



# L'activité de la myéloperoxydase augmente pendant la l'épisode diarrhéique mais pas pendant le stress social chez les porcelets sevrés

Raúl D. GUEVARA (1,3), Jose J. PASTOR (2), Sergi LÓPEZ-VERGÉ (2), Xavier MANTECA (1), Gemma TEDO (2), Pol LLONCH (1)

(1,3) Department of Animal and Food Science, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Bellaterra (UAB), Espagne

(2) Innovation Division, Lucta S.A., UAB Research Park, Campus UAB, 08193, Cerdanyola del Vallès, Espagne

(3) AWEC Advisors S.L., Research Park UAB, Campus UAB, 08193, Cerdanyola del Vallès, Espagne

raul.guevara@awec.es

Avec la collaboration de Carles COLOM, Almudena MARTINEZ, Marc VUJADINOVIC et François DENIEUL

## Myeloperoxidase activity increases during diarrhoea but does not change during social stress in weaned piglets

Stress triggers intestinal inflammation that might compromise the intestinal health and welfare of pigs. Myeloperoxidase (MPO) is an inflammatory mediator related to immune defence. Faecal MPO activity has been proposed as a non-invasive biomarker of intestinal inflammation in human medicine. To validate it as a biomarker of intestinal inflammation in piglets, 72 weaned piglets (body weight of  $5.4 \pm 1.00$  kg) were fed ad libitum with a standard commercial diet. Faecal samples from 16 piglets with diarrhoea and 16 without diarrhoea were collected, 14 days after weaning. Faecal samples from piglets with diarrhoea had higher MPO activity than those from non-diarrheic piglets ( $P < 0.05$ ). This higher MPO activity might be related to the inflammatory response of the intestines causing this diarrhoea. This study served to validate MPO activity as a less-invasive intestinal inflammatory marker. Subsequently, this biomarker was used to evaluate intestinal inflammation in socially stressed piglets. A meta-analysis of nine studies using the same social stress model (three consecutive days mixing unfamiliar piglets), same genetic line [(LD x LW) x Piétrain], was performed, including a total of 637 piglets (stressed vs. control animals). Results showed no differences in the levels of MPO activity between groups. Therefore, MPO activity may not be a valid biomarker of intestinal inflammation in the social stress model used. Additional studies targeting intestinal inflammation with a different stressor should be performed to test the validity of this non-invasive indicator in weaned piglets.

## INTRODUCTION

Le stress déclenche une inflammation intestinale qui peut compromettre la santé intestinale et le bien-être des porcs (Morrow-Tesch *et al.*, 1994). La myéloperoxydase (MPO) est un médiateur inflammatoire lié à la défense immunitaire contre les bactéries pathogènes. La MPO est libérée par les granules cytoplasmiques des neutrophiles lors de la phagocytose (Watanabe *et al.*, 2002). La MPO peut être ainsi un marqueur utile pour détecter et mesurer l'inflammation (Peterson *et al.*, 2016 ; Pulli *et al.*, 2013), dont l'utilisation a été validée chez l'humain. Cependant, aucun consensus n'a été atteint sur les résultats, l'interprétation et les tests de laboratoire à effectuer (Pulli *et al.*, 2013). L'objectif de cette étude était de valider l'activité fécale de la MPO en tant que biomarqueur efficace de l'inflammation intestinale. De plus, une méta-analyse dans le cadre d'un modèle de stress social (SS), a été réalisée pour évaluer la fiabilité de la MPO en tant que biomarqueur moins invasif de l'inflammation intestinale.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Validation de la MPO comme biomarqueur de l'inflammation intestinale

L'essai a été réalisé dans la ferme expérimentale de Lucta (Sant Aniol de Finestres, Espagne). Tous les animaux ont été nourris avec des aliments commerciaux distribués *ad libitum*, sous forme de farine et formulés pour répondre ou être légèrement supérieur aux besoins en éléments nutritifs du NRC (2012). Toutes les procédures expérimentales ont obtenu l'approbation du comité d'éthique de l'Université Autonome de Barcelone. Sur un total de 72 porcelets (LD x LW) x Piétrain sevrés à 21 jours (poids vif (PV)  $5,4 \pm 1,0$  kg), 16 porcelets présentant une incidence de diarrhée (selles liquides jaunes) et 16 porcelets sans diarrhée ont été sélectionnés pour la validation de la MPO comme biomarqueur optimal de l'inflammation intestinale. Des échantillons fécaux ont été prélevés le jour du sevrage pour tous les porcelets au niveau du rectum (par un massage circulaire et en utilisant un lubrifiant pour minimiser les blessures dans le groupe d'animaux sans diarrhée, si nécessaire)

et stockés dans des récipients en plastique avec des étiquettes d'identification. Tous les échantillons ont été stockés à -80 °C jusqu'à l'analyse. Les échantillons fécaux ont été analysés pour l'activité MPO par spectrophotométrie UV basée sur le protocole décrit par Pulli *et al.* (2013). Les résultats présentés correspondent à la moyenne par groupe. Le logiciel statistique SAS® (SAS Inst. Inc. ; Cary, NC) a été utilisé pour analyser les données. Un test T a été effectué pour évaluer les différences d'activité MPO entre les traitements en utilisant le PROC TTEST. Des différences significatives ont été déclarées à  $P \leq 0,05$ .

## 1.2. Applicabilité de la MPO en tant que biomarqueur de l'inflammation chez les animaux en stress social

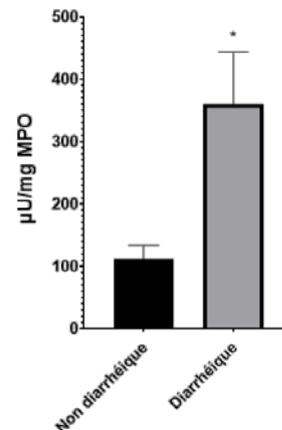
Dans les neuf études réalisées en interne, des échantillons fécaux ont été obtenus et analysés selon les mêmes procédures décrites dans l'étude de validation. Pour le modèle de stress social, un porcelet par case (le plus petit) est resté dans la même case à partir de 8h00 du matin, et les porcelets restants ont été déplacés vers une nouvelle case et mélangés avec des nouveaux homologues. Cela a été fait pendant les deux jours suivants, puis le troisième jour (72 h après le premier mélange), les animaux ont été remis dans la case d'origine. Une méta-analyse a été réalisée pour déterminer si la MPO est un biomarqueur sensible pour détecter l'inflammation intestinale chez les porcelets sevrés sous un modèle de stress social (SS). Toutes les études incluses dans la méta-analyse ont été effectuées dans des conditions contrôlées similaires et suivies des pratiques générales. Cette technique augmente la puissance statistique du test lors de la comparaison de la moyenne du groupe témoin (animaux non stressés) et du groupe traitement (animaux stressés). Les données ont été analysées à l'aide d'un modèle mixte avec le challenge du stress social, le sexe et leurs interactions comme effets fixes et l'essai comme effet aléatoire en utilisant la procédure statistique PROC GLIMMIX du logiciel SAS® (SAS Inst. Inc. ; Cary, NC). La méta-analyse a inclus 637 animaux au total. Des différences significatives ont été déclarées à  $P \leq 0,05$ .

## 2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Essai de validation

Les échantillons fécaux de porcelets souffrant de diarrhée présentaient une activité MPO fécale plus élevée ( $360,0 \pm 83,9$

$\mu\text{U}/\text{mg}$  de protéine) par rapport aux échantillons fécaux de porcelets non diarrhéiques ( $112,4 \pm 21,4 \mu\text{U}/\text{mg}$  de protéines) (Figure 1,  $P < 0,05$ ).



**Figure 1** – Activité de la myéloperoxydase (MPO) à partir d'échantillons fécaux d'animaux diarrhéiques par rapport à des échantillons fécaux d'animaux non diarrhéiques

\*moyenne  $P < 0,05$  (t test après log transformation des données)

Cette activité MPO plus élevée dans les matières fécales pourrait être liée à la réponse inflammatoire des intestins qui se manifeste par la présence de diarrhée (Rodrigues *et al.*, 2021, Pulli *et al.*, 2013).

### 2.2. Méta-analyse

Les résultats obtenus à partir de la méta-analyse n'ont montré aucune différence des niveaux d'activité MPO entre les porcelets sevrés non stressés et stressés ( $P > 0,05$ ). De plus, de la diarrhée n'a été observée dans aucun des groupes ( $P > 0,05$ ).

## CONCLUSION

Dans les résultats obtenus, l'activité MPO est liée à la présence de diarrhée. Dans ce modèle de stress social, nous n'avons pas observé de diarrhée. Le modèle présent de SS n'a pas été en mesure de provoquer une réponse inflammatoire suffisante qui pourrait être détectée par l'activité MPO.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Morrow-Tesch J.L., McGlone J.J., Salak-Johnson J.L., 1994. Heat and social stress effects on pig immune measures. *J. Anim. Sci.*, 72, 2599-2609.
- NRC, 2012. Nutrient requirements of swine: 11th revised edition. The National Academies Press, Washington D.C., USA, 210 p
- Peterson C. G. B., Lampinen M., Hansson T., Lidén M., Hällgren R., Carlson M., 2016. Evaluation of biomarkers for ulcerative colitis comparing two sampling methods: fecal markers reflect colorectal inflammation both macroscopically and on a cellular level. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 76, 393-401.
- Pulli B., Ali M., Forghani R., Schob S., Hsieh K. L. C., Wojtkiewicz G., Linnoila J. J., Chen J. W., 2013. Measuring myeloperoxidase activity in biological samples. *PLoS One*, 8, 1-10.
- Rodrigues L.A., Wellington M. O., González-Vega J. C., Htoo J. K., Van Kessel A. G., Columbus D. A., 2021. A longer adaptation period to a functional amino acid-supplemented diet improves growth performance and immune status of Salmonella Typhimurium-challenged pigs. *J. Anim. Sci.*, 99, 1-11.
- Watanabe K., Jinnouchi K., Yagi T., 2002. Immunoreactivity for myeloperoxidase (MPO) in the vestibule after the injection of bacterial lipopolysaccharide into the middle ear. *Auris Nasus Larynx*, 29, 241-245.