de liaison des folates du sérum varie en fonction du stade de gestation mais n'est pas proportionnelle à l'apport d'acide folique de l'aliment. La proportion d'AF i.v. utilisée par la truie (quantité injectée - quantité excrétée dans l'urine) avait tendance ($P < 0,06$) à s'accroître avec le stade de la gestation et était influencée par le taux d'incorporation d'AF dans l'aliment (effet quadratique, $P < 0,01$). Une équation de régression calculée à partir de cet effet quadratique des traitements indique que l'utilisation métabolique de l'AF i.v. était minimisée à un taux d'incorporation de 10,1 mg/kg d'aliment. Ce niveau correspond au taux d'incorporation optimal permettant de rencontrer le besoin métabolique en acide folique de truies ayant un potentiel de reproduction élevé (12,3 porcelets nés par portée). Bien que ces résultats contrastent avec les recommandations du NRC (1988) et de l'INRA (1984) à 0,3 et 0,5 mg/kg respectivement, ils sont en accord avec des résultats récents montrant des effets bénéfiques sur les performances de reproduction de suppléments supérieurs à 8 mg/kg d'AF.

An estimation of the requirement for folic acid in gestating sow: the metabolic utilization of folates as a criteria of measurement.

Thirty five sows at their second parity were randomly distributed in 5 groups of 7 animals each in order to determine the dietary concentration of folic acid (FA) which optimize the metabolic utilization of the vitamin during gestation. The groups differed by the supplementary FA in the gestation diet that were 0, 5, 10, 15 and 20 mg/kg. The response of serum (SF) and urinary (UF) folates to an i.v. injection of FA was measured 4 wk before mating as well as at 1, 6, 11 and 15 wk of gestation. At each of these periods, blood samples were collected before the i.v. injection and at 5 min, 3 h, 7 h and 24 h post-injection for determination of SF. Urine was collected during this post-injection period in order to determine the total amount of excreted folates. On the day before this procedure, one i.v. injection of saline followed by the same measurements was administered in order to establish a baseline of the 24 h pattern of SF and UF. Blood volume of the sows was estimated with the Evans Blue dye for determination of the total amount of circulating folates. The folate binding capacity of serum was also measured. The amplitude of the peak of SF and the following decrease up to 7 h post-injection was not influenced ($P > 0.16$) by the dietary addition of folic acid. The folate binding capacity of serum was not proportional to the folic acid intake of gestating sows. The proportion of i.v. FA utilized by the sow (injected - excreted) tended ($P < 0.06$) to increase as the gestation progressed and was affected by the dietary concentration of FA (quadratic effect of treatments, $P < 0.01$). A regression equation calculated from this treatment effect indicated that the metabolic utilization of the i.v. FA was minimized at a dietary concentration of 10.1 mg/kg. This last level corresponds to the optimal dietary level that meet the metabolic requirement of the sows with high reproductive performance (overall average of 12.3 piglets born alive per litter). Such results contrast with the actual recommendation of NRC (1988) and INRA (1984) at 0.3 and 0.5 mg/kg, respectively. Nevertheless, they are in agreement with recent results showing improvement of reproductive performance with supplements over 8 mg/kg of FA.

INTRODUCTION

Il est maintenant reconnu qu'un supplément d'acide folique offert aux truies gravides accroît la prolificité des truies d'au moins 10 % (KOVGIN et al., 1988; LINDEMANN et KORNEGAY, 1989; THALER et al., 1989; MATTE et al., 1992) et a un impact sur la croissance postnatale du porcelet (MATTE et al., 1992). L'effet de cette vitamine sur la prolificité serait dû à une diminution de la mortalité embryonnaire pendant le premier mois de la gestation (TREMBLAY et al., 1989) causée, d'une part, par une sécrétion accrue de prostaglandines utérines et d'autre part, par un développement embryonnaire plus avancé (MATTE et al., 1994).

Il est cependant difficile d'établir le niveau d'acide folique qui correspond aux besoins de l'animal car des effets de l'acide folique sur la prolificité sont observés dans un intervalle de concentrations dans l'aliment qui varie entre 1,0 et 15,0 mg par kg d'aliment. Bien que différents facteurs d'ordre expérimental puissent expliquer cet écart considérable, on a observé, chez les truies (KOVGIN et al., 1988) et les cochettes (MATTE et al., 1992) prolifiques, qu'un niveau supérieur à 8 mg/kg ou plus était nécessaire pour augmenter la prolificité.

L'utilisation d'un critère comme la prolificité pour évaluer des besoins nutritionnels exige des ressources humaines et physiques considérables car le nombre de répétitions par traitement nécessaires à une interprétation valide des effets peut facilement dépasser 30 animaux (AARON et HAYS, 1991). L'utilisation de critères plus spécifiques est donc souhaitable.

La chute de la concentration de folates sériques pendant la gestation chez le porc (MATTE et al., 1984) comme chez le rat (FULLER et al., 1988), le cobaye (HABIZADEH et al., 1986) et la vache (GIRARD et al., 1989) serait liée à l'utilisation métabolique accrue de cette vitamine suite à la synthèse intense de nouveaux tissus pendant cette période. De plus, chez la truie multipare, le pic de concentration de folates sériques suite à une injection intramusculaire d'acide folique était plus bas pendant la gestation qu'en période pré-oestrus (MATTE et al., 1984). Ces résultats suggèrent que le taux de disparition des folates circulant est plus rapide lorsqu'il y a gestation. Il est possible que cette disparition de l'acide folique soit liée à une utilisation métabolique plus élevée bien que des variations de l'excrétion urinaire puissent être en cause, (SHOJANIA et HORNADY, 1970a; 1970b; EISENGA et al., 1992). Une mesure précise des variations des folates sériques et de l'excrétion urinaire suite à une injection i.v. d'acide folique devrait donc permettre d'estimer l'utilisation métabolique de cette vitamine. Le niveau alimentaire d'acide folique qui maximisera ou saturera cette utilisation métabolique de l'acide folique devrait logiquement correspondre aux besoins en cette vitamine. Cette expérience avait donc pour objectif d'évaluer le besoin en acide folique de la truie par une mesure de l'utilisation métabolique des folates déterminée par le taux de disparition sérique et d'apparition urinaire d'un bolus intraveineux d'acide folique chez des truies recevant différents niveaux de suppléments alimentaires d'acide folique.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES.

1.1. Les animaux et les traitements.

Trente-cinq truies de seconde parité ont été réparties selon leur poids corporel en sept blocs de 5 animaux chacun. À l'intérieur de chaque bloc, chaque truie a reçu, à partir du sevrage, un des cinq traitements suivants soient un supplément alimentaire de 0, 5, 10, 15 et 20 mg d'acide folique par kg d'aliment. L'aliment décrit au tableau 1 a été servi à raison de 2,5 kg/jour en un seul repas à 0h00.

Tableau 1 - Composition centésimale de l'aliment expérimental de base offert pendant la période expérimentale (1)

Ingrédients	%
Maïs	50,0
Orge	20,0
Son de blé	20,0
Tourteau de soja (48%)	5,0
Chaux	2,5
Phosphate bicalcique	1,4
Sel	0,5
Prémélange minéral (2)	0,1
Prémélange vitaminique (3)	0,5

(1) La concentration mesurée en folates des supplémentés était de $0,93 \pm 0,03$, $5,60 \pm 0,16$, $10,74 \pm 0,31$, $14,48 \pm 0,39$ et $19,60 \pm 0,43$ mg/kg.

(2) Apporte par kg d'aliment : Mn, 30 mg; Zn, 100 mg; Fe, 100 mg; Cu, 25 mg; CO, 300 µg; I, 300 µg; et Se, 300 µg.

(3) Apporte par kg d'aliment : vitamine A 10,000 IU; vitamine D₃, 2000 IU; vitamine E, 35 IU; méniadone, 2,2 mg; thiamine, 2 mg; riboflavine, 5 mg; niacine, 25 mg; acide pantothénique, 16 mg; pyridoxine, 3 mg; biotine, 250 µg; vitamine B₁₂, 20 µg et choline, 300 mg.

1.2 Les mesures

Au cours de la deuxième semaine suivant le premier oestrus post-sevrage, une injection intraveineuse de saline a été administrée 8 heures après le repas (jour 1). Un prélèvement sanguin a été effectué avant l'administration ainsi qu'à 5 min, 3, 7 et 24 heures après l'injection en vue du dosage des folates sériques (TREMBLAY et al., 1986). Un prélèvement d'urine et une mesure du volume excrété ont été faits à 3, 5, 7, et 24 heures post-injection en vue du dosage des folates urinaires à partir de la technique développée chez la vache par GIRARD et MATTE (1995). Des prélèvements de sang et d'urine ont été effectués, selon le même horaire, le jour suivant (jour 2), avant et après l'administration d'un bolus intraveineux d'acide folique de 80 mg. Pour chaque traitement, une courbe de disparition nette des folates sériques et une autre d'apparition nette des folates urinaires a été calculée en soustrayant des valeurs du jour 2 les valeurs correspondantes du jour 1. L'utilisation métabolique

de l'acide folique a été quantifiée en soustrayant de la quantité de folates injectés la quantité totale de folates excrétés dans l'urine, cette excrétion ayant été corrigée pour tenir compte de la quantité de folates normalement présents dans l'urine (valeurs totales du jour 1). Un prélèvement sanguin a été effectué à la fin de chaque période de collecte pour l'estimation du volume sanguin par la méthode du colorant inerte "Bleu d'Evans" et la mesure des protéines liant les folates dans le sérum par la méthode développée par O'CONNOR et PICCIANO (1993).

D'autres séries identiques de collectes sanguines et urinaires ont été effectuées une semaine après la saillie (3ème oestrus post-sevrage) ainsi qu'à la 6ème, 11ème et 15ème semaines de gestation. La saillie a été faite tardivement après le sevrage afin de maximiser le taux d'ovulation, un facteur essentiel pour produire un effet marqué de l'acide folique sur les performances de reproduction. Les détections de chaleurs ont été faites par des verrats vasectomisés. Les animaux ont été pesés au premier oestrus post-sevrage, à la saillie ainsi qu'à la fin de la dernière période de collecte. Les performances de reproduction de ces truies à la parturition ont été recueillies.

1.3. Les analyses statistiques

Les données ont été analysées en utilisant la procédure du modèle général linéaire (GLM) de SAS (1985). Pour chaque période de collecte, le taux de disparition sérique et d'apparition urinaire des folates de même que la proportion d'acide folique métaboliquement utilisée ont été analysés avec le bloc et les traitements quantitatifs (0, 5, 10, 15 et 20 mg/kg d'acide folique) comme variables indépendantes. Les effets de traitements ont été décomposés en composantes linéaire, quadratique, cubique et quartique; les termes d'erreurs utilisés, dans ce cas, ont été calculés selon ROWELL et WALTERS (1976). Le volume sanguin a été utilisé pour calculer les valeurs en folates sériques totaux. L'équation de la courbe représentant l'effet des traitements et de la période de collecte sur le taux d'utilisation métabolique a été calculé. Ainsi, le niveau d'acide folique alimentaire permettant de minimiser l'utilisation métabolique du bolus intraveineux d'acide folique, une valeur qui correspond au besoin en acide folique de l'animal, a pu être déterminé.

2. LES RÉSULTATS.

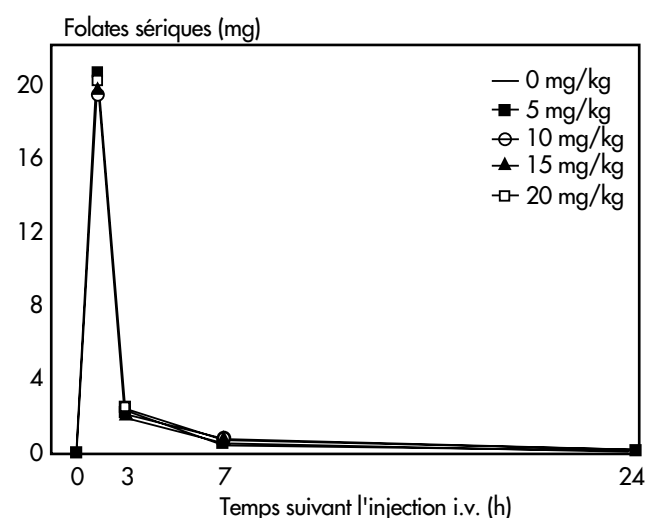
2.1. Les performances zootechniques.

Il n'y avait aucune différence significative ($P > 0,17$) entre les niveaux d'incorporation d'acide folique dans l'aliment de gestation en ce qui a trait à la prolificité, au poids moyen des porcelets et au poids total de la portée à la parturition, les moyennes globales (\pm SEM) étant respectivement de $12,3 \pm 0,3$ porcelets nés par portée, $1,46 \pm 0,04$ kg et $17,8 \pm 0,5$ kg. Les poids moyens (\pm SEM) des truies étaient de $150,0 \pm 2,3$, $157,2 \pm 2,2$ et $206,7 \pm 3,2$, respectivement, au premier oestrus post-sevrage, à la saillie et à la fin de la gestation.

2.2. Les folates et les protéines liant les folates dans le sérum

L'amplitude du pic de folates sériques totaux (concentration x volume circulant de sérum) ainsi que leur diminution pendant les sept heures suivant l'injection intraveineuse n'ont pas été modifiées ($P > 0,16$) par le supplément alimentaire d'acide folique ou par le stade de la gestation (figure 1).

Figure 1 - Réponse des folates sériques à une injection i.v. d'acide folique (80 mg) selon le niveau d'incorporation de l'acide folique à l'aliment



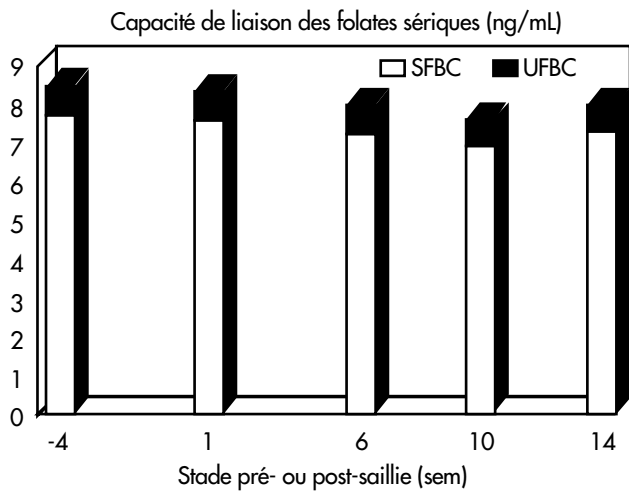
La capacité totale de liaison des folates (TFBC) dans le sérum des truies a diminué linéairement ($P \leq 0,004$) avec le stade de la gestation; la diminution de la quantité de protéines saturées par les folates (SFBC) a varié parallèlement à celle du TFBC (diminution linéaire $P \leq 0,002$) alors que la quantité de protéines non-saturées par les folates (UFBC) était stable pendant la gestation ($P \geq 0,45$) (figure 2a).

Les niveaux de suppléments alimentaires d'acide folique ont également eu un impact important sur la capacité de liaison des folates dans le sérum. L'effet de l'addition d'acide folique était cubique pour les TFBC et SFBC ($P < 0,009$) alors qu'il était quadratique ($P \leq 0,007$) pour l'UFBC. Ces trois variables atteignaient une valeur minimale à une concentration de 15 mg d'acide folique par kg d'aliment (figure 2b).

2.3. L'utilisation métabolique des folates

La proportion de folates métaboliquement utilisée suite à une injection i.v. d'acide folique (quantité injectée - quantité excrétée dans l'urine) par la truie a eu tendance ($P \leq .06$) à s'accroître avec la progression de la gestation; elle a été modifiée (effet quadratique, $P \leq .009$) par la concentration d'acide folique incorporé dans l'aliment (figure 3). Une équation de régression calculée à partir de cet effet quadratique du supplément d'acide folique a montré que, toutes périodes confondues, la rétention des folates suite à une injection i.v. d'acide folique était minimisée à une concentration dans l'aliment de 10,1 mg/kg.

Figure 2 - Variation de la capacité de liaison (SFBC), (UFBC) et totale (TFBC = SFBC + UFBC) des folates dans le sérum, a) selon les stades de la gestation



b) selon le niveau d'incorporation d'acide folique à l'aliment

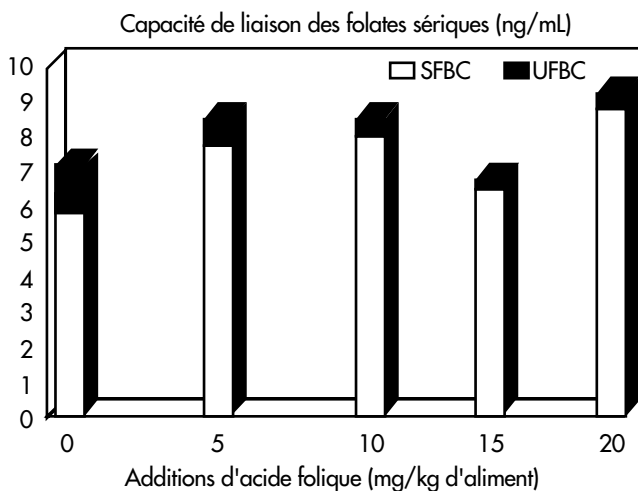
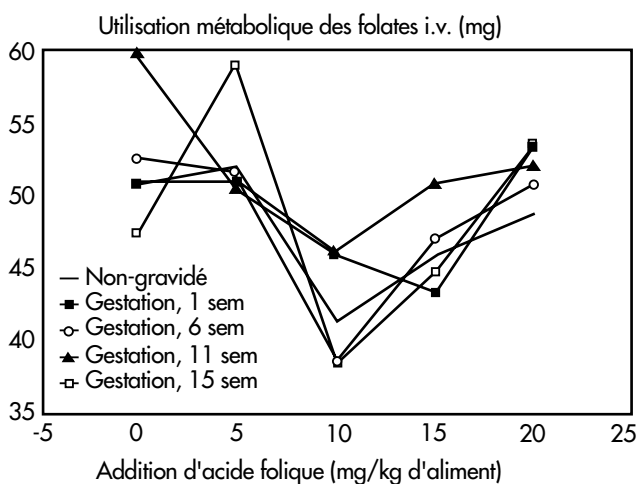


Figure 3 - Variations de l'utilisation métabolique des folates d'origine intraveineuse selon le niveau d'incorporation d'acide folique à l'aliment et selon les stades de la gestation



3. DISCUSSION.

3.1. Les performances zootechniques.

L'objectif de cette expérience était de déterminer le besoin en acide folique chez la truie gravide à l'aide d'un critère moins lourd que la mesure de la prolificité. En effet, le nombre d'animaux par traitement nécessaire à une mesure valide d'un effet significatif en utilisant la prolificité comme critère est de plus de 30 par traitement (AARON et HAYS, 1991). Cependant, la mesure de la prolificité demeure tout de même critique car elle permet de démontrer que le besoin en acide folique a été déterminé chez des animaux à haut potentiel de reproduction, le nombre moyen de porcelets nés par portée étant supérieur à 12.

3.2. Les folates et les protéines liant les folates dans le sérum

La réponse des folates sériques suite à une injection i.v. d'acide folique a été semblable quel qu'ait été le niveau de supplément d'acide folique dans l'aliment. Il est cependant possible que la faible fréquence d'échantillonnage, aucun prélèvement sanguin n'ayant été fait entre 5 minutes et 3 heures post-injection, ait empêché la détection de différences entre traitements. En effet, chez la vache laitière, des prélèvements sanguins plus fréquents, principalement pendant les 4 heures suivant l'injection, ont permis de détecter des différences de réponse des folates sériques en fonction du niveau de saturation des folates des tissus (GIRARD et MATTE, 1995).

La capacité totale de liaison des folates sériques, dans la présente expérience, est en accord avec les données rapportées par O'CONNOR et PICCIANO (1993) et qui montraient une diminution du TFBC, parallèle à la diminution de la concentration des folates sériques à mesure que la gestation progresse. Cependant, ces mêmes auteurs ont observé une augmentation de l'UFBC selon le stade de gestation chez des truies recevant un aliment contenant 0,65 mg/kg d'acide folique. Les niveaux d'UFBC, dans la présente expérience, n'ont pas varié même chez les truies ne recevant aucun supplément mais dont le régime de base fournissait un apport de 0,93 mg d'acide folique par kg d'aliment. Il est donc possible que des différences de statut en folates entre les deux expériences puissent expliquer les divergences quant à l'évolution de l'UFBC pendant la gestation.

Les variations de la capacité de liaison des folates sériques selon le niveau de suppléments d'acide folique dans l'aliment sont en accord avec des résultats précédents obtenus en début de gestation (MATTE et al., 1995) à l'effet qu'un supplément d'acide folique augmente la proportion de SFBC comparativement au TFBC. Les résultats de TFBC et SFBC obtenus avec 15 mg/kg sont probablement dûs aux niveaux anormalement bas de folates sériques observés pendant toute la période expérimentale chez ce groupe d'animaux. En effet, KANE et WAXMANN (1989), chez le rat, ainsi que O'CONNOR et PICCIANO (1993), chez la truie reproductrice, ont montré que la capacité de liaison des folates est corrélée avec la concentration des folates sériques.

3.3. L'utilisation métabolique des folates

L'excrétion urinaire des folates en réponse à l'injection intraveineuse d'acide folique a été mesurée afin de calculer la quantité de folates provenant de cette injection et retenus par l'animal selon le niveau de supplément d'acide folique dans l'aliment. On assume alors que la quantité de folates retenus suite à l'injection i. v. est d'autant plus faible que le besoin en acide folique de l'animal a été comblé par l'apport alimentaire. A l'examen de la Figure 3 on constate que la quantité d'acide folique i. v. retenue par la truie a été minimisée en moyenne à un peu plus de 10 mg/kg d'aliment, ce qui correspondrait au besoin en acide folique de la truie gravide. Ce résultat est en accord avec les effets observés sur les performances de reproduction chez des truies (KOVČIN et al., 1988) et des cochettes (MATTE et al., 1992) prolifiques avec des concentrations dans l'aliment supérieur à 8 mg/kg. Selon les résultats de la présente expérience, le

besoin en acide folique pourrait être plus élevé (autour de 15 mg/kg) au cours de la première semaine suivant la saillie. Cette observation est, elle aussi, en accord avec les effets de cette vitamine observés sur le métabolisme utérin et la maturation des embryons au début de la gestation (MATTE et al., 1994). Bien que ces estimations du besoin en acide folique de la truie gravide contrastent avec les recommandations américaines (NRC, 1988) à 0,3 mg/kg ou françaises (INRA, 1984) à 0,5 mg/kg, elles constituent une des évaluations les plus précises jusqu'à maintenant compte tenu du nombre de concentrations étudiées (5) et des écarts (0 à 20 mg/kg d'aliment) utilisés.

REMERCIEMENTS

Nous remercions les compagnies F. HOFFMANN LAROCHE, Bâle, Suisse et MISSISSAUGA, Ontario, Canada pour leur support financier.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AARON, D. K., HAYS, V. W., 1991. In: MILLER, E. R., ULLREY, D. E., LEWIS, A. J., eds. Swine Nutrition, 605-623. Butterworth-Heinmann, Stoneham, MA, USA.
- EISENGA, B. H., COLLINS, T. D., MC MARTIN, K. E. 1992. J. Nutr. 122, 977-985.
- FULLER, N. J., EVANS, P. H., HOWLETT, M., BATES, C. J. 1988. Br. J. Nutr. 59, 251-259.
- GIRARD, C. L., MATTE, J. J. 1995. Brit. J. Nutr. (Sous presse).
- GIRARD, C. L., MATTE, J. J., TREMBLAY, G. F. 1989. J. Dairy Sci. 72, 3240-3246.
- HABIZADEH, N., SCHORAH, C. J., SMITHELLS, R. W. 1986. Br. J. Nutr. 55, 23-35.
- INRA. 1984. Alimentation des animaux monogastriques: porcs, lapins, volailles, I.N.R.A, éd Paris.
- KANE, M. A., WAXMAN, S. 1989. Lab. Invest. 60, 737-746.
- KOVČIN, S., IVKOVIC, S., BEUKOVIC, M., LALIC, M., 1988. "Zbornik radova" br. 17-18. Institut za sto arstvo, Novi Sad.
- LINDEMANN, M. D., KORNEGAY, E. T. 1989. J. Anim. Sci. 67, 459-464.
- MATTE, J. J., GIRARD, C. L., BRISSON, G. J. 1984. J. Anim. Sci. 59, 158-163.
- MATTE, J. J., GIRARD, C. L., BRISSON, G. J. 1992. Livestock Prod. Sci. 32, 131-148.
- MATTE, J. J., LAFOREST, J. -P., FARMER, C. GIRARD, C. L. 1994. Journées Rech. Porcine en France. 26, 293-298.
- MATTE, J. J., LAFOREST, J. -P., FARMER, C. GIRARD, C. L. 1995. J. Anim. Sci. (soumis pour publication).
- NRC. 1988. Nutrient Requirements of Domestic Animals, No. 3. Nutrient Requirements of Swine. Ninth Revised Ed. National Academy of Sciences-National Research Council. Washington, DC.
- O'CONNOR, D. L., PICCIANO, M. F. 1993. J. Nutr. Biochem. 4, 482-487.
- ROWELL, J. G., WALTERS, D. E., 1976. J. Agric. Sci. (Camb.), 87, 423-432.
- SAS (Statistical Analysis System), 1985. In: SAS User's Guide. Statistics, SAS Inst., Cary, NC, USA.
- SHOJANIA, A. M., HORNADY, G. 1970a. Pediat. Res. 4, 412-421.
- SHOJANIA, A. M., HORNADY, G. 1970b. Pediat. Res. 4, 422-426.
- THALER, R. C., NELSEN, J. R., GOODBAND, R. D., ALLEE, G. L. 1989. J. Anim. Sci. 67, 3360-3369.
- TREMBLAY, G. F., MATTE, J. J., LEMIEUX, L., BRISSON, G. J. 1986. J. Anim. Sci. 63, 1173-1178.
- TREMBLAY, G. F., MATTE, J. J., DUFOUR, J. J., BRISSON, G. J. 1989. J. Anim. Sci. 67, 724-732.