

Détermination des vitamines A, E et D au niveau sanguin chez les sangliers

Estefania PEREZ CALVO (1), Stéphane ETHEVE (2), Elodie CHENAL (2), Daniel FERNANDEZ DE LUCO (3), Mari Cruz ARNAL BARRERA (3), Gilberto LITTA (2)

(1) DSM Nutritional Products, Centre de Recherche en Nutrition et Santé Animale, F-68305 Saint Louis, France

(2) DSM Nutritional Products, Nutrition Innovation Center, R&D, PO Box 2676, CH-4002 Basel, Suisse

(3) Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, Zaragoza 50013, Espagne

Estefania.perez-calvo@dsm.com

Avec la collaboration de Gibert WEBER

An exploratory study of the concentrations of fat-soluble vitamins in the blood of Spanish hunted wild boar

Vitamin concentrations in the blood are indicators used to assess nutritional condition and health status of animals and humans. For instance, low concentrations of vitamin D have been associated with tuberculosis severity in humans and in the wild boar. The aim of this pilot study was to evaluate the stability of vitamins A, E and D in the blood of euthanized domestic pigs and then determine concentrations of fat-soluble vitamins in wild boar from northwestern Spain. The pilot study showed that concentrations of vitamins A, E and D (and its metabolites) did not significantly between live and post-mortem pigs, except for vitamin D3, which was lower post-mortem. Wild boar results showed that vitamin A and E concentrations lay within the interval identified in the pilot study, except for young males, which had lower vitamin A, and young females, which had higher vitamin E concentrations. Vitamin E concentrations in females were significantly higher than those in males, and vitamin A concentrations showed an interaction between gender and age. Vitamin D metabolites in wild boar were lower than the interval identified in the pilot study of domestic pigs, except for 25-OH-D2. This study established the first reference interval for vitamins A, D and E in wild boar sera.

INTRODUCTION

La concentration sanguine en vitamines est un indicateur permettant d'évaluer l'état nutritionnel et l'état de santé des animaux et des humains. Par exemple, la concentration de vitamine D dans le sang est négativement corrélée avec la gravité de la tuberculose chez l'homme (Arnedo Pena *et al.*, 2014) et chez le sanglier, qui est le plus important réservoir de tuberculose dans le centre de l'Espagne (Risco *et al.*, 2016). Cependant la quantité de données disponibles sur les niveaux de vitamine chez les animaux tels que les sangliers sont très limitées, en raison notamment des difficultés rencontrées pour la collecte des échantillons. L'objectif de cette étude est d'évaluer les concentrations de vitamines liposolubles dans le sérum des sangliers afin de commencer à générer des intervalles de référence, avec à terme la possibilité de corrélérer cela avec l'état de santé des sangliers.

1. MATERIEL ET METHODES

Etude 1 : Une première étude a été menée afin d'évaluer l'impact de la prise d'échantillons sur des porcs domestiques vivants et post mortem.

Un total de 8 porcs croisés, mâles et castrés (Large-White x Redon), d'environ 35kg de poids corporel, alimentés avec un aliment à base de tourteau de soja et de maïs, incluant un prémix vitamines- minéraux commercial suivant les besoins NRC, ont été prélevés au niveau de la veine jugulaire. Puis les animaux ont été euthanasiés et laissés pendant environ 1 heure à la température ambiante afin de reproduire les conditions de chasse. Des échantillons de sang ont été prélevés post mortem par ponction dans la veine intracaverneuse.

Etude 2 : La teneur en vitamines liposolubles chez le sanglier a été mesurée dans des échantillons de sang prélevés par ponction dans la veine intra-caverneuse sur un total de 56 sangliers (25 mâles et 31 femelles) juvéniles (<1 an) et adultes (> 1 an) chassés dans le nord-est de l'Espagne pendant les saisons de chasse 2016-2017 et 2017-2018.

Les concentrations des vitamines liposolubles telles que les métabolites de la vitamine D ont été déterminées par LC-MS/MS (Amundson *et al.* 2017) et par HPLC pour les vitamines A et E (Aebischer *et al.* 1999). Dans l'étude 1, les différences statistiques ont été analysées par un test t. Dans l'étude 2, les différences d'âge et de sexe chez les sangliers ont été analysées statistiquement par un test ANOVA à deux facteurs.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La première étude a montré que les concentrations de métabolites de vitamine D, ainsi que de vitamine A et vitamine E, étaient similaires chez les porcs vivants et morts. A l'exception de la vit D3 où les valeurs sont significativement inférieures ($P < 0,001$) chez les animaux morts par rapport aux animaux vivants.

Dans la seconde étude, les valeurs de vitamines A et E dans le sérum de sanglier se situent dans l'intervalle déterminé chez le porc domestique (Etude 1), à l'exception des jeunes males présentant une valeur inférieure de vitamine A et des jeunes femelles présentant des concentrations plus élevées de vitamine E. Les niveaux de vitamine E chez les femelles sont significativement supérieurs à ceux des males. Quant à la vitamine A, une interaction a été observée entre le sexe et l'âge. Les concentrations mesurées pour les métabolites de la vitamine D (24(R),25-(OH)2-D3 et 25-OH-D3) sont inférieurs par rapport aux valeurs d'intervalle du porc domestique (Etude 1) et de la littérature (Arnold *et al.* 2015). Le métabolite 25-OH-D2 est détectable dans le sang de sanglier et non chez le porc domestique. L'une des raisons pourrait être l'inclusion des champignons dans l'alimentation du sanglier sauvage.

Des taux plus élevés de métabolite de la vitamine D ont été observés chez les adultes par rapport aux jeunes sangliers. Cependant, la vitamine D3 n'a pas été détectée probablement parce que celle-ci ne faisait pas partie de son régime alimentaire naturel. Ces résultats sont en accord avec Risco *et al.* (2016) qui a montré une corrélation entre la gravité de la tuberculose et les concentrations de 25-OH-D3 chez les sangliers. Cependant, des taux faibles de vitamine D ont aussi été associés à une carence en calcium, le rachitisme et le développement de troubles immunologiques chez les porcs domestiques (Madson *et al.* 2012). Par conséquent, il serait aussi intéressant de déterminer le taux de calcium et phosphore pour interpréter le rôle régulateur de la vitamine D dans l'homéostasie du calcium et du phosphore chez le sanglier.

CONCLUSION

Nous avons mesuré les concentrations sériques des vitamines liposolubles A, E et D chez des sangliers sauvages. Des intervalles de référence seront nécessaires afin de pouvoir utiliser ces données en corrélation avec le sexe et de l'âge des individus, ainsi que d'autres paramètres liés à la santé des animaux.

Tableau 1 – Niveau de vitamines liposolubles (en ng/ml) dans le sérum de porcs domestiques avant et après l'euthanasie

Vitamines	Métabolites	Porc domestique (vivant)				Porc domestique (post mortem)				P value
		Moyenne	ET	Min	Max	Moyenne	ET	Min	Max	
Vit D	24(R),25-(OH)2-D3	5,74	1,41	4,31	8,52	5,47	1,58	4,05	8,55	0,068
	25-OH-D3	21,02	1,81	18,48	24,12	19,34	3,11	15,69	25,40	0,055
	25-OH-D2	< LIQ				< LIQ				
	Vitamine D3	6,05 ^a	0,85	4,39	7,38	4,47 ^b	0,87	3,30	5,46	<0,001
Vit A	Rétinol	286,00	50,30	214,00	357,00	265,75	53,34	189,00	334,00	0,073
Vit E	α-tocophérol	1943,75	767,16	1130,00	3590,00	1788,75	569,67	1110,00	2730,00	0,186

¹LIQ = Limite Inférieure de Quantification (0,05 ng/ml) ; ²ET = écart type ; ³des lettres différentes (a-b) dans une même ligne indiquent une différence significative

Tableau 2 – Niveau de vitamines liposolubles (ng/ml) dans le sérum de sangliers post mortem en fonction du sexe et de l'âge

Vitamines	Métabolites	Femelle				Male				Analyse statistique		
		Juvénile		Adulte		Juvénile		Adulte		P value		
		Moyenne	ET	Moyenne	ET	Moyenne	ET	Moyenne	ET	G	A	G*A
Vit D	24(R),25-(OH)2-D3	1,22	1,14	3,73	0,42	0,96	0,70	1,78	0,57	0,152	0,034	0,271
	25-OH-D3	2,04	1,65	7,08	0,86	2,56	1,22	4,32	1,17	0,375	0,010	0,190
	25-OH-D2	2,39	1,03	5,17	0,58	2,68	0,78	4,73	0,75	0,924	0,004	0,652
	Vitamine D3	< LIQ		< LIQ		< LIQ		< LIQ				
Vit A	Rétinol	262,32	31,47	188,07	17,00	147,38	23,09	183,10	23,09	0,017	0,430	0,027
Vit E	α-tocophérol	3091,19	463,14	2149,58	250,12	1312,79	353,73	1781,26	339,85	0,043	0,514	0,055

¹LIQ = Limite Inférieure de Quantification (0,05 ng/ml) ; ET = écart type

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aebischer C., Schierle J., Schüep W., 1999. Simultaneous determination of retinol, tocopherols, carotene, lycopene, and xanthophylls in plasma by means of reversed-phase HPLC, *Methods Enzymol*, 299, 348-362.
- Amundson L., Hernandez L., Crenshaw T., 2017. Serum and tissue 25-OH vitamin D3 concentrations do not predict bone abnormalities and molecular markers of vitamin D metabolism in the hypovitaminosis D kyphotic pig model, *Br J Nutr* 118, 30-40.
- Arnedo-Pena A., Juan-Cerdán J.V., Romeu-García M.A., García-Ferrer D., Holguín-Gómez R., Iborra-Millet J., Pardo-Serrano F., 2014. Vitamin D status and incidence of tuberculosis infection conversion in contacts of pulmonary tuberculosis patients: a prospective cohort study. *Epidemiol. Infect.* 143, 1731–1741.
- Arnold J., Madson D.M., Ensley S.M., Goff J.P., Sparks C., Stevenson G.W., Crenshaw, T., Wang, Ch., Horts, R.L. 2015. Survey of serum vitamin D status across stages of swine production and evaluation of supplemental bulk vitamin D premixes used in swine diets. *J Swine Health Product*, 23, 28-34.
- Madson D. M., Ensley, S. M., Gauger, P. C., Schwartz K. J., Stevenson G. W., Cooper V. L., Horst R. L. (2012). Rickets: Case series and diagnostic review of hypovitaminosis D in swine. *J Vet Diag Invest*, 24, 1137–1144.
- Risco D., Salguero F. J., Cerrato R., Gutierrez-Merino J., Lanham-New S., Barquero-Pérez O., Fernández-Llario P. (2016). Association between vitamin D supplementation and severity of tuberculosis in wild boar and red deer. *Research in Veterinary Science*, 108, 116–119.