

# La réponse à la supplémentation en cuivre chez le porcelet sevré dépend de la source

María RODRIGUEZ (1), Alessandra N.T.R. MONTEIRO (2), Agathe ROMÉO (2), Gema MONTALVO (1), Joaquín MORALES (1)

(1) PigCHAMP Pro Europa, Segovia, Spain

(2) Animine, Annecy, France

[amonteiro@animine.eu](mailto:amonteiro@animine.eu)

## La réponse à la supplémentation en cuivre chez le porcelet sevré dépend de la source

Le cuivre (Cu) peut améliorer la croissance des porcelets au sevrage s'il est supplémenté à dose élevée dans l'aliment. Cependant, la nouvelle réglementation européenne impose de ne pas dépasser une concentration de 150 ppm jusqu'à quatre semaines post-sevrage (PS), puis 100 ppm de cinq à huit semaines PS. Sachant que ces concentrations sont toujours plus élevées que les besoins nutritionnels, on peut penser que la dose de cuivre sera à nouveau réduite dans le futur. L'étude a été menée sur 384 porcelets divisés en six groupes (huit cases par groupe, huit porcelets par case). Pendant cinq semaines, ils ont consommé un sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4$ ) ou un oxyde de dicuivre ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ; CoRouge®, Animine) à différentes doses : 50, 100 et 150 ppm de Cu par kg d'aliment. Les performances de croissance ont été mesurées après 14 et 35 jours d'expérimentation. A la fin de l'essai (J35), 4 porcelets par traitement ont été abattus pour caractériser le statut oxydant, et d'autres paramètres de santé intestinale. Sur la période globale, les porcelets nourris avec  $\text{Cu}_2\text{O}$  à 150 ppm ont présenté un poids final plus élevé (19,8 vs 17,9 kg ;  $P < 0,05$ ) et un indice de consommation plus faible sur la période 15-35 jours (1,44 vs 1,50 ;  $P < 0,10$ ), comparés aux groupes nourris avec  $\text{CuSO}_4$ . Les traitements n'ont pas influencé la concentration de cuivre hépatique (moyenne entre 12 et 20 mg/g). La dose de Cu a eu un effet significatif sur l'activité de la superoxyde dismutase ( $P < 0,05$ ) : le dosage de 150 ppm semblait inhiber son activité (5784 vs 6202 U/g) comparé aux dosages 100 et 50 ppm. A 150 ppm, le groupe qui a reçu le  $\text{CuSO}_4$  présentait des concentrations hépatiques de malondialdéhyde 46% plus élevées que le groupe  $\text{Cu}_2\text{O}$ , ce qui pourrait expliquer les différences observées sur les performances entre les deux groupes. Les résultats indiquent que les effets de la supplémentation de Cu peuvent varier selon la source utilisée. Des analyses complémentaires sont en cours (cuprémie, microbiote...).

## The response to copper supplementation of weaned piglets depends on the source

High doses of copper (Cu) improve growth performance of post-weaned piglets. However, new European Union regulations limit the maximum concentration of Cu to 150 ppm up to 4 weeks post-weaning (PW), and to 100 ppm from 5 to 8 weeks PW. As these levels are still higher than the nutritional requirement, future reductions in the dietary Cu supplies are expected. A total of 384 piglets, divided into 6 groups (8 pens per group, 8 piglets per pen) were used. For five weeks, each group was fed Cu sulphate ( $\text{CuSO}_4$ ) or dicopper oxide ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ; CoRouge®, Animine) at one of three doses: 50, 100, or 150 ppm Cu. Performance was measured on day 14 and 35 of the trial. At the end of the trial (d35), four piglets were slaughtered for evaluation of oxidative status, microbiota, and gut health parameters. Piglets fed 150 ppm Cu from  $\text{Cu}_2\text{O}$  had higher final body weight (19.8 kg) than those fed  $\text{CuSO}_4$  (17.9 kg;  $P_{\text{interaction}} < 0.05$ ), due to better feed conversion ratio from 15-35 days (1.44 vs. 1.50;  $P < 0.10$ ). Hepatic Cu did not differ among treatments (mean = 12-20 mg/g). Superoxide dismutase (SOD) activity was affected by the Cu dose ( $P < 0.05$ ), with 150 ppm seeming to inhibit SOD activity (5784 U/g) compared to those of 100 and 50 ppm (mean = 6202 U/g). At 150 ppm, the group receiving  $\text{CuSO}_4$  had 46% higher hepatic malondialdehyde concentration than the group fed  $\text{Cu}_2\text{O}$ , which may explain the differences in performance between these groups. The results indicate that the response to Cu supplementation of weaned piglets may depend on the source. Further analyses are in progress (Cu status, microbiota...).

## INTRODUCTION

En Europe, une dose élevée de cuivre (Cu) a longtemps été autorisée dans les aliments complets pour porcelets, pour améliorer les performances des animaux après le sevrage. La dose autorisée précédemment était 170 ppm de Cu total du sevrage jusqu'à 12 semaines d'âge. Dorénavant, la réglementation européenne (UE N° 2018/1039) impose une concentration maximale de 150 ppm jusqu'à 4 semaines post-sevrage (PS), et de 100 ppm de 5 à 8 semaines PS.

On peut penser que la dose de cuivre sera à nouveau réduite dans le futur, car l'excrétion de métaux lourds dans l'environnement est une question de plus en plus débattue. Actuellement, la concentration de Cu autorisée est bien plus élevée que les besoins nutritionnels : 6 ppm Cu jusqu'aux 11 kg de poids vif (PV), puis 5 ppm jusqu'aux 25 kg PV, selon le NRC (2012).

Ces changements règlementaires représentent un défi pour les nutritionnistes. Pour compenser la diminution de la dose de Cu, l'utilisation de sources biodisponibles et plus efficaces que le sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4$ ), la source de référence, peut être envisagée.

Dans notre étude, nous nous sommes concentrés sur l'effet de la réduction des dosages de Cu pendant les cinq semaines PS. Nous avons comparé  $\text{CuSO}_4$  et un oxyde de cuivre (I) ( $\text{Cu}_2\text{O}$ , CoRouge®) à différentes concentrations : la dose autorisée actuellement (150 ppm) et deux scénarios de réduction des niveaux de Cu, respectivement 100 et 50 ppm. Nous avons notamment mesuré leurs effets sur le statut minéral et oxydant.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Animaux et aliments expérimentaux

L'étude a été menée sur un total de 384 porcelets (mâles entiers et femelles ; Topigs x Pietrain) sevrés à 28 jours d'âge, avec un poids initial moyen de  $9,18 \pm 0,11$  kg dans chaque groupe. L'essai a été conduit au Centro de Experimentación Porcino, à Ségovie, Espagne. Les animaux ont été répartis dans six groupes, avec huit cases par groupe et huit porcelets par case (50% de chaque sexe). Deux salles ont été utilisées (24 cases par salle ; 4 répétitions/ traitement/ salle). L'essai a duré cinq semaines, du sevrage jusqu'à l'âge de 63 jours.

Pendant l'étude, les animaux avaient librement accès à l'eau et à la nourriture. Les aliments expérimentaux, fabriqués à base de maïs, blé, d'orge et de tourteau de soja, ne contenaient pas de phytase et étaient proposés sous forme de farine. La période du premier âge s'étendait du sevrage au 14<sup>ème</sup> jour PS. Pendant cette période, les teneurs en matières azotées totales (MAT) et d'énergie nette (EN) étaient respectivement de 18,6% et 11,4 MJ/kg. Pour le deuxième âge jusqu'à la fin de l'essai, l'aliment contenait 16,8% de MAT et 10,5 MJ/kg d'EN.

L'essai portait sur six aliments expérimentaux, avec différentes sources et doses de cuivre (Tableau 1).

**Tableau 1** – Traitements expérimentaux

	$\text{CuSO}_4$	$\text{Cu}_2\text{O}$
<b>50 ppm</b>	T1	T4
<b>100 ppm</b>	T2	T5
<b>150 ppm</b>	T3	T6

### 1.2. Suivi des performances

Les porcelets ont été pesés individuellement au sevrage, puis 14 et 35 jours PS. La consommation de chaque case a été mesurée à la transition entre le premier et le deuxième âge (14 jours après le sevrage), puis à la fin de l'essai (35 jours après le sevrage). Le gain moyen quotidien (GMQ) et l'ingéré ont été calculés pour chaque période.

### 1.3. Prélèvements

A la fin de l'étude, 24 porcelets (2 mâles et 2 femelles par traitement) proches du poids moyen de leur case ont été étourdis, par l'utilisation d'un pistolet à tige perforante, et saignés.

Les contenus de trois segments du tractus digestif (estomac, jéjunum proximal, jéjunum distal) ont été prélevés dans des conditions aseptisées pour éviter les contaminations croisées, puis ont été conservés à -20°C. Le foie a été prélevé et conservé à -80°C pour les analyses relatives au statut oxydant.

### 1.4. Mesure du statut minéral et oxydant

Les concentrations en cuivre et en zinc ont été mesurées dans le foie. Le statut oxydant a été évalué par TBARS (avec l'aide d'un spectromètre à 535 nm). Cette méthode détermine la formation du malondialdéhyde (MDA), au cours de la peroxydation des acides gras insaturés. L'activité des enzymes antioxydantes a été quantifiée pour la catalase (CAT ; méthode Aebi, 1984), superoxyde dismutase (SOD ; test xanthine/xanthine-oxydase), glutathionne peroxydase (GSH-Px ; spectrophotométrie à 340 nm et à 37°C). Il est également prévu d'étudier ultérieurement les concentrations en cuivre et en zinc dans le sang, et la composition du microbiote.

### 1.5. Analyses statistiques

L'unité expérimentale était la case pour les performances de croissance. Les données ont été analysées par la procédure MIXED du logiciel SAS, en utilisant le traitement expérimental comme effet fixe (chaque traitement a été considéré indépendant) et les salles comme effet aléatoire.

L'unité expérimentale était le porcelet pour toutes les analyses relatives au statut minéral et oxydant (4 porcelets pour chaque traitement). L'analyse statistique reposait sur un arrangement factoriel 2x3 avec la source de Cu ( $\text{CuSO}_4$  ou  $\text{Cu}_2\text{O}$ ) et la dose (50, 100 ou 150 ppm). Les données ont été traitées par ANOVA et par le test de LSD. Les différences étaient considérées comme une tendance pour  $P < 0,10$  et significatives pour  $P < 0,05$ .

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Performances de croissance

Les doses et sources de cuivre n'ont pas affecté la consommation d'aliment (moyenne de 455 g/ j/ porc). Ces résultats sont contraires à ceux observés par Bikker *et al.* (2016), qui ont noté que la supplémentation de cuivre à haute dose (160 ppm) augmentait la consommation du sevrage jusqu'à 40 jours PS. Durant cette période de 40 jours, environ 75% de l'effet du cuivre sur le GMQ a été expliqué par l'augmentation de la consommation.

Nous n'avons pas observé d'effet sur la consommation, quelles que soient la source et la dose. Une dose-réponse existait avec la source  $\text{Cu}_2\text{O}$  pour le poids final dans cette étude. Cet effet n'était pas observé avec  $\text{CuSO}_4$  : avec un apport de 150 ppm, le poids diminuait numériquement comparé aux autres doses de  $\text{CuSO}_4$  et significativement ( $P < 0,05$ ) comparé à  $\text{Cu}_2\text{O}$  à la même dose.

Ces résultats vont de pair avec une diminution de l'indice de consommation (IC) sur la période 15-35 jours (Tableau 2). Des études précédentes ont montré que la source d'oxyde de cuivre tendait à augmenter le GMQ et le poids vif comparée au sulfate (Roméo *et al.*, 2018). Nous n'avons pas observé d'effet de la source ou de la dose de cuivre sur l'indice de diarrhée (données non présentées), qui s'est maintenu autour de 3%.

**Tableau 2** – Effets de la source et de la dose de cuivre sur les performances de croissance

	$\text{CuSO}_4$			$\text{Cu}_2\text{O}$			Erreur type	P		
	50	100	150	50	100	150		Source	Dose	SourcexDose
PV <sup>1</sup> initial, kg	9,27	9,11	9,27	9,30	9,12	9,03	0,55	NS	NS	NS
0 – 14 jours, g/j										
Consommation	180	199	164	178	174	186	12,6	NS	NS	NS
GMQ <sup>2</sup>	98,1 <sup>ab</sup>	120 <sup>a</sup>	80,2 <sup>b</sup>	100 <sup>ab</sup>	93,5 <sup>ab</sup>	126 <sup>a</sup>	17,6	NS	NS	< 0,05
IC <sup>3</sup>	1,87 <sup>ab</sup>	1,66 <sup>a</sup>	2,16 <sup>b</sup>	1,79 <sup>ab</sup>	1,86 <sup>ab</sup>	1,48 <sup>a</sup>	0,07	NS	NS	< 0,05
PV à 14 j, kg	10,5 <sup>ab</sup>	10,9 <sup>a</sup>	9,87 <sup>b</sup>	10,5 <sup>ab</sup>	10,4 <sup>ab</sup>	11,1 <sup>a</sup>	0,29	NS	NS	< 0,05
15 – 35 jours, g/j										
Consommation	621	649	626	662	638	662	24,0	NS	NS	NS
GMQ	403 <sup>b</sup>	440 <sup>ab</sup>	433 <sup>a</sup>	410 <sup>b</sup>	408 <sup>ab</sup>	456 <sup>a</sup>	17,4	NS	< 0,05	NS
IC	1,54	1,54	1,50	1,61	1,54	1,44	0,02	NS	< 0,10	NS
PV à 35 j, kg	18,2 <sup>ab</sup>	19,3 <sup>ab</sup>	17,9 <sup>b</sup>	18,3 <sup>ab</sup>	18,7 <sup>ab</sup>	19,8 <sup>a</sup>	0,46	NS	NS	< 0,05
0 – 35 jours, g/j										
Consommation	442	466	438	465	449	469	15,3	NS	NS	NS
GMQ	281	316	272	284	297	320	15,3	NS	NS	< 0,10
IC	1,57	1,46	1,63	1,63	1,51	1,54	0,06	NS	NS	< 0,10

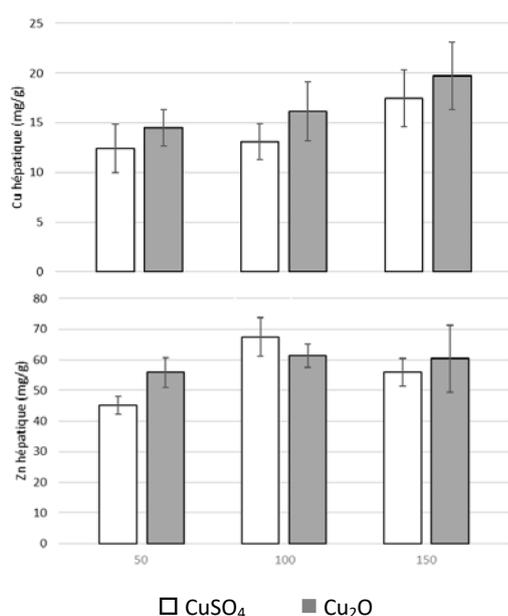
<sup>1</sup>PV, poids vif

<sup>2</sup>GMQ, gain moyen quotidien

<sup>3</sup>IC, indice de consommation

## 2.2. Statut en cuivre et en zinc

Les concentrations en cuivre dans certains organes, *i.e.* la concentration hépatique, sont généralement utilisées pour évaluer la biodisponibilité des sources de cuivre. Dans le cadre de notre étude, aucune différence n'a été observée pour la concentration en cuivre dans le foie après 35 jours d'essai. Les valeurs mesurées se situaient dans une fourchette comprise entre 12,4 et 19,7 mg/g.



**Figure 1** – Concentration du cuivre et zinc hépatiques

Par contre, la concentration du cuivre hépatique augmentait numériquement quand la dose de cuivre augmentait de 50 à 150 ppm : +29% avec le  $\text{CuSO}_4$  et +26% avec le  $\text{Cu}_2\text{O}$  (Figure 1).

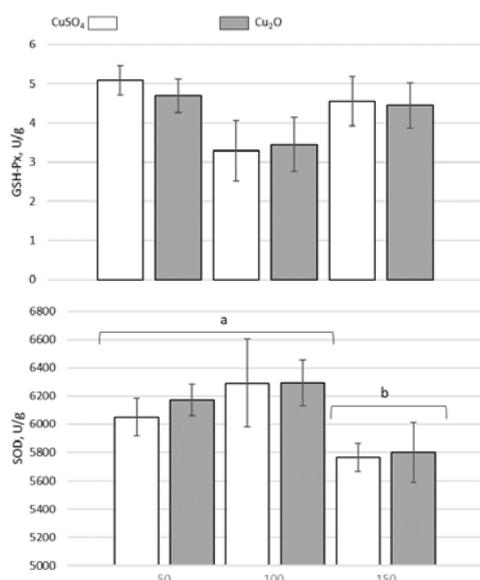
L'étude de Roméo *et al.* (2018) a montré que lorsque le cuivre est supplémenté à haute dose (160 ppm), la concentration de cuivre hépatique est plus faible avec un apport en oxyde de cuivre qu'avec un apport en sulfate de cuivre. Des résultats similaires ont été enregistrés dans une étude antérieure menée sur poulet de chair, qui comparait ces deux sources de cuivre à différentes doses (Hamdi *et al.*, 2018).

Dans l'étude de Roméo *et al.* (2018), la consommation augmentait avec une dose croissante de Cu : +18% pour le groupe qui avait consommé 160 ppm de cuivre comparativement à 15 ppm. Dans le cadre de notre essai, les consommations très proches et la taille plus réduite des effectifs pourraient expliquer l'absence de différences entre les doses et les sources pour la mesure du cuivre hépatique.

Par ailleurs, aucune différence n'a été observée pour la concentration en zinc hépatique. Les interactions entre minéraux sont communes et l'excès d'un minéral peut conduire à une carence d'un autre (Perez, 1978). L'antagonisme entre le cuivre et le zinc est bien connu, mais dans le cadre de notre étude, les dosages plus élevés de cuivre n'ont pas affecté les concentrations de zinc dans le foie.

## 2.3. Statut oxydant

La dose de cuivre tendait à affecter l'activité de la GSH-Px ( $P < 0,10$ ), et avait un effet significatif sur l'activité de la SOD ( $P < 0,05$ ), évaluées dans le foie (Figure 2). Le cuivre est un des cofacteurs de l'enzyme SOD, qui a un rôle d'élimination des radicaux libres dans l'organisme. Les dosages 50 et 100 ppm de cuivre ont augmenté l'activité de la SOD, alors que 150 ppm a inhibé son activité.



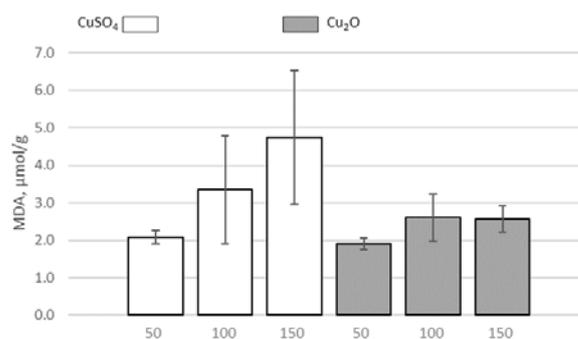
**Figure 2** – Activité hépatique des enzymes glutathionne peroxydase (GSH-Px) et superoxyde dismutase (SOD)  
Des lettres différentes indiquent une différence significative ( $P < 0,05$ )

Après le sevrage, favoriser l'augmentation de l'activité d'enzymes antioxydantes telles que la GSH-Px et la SOD permettrait de maintenir les réactions antioxydantes et un statut oxydant favorable (Yin *et al.*, 2014). Les résultats obtenus pour les groupes à 50 et 100 ppm allaient dans ce sens : augmenter la dose de Cu de 50 à 100 ppm dans l'aliment des porcelets a augmenté numériquement le gain de poids et l'activité de la SOD. Quand la dose de cuivre augmentait à 150 ppm, l'activité de la SOD a diminué significativement pour les deux sources, ce qui pourrait indiquer l'existence d'un stress oxydant.

Néanmoins, l'activité de ces enzymes hépatiques ne peut expliquer à elle seule les variations dans la croissance des porcelets, sachant qu'avec un apport de 150 ppm de cuivre, le poids augmentait avec Cu<sub>2</sub>O et diminuait avec CuSO<sub>4</sub>.

La réduction de l'activité de l'enzyme SOD peut résulter de l'augmentation des radicaux libres, conduisant à des concentrations plus élevées de MDA. Cette relation a été observée chez les porcelets sevrés par Zhu *et al.* (2012), où la réduction de l'activité de la SOD dans le sérum a augmenté les concentrations de MDA, une des molécules finales formées au cours du stress oxydant.

Dans notre étude quelles que soient la source et la dose de cuivre, la concentration hépatique de MDA n'a pas significativement changé ( $P > 0,05$ ; Figure 3), mais elle augmentait numériquement ( $P = 0,20$ ) quand la dose de cuivre augmentait avec le traitement CuSO<sub>4</sub>. Cet effet-dose n'a pas été observé dans le groupe Cu<sub>2</sub>O, si bien que dans les deux groupes ayant reçu 150 ppm Cu, la différence sur la concentration en MDA était de 46%. Des analyses sanguines visant à confirmer ces résultats sont en attente.



**Figure 3** – Concentration hépatique de malondialdéhyde (MDA)

Malgré une diminution significative de l'activité de la SOD hépatique, le groupe ayant consommé Cu<sub>2</sub>O ne montre pas d'augmentation de la concentration en MDA, un biomarqueur de la peroxydation lipidique. Le stress oxydant serait donc limité dans ce groupe, ce qui pourrait expliquer la différence observée sur le gain de poids pour la dose de 150 ppm (Tableau 2). La production d'espèces réactives de l'oxygène peut être liée à une réaction inflammatoire, qui peut être elle-même favorisée par la présence de bactéries pathogènes dans le tractus gastro-intestinal (Guevarra *et al.*, 2019). La composition du microbiote pourrait expliquer les résultats observés au niveau du statut oxydant et les différences relevées sur le gain de poids entre les deux sources. L'étude d'Ambrosio *et al.* (2018) a en effet montré que le cuivre pourrait agir sur la santé intestinale, et donc indirectement sur la consommation et la croissance des porcelets, en régulant le microbiote intestinal. Dans notre étude, ces analyses sont en cours.

## CONCLUSION

En conclusion, la réduction des dosages de cuivre peut compromettre les performances de croissance après le sevrage. Dans le cadre de notre étude, des différences ont été observées entre l'oxyde de cuivre (I) et le sulfate de cuivre à 150 ppm au niveau du poids final. Le statut oxydant pourrait être dépendant de la source, mais des analyses complémentaires sont nécessaires.

D'autres hypothèses sont actuellement étudiées, en relation avec l'absorption du cuivre et son effet sur la santé intestinale.

## REMERCIEMENTS

Ce projet ([www.suminapp.eu](http://www.suminapp.eu)) a été financé par Eurostars, avec co-financement du BPI en France et du CDTI en Espagne, dans le cadre d'Horizon 2020 de l'Union européenne.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ambrosio C.S., Smidt H., van Baal J., Roméo A., Bikker P., 2018. Differential effects of dietary copper sulphate and copper(I)oxide on gut microbiota of weaned piglets. 14th International Symposium on Digestive Physiology of Pigs (DPP2018), 141.
- Bikker P., Jongbloed A. W., van Baal J., 2016. Dose-dependent effects of copper supplementation of nursery diets on growth performance and fecal consistency in weaned pigs. *J. Anim. Sci.*, 94, 181-186.
- Guevarra R. B., Lee J. H., Guevarra R.B., Lee J.H., Lee S.H., Seok M.J., Kim D.W., Kang B.N., Johnson T.J., Isaacson R.E., Kim H.B., 2019. Piglet gut microbial shifts early in life: causes and effects. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 10, 1.
- Hamdi M., Solà D., Franco R., Durosoy S., Roméo A., Pérez J.F., 2018. Including copper sulphate or dicopper oxide in the diet of broiler chickens affects performance and copper content in the liver. *An. Feed Sc. Tech.*, 237, 89-97.
- NRC, 2012. Nutrient requirements of swine: eleventh revised edition. Eds, Natl. Acad. Press, Washington, DC, Pp. 424.
- Règlement d'exécution (UE) 2018/1039, de la Commission du 23 juillet 2018 concernant l'autorisation du diacétate de cuivre(II) monohydraté, du dihydroxycarbonate de cuivre(II) monohydraté, du chlorure de cuivre(II) dihydraté, de l'oxyde de cuivre(II), du sulfate de cuivre(II) pentahydraté, du chélate de cuivre(II) et d'acides aminés hydratés, du chélate de cuivre(II) et d'hydrolysats de protéines, du chélate de cuivre(II) et de glycine hydratés (sous forme solide) et du chélate de cuivre(II) et de glycine hydratés (sous forme liquide) en tant qu'additifs pour l'alimentation de toutes les espèces animales et modifiant les règlements (CE) n° 1334/2003, (CE) n° 479/2006 et (UE) n° 349/2010 ainsi que les règlements d'exécution (UE) n° 269/2012, (UE) n° 1230/2014 et (UE) 2016/2261
- Perez J.M., 1978. L'alimentation minérale des porcins. *Techniporc*, 1(1), 1-32.
- Roméo A., Durosoy S., van Baal J., Bikker P., 2018. Effet de deux sources de cuivre sur les performances et le statut en cuivre de porcelets sevrés. *Journées Rech. Porcine*, 50, 131-136.
- Yin J., Wu M.M., Xiao H., Ren W.K., Duan J.L., Yang G., Li T.J., Yin Y.L., 2014. Development of an antioxidant system after early weaning in piglets. *J. Anim. Sci.*, 92(2), 612-9.
- Zhu L.H., Zhao K.L., Chen X.L., Xu J.X., 2012. Impact of weaning and an antioxidant blend on intestinal barrier function and antioxidant status in pigs. *J. Anim. Sci.*, 90, 2581-2589.

