



Détermination des teneurs urinaires en minéraux et biomarqueurs de la minéralisation osseuse chez la truie gestante à partir de prélèvements sur tampons vaginaux

Clément RIBAS (1,2), Nathalie QUINIOU (2), Charlotte GAILLARD (1)

(1) PEGASE, INRAE, Institut Agro, 35590 Saint-Gilles, France

(2) IFIP-Institut du Porc, La Motte au Vicomte, BP 35 104, 35651 Le Rheu Cedex, France

clement.ribas@inrae.fr

Etude réalisée avec l'aide méthodologique de Sylviane BOULOT (2) et l'appui technique de Raphaël COMTE (1), Maryline LEMARCHAND (1), Sophie DARÉ (1), Clémentine DEROINÉ (1), Yannick SUREL et Daniel BOUTIN (UE3P, Saint-Gilles, 35).

Determination of mineral content and bone turnover markers in pregnant sow urine collected using vaginal tampons

The mineral status of sows plays a crucial role in their performance in the nursery and their productive career. Insufficient mineralisation is one of the factors implicated in lameness and leg issues, which degrade sow health and well-being, and reduce longevity in the herd. Mineral status can be monitored using urinary biomarkers assessed routinely in human medicine; however, free-catch sampling with a cup make it difficult to monitor large numbers of animals reared in groups. The aim of this study was to assess effects of using vaginal tampons to collect urine on the results of chemical composition analysis of mineral content and biomarkers of bone mineralisation. One spontaneous urination of each of 10 multiparous sows was sampled during the last week of gestation using four methods: control collection in a cup vs. collection with three models of commercially available tampons (i.e. A, B and C). Urine concentrations of phosphorus and calcium (minerals) and of two biomarkers of bone mineralisation (CTX-I and DPD) standardised by creatinine were determined. The sampling method did not influence the values of these minerals and biomarkers, except for calcium concentration ($P < 0.001$), which was lower using tampon B. This study suggests that it is possible to use vaginal tampons for urine sampling to analyse minerals and biomarkers of bone mineralisation in gestating sows. Tampon sampling is thus a way to routinely obtain urine from a large number of animals to ensure that they are monitored accurately.

INTRODUCTION

Les problèmes d'aplomb sont l'une des principales causes de réforme précoce des truies. Ce problème affectant le bien-être des animaux a des causes multifactorielles mais la nutrition, et plus particulièrement les apports en phosphore (P) et calcium (Ca), ont un impact fort sur le statut osseux des truies (Van Riet *et al.*, 2013). Différents biomarqueurs permettent le suivi de l'état de minéralisation des os à partir de prélèvements sanguins ou urinaires (Shetty *et al.*, 2016). La collecte d'échantillons d'urine dans un pot pendant la miction est une méthode non invasive. Cependant, elle peut être longue donc coûteuse en main d'œuvre, et complexe à réaliser quand les truies sont élevées en groupe. L'utilisation de tampons est une alternative proposée par Boulot *et al.* (2021). Cependant, l'influence de ce mode de prélèvement sur les teneurs en biomarqueurs des urines n'a pas fait l'objet de travaux à ce jour. Ainsi, l'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de la méthode de prélèvement sur les teneurs en minéraux et en biomarqueurs de la minéralisation osseuse.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

L'étude a été réalisée sur 10 truies multipares croisées Large White x Landrace, issues de l'Unité Expérimentale Physiologie et Phénotypage des Porcs (UE3P, 35590 Saint-Gilles, France). Elles étaient logées en case de maternité conventionnelle, dans une salle dont la température ambiante était de $21,8 \pm 1,2$ °C pour le jour du prélèvement. L'urine a été collectée dans un récipient individuel le vendredi de la semaine précédant la mise-bas (vers 109 jours de gestation), lors de la miction spontanée du matin (entre 8h15 et 11h00). Immédiatement après la collecte, l'urine a été répartie entre un pot témoin et trois pots dans lesquels trois tampons différents ont été immergés. Trois modèles de tampons hygiéniques du commerce ont été utilisés, avec les caractéristiques suivantes : gros volume, avec applicateur, sans parfum et sans blanchissement au chlore. Chaque tampon a ensuite été pressé manuellement pour obtenir 15 mL d'urine qui ont été centrifugés (2500 T pendant 10 min à 4°C), aliquotés et conservés à -20°C avant analyse.

1.2. Analyses de laboratoire

La teneur en créatinine a été analysée par la méthode Jaffé sur analyseur séquentiel (Gallery plus, ThermoFischer Scientific, USA) et utilisée comme standard pour tenir compte de la dilution de l'urine (Narayanan et Appleton, 1980). Les teneurs en Ca et P total de l'urine ont été analysées par spectrométrie à plasma par couplage inductif (ICP). Les teneurs en CTX-I (C-terminal spécifique du collagène de type I) et DPD (Desoxyypyridinoline), biomarqueurs de la résorption osseuse, ont été analysées par dosage immunoenzymatique, respectivement avec les kits 'Urine Crosslaps' (IDS®, Paris, France) et 'MicroVue DPD EIA' (Quidel®, Athens, USA). La gamme de détection est de 50 à 6750 µg/L pour le CTX-I et de 1,1 à 300 nmol/L pour le DPD. Toutes les analyses ont été effectuées en duplicat.

1.3. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (v.4.2.2). Le test de Shapiro-Wilk a été utilisé pour tester la normalité des variables. Un test de Friedman, prenant en compte des données appariées par truie, a été utilisé pour tester l'effet du mode de prélèvement (n = 4) sur les variables d'intérêt. Lorsque ce test était significatif, les modalités de prélèvement ont été comparées deux à deux avec un test de Wilcoxon. Les différences ont été considérées significatives quand le niveau de signification (P-value) ≤ 0,05.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La variation intra-essai est de 4,9 % pour le CTX-I et de 2,6 % pour le DPD. Une truie a été retirée de l'analyse car elle présentait des valeurs supérieures à la gamme d'analyse pour les biomarqueurs de la minéralisation osseuse.

Le mode de prélèvement n'influence pas significativement les variables étudiées (Tableau 1) sauf pour le Ca (P < 0,001). La

teneur obtenue avec le tampon B est significativement plus faible qu'avec le témoin et le tampon C, le tampon A donnant des résultats intermédiaires. Nos résultats sont en accord avec Nickel et al. (2017) qui ne trouvent pas de différences entre un prélèvement sur tampon et en pot sur les valeurs de créatinine et P ainsi que pour deux de nos trois tampons testés (A et C) pour le Ca. La différence de résultat concernant le tampon B pourrait être mise en relation avec une structure différente du tampon (plus compact que les deux autres), ainsi qu'avec la composition du cœur absorbant qui était en viscoscose pour le tampon B vs. en coton pour les deux autres.

La teneur moyenne en Ca urinaire est trois à quatre fois plus faible que celle obtenue par Boudon et al. (2016) chez des truies également en fin de gestation, mais semblable à celle obtenue chez des truies en milieu de gestation dans cette même étude. Les résultats des marqueurs de résorption osseuse suggèrent que les truies de notre essai mobilisent moins leurs réserves osseuses que celles étudiées par Boudon et al. (2016). Cette différence peut être la conséquence des caractéristiques des régimes alimentaires utilisés dans les deux études (8 g/kg de Ca dans l'aliment dans notre cas vs. 9,5 g/kg et un bilan électrolytique plus faible), entraînant un relargage plus faible de Ca pour les truies que nous avons suivies.

CONCLUSION

Deux des trois tampons testés n'ont pas d'impact sur l'analyse des minéraux et des biomarqueurs de la minéralisation osseuse en comparaison avec la collecte directe en pot. Au vu des avantages de cette technique de prélèvement (praticité, coût faible, capacité à collecter une grande quantité d'urine), et en s'assurant des caractéristiques de tampon à privilégier, elle pourrait donner lieu à la mise en place en routine de campagnes de collecte pour le suivi des biomarqueurs urinaires et la caractérisation précise du statut minéral des truies.

Tableau 1 – Moyenne (± écart-type) des teneurs en minéraux et biomarqueurs de la minéralisation osseuse selon le mode de prélèvement

Variable	Modalité	Témoin (pot)	Tampon A	Tampon B	Tampon C	P-value ¹
Créatinine, mg/L		595 ± 318	605 ± 358	597 ± 337	577 ± 353	0,83
Minéraux						
Phosphore, mg/g de créatinine		82,1 ± 80,6	84,0 ± 78,2	84,6 ± 90,3	107,7 ± 142,8	0,14
Calcium, mg/g de créatinine		41,7 ± 28,6 ^a	36,8 ± 25,7 ^{ab}	34,3 ± 24,8 ^b	56,2 ± 45,9 ^a	<0,001
Biomarqueurs de la minéralisation osseuse						
CTX-I, µg/mmol de créatinine		319,4 ± 75,6	282,9 ± 85,0	307,2 ± 79,9	347,8 ± 157,8	0,10
DPD, nmol/mmol de créatinine		5,46 ± 2,24	5,54 ± 2,39	5,50 ± 2,25	6,12 ± 3,39	0,95

¹ Résultats du test de Friedman. ^{a,b} Des lettres différentes sur une même ligne indiquent une différence significative entre modalités (P < 0,05).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Boudon A., Quesnel H., Dourmad J.-Y., Duhamel J., Quemeneur B., Planchenault D., Narcy A., 2016. Effet de l'abaissement du bilan électrolytique de l'aliment distribué en fin de gestation sur le déroulement de la mise-bas, la survie des porcelets et la dynamique de mobilisation osseuse des truies. Journées Rech. Porcine, 48, 115-120.
- Boulot S., Berardet A., Guennec J.L., 2021. Une nouvelle méthode de prélèvement urinaire sur tampon pourrait faciliter le monitoring des pathologies uro-génitales. Journées Rech. Porcine, 53, 117-118.
- Narayanan S., Appleton H.D., 1980. Creatinine: a review. Clin. Chem., 26, 1119-1126.
- Nickel M., Skoland K., Forseth A., Brown J., Thompson V., Breuer M., Warner R., O'Brien K., Canning P., Thomas P., Hoogland M., Lauterbach N., Karriker L., 2017. Development and validation of ante-mortem urine collection techniques for gilts and sows. In: Proc. 48th Ann. Meet. AASV, 63-64.
- Shetty S., Kapoor N., Bondu J.D., Thomas N., Paul T.V., 2016. Bone turnover markers: Emerging tool in the management of osteoporosis. Indian J. Endocrinol. Metab., 20, 846-852.
- Van Riet M.M.J., Millet S., Aluwé M., Janssens G.P.J., 2013. Impact of nutrition on lameness and claw health in sows. Livest. Sci., 156, 24-35.