

# Evaluation de la condition physiologique de porcelets sevrés après exposition au stress social

Gemma TEDO (1), Pol LLONCH (2), Jose J. PASTOR (1)

(1) LUCTA, SA - Innovation Division, UAB Research Park, Eureka, 08193 Campus UAB, Bellaterra, Espagne

(2) Department of Animal and Food Science, Veterinary school, 08193 UAB, Bellaterra, Espagne

[gemma.tedo@lucta.com](mailto:gemma.tedo@lucta.com)

Avec la collaboration de Carles COLOM, Marta BLANCH, Almudena MARTINEZ, Sergi LOPEZ et François DENIEUL

## Evaluation of the physiological condition of weaned piglets after exposure to social stress

Weaning stress causes gut-barrier dysfunction partly by triggering the release of corticotropin releasing factor (CRF) and thereby inducing degranulation of intestinal mast cells, which in turn results in intestinal dysfunction that compromises piglet's welfare. The aim of this study was to evaluate how mixing (social stress) influences the physiological condition of weaned piglets by inducing intestinal mast cell degranulation. To this end, 48 21-day-old weaned piglets (Danbred x Pietrain, 6 kg body weight) were divided into a negative control (CT) and a socially stressed (SS) group. Social stress consisted of mixing the piglets for three consecutive days (day 22-24 after weaning) with unfamiliar piglets. Piglets were housed in groups of four (six pens/treatment) and fed *ad libitum*. Performance parameters were measured weekly. To evaluate the physiological condition of weaned piglets, blood and intestinal samples (jejunum and ileum) were collected from 12 piglets per treatment (two pigs/pen) the day after mixing (day 25 after weaning). Haematological and histological measurements, including the number of degranulated mast cells, were taken. Performance was analysed using a mixed-effects model (SAS, v.9.4). Haematological and histological parameters were analysed using one-way ANOVA (GraphPad Prism). Compared to the CT group, the SS group showed a trend for an increase in the number of degranulated mast cells in the jejunum ( $P < 0.10$ ), an increase that was significant in the ileum ( $P < 0.05$ ). Several haematological parameters differed significantly between groups ( $P < 0.05$ ). According to the parameters measured in the present study, social stress may also induce mast cell degranulation in the intestine, which may influence the physiological status of the animal.

## INTRODUCTION

Le stress de sevrage provoque un dysfonctionnement de la barrière intestinale en libérant le facteur de libération de la corticotrophine (CRF) et en induisant la dégranulation des mastocytes intestinaux, ce qui compromet le bien-être du porcelet (Moeser *et al.*, 2007). L'objectif de cette étude était d'évaluer comment le stress social, un autre facteur de stress présent dans la production porcine, affecte l'état physiologique des porcelets sevrés en induisant la dégranulation des mastocytes intestinaux.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Animaux

L'essai a été conduit à la ferme expérimentale de Lucta (Sant Aniol de Finestres, Espagne). Au total, 48 porcelets mâles croisés Danbred x Piétrain, sevrés à  $21 \pm 2$  jours de vie avec un poids vif (PV) moyen de  $6,0 \pm 0,1$  kg, ont été utilisés.

### 1.2. Logement et programme alimentaire

Les porcelets ont été logés par groupe de quatre animaux par case ( $0,75 \text{ m}^2$  / porcelet) du sevrage (jour zéro) à 42 jours après le sevrage et alimentés *ad libitum* selon le traitement.

Trois régimes ont été utilisés dans l'expérience : un aliment de premier âge (du sevrage jusqu'à 7 j post-sevrage) contenant 18,1 % de protéines brutes (PB) et 3450 kcal d'énergie métabolisable (EM), un second aliment (de 8 j jusqu'à 21 j post-sevrage) contenant 17,1 % de PB et 3350 kcal d'EM, et un troisième aliment (de 22 j jusqu'à 42 j post-sevrage) contenant 17,0 % de PB et 3335 kcal d'EM. Le régime alimentaire a été formulé selon les besoins nutritionnels du porc (NRC, 2012).

### 1.3. Traitements expérimentaux et procédure expérimentale

Les porcelets ont été divisés en deux groupes expérimentaux : le groupe témoin non stressé (CT) et le groupe socialement stressé (SS). Le stress social consistait à mélanger des animaux pendant trois jours consécutifs (de 22 j à 24 j post-sevrage) avec des porcelets inconnus. Un seul animal de chaque case est resté dans la même case. Le reste des animaux a été changé chaque jour. L'aliment a été prélevé pendant la procédure dans les deux groupes expérimentaux. Le lendemain après la fin de la procédure de stress social (jour 25 post-sevrage), des échantillons (12 porcelets/groupe, deux/case) de sang (veine jugulaire) ont été prélevés. Les porcelets prélevés ont ensuite été étourdis et euthanasiés par exsanguination pour obtenir des échantillons d'intestin (jéjunum et iléon). Toutes les procédures expérimentales ont obtenu l'approbation du comité d'éthique de l'Université Autonome de Barcelone (UAB, 9019/10548/2017).

#### 1.4. Mesures expérimentales

Les PV individuels et la consommation moyenne journalière par case ont été mesurés chaque semaine du sevrage jusqu'à 42 j post-sevrage. Pour évaluer l'état physiologique, un hémogramme complet de chaque échantillon a été réalisé (SHCV, UAB, Espagne). Les échantillons d'intestin (jéjunum et iléon) sont fixés au Methacarn (IRTA-CReSA, Espagne), déshydratés dans des bains d'alcool en série, nettoyés dans du xylène puis noyées dans de la cire de paraffine. Des blocs de tissus ont été montés et des sections d'environ 4 µm ont été réalisées. Les coupes ont été automatiquement colorées à l'hématoxyline et à l'éosine (SOP IT-A4-EHP 003) et également colorées au bleu de toluidine. Des mesures morphométriques ont été effectuées dans le jéjunum et l'iléon, avec un microscope optique (BHS, Olympus, Barcelone, Espagne). Les mesures ont été prises dans 10 villosités et cryptes bien orientées de chaque animal. La hauteur des villosités (VH) et la profondeur de la crypte (CD) ont été mesurées à l'aide d'un micromètre oculaire linéaire (Olympus, Réf. 209-35040, Microplanet, Barcelone, Espagne). Le nombre de mastocytes (total et apparemment dégranulés) a été déterminé dans la lamina propria dans une zone de 40 000 µm<sup>2</sup> de chaque section à l'aide d'une grille oculaire (Olympus, Microplanet). Des mesures ont été prises dans 10 zones de chaque animal.

#### 1.5. Analyses statistiques

Les données de performances ont été soumises à une analyse de la variance (ANOVA) de mesures répétées en utilisant un modèle mixte, avec l'effet aléatoire de la case et des effets fixes du traitement, de la semaine et de leur interaction, avec le logiciel SAS (v.9.4, SAS Institute Inc, Cary, États-Unis). Les paramètres hématologiques et histologiques ont été analysés par ANOVA, avec l'effet fixe du traitement, en utilisant le logiciel GraphPad Prism (v.9). Les résultats sont considérés comme significatifs à  $P < 0,05$  et une tendance à  $P \leq 0,1$ .

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

Il n'y avait pas de différence significative de performances entre les groupes (16,71 vs 16,80 ± 0,62 kg PV final,  $P = 0,543$ ). Par contre en général, les résultats montrent une diminution des valeurs hématologiques pour les paramètres des globules rouges et une tendance à leur diminution pour les paramètres plaquettaires (Tableau 1), ainsi qu'une augmentation de la dégranulation des mastocytes aux niveaux intestinaux, significativement dans l'iléon et une tendance dans le jéjunum (Figure 1) chez les animaux soumis au modèle du stress social, par rapport aux animaux du groupe témoin. Les traits hématologiques sont des paramètres essentiels pour évaluer l'état de santé et l'état physiologique, y compris la réactivité au stress (Etim *et al.*, 2013). Selon ces résultats, les porcelets

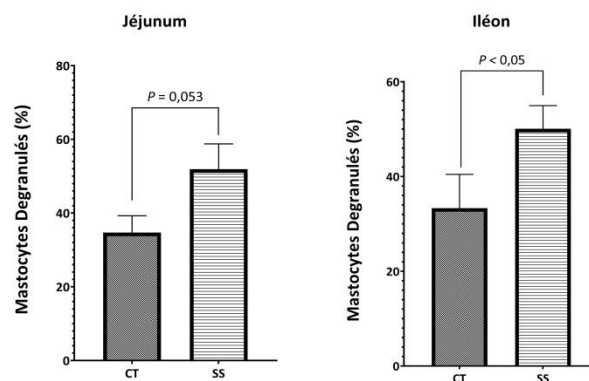
réagissent systématiquement au stress social. D'autre part, au niveau intestinal, l'augmentation observée de la dégranulation des mastocytes due au stress social correspond avec les résultats de Moeser *et al.* (2007) chez des porcelets sevrés précocement et de Vicario *et al.* (2010) chez la souris dans des conditions de stress social, suggérant que le stress social altère le système immunitaire au niveau gastro-intestinal.

**Tableau 1** – Comparaison des teneurs hématologiques entre le groupe témoin non stressé (CT) et le groupe socialement stressé (SS)

Paramètres <sup>1</sup>	CT	SS	ETR <sup>2</sup>	P-value
Hématies, x10 <sup>6</sup> cell/µL	6,14	5,59	0,10	0,003
Hémoglobine, g/dL	10,18	9,98	0,15	0,052
Hématocrite, %	31,49	28,51	0,41	0,035
Largeur de distribution des globules rouges, %	20,52	19,16	0,56	0,045
Numération plaquettaire, x10 <sup>3</sup> cellules/µL	345,4	258,6	32,3	0,040
Composant moyen plaquettaire, g/dL	21,07	19,94	0,33	0,075
Concentration plaquettaire, %	0,32	0,24	0,02	0,077

<sup>1</sup>Les valeurs indiquées correspondent à la moyenne (n = 12/groupe).

<sup>2</sup>ETR: écart type résiduel. P-value de l'effet traitement.



**Figure 1** – Comparaison du pourcentage de mastocytes dégranulés (%) au niveau intestinal entre le groupe témoin non stressé (CT) et le groupe socialement stressé (SS)

## CONCLUSION

Cette étude montre la liaison entre le stress social subi par le porc et la réponse en termes de statut physiologique de l'animal à deux niveaux, systémique et intestinal. Ce modèle de stress social pourrait être utilisé dans l'évaluation de solutions ayant pour objectif de stabiliser la condition physiologique des porcelets pendant le sevrage.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Etim N.N., Enyenihi G.E., Williams M.E., Udo M.D., Offiong E.E.A., 2013. Haematological parameters: indicators of the physiological status of farm animals. *Br. J. Sci.*, 10, 33-45.
- Moeser A.J., Klok C.V., Ryan K.A., Wooten J.G., Little D., Cook V.L., Blikslager A.T., 2007. Stress signaling pathways activated by weaning mediate intestinal dysfunction in the pig. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 292, 173-181.
- NRC, 2012. Nutrient requirements of swine: 11th revised edition. The National Academies Press, Washington D.C., USA, 210 p.
- Vicario M., Alonso C., Yang P., Martínez C., Ramos L., Lobo B., González A., Guilà M., Pigrau M., Saperas E., Azpiroz F., Santos J., 2010. Chronological assessment of mast cell-mediated gut dysfunction and mucosal inflammation in a rat model of chronic psychosocial stress. *Brain. Behav. Immun.*, 24, 1166-1175.