



HAL
open science

Identification de marqueurs de la robustesse du porcelet au sevrage

Arnaud Buchet

► **To cite this version:**

Arnaud Buchet. Identification de marqueurs de la robustesse du porcelet au sevrage. Science des productions animales. Agrocampus Ouest, 2018. Français. NNT : 2018NSARB308 . tel-01818903

HAL Id: tel-01818903

<https://theses.hal.science/tel-01818903>

Submitted on 19 Jun 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AGRO CAMPUS

OUEST

Arnaud BUCHET • 16 janvier 2018

Thèse AGROCAMPUS OUEST
sous le label de l'Université européenne de Bretagne
pour obtenir le grade de
DOCTEUR D'AGROCAMPUS OUEST
Spécialité Biologie et physiologie animales

ÉCOLE DOCTORALE • Écologie, Géosciences, Agronomie,
ALimentation (EGAAL)

LABORATOIRE D'ACCUEIL • UMR INRA / AGROCAMPUS OUEST
Physiologie, Environnement et Génétique pour l'animal et les
systèmes d'élevage (PEGASE)

Identification de marqueurs de la robustesse du porcelet au sevrage

Pierre-Guy MARNET
Professeur AGROCAMPUS OUEST, UMR PEGASE / *président*

Isabelle OSWALD
Directrice de recherche, UMR INRA Toxalim / *rapporteuse*

Guy-Pierre MARTINEAU
Professeur Émérite, Ecole Nationale Vétérinaire / *rapporteur*

Pierre MORMEDE
Directeur de recherche Émérite, UMR INRA-INP, GENPHYSE /
examineur

Nathalie LE FLOC'H
Directrice de recherche, UMR PEGASE / *directrice de thèse*

Catherine BELLOC
Professeure ONIRIS, UMR INRA-ONIRIS BIOEPAR /
co-directrice de thèse

Élodie MERLOT
Chargée de recherche, UMR PEGASE /
co-encadrante de thèse

.....
Anne LACOSTE
Directrice R&D, Cooperl Arc Atlantique / *membre invitée*

Remerciements

Ce travail de thèse, bien qu'ayant été porté par mes soins, n'en reste pas moins une œuvre collective ! C'est la raison pour laquelle j'ai beaucoup de personnes à remercier. Je conçois mon travail avant tout comme une passion et une voie d'épanouissement. Je me suis efforcé au cours de ces trois années, entre autres, d'œuvrer pour que chacun prenne du plaisir à travailler ensemble. Travailler ensemble pour une œuvre collective, c'est certainement l'objectif que je souhaite atteindre. Si je me suis engagé dans cette thèse il y a 3 ans, c'est parce que j'estimais qu'il me manquait des compétences pour travailler dans le monde de la recherche. J'ai beaucoup appris au cours de ces trois dernières années et ces remerciements s'adressent également à vous tous qui, à des degrés divers, ont contribué à enrichir mes compétences.

Tout cela n'aurait jamais été possible sans le soutien inconditionnel de ma famille : Merci infiniment papa, maman, Guillaume, Marie, Maxime et Romain de m'avoir permis de devenir qui je suis aujourd'hui, de m'avoir inculqué des valeurs de travail, de passion, d'organisation, d'égalité, d'honnêteté. Merci de m'avoir soutenu dans tout ce que j'ai entrepris en France et à l'étranger. Merci de m'aimer tout simplement ! Je mesure d'autant plus aujourd'hui le bonheur d'évoluer dans un tel environnement pour se développer et

s'épanouir. Je n'oublie pas mes grands-parents : mes grands-pères qui auraient certainement été très fiers et mes grands-mères qui me soutiennent et m'encouragent chacune à leur manière. Je m'inscris aussi par cette thèse en agriculture dans la tradition familiale, agriculteurs de génération en génération depuis au moins le début du XVII^{ème} siècle.

Je tiens à remercier très chaleureusement mes deux « mamans », Elodie Merlot et Catherine Belloc qui m'ont encadré pendant ces trois années.

Elodie, j'ai beaucoup appris auprès de toi durant ces trois années. Tu as été très présente pendant toute ma thèse et ça a été un vrai plaisir de travailler avec toi. Tu as toujours pris le temps de relire, d'amender, de discuter, de proposer, de corriger, les éléments que je pouvais t'envoyer. Avoir un encadrement aussi rigoureux et exigeant, c'est une réelle chance et une voie royale pour apprendre au maximum. Merci énormément pour tout ça ! Mais je garderais également les discussions très humanistes que nous avons pu avoir ensemble ! C'était très agréable de travailler avec toi, sans doute la raison pour laquelle nous avons l'intention de continuer !

Catherine, vétérinaire et non bretonne, les choses commençaient mal entre nous ! Si nos relations ont été plus distantes géographiquement, elles ne l'ont certainement pas été professionnellement ou humainement. Tu m'as inculqué une rigueur

et une exigence qui sont très importantes dans tout travail scientifique. J'ai beaucoup apprécié nos séances de travail communes sur les données, les articles, le manuscrit, la biblio entrecoupées de nos discussions sur la filière porcine ou nos réflexions diverses et variées sur le monde. Merci aussi de m'avoir fait partager tes lectures. J'ai pris beaucoup de plaisir à travailler avec toi et je suis très heureux de poursuivre.

Je tiens à remercier Nathalie Le Floc'h, qui a accepté de diriger cette thèse et qui a été responsable de l'équipe « Adaptation » pendant la majeure partie de ma thèse. Merci pour le regard exigeant et constructif que tu as porté sur mon travail et sur ce manuscrit. J'ai apprécié les discussions que nous avons pu avoir au cours de ces 3 ans. Je garderais en tête quelques souvenirs communs de Shanghai...

Merci à Isabelle Oswald et Guy-Pierre Martineau d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse.

Merci à Pierre-Guy Marnet d'avoir accepté de présider et à Pierre Mormède d'avoir accepté d'être membre de mon jury de thèse.

Je tiens à remercier Anne Lacoste, directrice Recherche et Développement du Groupe COOPERL et Jean-Noël Sialelli, responsable des vétérinaires de Hyovet (entre autres !) d'avoir été mes premiers soutiens au sein de la COOPERL pour construire cette thèse. Vous avez été présents tous les deux à tous les niveaux pour assurer le succès de cette thèse. C'est très appréciable ! Merci beaucoup !

Merci à Jaap Van Milgen puis Florence Gondret, à la direction de l'UMR PEGASE de m'avoir accueilli au sein de votre unité.

Merci à Christine Fourichon, directrice de l'UMR BIOEPAR de m'avoir accueilli au sein de son unité.

Merci à l'équipe « Adaptation », à Nathalie puis Armelle puis Elodie, responsables d'équipe de m'avoir accueilli au sein de cette équipe !

La vie quotidienne au travail serait beaucoup plus morose sans le noyau dur, la fine équipe, le saint des saints : Françoise Thomas et Raphaël Comte sans oublier ceux qui ont fait défection au cours de ma thèse : Michel Lefebvre et Adélaïde Lecorgne. Françoise, merci d'avoir été aussi présente et aussi proche pendant ces trois ans ! J'ai beaucoup appris à tes côtés, beaucoup ri et beaucoup échangé ! Tu es un super lab manager ! Merci pour tes conseils déco, chiffons, bons plans ! On partage nos potins quand tu veux !! Raphaël, tes 15 publications quotidiennes sur Facebook et tes allusions en dessous de la ceinture ont alimenté nos sujets de discussion pendant de nombreuses pauses ! Merci pour ta bonne humeur ! Michel, ce que j'ai à dire est censuré.... Merci mon Mimi d'être parti avec moi en tournée ! Que de bons moments, d'habitantes rencontrées, de resto en tous genres, de communication quoi ! Que de coups de gueules ! Que de rigolades ! On s'appelle on se fait une bouffe ? Adé, que dire ? Tu es restée peu mais ça a suffi pour qu'on s'entende dès le départ !

Merci de m'avoir aidé sur mon expé ! Ton plus grand exploit réside sans doute dans le fait que tu sois plus bavarde que moi, bravo ! On s'appelle on se raconte les potins ? A cette fine équipe j'associe Xavier, Lydie et Fred. On a passé des soirées extra ! Merci !!

Je n'oublie pas ceux qui se sont greffés plus ou moins temporairement à cette fine équipe : Wesley, Jojo, Anaïs, Benoît (et oui même toi !), Jérémy, Steven (j'avoue c'est honteux que tu sois là !), Doriane, Diana, Maël, Laure Hélène... désolé si j'en oublie... Le renouvellement est indispensable à la durabilité de tout système !

Merci à Olivier Bourry, mon tuteur de l'école doctorale. Le fameux tuteur que toutes les écoles doctorales nous envient ! Merci pour ton implication dans mes comités de thèse.

Je tenais à remercier Anne Hémonic et Claire Rogel-Gaillard d'avoir participé à mes comités de thèse. Vos regards extérieurs ont été très enrichissants pour moi. Merci Claire de m'avoir accueilli au sein de ton UNITE INRA GABI à Jouy-en-Josas, pour mes extractions d'ARN bactérien (Merci tout particulier à Déborah et Marie-Noëlle !) et de m'avoir proposé la formation sur le microbiote.

Merci à toute l'équipe IECM de Nantes: Julie, Blandine, Grégoire, Marie, Karine et Elodie pour l'énorme travail de traitement des échantillons que vous avez fourni lors de l'étude Sevrobust !!

Merci à toi Mily pour tout le boulot que tu as fourni, ton aide sur les expé et toutes les discussions que nous avons eu à Nantes lors de mes petites escapades très sympathiques !

Ma thèse repose en partie sur une expérimentation conduite sur le terrain. Je tiens à remercier très chaleureusement les 16 éleveurs qui ont acceptés que je vienne chez eux. Merci pour votre contribution si précieuse ! Je voudrais aussi remercier les techniciens Cooperl et les vétérinaires de ces élevages.

Je tiens à remercier le groupe SEVROBUST pour les discussions super intéressantes que nous avons eu au cours de ma thèse autour de la robustesse notamment.

Je vais maintenant parler cochon sans aller au-dessous de la ceinture, saluez l'exploit ! Merci à Fabien, Daniel, Patrick, Yannick, Henri, Bruno, Patrice, Philippe, Josselin, Hervé, Bernard, Nelly, Jean-Paul, Bruno, Mickael, Ronan, Jean-François, Georges, Armel et Marcel ! J'espère que je n'oublie personne ! Je garderai des souvenirs impérissables de mes expés avec vous tous mais aussi de tout le reste ! Que de fous rires ! Mais quand il faut des mecs sur le pont, vous êtes là ! Merci à vous ! On se fait une réunion quand vous voulez, le sujet est au frais ! Petite mention à Fabien, tu es un mec super ! Merci d'être là. Je n'ai pas réussi à t'emmener au bout du monde mais ce n'est que partie remise !

Cette thèse est le fruit d'une réflexion qui a pris racine en Chine. Je remercie Jacques Gourmelon, directeur de NUCLEUS, de m'avoir convaincu que je me serais épanoui à porter haut les couleurs de la génétique française en Chine, et ce, malgré mes réticences initiales. Un premier emploi marque forcément, je suis ravi de l'avoir exercé sous ta direction.

Je suis persuadé que la vie est faite de rencontres, d'instincts et de paris. Je tiens à remercier Emmanuel Commault, directeur général de COOPERL, d'avoir eu un instinct, de l'avoir suivi et d'avoir parié sur moi. Merci Emmanuel pour le joli projet que tu m'as proposé et pour la confiance que le groupe COOPERL, à travers toi, m'accorde. Les valeurs coopératives de COOPERL sont finalement très proches de celles que je défends et que j'apprécie, un travail collectif au service du collectif.

Merci aux doctorants de PEGASE et NUMECAN. C'est important de développer un collectif comme nous l'avons fait par la création de Melting Doc. Merci aux membres du premier bureau de Melting Doc : Pierre, Florence, Katia, Alexia. Merci à Pierre, Kevin et Katia pour les réflexions enrichissantes au sein de la commission insertion professionnelle de Melting Doc. Merci à toi Florence d'avoir été mon binôme sur les différentes responsabilités que nous avons exercées au nom des doctorants au conseil de service de PEGASE, au conseil d'administration et au conseil de la vie étudiante

d'Agrocampus Ouest. Merci à Lucile, Nicolas, Yentl avec qui j'ai travaillé, du côté des doctorants, à la remise en place de la journée des doctorants PEGASE et NUMECAN à Saint Gilles. J'ai beaucoup appris aussi au cours de ces trois années à travers l'exercice de ces responsabilités.

Merci à toi Sophie d'avoir partagé mon bureau pendant 3 ans : on a beaucoup discuté et ri ensemble ! C'était super !

Merci à toi Jessie de m'avoir soutenu. Nos chemins se sont séparés mais sans toi je ne me serais peut-être jamais lancé.

Merci à Cyril et Antho, à la fois très loin et très proches !
Merci d'être aussi présents les amis !!

Enfin, pensées toutes particulières à Jean-Yves Audiard, technicien à BIOEPAR, qui m'a aidé dans la collecte d'échantillons et Arnaud Basset, éleveur de l'étude Sevrobust, qui malheureusement nous ont quittés.

Résumé

Mots-clés : robustesse, sevrage, porc, biomarqueurs

La notion de robustesse peut se définir par le maintien des performances et de la santé quelles que soient les conditions d'environnement. Le sevrage constitue la phase où la plus grande quantité d'antibiotiques est utilisée car il est source de perturbations multiples pour le porcelet. L'identification de porcs robustes permettrait d'envisager des soins spécifiques et/ou une sélection génétique sur ce caractère. Les objectifs de cette thèse étaient d'identifier certains marqueurs physiologiques associés à la robustesse du porcelet au sevrage et de prédire cette robustesse par des variables physiologiques décrivant ces réponses mesurées avant et après sevrage. Pour répondre à cet objectif, des variables physiologiques ont d'abord été mesurées dans des environnements très divers puis celles associées à la robustesse ont été identifiées. Une première étude a été conduite en installation expérimentale visant à étudier les effets de l'âge, des conditions de sevrage et de la santé sur l'évolution de variables sanguines descriptives du statut immunitaire et métabolique, du stress, et du statut redox autour du sevrage. Par ailleurs, dans une deuxième étude, des variables physiologiques ont été mesurées dans 16 élevages commerciaux autour du sevrage. Les performances de

croissance et le statut sanitaire étaient les 2 facteurs de variations d'élevages contrôlés. L'analyse des données a permis de mettre en évidence une forte influence du statut sanitaire sur les variables physiologiques mesurées autour du sevrage. Des variables descriptives du statut oxydant, du statut métabolique et de l'activation du système immunitaire ont été associées à la robustesse du porcelet au sevrage. Ainsi, les porcelets les plus robustes sont ceux qui, dans des environnements favorables ou défavorables, ont une capacité à limiter leur stress oxydant, à moins mobiliser de réserves corporelles et à activer rapidement leur système immunitaire. Ces variables devront être validés à l'aide d'autres jeux de données.

Abstract

Keywords: robustness, weaning, pig, biomarkers

The concept of robustness can be defined as the ability to maintain performances and health whatever environmental conditions. Weaning is the step where the biggest part of antibiotics is used because it is the source of multiple perturbations for the piglet. The identification of robust pigs could allow settling specific care and/or genetic selection on this criteria. The objectives of this thesis were to identify physiological parameters associated with the robustness of piglet at weaning and to predict this robustness by biological variables describing those measured responses before and after weaning. To answer to this objective, physiological variables were first measured in very different environments and, then, those ones associated with the robustness were identified. A first experiment was realized in experimental unit, aiming to study the effects of age, weaning conditions and health on the evolution of blood variables describing immune and metabolic status, stress and oxidative stress around weaning. In a second study, some physiological markers were measured on piglets coming from 16 commercial farms around weaning. Growth performances and health status were the two controlled factors of variations of farms. The analysis of data allowed

us to show a high influence of health status on physiological variables around weaning. Some variables describing oxidative status, metabolic status and the activation of immune system were associated with the robustness of piglet at weaning. Thus, the most robust piglets are those ones who, in favorable or unfavorable environments, have a capacity to limit their oxidative stress, to mobilize less body reserves and to activate quickly their immune system. Those variables will have to be validated with other datasets.

Publications, communications scientifiques et formations suivies

Articles dans des revues internationales à comité de lecture :

BUCHET, A., BELLOC C., LEBLANC-MARIDOR M., MERLOT E. 2017. "Effects of age and weaning conditions on blood indicators of oxidative status in pigs". PLOS ONE, 12 (5), e0178487. (partie 3.1).

BUCHET A., BELLOC C., LE FLOC'H N., MERLOT E. 2017. "Metabolic and immune changes around weaning and correlation with health and growth of piglets after weaning". J Anim Sci. (en préparation) (partie 3.2).

Communications en congrès :

Le présentateur est souligné

BUCHET A., BELLOC C., MERLOT E. 2016. “Oxidative Stress as biomarker of piglet health”. 18th Conference of the International society for antioxidants in nutrition and health (ISANH). Paris. France. Communication orale (Annexe 1).

BUCHET A., BELLOC C., LE FLOCH N., MERLOT E. 2017. “Effects of age and weaning on plasma vitamin E concentration in pigs”. 19th Conference of the International society for antioxidants in nutrition and health (ISANH). Paris. France. Poster (Annexe 2).

BUCHET A., BELLOC C., SIALELLI JN., LACOSTE A., MERLOT E. 2017. « Evolution du statut oxydant du porc en croissance et focus sur l’influence du management au sevrage ». Journées de la Recherche Porcine. Paris. France. Communication orale et article (Annexe 3).

BUCHET A., BELLOC C., MERLOT E. 2017. «Oxidative Stress as biomarker of piglet health”. 9th symposium of porcine health management (ESPHM). Prague. République Tchèque. Poster (Annexe 4).

BUCHET A., BELLOC C., LE FLOC'H N., MERLOT E. 2017. “Effects of weaning conditions on the evolution of piglet plasma concentration of vitamin E”. 67th Annual meeting of the European association of animal production (EAAP). Tallinn. Estonie. Communication orale (Annexe 5).

BUCHET A., BELLOC C., MERLOT E. 2016. “Oxidative Stress as biomarker of piglet health”. China Swine Industry Symposium. Shanghai. China. Communication orale.

BUCHET A., BELLOC C., LE FLOC'H N., MERLOT E. 2016. « Effect of weaning conditions on metabolic parameters, growth and health of piglets”. 67th Annual meeting of the European association of animal production (EAAP). Belfast. United Kingdom. Communication orale (Annexe 6).

BUCHET A., BELLOC C., MERLOT E. 2016. “Effect of weaning conditions on immune parameters of piglets”. 67th Annual meeting of the European association of animal production (EAAP). Belfast. United Kingdom. Communication orale (Annexe 7).

BUCHET A., BELLOC C., MERLOT E. 2017. “Looking to biological variables predicting growth during the first three weeks

after weaning in pig”. 67th Annual meeting of the European association of animal production (EAAP). Tallinn. Estonie. Communication orale (Annexe 8).

BUCHET A., MERLOT E., MORMEDE P., TEREININA E., LIEUBEAU B., MIGNOT G., HERVE J., LEBLANC MARIDOR M., LACOSTE A., SIALELLI JN., BELLOC C. 2018. “Recherche de variables physiologiques associées à la robustesse du porcelet au sevrage”. Journées de la Recherche Porcine. Paris. France. Communication orale et article (partie 3.3).

BUCHET A., MERLOT E., MORMEDE P., TEREININA E., LIEUBEAU B., MIGNOT G., HERVE J., LEBLANC MARIDOR M., BELLOC C. 2016. « Sevrobust : Identification de la robustesse du porcelet au sevrage ». Rencontres GISA. Poster (Annexe 9).

Formations suivies pendant la thèse :

- Cours en Immunologie Générale, Université Rennes 1, Claire PIQUET-PELLORCE, 24 Heures, Sep-Nov 2014
- Formation Propriété Intellectuelle, INPI, Rennes, 5 Décembre 2014, 1 journée
- Statistiques Multidimensionnelles, Université FUN, Mars-Mai 2015, 30 Heures

- Statistiques avec R, Université FUN, Mars-Avril 2015, 30 Heures
- Formation Conception et réalisation de procédures expérimentales animales (Mammifères) : 10 jours (7 au 6 Octobre 2015), proposée par l'école vétérinaire de Nantes ONIRIS.
- Immunologie Générale : Cours niveau Master 1 (8h) par Elodie MERLOT à Agrocampus OUEST (Mai 2016).
- Formation EDEN (Ecole des Doctorants et des Encadrants) : 4 jours (9 au 12 Février 2016), organisée par l'INRA.
- Statistiques Modèles Linéaires : Cours en ligne (20h, Novembre/Décembre 2015), organisé par l'Université de Harvard
- Innovation et Société : Cours de sociologie de l'innovation en ligne (20h, Octobre/Novembre 2015) organisé par l'Université Pierre Mendès-France, Grenoble
- 24H Chrono de l'entreprenariat : Formation à création de startup organisée par le comité CIFRE et l'ANRT (36h, 9/10 Septembre 2016), Paris
- Extraction et séquençage du microbiote intestinal de porc. Plateforme Abridge (14 Novembre au 16 Décembre 2016). Jouy en Josas.

- Analyse du microbiote intestinal : COST PigGutNet. (13 au 17 Février 2017), Jouy en Josas.
- Ethique à la Recherche. Université Rennes 1, 1^{er} Mars 2017. 4h.

Table des Matières

| | |
|---|-----------|
| REMERCIEMENTS | 2 |
| RESUME | 11 |
| ABSTRACT | 13 |
| PUBLICATIONS, COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES ET FORMATIONS SUIVIES..... | 15 |
| TABLE DES MATIERES | 21 |
| LISTE DES ABREVIATIONS | 26 |
| LISTE DES FIGURES | 28 |
| LISTE DES TABLEAUX | 32 |
| INTRODUCTION GENERALE | 33 |
| 1 REVUE BIBLIOGRAPHIQUE | 39 |
| 1.1 PERFORMANCES ET TROUBLES DIGESTIFS DES PORCELETS AU SEVRAGE | 41 |
| 1.1.1 Performances des porcelets au sevrage | 41 |
| 1.1.2 Troubles digestifs des porcelets au sevrage | 43 |
| 1.2 REPONSES PHYSIOLOGIQUES MISES EN ŒUVRE DANS L'ADAPTATION DU PORCELET AU SEVRAGE | 47 |
| 1.2.1 Modifications de la mise à disposition et de l'utilisation des nutriments chez le porcelet au sevrage | 47 |
| 1.2.1.1 Effet du sevrage sur la modification de la morphologie de l'intestin. 47 | |
| 1.2.1.2 Modification du métabolisme du porcelet au sevrage | 51 |
| 1.2.2 Activation du système immunitaire au sevrage..... | 55 |

| | | |
|---------|---|----|
| 1.2.2.1 | Rappels généraux sur l'immunité..... | 55 |
| 1.2.2.2 | Immunité et intestin | 59 |
| 1.2.2.3 | Immunité du porcelet au sevrage | 61 |
| 1.2.3 | La réponse de stress au sevrage | 63 |
| 1.2.3.1 | Rappels généraux sur la réponse de stress | 63 |
| 1.2.3.2 | Stress et réponse immunitaire | 66 |
| 1.2.3.3 | Stress du porcelet au sevrage | 68 |
| 1.2.4 | Dégradation du statut oxydant du porcelet lors du sevrage | 70 |
| 1.2.4.1 | Rappels généraux sur le statut oxydant | 70 |
| 1.2.4.2 | Statut oxydant du porcelet au sevrage | 82 |
| 1.3 | LA ROBUSTESSE | 86 |
| 1.3.1 | Le concept de robustesse | 86 |
| 1.3.2 | Mesure de la robustesse..... | 89 |
| 1.4 | CONCLUSION | 95 |

2 APPROCHE EXPERIMENTALE.....97

| | | |
|---------|--|-----|
| 2.1 | QUESTIONS DE RECHERCHE ET HYPOTHESES..... | 98 |
| 2.2 | STRATEGIE EXPERIMENTALE..... | 99 |
| 2.3 | MATERIEL ET METHODES | 100 |
| 2.3.1 | Financement de la thèse et collaboration scientifique..... | 100 |
| 2.3.2 | Etude en installation expérimentale..... | 103 |
| 2.3.3 | Etude terrain : Expérimentation en élevages commerciaux..... | 104 |
| 2.3.3.1 | Sélection des élevages | 105 |
| 2.3.3.2 | Déroulement de l'étude..... | 112 |
| 2.3.4 | Analyses de laboratoire | 115 |
| 2.3.4.1 | Statut oxydant..... | 115 |
| 2.3.4.2 | Immunité..... | 117 |
| 2.3.4.3 | Métabolisme | 119 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 3 | RESULTATS | 121 |
| 3.1 | ASSOCIATION ENTRE STATUT OXYDANT, CROISSANCE ET SANTE DU PORCELET AU SEVRAGE | 122 |
| 3.2 | ASSOCIATION ENTRE MARQUEURS METABOLIQUES ET IMMUNITAIRES, CROISSANCE ET SANTE DU PORCELET AU SEVRAGE | 143 |
| 3.3 | VARIABLES PHYSIOLOGIQUES ASSOCIEES A LA ROBUSTESSE DU PORCELET AU SEVRAGE. | 179 |
| 4 | DISCUSSION GENERALE..... | 195 |
| 4.1 | DEGRADATION DES PERFORMANCES ET DE LA SANTE DES PORCELETS SEVRES EN ENVIRONNEMENT DEFAVORABLE | 197 |
| 4.1.1 | Dégradation des performances en environnement défavorable | 198 |
| 4.1.1.1 | Dégradation du GMQ des porcelets des conditions dégradées dans l'étude en installation expérimentale | 198 |
| 4.1.1.2 | Dégradation du GMQ des porcelets issus des élevages SAN- de l'étude terrain | 198 |
| 4.1.1.3 | Comparaison des performances entre l'étude en installation expérimentale et l'étude terrain | 199 |
| 4.1.2 | Dégradation de la santé des porcelets en environnement défavorable | 202 |
| 4.1.2.1 | Dégradation de la santé dans l'étude en installation expérimentale | 202 |
| 4.1.2.2 | Santé des porcelets sevrés dans l'étude terrain | 205 |
| 4.1.2.3 | Etude des diarrhées dans les études terrain et en installation expérimentale | 210 |
| 4.2 | COMPREHENSION DES REPONSES PHYSIOLOGIQUES MISES EN PLACE EN ENVIRONNEMENT DEFAVORABLE | 212 |
| 4.2.1 | L'activation du système immunitaire est de plus grande ampleur et plus rapide lors d'un sevrage en environnement défavorable | 212 |

| | | |
|---------|---|-----|
| 4.2.2 | Le métabolisme protéique est transitoirement modifié après sevrage en environnement défavorable : hypothèse d'une mobilisation des réserves musculaires | 216 |
| 4.2.3 | Les faibles réserves lipidiques n'ont pas permis une augmentation de la mobilisation des AGL au sevrage..... | 221 |
| 4.2.4 | Le statut oxydant du porcelet est plus fortement dégradé lors d'un sevrage en environnement défavorable | 222 |
| 4.2.5 | Conclusion..... | 227 |
| 4.3 | MODELE D'ASSOCIATION ENTRE ROBUSTESSE DU PORCELET AU SEVRAGE ET VARIABLES SANGUINES..... | 229 |
| 4.3.1 | Justification du choix du GMQ relatif en tant qu'indicateur de la robustesse des porcelets en post sevrage | 230 |
| 4.3.1.1 | Le GMQ en post-sevrage est un élément important de la robustesse au sevrage mais il résulte également des phases de gestation et de lactation | 230 |
| 4.3.1.2 | Le GMQR 26-47 permet de mesurer la performance de croissance en post-sevrage en tenant compte du poids de sevrage | 232 |
| 4.3.1.3 | Le GMQR 26-47 prend en compte la santé du porcelet en post-sevrage | 234 |
| 4.3.2 | L'équation d'association entre robustesse et variables sanguines permet de définir quelques caractéristiques du porcelet robuste au sevrage..... | 236 |
| 4.3.2.1 | Caractéristiques avant le sevrage du porcelet robuste au sevrage.. | 236 |
| 4.3.2.2 | Caractéristiques après le sevrage du porcelet robuste au sevrage.. | 238 |
| 4.3.3 | Prise en compte de l'environnement dans l'analyse de la robustesse..... | 243 |
| 4.3.4 | Précision du modèle d'association entre robustesse et variables physiologiques | 245 |

| | |
|--|------------|
| 4.4 PERSPECTIVES DE RECHERCHES | 246 |
| 4.4.1 Exploitation de l'ensemble des données produites pendant la thèse | 246 |
| 4.4.2 Validation des variables identifiées comme associées à la robustesse du porcelet au sevrage | 249 |
| 4.4.3 Création d'une variable synthétique décrivant la robustesse ... | 251 |
| 4.4.4 Etudes d'intervention permettant de mieux étudier les réponses physiologiques au sevrage | 255 |
| CONCLUSION GENERALE | 259 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 263 |
| ANNEXES | 286 |

Liste des Abréviations

La version anglaise des abréviations est donnée, le cas échéant, entre parenthèses.

ACTH: Adrénocorticotrophine
ADN : Acide désoxyribonucléique (DNA)
AGL : Acides Gras Libres (NEFA)
ARN : Acide ribonucléique (RNA)
BAP : Biological Antioxydant Potential
BSE : Bilan sanitaire d'élevage
CARRU : Unité Carratelli
CD : Conditions détériorées (DC)
CD4 : Cluster de différenciation 4
CO : Conditions Optimales (OC)
CRH: Corticotropin Releasing Hormone
CRP : C-réactive protéine
dROM : diacron reactive oxygen metabolites
EDTA : Acide éthylène-diamide-tétraacétique
ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay

EM : Energie Métabolisable (ME)
ETEC : *Escherichia coli* entérotoxigènes
GALT : Gut Associated Lymphoid Tissue
GMQ : Gain Moyen Quotidien (ADG)
GMQR : Gain Moyen Quotidien relatif
GTE : Gestion technique d'élevage
HPLC : High Performance Liquid Chromatography
IFN : Interféron
Ig : Immunoglobulines
IL: Interleukine
ISO : Index de stress oxydant (OSI)
JRP : Journées de la recherche porcine
Kcal : Kilo calorie
Kg : Kilogramme

NADPH: Nicotinamide adénine
dinucléotide phosphate
Pig-MAP: Pig Major Acute phase
Protein
ROS: Espèces réactives de l'oxygène
SAN : Statut Sanitaire
SDRP : Syndrome dysgénésique et
respiratoire porcin (PRRS)

SOD: Superoxyde dismutase
SUPP : Supplémentation antibiotique
Th : Lymphocytes T auxiliaire
TMB : Tetramethylbenzidine
TNF : Tumor Necrosis Factor
W21 : Sevrage à 21 jours d'âge
W28 : Sevrage à 28 jours d'âge

Liste des Figures

| | |
|--|-----|
| FIGURE 1 : EFFET DU SEVRAGE ENTRE 3 ET 4 SEMAINES D'AGE SUR L'INGESTION D'ENERGIE METABOLISABLE (EM) CHEZ LES PORCELETS (LE DIVIDICH ET SEVE. 2000) | 40 |
| FIGURE 2 : MORPHOLOGIE DE L'INTESTIN GRELE (DONALDSON <i>ET AL.</i> 2016)..... | 48 |
| FIGURE 3 : ORGANISATION DU SYSTEME IMMUNITAIRE AU NIVEAU DE LA MUQUEUSE INTESTINALE (MALE <i>ET AL.</i> 2012) | 58 |
| FIGURE 4 : SCHEMA GENERAL DE L'ORGANISATION ET DE LA REGULATION DE L'AXE CORTICOTROPE (D'APRES MORMEDE ET TERENINA, 2012). | 64 |
| FIGURE 5 : ORIGINE ET EFFET DE L'ACTION DES ESPECES REACTIVES A L'OXYGENE (ROS) SUR LES PRINCIPALES MACROMOLECULES DE L'ORGANISME..... | 72 |
| FIGURE 6 : MOLECULES AYANT UNE ACTIVITE ANTIOXYDANTE DANS L'ORGANISME(D'APRES KOHEN ET NYSKA. 2002) | 76 |
| FIGURE 7 : REponses PHYSIOLOGIQUES MISES EN ŒUVRE LORS DE L'ADAPTATION DU PORCELET AU SEVRAGE. | 94 |
| FIGURE 8 : DESCRIPTION DES PRELEVEMENTS ET DES MESURES EFFECTUEES SUR LES PORCELETS DE L'ETUDE EN INSTALLATION EXPERIMENTALE ET DU POURCENTAGE D'ANIMAUX CONCERNES PAR LA PESEE OU LE PRELEVEMENT A CHAQUE TEMPS. | 102 |
| FIGURE 9 : PROCESSUS DE SELECTION DES ELEVAGES DE L'ETUDE TERRAIN..... | 106 |
| FIGURE 10 : DISTRIBUTION DU CRITERE GMQ ENTRE 8 ET 30 KG DANS LES 171 ELEVAGES PRESELECTIONNES POUR L'ETUDE TERRAIN. LES ZONES FONCEES REPRESENTENT LES 40% EXTREMES DE LA DISTRIBUTION. | 108 |
| FIGURE 11 : PROCESSUS DE SELECTION DES ELEVAGES POUR L'ETUDE TERRAIN SELON LE GMQ ENTRE 8 ET 30 KG, LES DEPENSES DE SANTE EN SUPPLEMENTATIONS (40% EXTREMES) ET LE STATUT SANITAIRE DE L'ELEVAGE..... | 108 |
| FIGURE 12 : DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DES ELEVAGES DE L'ETUDE TERRAIN. | 111 |

| | |
|---|-----|
| FIGURE 13 : DESCRIPTION DES PRELEVEMENTS ET DES MESURES EFFECTUEES SUR LES PORCELETS DURANT LES VISITES DANS LES ELEVAGES COMMERCIAUX DE L'ETUDE TERRAIN | 114 |
| FIGURE 14 : CONCENTRATION PLASMATIQUE EN VITAMINE E DES TRUIES ALLAITANTES ET DE LEURS PORCELETS. LES PRELEVEMENTS ONT ETE REALISES DANS L'ETUDE TERRAIN LORSQUE LES PORCELETS AVAIENT 26 JOURS D'AGE (D'APRES LE POSTER PRESENTE A L'ISANH 2017, PARIS, FRANCE, ANNEXE 2) | 128 |
| FIGURE 15 : EVOLUTION DU GMQ MOYEN DES PORCELETS DANS LES ETUDES TERRAIN (16 ELEVAGES COMMERCIAUX, SEVRAGE A 28 JOURS D'AGE, MOYENNE PAR CATEGORIE D'ELEVAGE, N=72 PAR CATEGORIE, GMQ- : GMQ 8-30KG FAIBLE, GMQ+ : GMQ 8-30KG FORT, SAN- : STATUT SANITAIRE DEFAVORABLE, SAN+ : STATUT SANITAIRE FAVORABLE) ET EN INSTALLATION EXPERIMENTALE (SEVRAGE A 21 OU 28 JOURS D'AGE, MOYENNE PAR AGE AU SEVRAGE ET CONDITIONS DE SEVRAGE, CD : CONDITIONS DETERIOREES, CO : CONDITIONS OPTIMALES). ABC/ABC: DES LETTRES DIFFERENTES MONTRENT DES GMQ MOYENS DIFFERENTS AU SEIN D'UNE MEME PERIODE (P<0.05). * : GMQ MOYEN 5 A 19J DIFFERENT DU GMQ MOYENS -2 A 5J POUR UN MEME GROUPE..... | 196 |
| FIGURE 16 : EVOLUTION DU POIDS VIF DES PORCELETS DANS LES ETUDES TERRAIN (16 ELEVAGES COMMERCIAUX, SEVRAGE A 28 JOURS D'AGE, MOYENNE PAR CATEGORIE D'ELEVAGE, N=72 PAR CATEGORIE, GMQ- : GMQ 8-30 KG FAIBLE, GMQ+ : GMQ 8-30 KG FORT, SAN- : STATUT SANITAIRE DEFAVORABLE, SAN+ : STATUT SANITAIRE FAVORABLE) ET EN INSTALLATION EXPERIMENTALE (SEVRAGE A 21 OU 28 JOURS D'AGE, MOYENNE PAR AGE AU SEVRAGE ET CONDITIONS DE SEVRAGE, CD : CONDITIONS DETERIOREES, CO : CONDITIONS OPTIMALES) | 196 |
| FIGURE 17 : TRAITEMENTS ANTIBIOTIQUES ADMINISTRES ENTRE 26 ET 47 JOURS D'AGE ET DIARRHEES OBSERVEES A 33 ET 47 JOURS D'AGE CHEZ LES PORCELETS DE L'ETUDE TERRAIN (N=288 PORCELETS, N=16 ELEVAGES). LA COULEUR DES LIGNES CORRESPOND A LA CATEGORIE D'ELEVAGE (ROUGE : GMQ-SAN-, ORANGE : GMQ-SAN+, JAUNE : | |

| | |
|--|-----|
| GMQ+SAN- ET VERT : GMQ+SAN+ ; GMQ- : GMQ 8-30 KG FAIBLE, GMQ+ : GMQ 8-30 KG FORT, SAN- : STATUT SANITAIRE DEFAVORABLE, SAN+ : STATUT SANITAIRE FAVORABLE)..... | 208 |
| FIGURE 18 : RELATIONS ENTRE CREATININE, UREE ET GMQ DANS LE CAS DU PORCELET EN CROISSANCE. LE SEVRAGE ACCROIT VRAISEMBLABLEMENT LE CATABOLISME DES ACIDES AMINES ET CELUI DES PROTEINES MUSCULAIRES..... | 218 |
| FIGURE 19 : DISTRIBUTION DES ALIMENTS 1 ^{ER} ET 2 ^{EME} AGE DANS L'ETUDE EN INSTALLATION EXPERIMENTALE SELON L'AGE DES ANIMAUX ET SELON LEUR AGE AU SEVRAGE EN CONDITIONS OPTIMALES (CO) OU DETERIOREES (CD)..... | 218 |
| FIGURE 20 : REPONSES PHYSIOLOGIQUES SE METTANT EN PLACE AU SEVRAGE DU PORCELET ET OBSERVEES AU COURS DES ETUDES TERRAIN ET EN INSTALLATION EXPERIMENTALE..... | 228 |
| FIGURE 21 : GMQ ENTRE 26 ET 47 JOURS D'AGE SELON LE POIDS DE SEVRAGE DANS L'ETUDE TERRAIN. LA DROITE DE REGRESSION LINEAIRE EST REPRESENTEE ($R^2=0.19$)..... | 233 |
| FIGURE 22 : GMQ RELATIF ENTRE 26 ET 47 JOURS D'AGE ($GMQR_{26-47} = GMQ_{26-47}/POIDS$ VIFS A 26 JOURS D'AGE) SELON LE POIDS DE SEVRAGE DANS L'ETUDE TERRAIN. | 233 |
| FIGURE 23 : REPRESENTATION DES GMQ RELATIFS INDIVIDUELS MESURES ENTRE 26 ET 47 JOURS D'AGE AU SEIN DE CHAQUE ELEVEGE DANS L'ETUDE TERRAIN ($GMQR_{26-47} = GMQ_{26-47}/POIDS$ VIF A 26 JOURS D'AGE) (16 ELEVEGES COMMERCIAUX, SEVRAGE A 28 JOURS D'AGE, N=18 PORCELETS PAR ELEVEGE , GMQ- : GMQ 8-30KG FAIBLE, GMQ+ : GMQ 8-30KG FORT, SAN- : STATUT SANITAIRE DEFAVORABLE, SAN+ : STATUT SANITAIRE FAVORABLE)..... | 240 |
| FIGURE 24 : GMQ RELATIF MESURE ENTRE 26 ET 47 JOURS D'AGE AU SEIN DE CHAQUE ELEVEGE DE L'ETUDE TERRAIN ($GMQR_{26-47} = GMQ_{26-47}/POIDS$ VIF A 26 JOURS D'AGE) . GMQR- : GMQ RELATIF INDIVIDUEL MESURE EN DESSOUS DE LA MEDIANE DE SON ELEVEGE, GMQR+ : GMQ RELATIF INDIVIDUEL MESURE AU DESSUS DE LA MEDIANE DE SON ELEVEGE, E1 : | |

ELEVAGE N°1, DIARRHEE : DIARRHEE OBSERVEE A 33 ET/OU 47 JOURS D'AGE, PAS DE
DIARRHEE : PAS DE DIARRHEE OBSERVEE A 33 ET 47 JOURS D'AGE. 252

FIGURE 25 : GMQR 26-47 MODULE SELON L'ELEVAGE. GMQR 26-47 MODULE = GMQR 26-47
MESURE X 0,5 (SI DIARRHEES SUR LES TROIS PREMIERES SEMAINES DE SEVRAGE) ET GMQR
26-47 MODULE = GMQR 26-47 MESURE X 1 (SI PAS DE DIARRHEES SUR LES TROIS
PREMIERES SEMAINES DE SEVRAGE) GMQR- : GMQR INDIVIDUEL MESURE EN DESSOUS DE
LA MEDIANE DE SON ELEVAGE, GMQR+ : GMQR INDIVIDUEL MESURE AU DESSUS DE LA
MEDIANE DE SON ELEVAGE. E1 : ELEVAGE N°1. 254

Liste des Tableaux

| | |
|--|-----|
| TABLEAU 1 : DESCRIPTION DES CONDITIONS DE SEVRAGE OPTIMALES ET DETERIOREES APPLIQUEES DANS L'ETUDE EN INSTALLATION EXPERIMENTALE. | 102 |
| TABLEAU 2 : ANALYSES REALISEES SUR LES ECHANTILLONS PRELEVES SUR LES PORCELETS DE L'ETUDE EN INSTALLATION EXPERIMENTALE (NA : ANALYSE NON EFFECTUEE)..... | 106 |
| TABLEAU 3 : STATUT SANITAIRE DES ELEVAGES DE L'ETUDE TERRAIN SELON LES BILANS SANITAIRES D'ELEVAGE DE L'ANNEE 2014. SDRP : SYNDROME DYSGENESIQUE ET RESPIRATOIRE PORCIN, ILEITE : ILEITE A <i>LAWSONIA INTRACELLULARIS</i> , BSE : BILAN SANITAIRE D'ELEVAGE, NA : DONNEES NON RENSEIGNEES. | 111 |
| TABLEAU 4 : ANALYSES REALISEES SUR LES ECHANTILLONS PRELEVES SUR LES PORCELETS DE L'ETUDE TERRAIN. | 114 |
| TABLEAU 5 : RESULTATS ZOOTECHNIQUES ET RELEVES DE SANTE DES ETUDES TERRAIN ET EN INSTALLATION EXPERIMENTALE. | 200 |
| TABLEAU 6 : POIDS A 26 ET 47 JOURS D'AGE ET GMQ RELATIF ENTRE 26 ET 47 JOURS D'AGE (GMQR 26-47) POUR TROIS PORCELETS AYANT DES GMQ 26-47 PROCHES DANS L'ETUDE TERRAIN (GMQR 26-47 = GMQ 26-47/POIDS VIFS A 26 JOURS D'AGE)..... | 233 |
| TABLEAU 7 : GMQ RELATIF SUR LES TROIS SEMAINES SUIVANT LE SEVRAGE (GMQR = GMQ /POIDS VIFS EN DEBUT DE PERIODE) SELON L'EXPRESSION OU NON DE DIARRHEES DANS L'ETUDE EN INSTALLATION EXPERIMENTALE. | 235 |
| TABLEAU 8 : COEFFICIENTS r^2 DE CORRELATION DE PEARSON ENTRE LE GMQ OU LE GMQ RELATIF MESURES ENTRE 26 ET 47 JOURS D'AGE (GMQR 26-47 = GMQ 26-47/POIDS VIFS A 26 JOURS D'AGE) ET LES CONCENTRATIONS SANGUINES DES VARIABLES PHYSIOLOGIQUES MESUREES A 33 JOURS D'AGE DANS L'ETUDE TERRAIN. (* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$). | 240 |

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

A la fin de la seconde guerre mondiale, avec l'appui des politiques publiques, les productions agricoles se sont fortement développées dans le but de nourrir la population en forte croissance. En Europe et en France, le défi de produire en quantité a été relevé sans toujours tenir pleinement compte d'autres facteurs : envies du consommateur, préservation des ressources naturelles, bien-être animal, rentabilité des élevages, épanouissement des agriculteurs ou entretien des espaces ruraux. Le monde agricole doit aujourd'hui relever l'ensemble de ces défis et faire face à de nombreux changements.

L'élevage des animaux est parfois critiqué par une partie de la société. En effet, élever des animaux pour la production de viande peut entrer en compétition avec l'homme car elle nécessite de nourrir des animaux avec des ressources parfois communes à l'homme. L'élevage des animaux peut être également perçu comme une exploitation de l'animal et des ressources naturelles par une frange de la population. Ces raisons expliquent en partie le développement du végétarisme et la diminution de la consommation de viande en Europe.

Pour répondre aux préoccupations de la société, travailler sur la durabilité de l'élevage en général, de l'élevage porcin en particulier, devient nécessaire. La durabilité implique que l'élevage soit mieux

accepté par la société, économiquement soutenable et ayant le moins d'impacts négatifs sur l'environnement. Le maintien de la santé des animaux et la mise en place de conditions d'élevage leur permettant d'exprimer des comportements naturels participent à l'exigence de respect du bien-être animal et contribuent à l'acceptation de l'élevage par la société. Pour limiter l'impact de l'élevage porcin sur l'environnement, la sélection de porcs plus efficaces a permis et continuera à permettre de réduire la quantité d'aliment nécessaire à la croissance des animaux et les rejets de polluants dans l'environnement. Depuis peu, la filière a accompagné les efforts pour diminuer l'utilisation des antibiotiques en élevage avec des effets positifs sur les risques associés en termes de santé publique. Enfin, les élevages porcins sont aussi des entreprises assurant le revenu des éleveurs qui en ont la charge.

En élevage porcin, une des phases les plus critiques est le sevrage qui correspond à la séparation des porcelets de leur mère. Dans les élevages dits conventionnels, les porcelets sont sevrés jeunes, vers 4 semaines d'âge, alors qu'ils sont encore immatures sur le plan physiologique. Le sevrage se traduit dans de nombreux cas par l'expression de diarrhées et un ralentissement de croissance par rapport à la vitesse de croissance observée en période de lactation (Le Dividich et Sève. 2000; Madec *et al.* 1998). Les troubles digestifs du

INTRODUCTION GENERALE

sevrage sont la raison pour laquelle la majorité des antibiotiques est utilisée en élevage porcin en phase de post-sevrage (Hémonic *et al.* 2013). Les raisons qui expliquent que le sevrage soit une phase critique sont nombreuses : le porcelet est sevré encore immature d'un point de vue digestif, en plein développement de ses capacités de défenses immunitaires et qui thermorégule avec difficultés. De plus, le jeune porcelet sélectionné sur sa capacité de croissance a d'importants besoins nutritionnels. Le sevrage précoce tel que réalisé dans la majorité des élevages est également une source de multiples facteurs de stress: séparation d'avec la mère, mélange avec des congénères inconnus, changement de lieu de logement, changement d'alimentation (qualité et quantité) ou encore exposition à des agents pathogènes.

Les soins apportés au porcelet sont encore majoritairement administrés de manière collective (traitement antibiotique ou alimentation). Les développements de l'agriculture et de la médecine vétérinaire de précision offrent de nouvelles opportunités pour individualiser la détection des porcelets à problèmes et les soins apportés aux porcelets au sevrage, et par conséquent, de faciliter la réussite du sevrage en élevage. D'une part, l'amélioration des conditions d'élevage, notamment, le travail sur les bâtiments, la biosécurité, le savoir-faire des éleveurs ou l'alimentation peut

INTRODUCTION GENERALE

permettre d'améliorer les conditions dans lesquelles les porcelets sont sevrés. D'autre part, il peut aussi être intéressant de réfléchir à l'évolution des pratiques d'élevages, par exemple en sevrant les animaux à un âge plus avancé afin de leur permettre d'atteindre une maturité plus grande ou en dissociant les facteurs de stress afin de rendre le sevrage plus progressif, par exemple en réduisant l'accès à la mamelle en fin de lactation et en apportant de l'aliment solide sous la mère. Enfin, une voie complémentaire peut consister à travailler sur la robustesse des animaux au sevrage. Il ne s'agit pas de sélectionner des individus résistants à une maladie en particulier mais plutôt d'identifier des individus capables de s'adapter en maintenant leurs performances et une bonne santé quelles que soient les conditions de sevrage. L'identification de ces individus permettrait de mettre en place des soins appropriés aux animaux qui en ont le plus besoin et d'envisager une sélection des animaux sur la robustesse au sevrage.

Dans cette optique, les objectifs de cette thèse étaient d'identifier, par la mesure des réponses physiologiques, des porcelets plus ou moins robustes au sevrage et de prédire cette robustesse par la mesure de variables sanguines décrivant ces réponses et mesurées avant ou après sevrage. Pour ce faire, deux études ont été conduites dans des élevages commerciaux et en installation expérimentale afin, d'une part, de créer une grande variabilité de conditions de sevrage et

INTRODUCTION GENERALE

d'autre part de mieux connaître l'évolution de certains marqueurs en conditions contrôlées. En préambule de la description de l'approche expérimentale, la première partie de ce manuscrit s'attachera à faire un état des lieux de la littérature des principaux changements anatomiques, physiologiques et métaboliques ayant lieu au sevrage et de la définition de la robustesse. Ensuite, les chapitres suivants étudieront les relations entre statut oxydant, le métabolisme et la croissance et la santé au sevrage, composantes de la robustesse. La partie expérimentale permettra d'étudier l'association entre la robustesse du porcelet au sevrage et les variables physiologiques mesurées avant et après sevrage. Enfin, les résultats des deux études seront discutés et mis en perspective.

**1 REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE**

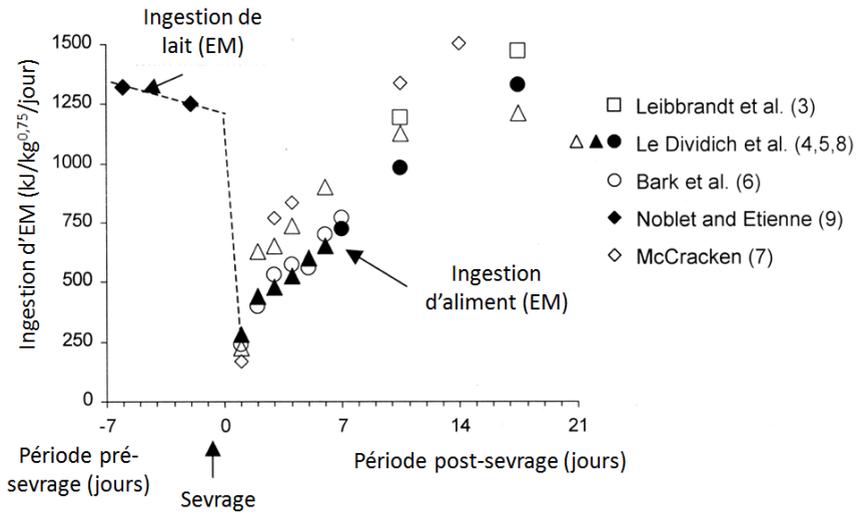


Figure 1 : Effet du sevrage entre 3 et 4 semaines d'âge sur l'ingestion d'énergie métabolisable (EM) chez les porcelets (Le Dividich et Sève. 2000).

1.1 Performances et troubles digestifs des porcelets au sevrage

1.1.1 Performances des porcelets au sevrage

Le sevrage, tel qu'il est pratiqué en élevage dit conventionnel, entraîne un changement soudain de l'alimentation du porcelet qui passe d'une alimentation lactée à une alimentation solide. Ceci se traduit par une diminution de l'ingestion (Bark *et al.* 1986; McCracken *et al.* 1999; Le Dividich et Sève. 2000; Bruininx *et al.* 2001). La première prise alimentaire a lieu en moyenne 15 heures après le sevrage mais environ 10% des porcelets n'ont toujours rien ingéré 36 heures après le sevrage (Bruininx *et al.* 2001). Ainsi, une semaine après sevrage, le porcelet ingère environ 60% à 70% de l'énergie métabolisable ingérée avant sevrage (Figure 1). Les porcelets ne retrouvent leur niveau d'ingestion d'énergie métabolisable d'avant sevrage qu'entre 2 et 3 semaines après sevrage (Le Dividich et Sève. 2000).

La réduction soudaine de l'ingestion liée au sevrage provoque un ralentissement de la croissance des porcelets après le sevrage (Whittemore *et al.* 1981) qui peut parfois aller jusqu'à des pertes de poids 1 à 2 jours après le sevrage (Bark *et al.* 1986). Plusieurs études

ont montré que le poids de sevrage était significativement influencé par le poids de naissance (Quiniou *et al.* 2002; Wolter *et al.* 2002; Paredes *et al.* 2012). Le poids de sevrage est corrélé au poids de fin de post-sevrage indiquant une corrélation avec la vitesse de croissance pendant la phase de post-sevrage (Bruininx *et al.* 2001; Quiniou *et al.* 2002; Wolter *et al.* 2002; Paredes *et al.* 2012). Par ailleurs, le nombre de porcelet nés par portée est négativement corrélé au poids moyen du porcelet à la naissance (Quiniou *et al.* 2002; Quesnel *et al.* 2008; Beaulieu *et al.* 2010) montrant que les porcelets issus de portées de grande taille sont plus légers à la naissance. Par contre, l'influence du nombre de porcelets nés par portée sur le poids moyen au sevrage est variable selon les études. Certains auteurs ont montré une corrélation négative entre le nombre de porcelet nés par portée et le poids moyen au sevrage (Klindt. 2003) tandis que d'autres n'ont montré aucune relation (Beaulieu *et al.* 2010), suggérant, notamment, une influence plus ou moins forte de la conduite appliquée par l'éleveur pendant la période de lactation. L'augmentation du nombre de porcelets nés par portée pourrait donc se traduire par la réduction de la croissance des porcelets en post-sevrage.

Pendant les 3 et 4 premières semaines de la lactation, le GMQ est d'environ 300 g/jour et il chute à 150 et 200 g/jour dans les 2 jours suivants le sevrage à respectivement 21 et 28 jours (Colson *et al.*

2006). Une étude réalisée en installations expérimentales au Royaume-Uni a rapporté un GMQ entre 28 et 61 jours de 424 g/jour pour des porcelets sevrés à 28 jours à 7,7 kg, (Huting *et al.* 2017). En France, le GMQ de porcelets sevrés à 28 jours d'âge en installations expérimentales est de 400 g/jour entre 28 et 39 jours d'âge (Pastorelli *et al.* 2012c). La vitesse de croissance mesurée dans des élevages commerciaux est en général plus faible. Dans une étude impliquant 106 élevages, le GMQ sur les 2 semaines suivant un sevrage à 28 jours d'âge atteint 283 g/jour mais 20% des animaux ont une croissance inférieure à 200g/jour (Madec *et al.* 1998). Le potentiel de croissance des porcelets après sevrage est bien supérieur à la vitesse de croissance mesurée sur le terrain. La différence entre potentiel de croissance et croissance réellement observée peut s'expliquer par les multiples facteurs de stress subis par le porcelet au moment du sevrage et par les problèmes de santé qu'il peut rencontrer.

1.1.2 Troubles digestifs des porcelets au sevrage

Les diarrhées sont le principal problème de santé qui survient chez les porcelets au sevrage (Zimmerman *et al.* 2012). Dans une enquête dans 106 élevages, une prévalence de 76.3% des diarrhées sur la phase de post-sevrage a été rapportée (Madec *et al.* 1998). La diarrhée se caractérise par une augmentation de la vitesse de transit et

une fluidité (matière sèche inférieure à 20%) accrue des matières fécales (McOrist et Corona-Barrera. 2015). La diarrhée de sevrage est d'origine multifactorielle. Au sevrage la quantité d'aliment non digéré augmente dans l'intestin, notamment sous l'effet de deux facteurs : d'une part, le ralentissement du transit intestinal provoqué par la diminution de la quantité d'aliment ingérée par le porcelet (Le Dividich et Sève. 2000) et par la diminution de la vitesse de motilité du tube digestif causée, entre autres, par un stress thermique (Wathes *et al.* 1989) ; d'autre part, la diminution de l'absorption des nutriments causée par la réduction de la taille des villosités intestinales (cf 1.2.1.1). La présence d'aliment non digéré et la réduction de la motilité du tube digestif qui accroît les possibilités d'adhésion aux entérocytes créent une situation favorable à la prolifération de certaines bactéries à l'origine de dysbiose intestinale (Gresse *et al.* 2017). La dysbiose intestinale se traduit par une diminution de la diversité microbienne dans l'intestin marquée par une diminution de l'abondance relative des bactéries anaérobies obligatoires telles que les clostridies ou les bactéroïdes au profit des bactéries anaérobies facultatives telles les entérobactéries (Winter *et al.* 2013).

L'installation de cette dysbiose a lieu alors que l'immunité mucoale passive apportée par la truie via le lait disparaît au sevrage (Hopwood et Hampson. 2003; Zimmerman *et al.* 2012) et que

l'intégrité de la barrière intestinale est affectée (partie 1.2.1.1). Certaines des bactéries qui prolifèrent sont pathogènes et elles produisent des entérotoxines provoquant une augmentation de la sécrétion d'eau, de sodium, de chlore et d'ion bicarbonate et la mort des entérocytes (Nagy et Fekete. 2005). C'est cette accumulation de liquide qui provoque la diarrhée (van Beers Schreurs *et al.* 1992; Fairbrother *et al.* 2005; Nagy et Fekete. 2005; Rhouma *et al.* 2017). Ces lésions intestinales vont diminuer les capacités de digestion et d'absorption contribuant ainsi au ralentissement de la croissance.

Chez le porcelet, les diarrhées surviennent le plus souvent entre 4 et 10 jours après le sevrage (Madec *et al.* 1998) et sont principalement dues à *Escherichia coli* (Jensen *et al.* 2017) dont les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC) qui ont la capacité de produire des adhésines et des entérotoxines (Fairbrother *et al.* 2005; Zimmerman *et al.* 2012). Les adhésines sont des protéines qui prennent la forme de fibrilles, c'est-à-dire d'excroissances de la paroi bactérienne. Elles permettent à la bactérie de se fixer à une surface. Les ETEC possèdent communément les adhésines F18 et F4 (ETEC K88).

1.2 Réponses physiologiques mises en œuvre dans l'adaptation du porcelet au sevrage

Nous avons vu précédemment comment les performances de production et la santé du porcelet pouvaient être affectées par le sevrage. Nous allons explorer dans cette partie les réponses physiologiques mises en œuvre par le porcelet pour s'adapter au sevrage. Nous traiterons de la modification de la digestion et du métabolisme, puis de l'activation du système immunitaire au moment du sevrage, de la réponse au stress et enfin, nous parlerons de la dégradation du statut oxydant chez le porcelet au sevrage.

1.2.1 Modifications de la mise à disposition et de l'utilisation des nutriments chez le porcelet au sevrage

1.2.1.1 Effet du sevrage sur la modification de la morphologie de l'intestin

1.2.1.1.1 Rappels généraux sur l'intestin

L'intestin grêle a trois fonctions majeures. D'une part, il assure la digestion et l'absorption des nutriments. D'autre part, il sécrète et

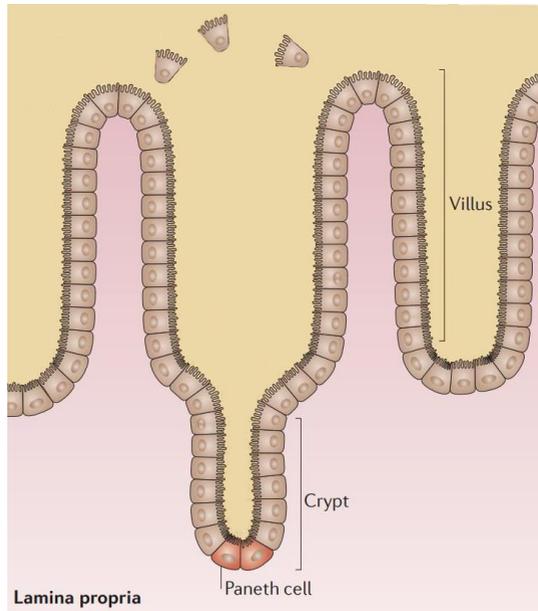


Figure 2 : Morphologie de l'intestin grêle (Donaldson *et al.* 2016).

absorbe de l'eau et des électrolytes qui permettent de maintenir une viscosité appropriée dans la lumière intestinale et d'évacuer les composants toxiques. Enfin, l'intestin grêle constitue une barrière contre les microorganismes potentiellement pathogènes (Pácha. 2000; Wijtten *et al.* 2011).

La muqueuse intestinale est repliée sous forme de villosités intestinales (Figure 2) permettant d'augmenter la surface d'absorption des nutriments. Des cryptes sont présentes à la base des villosités. Les entérocytes prolifèrent dans les cryptes puis migrent progressivement vers le sommet des villosités au rythme de la desquamation des entérocytes. Chez l'homme, la durée de vie moyenne d'une cellule de la muqueuse intestinale est de 48h (Bender. 2014). Les villosités et les cryptes sont constituées d'une couche cellulaire avec deux principaux types de cellules : les entérocytes et les cellules caliciformes. Les cellules caliciformes produisent le mucus qui lubrifie et protège l'épithélium. Les entérocytes sont eux-mêmes constitués de microvillosités qui sont des extensions de la membrane plasmique et qui permettent d'augmenter encore la surface d'absorption des nutriments. Ces cellules assurent la digestion et l'absorption des nutriments à travers des voies paracellulaires et transcellulaires (Mosenthin. 1998; Wijtten *et al.* 2011). La voie paracellulaire représente le transport entre les jonctions serrées, qui relie entre eux

les entérocytes, réseau de protéines perméable de façon sélective à l'eau, aux ions et aux petites molécules. La voie transcellulaire comprend le transport de petites molécules de façon active ou passive ou l'endocytose de molécules de plus grande taille à travers les entérocytes (Wijttten *et al.* 2011).

1.2.1.1.2 Effet du sevrage sur la morphologie de l'intestin

Le sevrage a des effets importants sur la morphologie de l'intestin. En effet, l'intestin grêle perd 20 à 30% de son poids dans les 2 jours suivants le sevrage tandis qu'il lui faut entre 5 et 10 jours pour retrouver son poids d'avant sevrage (Lallès *et al.* 2004). Cette perte de masse s'explique par la réduction de la taille des villosités intestinales (atrophie villositaire) et l'augmentation de la profondeur des cryptes (hyperplasie des cryptes) provoquant une réduction de la surface d'absorption (Pluske *et al.* 1997; Lallès *et al.* 2004). Ainsi, la hauteur des villosités intestinales diminue de 25% dans les premières 24h et de 50% au bout de 5 jours après un sevrage à 21 jours (Pluske *et al.* 1997). Elle est causée par les effets conjugués de la réduction du renouvellement cellulaire et de l'augmentation de la mortalité des entérocytes (Pluske *et al.* 1997).

Par ailleurs, le sevrage provoque une perte partielle de l'intégrité des jonctions serrées qui peut faciliter le passage des

toxines et des agents pathogènes à travers la barrière intestinale (Vente-Spreuwenberg et Beynen. 2003; Wijtten *et al.* 2011). La perte d'intégrité de la barrière intestinale intervient principalement la première semaine après sevrage et revient à son niveau d'avant sevrage au bout de 2 semaines après sevrage. Cependant, chez des porcelets sevrés à 28 jours au lieu de 19 jours, la dégradation de l'intégrité de la barrière intestinale est moindre suggérant une altération de l'intégrité de l'intestin d'autant plus grande que l'animal est jeune (Moeser *et al.* 2007; Smith *et al.* 2010). De plus, une mise à jeun chez un porcelet sevré à 28 jours réduit la taille des villosités et la profondeur des cryptes montrant que la diminution de la quantité d'aliment ingérée au moment du sevrage joue aussi un rôle important dans l'altération de l'intégrité de l'intestin (Lallès et David. 2011).

1.2.1.2 Modification du métabolisme du porcelet au sevrage

Au sevrage, le porcelet passe d'une alimentation lactée, essentiellement composée de lipides, avec des prises alimentaires fréquentes à une alimentation solide, principalement composée d'amidon (glucides) avec des prises alimentaires davantage espacées (Le Dividich *et al.* 2005). Ces changements dans la nature de l'aliment ingéré et la fréquence des repas engendrent des modifications importantes du métabolisme (Dunshea. 2003). A la fin de la période

de lactation, le porcelet tète la truie toutes les 50 minutes environ (Auldist *et al.* 2000). D'un point de vue métabolique, l'organisme dispose donc en continu d'un apport de nutriments venant de l'alimentation. La fréquence de l'ingestion d'aliment diminue très fortement pour atteindre une prise alimentaire toutes les 2 heures en moyenne dans les deux jours qui suivent la première prise alimentaire (Bruininx *et al.* 2001). Cependant, ce chiffre moyen masque une forte variabilité entre les animaux, surtout pendant les premières heures suivant le sevrage. En effet, des auteurs ont montré qu'environ 50% des porcelets n'avaient rien mangé dans les 12 heures et environ 20% dans les 24 heures suivant le sevrage (Bruininx *et al.* 2001). En conséquence, l'alternance de périodes de jeûne pouvant être prolongées et de périodes d'alimentation conduit l'organisme du jeune porcelet à alterner entre des phases de mise en réserve/mobilisation des nutriments liées à la diminution du nombre de repas alors que le sevrage induit une diminution de l'apport journalier de nutriments.

Après le sevrage, le porcelet mobilise des réserves énergétiques sous forme de lipides, et dans une moindre mesure, sous forme de glycogène. Des études de composition chimique du porcelet ont montré que la quantité absolue de lipides dans l'organisme du porcelet diminuait jusqu'à 8 jours après un sevrage à 21 jours d'âge tandis que la teneur en protéines restait stable (Whittemore *et al.*

1981). Ainsi, les deux premiers jours suivant un sevrage à 21 jours, les porcelets mobilisent en moyenne 80 g/jour de lipides corporels (Whittemore *et al.* 1981), principalement sous la forme d'acides gras libres (AGL) (Dunshea *et al.* 1992). La concentration plasmatique en AGL à jeun est inversement corrélée à la quantité d'aliment ingérée par le porcelet (Bark *et al.* 1986). Ainsi, plusieurs études ont montré une augmentation de la concentration en AGL après le sevrage (Whittemore *et al.* 1981; Bark *et al.* 1986; Le Dividich et Sève. 2000).

La diminution de l'ingestion du porcelet après sevrage entraîne une réduction de l'apport de glucose via l'alimentation. Ainsi, la concentration plasmatique en glucose diminue de façon transitoire au sevrage (Funderburke et Seerley. 1990) et s'accompagne d'une diminution des réserves hépatiques et rénales en glycogène (Xie *et al.* 2016). L'organisme tente de maintenir la concentration plasmatique en glucose par la glycogénolyse. Cependant, les réserves en glycogène du porcelet au sevrage sont très faibles (50 µg/g de foie) (Funderburke et Seerley. 1990) comparées au porc en croissance (environ 60 mg/g de foie) (Le Naou *et al.* 2012). La néoglucogenèse à partir du glycerol est donc probablement la principale voie utilisée pour maintenir la glycémie après le sevrage (Dunshea. 2003).

Le porcelet, en croissance au moment du sevrage, dépose une quantité importante de protéines dans ses muscles et son appareil

digestif. Cependant, le dépôt protéique peut être réduit lorsque l'ingestion baisse fortement bien qu'il reste prioritaire sur le dépôt lipidique (Sève *et al.* 1986). Lorsque les niveaux de protéines de l'aliment sont bas (15%) et qu'ils ne sont pas compensés par des acides aminés de synthèse, le dépôt protéique a lieu en priorité dans les tissus digestifs, au détriment du muscle et du foie (Sève *et al.* 1986). Dans les premiers jours après le sevrage, le porcelet peut être en bilan protéique négatif du fait de la mobilisation des protéines musculaires au profit des protéines constituant le tractus digestif (Dunshea. 2003).

1.2.2 Activation du système immunitaire au sevrage

1.2.2.1 Rappels généraux sur l'immunité

Le système immunitaire a pour fonction de maintenir l'intégrité physique de l'organisme en éliminant le non soi et en initiant les phénomènes de réparation tissulaire. Il est le fruit chez les mammifères de millions d'années d'évolution. Il est composé d'une multitude de mécanismes de défense qui permettent à l'individu de se protéger notamment des agents infectieux pathogènes. Ainsi, l'organisme met en place de façon complémentaire une réponse immunitaire innée, qui n'est pas spécifique du pathogène, et une réponse immunitaire adaptative reposant sur la reconnaissance de l'antigène impliqué, le développement d'une réponse qui lui est spécifique, et sur la mise en mémoire de cette réponse.

La réponse immunitaire innée se caractérise notamment par la réaction inflammatoire. Lorsqu'un tissu est lésé, la réaction inflammatoire vise à augmenter l'afflux sanguin et la perméabilité capillaire afin de permettre l'arrivée massive de leucocytes dans le site lésé ainsi qu'à augmenter localement la température. Les neutrophiles et les monocytes sont les premières cellules immunitaires à rejoindre le lieu de l'infection afin de phagocyter les pathogènes présents. Par ailleurs, sous l'action des cytokines telles que le TNF alpha, l'IL-1 ou

l'IL-6, la réaction inflammatoire augmente très significativement la synthèse par le foie de certaines protéines sériques dites protéines inflammatoires telles que la protéine C-réactive (CRP), la protéine amyloïde sérique ou l'haptoglobine.

La réponse immunitaire adaptative repose sur l'identification de l'agent infectieux. Sur le site de l'infection ou dans les ganglions lymphatiques, les cellules dendritiques capturent l'antigène. Elles migrent ensuite dans les ganglions afin de présenter cet antigène aux lymphocytes T CD4. Les CD4 reconnaissant cet antigène prolifèrent puis se différencient en lymphocytes T auxiliaires (Th) ou en lymphocytes T mémoire. Selon la nature de l'antigène et sous contrôle des cytokines, il y a mise en place d'une réponse majoritairement de type cellulaire ou humorale. Pour un pathogène intracellulaire, les lymphocytes T auxiliaires activent les lymphocytes T CD8 naïfs qui prolifèrent et se différencient en lymphocytes T cytotoxiques. Les lymphocytes T auxiliaires et cytotoxiques migrent ensemble dans la zone infectée pour combattre le pathogène par la production de cytokines telles que l'IFN-gamma et une réponse cytotoxique respectivement. Lorsque le pathogène est extracellulaire, les lymphocytes B, spécifiques de cet antigène, capturent de leur côté l'antigène sur le site d'infection ou dans un ganglion lymphatique et le présentent aux lymphocytes T auxiliaires. Les lymphocytes B et T

auxiliaires spécifiques prolifèrent puis les lymphocytes B se différencient en plasmocytes et produisent des anticorps. Les anticorps ont principalement pour rôle de neutraliser le pathogène et de faciliter sa phagocytose par les macrophages et polynucléaires.

Il existe 5 classes d'anticorps chez les mammifères : IgA, IgG, IgM, IgD et IgE. Les IgM sont les premiers anticorps formés lors d'une réponse immunitaire primaire, une dizaine de jours après la reconnaissance de l'antigène. Lors d'une réponse immunitaire secondaire, les IgG, qui représentent environ 75% des anticorps du sang, sont produits de façon massive. Les IgA sont les anticorps majoritaires dans les sécrétions des muqueuses. Enfin, les IgD et les IgE sont présents à faible concentration dans le sang (Male *et al.* 2012). Chez le nouveau-né, il y a un transfert de l'immunité maternelle au cours de la gestation chez l'homme ou via le colostrum chez le porc. Ainsi, dans les premières semaines de vie, les IgG maternels sont majoritaires dans le sang du jeune. Leur concentration sérique décroît avec le temps. Les concentrations sanguines en IgM puis en IgG et IgA, produites par le jeune, augmentent avec l'âge et selon les antigènes rencontrés.

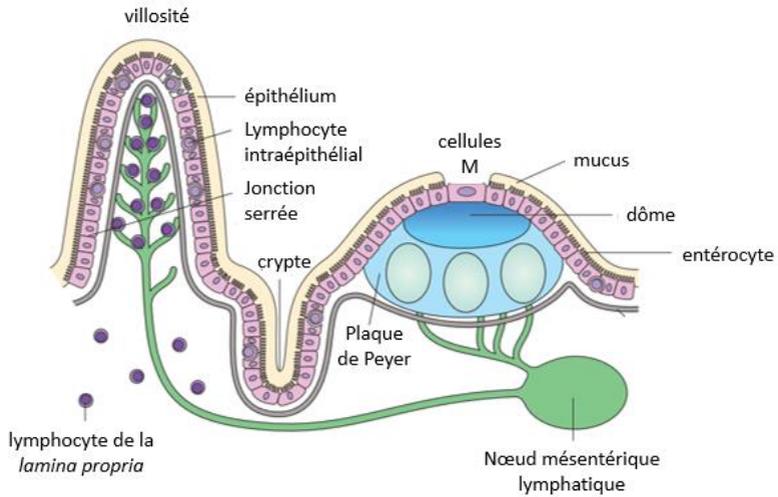


Figure 3 : Organisation du système immunitaire au niveau de la muqueuse intestinale (Male *et al.* 2012)

1.2.2.2 Immunité et intestin

Les muqueuses, et particulièrement la muqueuse intestinale, se trouvent à l'interface entre l'environnement et le milieu intérieur. A ce titre, elles sont exposées à une multitude d'antigènes, incluant des agents pathogènes. Comme décrit précédemment, l'organisation de la muqueuse intestinale en villosités et microvillosités permet d'augmenter la surface d'absorption des nutriments mais elle augmente aussi les voies d'entrée dans l'organisme pour les agents pathogènes. L'organisme dispose d'une combinaison de défenses spécifiques et non-spécifiques permettant la protection de cette muqueuse. L'intestin est tapissé de tissus lymphoïdes appelés GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue). Il s'agit de follicules lymphoïdes situés directement sous la couche de cellules épithéliales de la muqueuse telles que les plaques de Peyer ou dans la *lamina propria* tels que les nœuds mésentériques lymphatiques (Figure 3). Chez le porc, on dénombre 25 à 35 plaques de Peyer dans l'intestin grêle qui sont présentes dès la naissance, se développent pendant les premières semaines de vie extra-utérine et, persistent tout au long de la vie du porc (Stokes *et al.* 1994; Gutzeit *et al.* 2014). Dans le gros intestin, il n'y a qu'une seule grande plaque de Peyer qui régresse à environ un an d'âge (Stokes *et al.* 1994). Ces plaques connaissent un fort développement au moment du sevrage (Stokes *et al.* 1994). Les

cellules M sont des cellules épithéliales particulières situées entre les plaques de Peyer et la lumière de l'intestin. Elles assurent le transfert, par transcytose, des antigènes vers les plaques de Peyer, qui sont des invaginations contenant des lymphocytes B et T, des cellules dendritiques et des macrophages (Male *et al.* 2012). Ensuite, les cellules dendritiques présentent l'antigène dans le dôme des plaques de Peyer à des lymphocytes T spécifiques, qui favorisent la différenciation et la multiplication des lymphocytes B en plasmocytes. Les plasmocytes migrent vers la *lamina propria* à partir d'où ils excrètent des IgA dans la lumière intestinale sans induire de réponse inflammatoire (Gutzeit *et al.* 2014). Ces IgA favorisent le maintien d'une flore non pathogène et neutralisent les pathogènes (Gutzeit *et al.* 2014; Kato *et al.* 2014). Des lymphocytes, principalement T, sont également présents de façon diffuse dans l'épithélium (les lymphocytes intraépithéliaux) ou dans la *lamina propria* (lymphocytes de la *lamina propria*) (Forchielli et Walker. 2005).

Le système immunitaire est donc au contact du microbiote présent dans la lumière intestinale. Ainsi, 10^{14} cellules microbiennes appartenant à 500 à 1000 espèces chez l'homme (Sommer et Backhed. 2013) et environ 700 espèces chez le porc (Xiao *et al.* 2016) sont présentes sur la totalité du tube digestif. Le système immunitaire intestinal se caractérise par une relative tolérance vis-à-vis des

microorganismes peuplant la lumière intestinale tout en assurant l'intégrité de la barrière intestinale. Ainsi, le microbiote intestinal augmente la sécrétion de mucus par les cellules caliciformes, induit le développement des tissus lymphoïdes, module la différenciation des cellules immunitaires, régule la production de cytokines et de chimiokines (Sommer et Backhed. 2013; Rooks et Garrett. 2016). De plus, les IgA produites au niveau de la muqueuse intestinale par les lymphocytes B permettent de contrôler la distribution spatiale et le développement du microbiote. Ces IgA sont produites principalement en réponse à la stimulation par le microbiote comme le montrent les niveaux très faibles d'IgA au niveau intestinal chez des souris gnotobiotiques (Kato *et al.* 2014).

1.2.2.3 Immunité du porcelet au sevrage

Le sevrage provoque un retrait soudain de la protection immunitaire passive apportée par le lait de la truie à la muqueuse intestinale du porcelet, notamment les IgA, IgM, lactoferrine ou lactopéroxydase (Wagstrom *et al.* 2000; Salmon *et al.* 2009). Le passage d'antigènes depuis la lumière intestinale vers la *lamina propria* est facilité par les altérations morphologiques induites par le sevrage, ce qui favorise la réaction inflammatoire que l'on observe au niveau de la muqueuse après le sevrage (McCracken *et al.* 1999;

Spreeuwenberg *et al.* 2001; Boudry *et al.* 2004). En effet, chez des porcelets sevrés à 28 jours, les gènes codant pour la synthèse de cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IL-1, l'IL-6 ou le TNF- α , sont surexprimés au niveau de la muqueuse intestinale dans les 2 jours suivants le sevrage (Pié *et al.* 2004). Cette inflammation locale peut avoir des répercussions systémiques comme le montre l'augmentation de la concentration plasmatique en IL-1 deux jours après un sevrage à 19 jours (McCracken *et al.* 1995) ou en protéines inflammatoires, telle que l'haptoglobine sept jours après un sevrage à 30 jours (Sauerwein *et al.* 2007) ou 12 jours après un sevrage à 28 jours (Pastorelli *et al.* 2012b). Par ailleurs, le sevrage et sa réaction inflammatoire sont aussi associés à une mobilisation des lymphocytes CD4⁺ et CD8⁺ au niveau de la *lamina propria* dans les 2 jours suivant un sevrage à 21 jours (McCracken *et al.* 1999). La réaction inflammatoire au niveau intestinal est utile au recrutement des cellules immunitaires au niveau de la muqueuse permettant la mise en place d'une réponse immunitaire face aux bactéries digestives pathogènes. Mal contrôlée, elle peut néanmoins exacerber les altérations morphologiques et fonctionnelles du tube digestif.

1.2.3 La réponse de stress au sevrage

1.2.3.1 Rappels généraux sur la réponse de stress

La réponse de stress décrit un phénomène non spécifique d'adaptations comportementales et physiologiques des individus face à une menace. Cette réponse permet d'une part de se soustraire d'une menace, et d'autre part, le retour à l'homéostasie, c'est-à-dire le maintien de l'équilibre du milieu intérieur nécessaire au bon fonctionnement de l'organisme, perturbé par les facteurs responsables du stress.

Face à une menace, par exemple lors d'une attaque d'un prédateur sur une proie, l'organisme met en place une stratégie d'adaptation via le système nerveux sympathique et l'axe corticotrope visant à soutenir la fuite ou un comportement de défense. Lorsqu'une situation de danger est perçue par l'individu, le système nerveux sympathique est activé en quelques secondes seulement, provoquant la libération de catécholamines telle l'adrénaline dans le sang. Par ailleurs, le système nerveux central induit la sécrétion de CRH (Corticotropin Releasing Hormone) et de vasopressine par l'hypothalamus (Figure 4). La CRH, agissant en synergie avec la vasopressine, provoque la sécrétion d'ACTH par l'hypophyse qui elle-

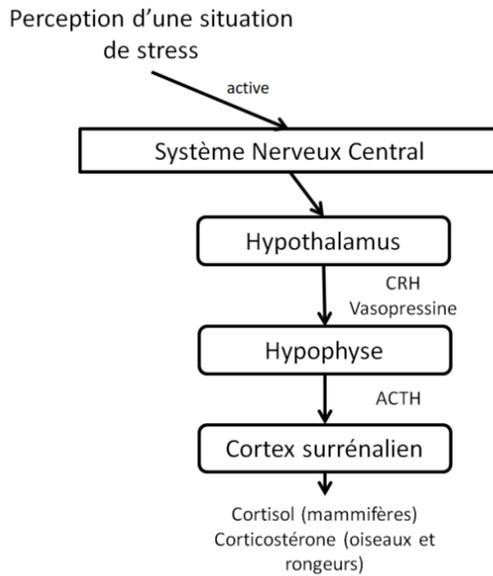


Figure 4 : Schéma général de l'organisation et de la régulation de l'axe corticotrope (d'après Mormède et Terenina, 2012).

même induit la sécrétion des glucocorticoïdes : le cortisol chez les mammifères ou la corticostérone chez les oiseaux et les rongeurs. L'activation du système nerveux sympathique provoque notamment la mobilisation énergétique (glycogène et lipides de réserves) et l'augmentation du rythme cardiaque. Les glucocorticoïdes augmentent la mobilisation des métabolites énergétiques (glucose et lipides de réserves) et induisent un catabolisme protéique et lipidique permettant la libération d'acides aminés, de glycérol et d'acides gras libres, ensuite utilisés par le foie pour la néoglucogenèse et la synthèse protéique. Lorsque ces nutriments énergétiques mobilisés ne sont pas utilisés par les tissus, l'individu stocke alors cette énergie sous forme de lipides dans les tissus adipeux ou sous forme de glycogène notamment dans le foie au détriment des tissus protéiques (Mormède et Terenina. 2012).

1.2.3.2 Stress et réponse immunitaire

Il existe une communication entre le système immunitaire et le système neuroendocrinien. Les organes lymphoïdes sont innervés par le système nerveux autonome. Les cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-12 et TNF-alpha) secrétées par les macrophages et les polynucléaires induisent l'activation de l'axe corticotrope via la synthèse de cortisol (Tsigos et Chrousos. 2002; Merlot. 2004; Williams *et al.* 2009) qui exerce un rétrocontrôle négatif sur la production de cytokines pro-inflammatoires (Williams *et al.* 2009). Lors d'une situation de stress, l'activation du système nerveux sympathique (sécrétion de catécholamines) conduit à la mobilisation des leucocytes des organes lymphoïdes et à leur passage dans le sang. Ensuite, sous l'effet des glucocorticoïdes, les lymphocytes et les monocytes quittent la circulation sanguine pour les ganglions lymphatiques et les muqueuses, prêts à être mobilisés plus rapidement sur le lieu de l'infection. A l'inverse, les polynucléaires voient leur concentration sanguine augmenter (Merlot. 2004; Salak-Johnson et McGlone. 2007).

L'activation du système nerveux sympathique induit la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. Ainsi, une situation de stress peut provoquer une réaction inflammatoire sans présence d'un

agent infectieux (Pongratz et Straub. 2014). En effet, des auteurs ont émis l'hypothèse que l'activation du système nerveux sympathique induisait la production de cytokines pro-inflammatoires qui elles-mêmes induisaient la production de protéines inflammatoires par le foie, expliquant ainsi l'effet du stress sur l'induction de l'inflammation (Murata. 2007). Ainsi, une augmentation de la concentration plasmatique en CRP, haptoglobine et Pig-MAP, protéines inflammatoires, chez des porcs de 10 mois d'âge après un transport de 24h a été montrée (Piñeiro *et al.* 2007).

Par ailleurs, le stress augmente la susceptibilité de l'organisme face aux infections. En effet, chez l'homme, les individus en état de stress chronique, identifié par questionnaire, ont développé une réponse vaccinale à l'hépatite B moins forte, se traduisant par une plus faible production d'anticorps (Marsland *et al.* 2002). Chez le porc, le taux de mortalité après contamination expérimentale par le virus de la maladie d'Aujeszky chez des porcelets de 75 jours d'âge, victimes d'une défaite sociale, est plus important que chez les porcelets dominants (Hessing *et al.* 1994). Dans une autre expérience étudiant l'effet d'un stress provoqué par la densité des animaux, des porcs de 30 kg logés à une densité de 50 kg/m² ont produit moins d'anticorps suite à une vaccination contre le virus de la maladie de Newcastle que des porcs logés à 32 kg/m² (Turner *et al.* 2000).

1.2.3.3 Stress du porcelet au sevrage

Au sevrage tel qu'il est pratiqué en élevage, le porcelet est séparé de sa mère, logé dans un nouvel environnement et parfois mélangé avec des nouveaux congénères provoquant une situation de stress qui conduit à des modifications comportementales et endocriniennes dans les jours qui suivent le sevrage. Plusieurs signes d'une modification du comportement du porcelet témoignent de cette situation de stress. En effet, après le sevrage, le nombre de vocalisations, appels lancés par le porcelet à sa mère, augmente ce qui suggère un mal-être du porcelet causé par la séparation de sa mère (Colson *et al.* 2006). De plus, une augmentation des comportements agressifs a également été rapportée après le sevrage (Colson *et al.* 2006; Mason *et al.* 2003; Jarvis *et al.* 2008). Ils témoignent de l'établissement d'une nouvelle hiérarchie sociale au sein d'un groupe d'individus issus d'une même portée mais privés de la dominance de la mère ou d'individus issus de portées différentes (Colson *et al.* 2006). Enfin, les comportements de simulation de tétée (« belly nosing ») augmentent après le sevrage traduisant le mal-être des porcelets (Jarvis *et al.* 2008; O'Connell *et al.* 2005; Colson *et al.* 2006). En effet, certains auteurs suggèrent que ces comportements seraient, entre autre, un moyen pour le porcelet de se rassurer car simulant la présence de la mère (O'Connell *et al.* 2005).

Ces changements de comportements s'accompagnent de modifications endocriniennes. En effet, plusieurs études ont montré une augmentation de la concentration salivaire (Colson *et al.* 2012) ou plasmatique (de Ruyter *et al.* 2017) en cortisol chez le porcelet entre 1 et 2 jours après le sevrage. Néanmoins, aucune augmentation du cortisol n'est observée dans les 2 jours suivants le sevrage lorsque des mesures visant à réduire les facteurs de stress du sevrage sont prises. Par exemple, il s'agit de laisser les porcelets dans leur environnement (Colson *et al.* 2012) ou de limiter progressivement le temps de contact entre la truie et les porcelets en fin de lactation (de Ruyter *et al.* 2017). A plus long terme, la concentration plasmatique en cortisol reste stable entre 1 et 6 jours après sevrage (Heo *et al.* 2003; Mason *et al.* 2003) ou diminue entre 0 et 7 jours après sevrage (Jarvis *et al.* 2008).

1.2.4 Dégradation du statut oxydant du porcelet lors du sevrage

1.2.4.1 Rappels généraux sur le statut oxydant

Le statut oxydant résulte de l'équilibre entre les phénomènes d'oxydation ayant lieu dans l'organisme et les mécanismes de défenses antioxydantes mis en place pour y faire face. Lorsque cet équilibre est rompu, on parle alors de stress oxydant.

1.2.4.1.1 Phénomènes d'oxydation dans l'organisme

Les principales molécules oxydantes de l'organisme sont des radicaux libres. Il s'agit de molécules instables, dérivées de l'oxygène ou de l'azote et qui ont une activité oxydante variable (Halliwell et Gutteridge. 2015). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs sont appelés espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ils sont produits par de multiples réactions de l'organisme (Aurousseau. 2002; Kohen et Nyska. 2002; Favier. 2003; Halliwell et Whiteman. 2004). Les ROS sont produits de façon spontanée *in vivo* principalement au niveau de la chaîne respiratoire des mitochondries (Finkel. 2014; Halliwell et Gutteridge. 2015). Les macrophages et les polynucléaires produisent également des ROS par leur activité de phagocytose et de dégranulation. Ainsi, la consommation d'oxygène

dans ces cellules peut être vingt fois supérieure à la normale. En effet, l'activation de l'enzyme NADPH oxydase induisant la synthèse d'anions superoxydes à partir de l'oxygène constitue une phase essentielle dans la défense antimicrobienne. Mais, ce système de défense non spécifique peut parfois aussi conduire à l'oxydation de molécules de l'organisme (Kohen et Nyska. 2002; Favier. 2003; Lykkesfeldt et Svendsen. 2007). Par ailleurs, les mécanismes de cycles redox, tels que l'oxydation des quinones, transporteurs d'électrons dans la chaîne respiratoire des mitochondries, produisent de nombreux radicaux libres. Cette oxydation peut avoir lieu spontanément ou par l'intervention du cytochrome P450 sous l'effet de composés exogènes mais aussi endogènes comme les catécholamines (Lewis. 2002; Favier. 2003).

L'accumulation des ROS dans les cellules a des effets multiples sur les fonctions cellulaires (Figure 5). Ils oxydent les lipides, les protéines et les acides nucléiques des cellules selon leur affinité avec le radical libre en présence. Les radicaux libres ont la capacité d'extraire un atome d'hydrogène des composés lipidiques constitutifs des membranes cellulaires. Cette réaction en chaîne est appelée peroxydation lipidique et provoque une perte d'intégrité membranaire pouvant conduire à la mort cellulaire. Deux molécules

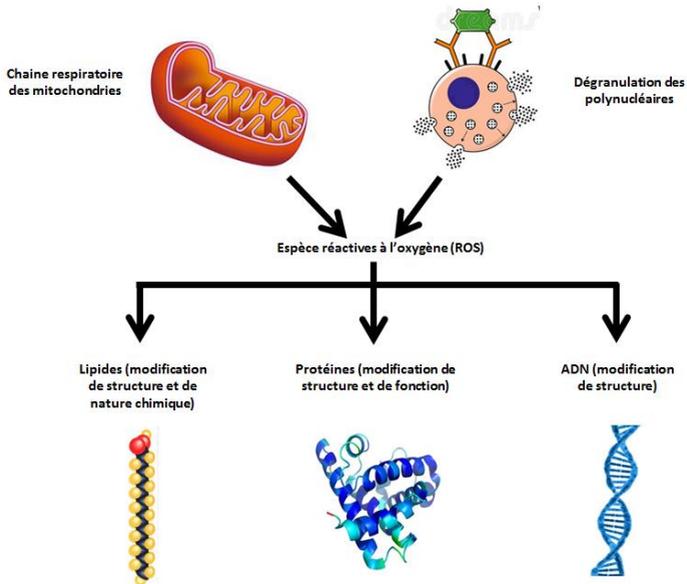


Figure 5 : Origine et effet de l'action des espèces réactives à l'oxygène (ROS) sur les principales macromolécules de l'organisme.

sont principalement issues de la peroxydation des lipides : le malondialdéhyde (MDA) et les isoprostanes (Kohen et Nyska. 2002; Favier. 2003; Hulbert *et al.* 2007). Par ailleurs, les radicaux libres sont susceptibles de modifier la conformation et donc la fonction de certaines protéines, comme des récepteurs, des enzymes ou des transporteurs. Les protéines les plus sensibles à l'oxydation sont celles contenant des groupements sulfhydryles (SH). Contrairement aux lipides, l'oxydation des protéines ne forme pas toujours de nouveaux composés. Dans ce dernier cas, les produits majeurs de l'oxydation des protéines sont les aldéhydes, les composés cétoniques et les composés carbonylés (Kohen et Nyska. 2002; Breusing et Grune. 2010). La molécule d'ADN est particulièrement sensible à l'oxydation. Ainsi, les bases azotées (particulièrement la guanine formant ainsi du 8-hydroxy-2'-desoxygaunosine (8-OHdG)), les désoxyriboses ou les liaisons entre brins peuvent être modifiées, entraînant une altération de l'intégrité de l'information génétique (Favier. 2003; Halliwell et Whiteman. 2004; Monaghan *et al.* 2009). De plus, l'oxydation des lipides (liaison MDA/ADN) et des protéines (mécanismes de réplication, transcription et réparation) a des effets indirects sur la validité de l'information génétique (Favier. 2003; Halliwell et Whiteman. 2004). L'oxydation des glucides est peu étudiée dans la littérature. Les ROS peuvent

néanmoins oxyder les mucopolysaccharides et les protéoglycanes du cartilage (Favier. 2003).

1.2.4.1.2 Défenses antioxydantes de l'organisme

L'organisme dispose de plusieurs niveaux de défense pour faire face à l'oxydation (Figure 6). Un antioxydant peut se définir comme toute substance qui ralentit, prévient ou répare les dommages liés à l'oxydation sur une molécule cible (Halliwell et Gutteridge. 2015). Tout d'abord, un arsenal de défenses antioxydantes à base de molécules et d'enzymes constitue le premier rempart contre l'oxydation. De plus, au cours de son évolution, l'organisme a mis en place des systèmes de réparation des dégâts causés par l'oxydation pouvant aller jusqu'au déclenchement de l'apoptose des cellules trop endommagées.

Plusieurs enzymes ont la capacité d'éliminer les ROS telles que la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) ou la catalase (CAT) (Kohen et Nyska. 2002; Hulbert *et al.* 2007; Lykkesfeldt et Svendsen. 2007). Ces enzymes intracellulaires agissent de façon complémentaire. La superoxyde dismutase est une métalloenzyme qui catalyse la transformation d'oxygène singulet en un autre ROS, le peroxyde d'hydrogène. Elle est présente dans différents compartiments cellulaires : matrice mitochondriale, cytosol,

espace intermembranaire et compartiment extracellulaire (Hulbert *et al.* 2007; Somogoyi *et al.* 2007). La catalase est un polypeptide transformant le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. (Kohen et Nyska. 2002; Glorieux *et al.* 2015). La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme catalysant la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau par l'oxydation du glutathion. Cette réaction nécessite l'apport de 2 molécules de glutathion pour réduire 1 molécule de peroxyde d'hydrogène (Kohen et Nyska. 2002). Certains composés non enzymatiques, tels que le glutathion, sont synthétisés par les cellules (Hulbert *et al.* 2007). Il est présent dans le cytoplasme, le noyau et les mitochondries des cellules (Valko *et al.* 2007). Le glutathion a la capacité de régénérer, c'est-à-dire de réduire, d'importantes molécules antioxydantes telles que les vitamines E ou C. Le glutathion est recyclé exclusivement à l'extérieur des cellules ainsi, les formes réduites et oxydées sont présentes dans le milieu extracellulaire et le sang (Ballatori *et al.* 2005).

D'autres composés, tels que la mélatonine, les histidines dipeptides, l'acide urique, l'albumine, la bilirubine, la taurine, les vitamines A, E et C, les polyphénols ou la céruloplasmine, ont la capacité de piéger les métabolites des ROS (Kohen et Nyska. 2002). L'albumine est une protéine synthétisée dans le foie et présente dans le plasma où elle représente la protéine la plus abondante. Elle a, entre

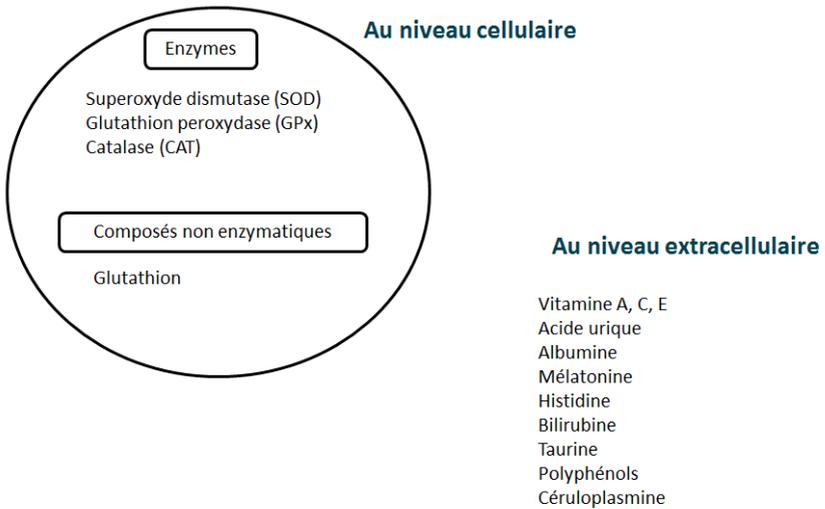


Figure 6 : Molécules ayant une activité antioxydante dans l'organisme (D'après Kohen et Nyska. 2002)

autres, une fonction antioxydante : environ 70% de la capacité antioxydante du plasma humain est due à l'albumine (Halliwell. 1988; Roche *et al.* 2008; Taverna *et al.* 2013). L'acide ascorbique (vitamine C) a la capacité d'être oxydée par les radicaux libres qui ne peuvent, par conséquent, plus oxyder des macromolécules (lipides, protéines ou ADN). De plus, l'acide ascorbique a la capacité de réduire le radical alpha-tocophéryle produit lors de l'oxydation de la vitamine E par les ROS. Par conséquent, la vitamine C et E agissent de façon coordonnée dans la défense antioxydante de l'organisme (Bendich *et al.* 1986; Hulbert *et al.* 2007).

La vitamine E est un terme générique qui désigne quatre tocophérols et quatre tocotrienols. Elle ne peut pas être synthétisée par les mammifères et doit donc être apportée par l'alimentation (Kohen et Nyska. 2002). L'alpha-tocophérol est la forme prédominante compte tenu de son activité biologique et de sa présence dans les membranes intracellulaires (1 tocophérol pour 1000 lipides membranaires) (Kohen et Nyska. 2002; Mayne. 2003; Hulbert *et al.* 2007). La vitamine E réduit le groupe peroxyde des acides gras polyinsaturés membranaires oxydés, bloquant ainsi la chaîne de propagation de l'oxydation (peroxydation) des lipides (Kohen et Nyska. 2002; Hulbert *et al.* 2007).

La vitamine A est une molécule liposoluble dont les formes actives sont le rétinol, le rétinal et l'acide rétinoïque. Elle ne peut pas être synthétisée par les mammifères et doit donc être apportée par l'alimentation. Les caroténoïdes et les rétinyls esters sont des précurseurs apportés par les produits animaux dans l'alimentation. Les végétaux sont uniquement sources de caroténoïdes. Les formes actives de la vitamine A étant toxiques en forte concentration dans le plasma, les excédents de vitamine A sont stockés essentiellement sous formes d'esters d'acides gras dans les cellules stellaires du foie. Le rétinol et certains caroténoïdes précurseurs de la vitamine A ont un rôle antioxydant par leur capacité à se lier aux radicaux peroxydes avant leur action de peroxydation lipidique (Palace *et al.* 1999; Jin *et al.* 2014).

1.2.4.1.3 Régulation des défenses antioxydantes et réparation des dommages causés par l'oxydation

L'organisme dispose de mécanismes de régulation qui lui permettent de faire face aux attaques radicalaires. Il s'agit principalement de facteurs de transcription dont l'activité est régulée par le statut oxydant de la cellule. Parmi ces facteurs, le nuclear factor kappa B (NF- κ B), l'activator protein 1 (AP-1), le nuclear related factor 2 (Nrf-2) ou encore le hypoxia-inducible factor (HIF), sont les

principales molécules (Trachootham *et al.* 2008). Ainsi, lorsqu'il y a une augmentation de la concentration cellulaire en ROS, les facteurs de transcription sont activés et promeuvent la synthèse d'antioxydants endogènes (glutathion pour Nrf2 ou SOD pour NF-κB par exemple) ou la synthèse de protéines anti apoptotiques. Si la concentration cellulaire en ROS augmente trop fortement, les facteurs de transcription ont une activité opposée et promeuvent l'apoptose de la cellule (Trachootham *et al.* 2008; Halliwell et Gutteridge. 2015).

Par ailleurs, lorsque les macromolécules de l'organisme sont oxydées, leurs fonctions sont modifiées voire même anihilées. Certains mécanismes permettent la réparation ou l'élimination de ces molécules pour restaurer les fonctions originelles. Par exemple, l'excision est un mécanisme de réparation de l'ADN (Hulbert *et al.* 2007).

1.2.4.1.4 Mesure du statut oxydant

La production de radicaux libres engendre des dommages aux macromolécules constituant les cellules. L'organisme lutte contre ces attaques radicalaires en utilisant des molécules antioxydantes puisées dans l'alimentation et synthétisées par les cellules et en ajustant la production de molécules antioxydantes endogènes. C'est la raison pour laquelle la notion de statut oxydant est importante. En effet, la

quantité d'antioxydants dont dispose un organisme doit être associée à la quantité de dommages oxydants subis par celui-ci. Ainsi, l'index de stress oxydant qui est le rapport entre les dommages causés aux molécules et les capacités antioxydantes de l'individu a été proposé comme mesure synthétique du statut oxydant (Sharma *et al.* 1999). Le statut oxydant peut être mesuré au niveau d'un tissu ou du plasma de l'individu. Le plasma peut facilement et de façon répétée être collecté et il permet d'avoir une vision générale du statut oxydant de l'individu. Ainsi, la mesure de produits d'oxydation dans le plasma, tels que les hydroperoxydes, permet de connaître de façon générale, mais différée dans le temps, l'état des attaques radicalaires dans l'organisme. Néanmoins, les mesures sanguines ne permettent pas de localiser précisément le site des attaques radicalaires qui peuvent avoir eu lieu dans un ou plusieurs tissus ou provenir des cellules sanguines. En effet, le sang dilue les molécules oxydées qu'il draine. Aussi, l'augmentation significative des produits d'oxydation dans le plasma ne sera observée que lorsque l'oxydation dans le tissu concerné est suffisamment importante en durée et en amplitude. Les molécules antioxydantes mesurées dans le plasma sont de deux types. D'une part, les composés extracellulaires (Figure 6) sont transportés par le sang entre leur lieu de synthèse ou d'absorption et leur lieu de stockage ou d'utilisation (Kohen et Nyska. 2002). D'autre part, les

molécules intracellulaires passent dans la matrice extracellulaire des tissus lors de la mort cellulaire puis sont drainées par le sang ou passent directement dans le sang lorsqu'elles sont produites par les cellules sanguines (Somogoyi *et al.* 2007). Par conséquent, la mesure de la capacité du sang à faire face à l'oxydation, avec des tests tels que le BAP (Biological Antioxidant Potential), le TEAC (Total Equivalent Antioxidant Capacity), l'ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), le FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma), permet de connaître de façon non spécifique l'aptitude du sang à répondre aux attaques radicalaires. La mesure de molécules telles que les vitamines A ou E est spécifique de l'antioxydant donné et ne permet pas d'évaluer la capacité générale de l'individu à répondre à l'oxydation sauf à mesurer plusieurs dizaines d'antioxydants. La mesure de molécules antioxydantes endogènes dans le sang, par exemple la SOD, la catalase ou la glutathion peroxydase, souffrent des mêmes biais de dilution et de décalage dans le temps que ceux développés précédemment pour les molécules oxydées.

A l'inverse du plasma, la mesure dans un tissu permet d'avoir une vision précise, localisée et précoce du statut oxydant. Cependant, il semble difficile (biopsies), voire impossible (tissus internes, abattage) selon les tissus choisis, d'effectuer plusieurs mesures sur un individu vivant. Le sang transporte la vitamine E et A entre les lieux

d'absorption, de stockage et d'utilisation. La vitamine A est stockée principalement dans le foie et la vitamine E est stockée dans le foie et les tissus adipeux (Traber. 2012). Par conséquent, les concentrations en vitamines A et E dans les tissus reflètent davantage l'état des réserves de l'organisme tandis que les concentrations sanguines sont le reflet de l'ingestion et de la mobilisation de ces vitamines.

1.2.4.2 Statut oxydant du porcelet au sevrage

Le statut oxydant a été peu étudié chez le porcelet au sevrage. Les études publiées montrent une augmentation de la concentration sanguine en hydroperoxydes entre le sevrage à 21 jours d'âge et 80 jours d'âge (Pastorelli *et al.* 2012a) ou entre le sevrage à 28 jours d'âge et 35 (Sauerwein *et al.* 2007), 49 (Sauerwein *et al.* 2005) ou 86 jours d'âge (Corino *et al.* 2007). Dans ces mêmes études, la capacité antioxydante du plasma (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) augmente avec l'âge (Sauerwein *et al.* 2005; Sauerwein *et al.* 2007). Cependant, les études publiées ne permettent pas de déterminer avec certitude si le stress oxydant observé est dû au sevrage ou au vieillissement des animaux. Il n'existe pas à notre connaissance de données dans la littérature qui explorent l'évolution du statut oxydant avec l'âge chez des mammifères. L'évolution des dommages liés à l'oxydation n'a été étudiée que chez le nouveau-né ou chez l'adulte

sénescent. A la naissance, le jeune ne reçoit plus l'oxygène par le sang maternel mais par l'air, plus riche en oxygène, ce qui conduit au phénomène « oxidative burst » (Finkel et Holbrook. 2000). Les mitochondries, qui reçoivent alors un afflux important d'oxygène, produisent une quantité plus importante de radicaux libres qui attaquent les macromolécules de l'organisme. Chez l'adulte sénescent, de nombreuses études ont émis l'hypothèse que les dommages provoquant le vieillissement des cellules étaient dus à une accumulation de produit d'oxydation au cours de la vie conduisant à une perte de certaines fonctions cellulaires (Lin et Flint Beal. 2003; Pérez *et al.* 2009). Cette accumulation de produits d'oxydation a été montré chez l'adulte sénescent dans de nombreuses espèces : humain (Finkel et Holbrook. 2000), lapin (Oriani *et al.* 2001), lièvre (Palazzo *et al.* 2011) ou mouton (Casamassima *et al.* 2012).

Une situation de stress oxydant demeure difficile à qualifier. Il n'existe pas de données de références sur le statut oxydant des principaux animaux d'élevage, rendant particulièrement difficile l'interprétation des valeurs absolues des statuts oxydants (Celi. 2010). Ainsi, les études publiées sur l'évaluation du statut oxydant chez les animaux d'élevage font toujours état d'une évolution de statut entre un point initial et un évènement du type sevrage chez le porc (Sauerwein *et al.* 2005; Corino *et al.* 2007; Sauerwein *et al.* 2007), mise-bas (Celi

et al. 2010a) ou stress thermique (Di Trana *et al.* 2006) chez la chèvre ou lactation chez la vache (Pedernera *et al.* 2010). Par ailleurs, dans la mesure où l'oxydation entraîne une adaptation de l'organisme via la production de molécules antioxydantes (Hermes-Lima *et al.* 2015), il semble particulièrement opportun de prendre en compte les deux paramètres dans l'interprétation du statut oxydant à travers l'utilisation de l'index de stress oxydant par exemple (produit d'oxydation/capacité antioxydante) (Sharma *et al.* 1999).

A l'opposé, la littérature est particulièrement abondante sur les concentrations plasmatiques en molécules antioxydantes particulières telle que la vitamine E. Au sevrage, la concentration sanguine en vitamine E diminue très fortement (d'un facteur 2 à 4) (Mahan. 1991; Sivertsen *et al.* 2007; Wilburn *et al.* 2008). Par ailleurs, la diminution de l'ingestion d'aliment au sevrage et la diminution de l'absorption de la vitamine E dans l'intestin contribuent à réduire sa disponibilité au moment du sevrage (Kayden et Traber. 1993; Lauridsen *et al.* 2001). La vitamine E est absorbée avec les lipides qui sont présents en moins grandes quantités dans l'aliment que dans le lait. Par ailleurs, il y a au sevrage une diminution de l'activité des enzymes pancréatiques et des acides biliaires nécessaires à l'absorption intestinale des lipides et de la vitamine E (Kayden et Traber. 1993; Lauridsen et Jensen. 2005). L'ensemble de ces facteurs permet d'expliquer la chute de la

concentration plasmatique et de la teneur des réserves adipeuses en vitamine E au moment du sevrage (Lauridsen et Jensen. 2005). Plusieurs études ont ainsi montré que l'ajout de quantité croissante de vitamine E dans l'aliment (Moreira et Mahan. 2002; Wilburn *et al.* 2008; Prévéraud *et al.* 2015) ou l'eau de boisson (Wilburn *et al.* 2008) des porcelets ou dans l'aliment des truies (Lauridsen et Jensen. 2005; Shelton *et al.* 2014) permettait de limiter la diminution de la concentration plasmatique en vitamine E après sevrage.

La vitamine A a été, à notre connaissance, peu étudiée chez le porc. Un seul gavage de porcelets de 18 jours d'âge avec des doses croissantes de vitamine A (0 à 100 000 UI) ne conduit pas à une augmentation de la concentration plasmatique mais provoque une augmentation de la concentration en vitamine A dans le foie (Surles *et al.* 2007). A notre connaissance, dans la seule étude publiée, chez le porcelet au sevrage (23 jours d'âge), l'augmentation de la teneur en vitamine A dans l'aliment, de 2 200 UI/kg (NRC) à 26 400 UI/kg, entraîne une augmentation des concentrations plasmatiques et hépatiques en vitamine A 35 jours après sevrage (Ching *et al.* 2002). Dans cette même étude, aucun effet de la teneur en vitamine A dans l'aliment n'a été observé sur le GMQ, l'ingestion ou l'indice de consommation.

1.3 La robustesse

1.3.1 Le concept de robustesse

Le concept de robustesse a été développé dans l'industrie japonaise dans les années 1950 par le Dr Taguchi. Il s'agissait de créer des produits manufacturés, conçus pour un usage donné, capables de maintenir leur performance en toutes conditions d'utilisation. Dans le domaine de la biologie, la robustesse peut se définir comme une propriété permettant à un système de maintenir ses fonctions contre des perturbations internes ou externes (Kitano. 2004).

De cette définition très générale, certains auteurs ont proposé une définition adaptée à l'élevage. Aussi, la robustesse peut se définir comme la capacité d'un animal à combiner un niveau de production élevé, de santé et de bien-être quel que soit l'environnement dans lequel il évolue (Knap. 2005; Theilgaard *et al.* 2007; Friggens *et al.* 2017). Chaque organisme vivant est adapté au milieu dans lequel il vit. Ainsi, lorsque le milieu change, les individus doivent adapter leur comportement, leur physiologie et leur métabolisme. Un effort d'adaptation trop important fait peser potentiellement des menaces pour leur santé, leur bien-être, leur performance de production, voire leur survie.

L'élevage a conduit à limiter les aléas subis par les animaux. Les individus sont placés dans des conditions d'alimentation, de logement, de conduite ou de statut sanitaire qui favorisent l'expression de leur potentiel de croissance. Ainsi, la sélection génétique des animaux d'élevage s'appuie sur des niveaux de performances mesurés dans des conditions d'élevages optimisées afin de permettre la pleine expression du potentiel génétique de production de ces animaux. Cependant, dans la pratique, il existe une diversité de conditions d'élevage liée à la conduite des éleveurs, à la situation géographique des élevages, à la diversité de l'alimentation, dont certaines peuvent conduire à une dégradation du bien-être, de la santé et des performances de croissance.

L'adaptation des animaux à des conditions d'élevage non optimales entraîne des changements dans la physiologie et le métabolisme de l'animal pouvant conduire à des changements dans l'utilisation des nutriments par l'animal. Selon la théorie de l'allocation des ressources développée par Beilharz (Beilharz *et al.* 1993), un être vivant dispose d'une quantité limitée de ressources nutritionnelles qu'il partage entre les grandes fonctions comme par exemple, les fonctions d'entretien, de reproduction, de croissance, de défenses immunitaires. Par exemple, un porc sélectionné pour la maximisation de sa croissance dans des conditions d'élevage

permettant la pleine expression de son potentiel génétique oriente majoritairement l'énergie disponible, après avoir assuré ses besoins d'entretien, vers le développement de ses tissus musculaires. Si le même porc est logé dans des conditions d'élevage dégradées, une partie des nutriments dont il dispose sera dirigée vers les défenses immunitaires de l'organisme, au détriment de la croissance.

La sélection des animaux d'élevage sur des caractères de production (croissance, indice de consommation) aurait conduit les animaux à prioriser leur métabolisme pour soutenir une fonction de production entraînant des effets négatifs sur la reproduction ou la santé (Rauw *et al.* 1998; Friggens *et al.* 2017). Par exemple, chez la vache laitière, une corrélation génétique négative a été observée entre la quantité de lait produite au cours d'une lactation et le nombre de jours entre 2 vêlages (Berry *et al.* 2014). La sélection génétique sur les caractères de production laitière s'est effectuée dans un contexte où les apports énergétiques étaient limités par la capacité du rumen. En conséquence, dans ces conditions alimentaires limitantes, les animaux qui consacrent davantage d'énergie à la production laitière le feraient au détriment de la reproduction (Phocas *et al.* 2014). Chez les volailles, une méta-analyse comparant différentes lignées d'animaux a montré que les volailles sélectionnées sur la vitesse de croissance (GMQ) connaissaient une diminution de leur fonction immunitaire

mesurée par le taux de mortalité ou la concentration sanguine en anticorps suite à un challenge infectieux (van der Most *et al.* 2011). Chez le porc, il existe également une corrélation génétique négative entre la croissance (âge à 100 kg) et la reproduction (nombre de porcelets nés vivants par portée) (Holm *et al.* 2004). Une autre étude chez le porc a montré une corrélation génétique négative entre le GMQ et des paramètres de l'immunité, notamment le nombre de lymphocytes T et B, de monocytes ou la concentration plasmatique en protéines inflammatoires (haptoglobine ou CRP) (Clapperton *et al.* 2009).

L'animal robuste à tous les types de stress et très performant est peut être une utopie. Ainsi certains auteurs ont émis l'hypothèse que la notion de robustesse de l'animal devait être définie par rapport à une situation particulière comme la robustesse au stress thermique, à la pression sanitaire ou au sevrage (Friggens *et al.* 2017). En effet, il est très probable que les mécanismes impliqués dans la robustesse du porcelet au sevrage soient différents des mécanismes impliqués dans la robustesse au stress thermique.

1.3.2 Mesure de la robustesse

Si la définition générale de la robustesse d'un animal d'élevage fait relativement consensus, il existe de multiples façons, en pratique,

de considérer un animal comme robuste ou non. Objectiver la robustesse nécessite des critères et des indicateurs mesurables.

Pour palier aux problèmes de reproduction et aux troubles locomoteurs des vaches laitières hautes productrices conduisant les éleveurs à réformer leurs animaux précocement (Friggens *et al.* 2017), l'intégration de la longévité des carrières dans les objectifs de sélection génétique a été étudiée. Chez la truie, le nombre de portées au cours de la carrière est un critère de robustesse car il prend en compte des caractéristiques telles que la qualité des aplombs, de la mamelle, la résistance aux maladies ou la tolérance à la chaleur (Knap (2005) Ces caractères sont faiblement héréditaires, assez difficiles à mesurer et sont fortement influencés par l'environnement (Knap. 2005). En conséquence, la longévité est, dans ce cas, un caractère intégratif beaucoup plus simple à mesurer pour évaluer la robustesse des truies. Les lapines sélectionnées sur le nombre de lapereaux au sevrage ont une durée de leur carrière de production diminuée et une plus grande sensibilité à une vague de chaleur (mesurée par le nombre de lapereaux nés par portées en période estivale) (Theilgaard *et al.* 2007). Dans cette même étude, les lapines sélectionnées sur le nombre de portées montrent une plus grande persistance de la taille de portée (nombre de lapereaux nés) au cours de leur carrière de production et une meilleure résistance au stress thermique permettant aux auteurs de

qualifier cette lignée de plus robuste (Theilgaard *et al.* 2007). La mesure de la longévité des animaux constitue donc une approche permettant de caractériser la robustesse de l'animal reproducteur. Il s'agit d'une approche intéressante d'un point de vue génétique, mais elle ne permet pas de comprendre les réponses physiologiques mises en oeuvre qui permettent d'expliquer la longévité de la carrière de production des animaux. De plus, la longévité n'est pas un caractère permettant d'évaluer la robustesse d'animaux en croissance.

Une approche complémentaire de la caractérisation de la robustesse est de s'intéresser directement aux réponses physiologiques qui permettent à un animal d'être plus robuste. Par exemple, la réponse au stress est une réponse d'adaptation de l'organisme face à des situations de danger. Les porcs qui ont été sélectionnés sur des caractères de production, tels que la croissance ou l'efficacité alimentaire, montrent une diminution de l'activation de l'axe corticotrope lors d'une stimulation de celui-ci par une injection d'ACTH. Les animaux ayant une forte réactivité des glandes surrénales à l'ACTH seraient alors plus robustes (Mormède et Terenina. 2012). Si les animaux sélectionnés sur leur plus forte activation des surrénales suite à une stimulation par une injection d'ACTH montrent de meilleures performances de reproduction (nombre de porcelets nés vivants par portée), ils ont néanmoins de

moins bons GMQ sur la phase de post-sevrage et d'engraissement que leurs contemporains ayant une faible réponse au stress (Mormède *et al.* 2016).

Quel que soit le choix des indicateurs retenus pour mesurer en pratique la robustesse, il convient de déterminer dans quelles conditions ces indicateurs doivent être mesurés. Plusieurs auteurs ont émis l'hypothèse que le choix de l'environnement dans lequel les indicateurs de robustesse sont mesurés est primordial (Rauw *et al.* 1998; Knap. 2005; Phocas *et al.* 2014; Friggens *et al.* 2017). Conceptuellement, la notion de robustesse prend tout son sens lorsque les animaux sont mis en condition pour exprimer leur robustesse, c'est à dire quand ils subissent des perturbations dans leurs conditions de vie. En effet, si les conditions sont idéales, l'animal n'a, en théorie, pas besoin de faire d'effort d'adaptation à son environnement et l'expression de bonnes performances et du bien-être de l'animal seront favorisés. A l'inverse, lorsque les conditions sont difficiles ou changeantes, la capacité d'adaptation de l'animal à ces nouvelles conditions, sa robustesse, s'exprime davantage (Friggens *et al.* 2017). Par exemple, une étude mesurant l'héritabilité de paramètres immunitaires chez le porc a montré que le nombre de leucocytes était héritable dans les élevages à statut sanitaire dégradé mais pas dans les élevages à statut sanitaire élevé (Clapperton *et al.* 2005).

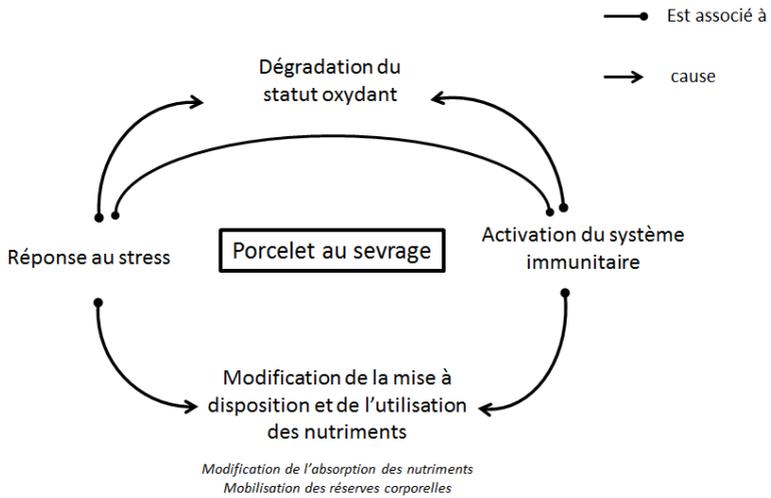


Figure 7 : Réponses physiologiques mises en œuvre lors de l'adaptation du porcelet au sevrage.

1.4 Conclusion

Le sevrage, tel qu'il est pratiqué en élevage, induit de nombreux changements dans l'environnement du porcelet. Ces changements brusques ralentissent la croissance et sont susceptibles d'affecter la santé du porcelet. L'amplitude de l'impact du sevrage sur les performances et la santé est souvent très variable selon les individus et les conditions dans lesquelles le sevrage a lieu. Le porcelet met en place des réponses physiologiques lui permettant de s'adapter au sevrage (Figure 7). Ainsi, la mise à disposition et l'utilisation des nutriments est modifiée par une modification de la morphologie digestive réduisant l'absorption et par une plus forte mobilisation des réserves corporelles. L'activation du système immunitaire conduit à une inflammation au niveau intestinal qui devient bien souvent systémique. De plus, le sevrage provoque un stress important pour l'animal qui a des répercussions sur le système immunitaire et le statut oxydant. Enfin, le sevrage entraîne une dégradation du statut oxydant du porcelet provoquant des dommages aux macromolécules de l'organisme.

Nous avons défini le concept de robustesse au sevrage comme la capacité à exprimer de fortes croissances, en bonne santé quel que soit l'environnement dans lequel les animaux sont élevés. Par

conséquent, un porcelet robuste s'adapte probablement au sevrage en mettant en place des réponses physiologiques qui limitent le ralentissement de la croissance et la dégradation de la santé après le sevrage.

2 APPROCHE EXPERIMENTALE

2.1 Questions de recherche et hypothèses

Parmi les changements physiologiques qui interviennent au moment du sevrage chez le porcelet, nous faisons l'hypothèse que certains d'entre eux sont associés à la robustesse du porcelet, soit de façon causale, soit parce qu'ils résultent d'une plus ou moins bonne adaptation de l'animal. Ces différences interindividuelles, en amplitude ou temporelles, devraient être repérables dans le sang juste avant ou peu après le sevrage, par la mesure de variables physiologiques pertinentes, décrivant ces réponses biologiques.

Question de recherche n°1

Peut-on identifier des réponses physiologiques associées à la robustesse du porcelet au sevrage ?

Question de recherche n°2

La robustesse du porcelet au sevrage peut-elle être prédite par la mesure de variables sanguines décrivant l'état de ces différents systèmes avant le sevrage et leur réponse précoce au tout début du sevrage ?

2.2 Stratégie expérimentale

Pour répondre à la question de recherche n°1, nous avons mis en place deux études avec deux approches complémentaires : d'une part, une étude en installation expérimentale en environnement contrôlé où nous avons fait varier uniquement les conditions de conduite et l'âge au sevrage et, d'autre part, une étude sur le terrain, en environnement non contrôlé où nous avons sélectionné des élevages selon leur statut sanitaire et leurs performances moyennes de croissance en post-sevrage. Dans l'étude en installation expérimentale, la cinétique des variables physiologiques autour du sevrage a été étudiée sur un nombre restreint d'animaux (n=64). Deux âges au sevrage ont été étudiés dans le but de s'assurer que l'évolution des variables physiologiques observée était liée au sevrage et non au processus de maturation physiologique des porcelets avec l'âge. Les différentes conditions de conduite visaient à créer des environnements plus ou moins favorables à la croissance et la santé des porcelets au sevrage. Dans l'étude terrain, nous avons mesuré, sur un nombre restreint de points de mesures autour du sevrage, globalement les mêmes variables physiologiques sur un plus grand nombre d'animaux (n=288) issus de 16 élevages différents. Ainsi, ces deux études nous

ont permis de faire des hypothèses sur les réponses physiologiques associées à la robustesse du porcelet au sevrage.

Pour répondre à la question de recherche n°2, nous avons fait l'hypothèse que parmi les variables physiologiques « candidates » mesurées dans l'étude terrain, décrivant les réponses physiologiques que nous présumions associées à la robustesse, mesurées avant ou après sevrage, certaines étaient susceptibles de prédire la robustesse du porcelet au sevrage. Nous avons choisi de travailler à partir des variables mesurées sur un grand nombre de porcelets issus d'élevages commerciaux sélectionnés dans le but d'avoir différentes conditions d'environnement où nous avons supposé que la robustesse avait plus ou moins de chances de s'exprimer.

2.3 Matériel et Méthodes

2.3.1 Financement de la thèse et collaboration scientifique

Ce travail de thèse repose sur le recrutement d'un doctorant par la coopérative Cooperl Arc Atlantique avec le soutien de l'Agence Nationale Recherche Technologie (ANRT) à travers la délivrance d'une bourse CIFRE. L'accueil, la formation et l'encadrement du doctorant ont été assurés par l'INRA par les UMR PEGASE

(Physiologie, Environnement et Génétique pour l'Animal et les Systèmes d'Elevage) de Saint Gilles (35) et BIOEPAR (Biologie, Epidémiologie et Analyse des Risques en santé animale) de Nantes (44).

L'étude terrain a reçu un financement du métaprogramme GISA (Gestion Intégrée de la Santé Animale) de l'INRA à travers le projet SEVROBUST regroupant des chercheurs de différentes unités INRA : Julie Hervé, Blandine Lieubeau et Grégoire Mignot de l'USC IECM (Immuno Endocrinologie Cellulaire et Moléculaire) de Nantes, Pierre Mormède et Elena Terenina de l'UMR GenPhySE (Génétique, Physiologie et Système d'Elevage) de Toulouse, Catherine Belloc et Mily Leblanc-Maridor de l'UMR BIOEPAR de Nantes et Elodie Merlot de l'UMR PEGASE à Saint Gilles.

L'étude terrain a également bénéficié d'un financement PSDR conjoint INRA/IRSTEA/Régions pour le projet SANTINNOV et d'un financement de ZOETIS pour l'observation des problèmes de santé.

L'étude expérimentation animale et l'étude terrain ont reçu un financement complémentaire de Cooperl Arc Atlantique.

Tableau 1 : Description des conditions de sevrage optimales et détériorées appliquées dans l'étude en installation expérimentale.

| Conditions | Optimales (CO) | Détériorées (CD) |
|---|------------------------------|---|
| Densité | 4 porcelets/case | 8 porcelets/case |
| Mélange d'animaux | 2 portées/case | 8 portées par case Mélange d'animaux 1 semaine après sevrage |
| Propreté de la salle | Lavée et désinfectée | Non lavée et non désinfectée |
| Température pendant le transfert | Directement à 28°C | 4h d'attente à 20°C |
| Transition aliment 1 ^{er} âge/2 ^{ème} âge | Sur 3 jours (32 à 35j d'âge) | Directe (32j d'âge) |

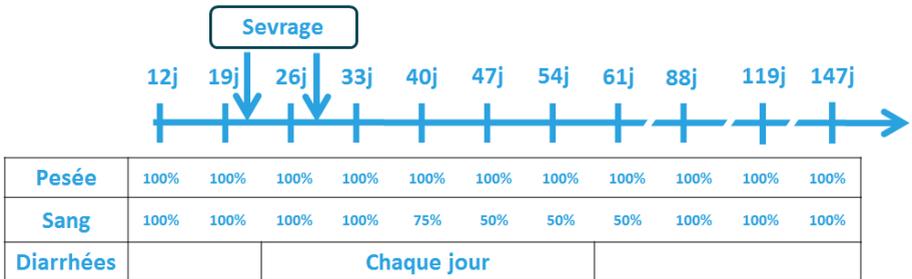


Figure 8 : Description des prélèvements et des mesures effectuées sur les porcelets de l'étude en installation expérimentale et du pourcentage d'animaux concernés par la pesée ou le prélèvement à chaque temps.

2.3.2 Etude en installation expérimentale

Cette étude a été réalisée dans les installations expérimentales de l'INRA de Saint Gilles et approuvée par le Ministère de la Recherche suite à l'avis de comité d'éthique en expérimentation animale de Rennes (n°2015070815295160). A 12 jours d'âge, 64 porcelets (génétique NUCLEUS, Piétrain x (Landrace x Large White)) issus de 12 portées ont été sélectionnés. Dans le but de dissocier l'effet de l'âge de celui du sevrage sur les mesures biologiques effectuées, 6 portées ont été sevrées à 21 jours d'âge et 6 autres à 28 jours d'âge. Ensuite, afin d'explorer les effets de conduites contrastées, les porcelets ont été sevrés en conditions optimales ou dégradées (Tableau 1).

Les porcelets ont été pesés chaque semaine de 12 à 61 jours d'âge puis à 88, 119 et 147 jours d'âge (Figure 8). Dans le but de limiter le nombre de prélèvement, 50% des porcelets ont été prélevés entre 1 semaine après sevrage et 61 jours d'âge. Ainsi, 100% des porcelets ont été prélevés à 12, 19, 26, 88, 119 et 147 jours d'âge. Pour les porcelets sevrés à 21 jours d'âge, 50% d'entre eux ont été prélevés à 33, 47 et 61 jours d'âge tandis que les 50% restant l'ont été à 40 et 54 jours d'âge. Pour les porcelets sevrés à 28 jours d'âges,

50% ont été prélevés à 40 et 54 jours d'âge et les 50% restant à 47 et 61 jours d'âge.

La consistance des fèces a été évaluée quotidiennement entre le sevrage et 61 jours d'âge par une manipulation individuelle de chaque animal et à l'aide d'un coton tige. La consistance des fèces a été qualifiée de dur, mou ou liquide.

Les prélèvements ont été effectués à la veine jugulaire dans 2 tubes Venosafe de 5mL contenant de l'EDTA ou de l'héparine comme anticoagulants. Le tube contenant de l'EDTA a été conservé à température ambiante jusqu'à la détermination de la formule sanguine. Le tube contenant de l'héparine a été conservé sur la glace. Les deux tubes ont ensuite été centrifugés pendant 15 minutes à 3000g à 4°C puis stockés à -20°C avant analyse. Les analyses effectuées et les échantillons sur lesquelles elles ont été réalisées sont représentés dans le Tableau 2.

2.3.3 Etude terrain : Expérimentation en élevages commerciaux

Cette étude a été réalisée dans des élevages commerciaux et a été approuvée par le Ministère de la Recherche suite à l'avis de Comité d'Ethique en Recherche clinique et épidémiologique Vétérinaire d'Oniris (n°CERVO-2016-6-V).

2.3.3.1 Sélection des élevages

Seize élevages commerciaux, naisseurs engraisseurs, adhérents de la coopérative COOPERL ont été sélectionnés parmi 170 élevages ayant les caractéristiques suivantes : taille d'élevage supérieure à 100 truies, génétique commune (NUCLEUS, Piétrain x (Landrace x Large White)), sevrage à 28 jours d'âge, élevage de production uniquement, élevage qui renseignent leurs dépenses de santé et leurs données techniques (Figure 9).

A partir de cette base, les élevages ont été sélectionnés selon des performances de croissance moyenne (GMQ 8-30 moyen entre 8 et 30 kg (GMQ 8-30)), les dépenses de santé en supplémentation et leur statut sanitaire. Le GMQ 8-30, exprimé en grammes par jour, est un critère standardisé utilisé dans la Gestion Technique d'Élevage mise en place par l'IFIP. Il est calculé à partir d'estimation des dates et des poids d'entrée et de sortie de post-sevrage. Le GMQ calculé est ensuite corrigé par un coefficient pour le ramener à une base 8 à 30kg (Aubry *et al.* 2004). Les 40% extrêmes de chaque groupe ont été conservés soit 142 élevages (Figure 10). Ensuite pour chaque catégorie, les élevages ont de nouveau été classés selon leur niveau de dépenses en suppléments (40% extrêmes). Le niveau de dépenses en supplémentation, exprimé en euros par truie par an, est un critère

APPROCHE EXPERIMENTALE

Tableau 2 : Analyses réalisées sur les échantillons prélevés sur les porcelets de l'étude en installation expérimentale (NA : analyse non effectuée)

| Analyses effectuées | Type d'échantillons analysés | Matrice de collecte | Age des porcelets (j) | | | | | | | | | | |
|--|------------------------------|---------------------|-----------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|
| | | | 12 | 19 | 26 | 33 | 40 | 47 | 54 | 61 | 88 | 119 | 147 |
| Lymphocytes, Neutrophiles, Monocytes | Frais | EDTA | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Hémoglobine, Hématocrite, Globules rouges | Frais | EDTA | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| IFN alpha | Congelé | Héparine | NA | X | X | X | X | X | NA | NA | NA | NA | NA |
| Haptoglobine | Congelé | Héparine | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| IgM, IgG | Congelé | Héparine | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Capacité antioxydante du plasma (BAP), Hydroperoxydes (dROM) | Congelé | Héparine | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Vit E, Vit A | Congelé | Héparine | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Urée, Créatinine, Glucose, | Congelé | Héparine | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Acides gras libres | Congelé | EDTA | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |

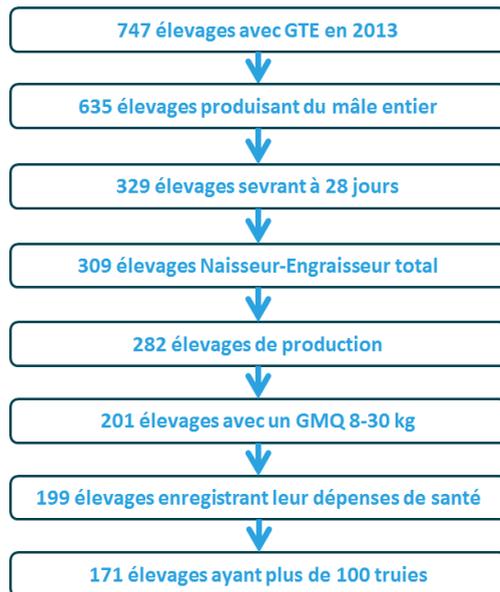


Figure 9 : Processus de sélection des élevages de l'étude terrain

standardisé de la Gestion Technique d'Élevage mise en place par l'IFIP. C'est une partie des dépenses de santé qui regroupe l'ensemble des suppléments: antibiotiques, produits diurétiques, antiparasitaires, anticoccidiens et divers thérapeutiques de type vitamine C, aspirine, chlorure d'ammonium administrés dans l'eau ou dans l'aliment (IFIP. 2007). Le GMQ 8-30 permet d'estimer les performances moyennes d'un élevage en phase de post-sevrage. Le niveau de dépenses en supplémentation est une façon d'approcher l'utilisation des antibiotiques dans un élevage. Dans la GTE, les antibiotiques sont renseignés dans deux catégories selon qu'ils soient administrés par voie orale ou par injection. En phase de post sevrage, 98% des antibiotiques sont utilisés par voie orale (Hémonic et al. 2013). Deux catégories d'élevages ont alors été sélectionnées à partir de ces deux critères : les élevages avec un fort GMQ 8-30 et de faibles dépenses en supplémentation (n=27, Figure 11) où nous avons fait l'hypothèse qu'il s'agissait d'élevages ayant de bonnes performances sans recours aux antibiotiques et les élevages avec un faible GMQ 8-30 et de fortes dépenses en supplémentation (n=30) où nous avons fait l'hypothèse qu'il s'agissait d'élevages ayant de mauvaises performances malgré le recours aux antibiotiques. Au sein de ces deux

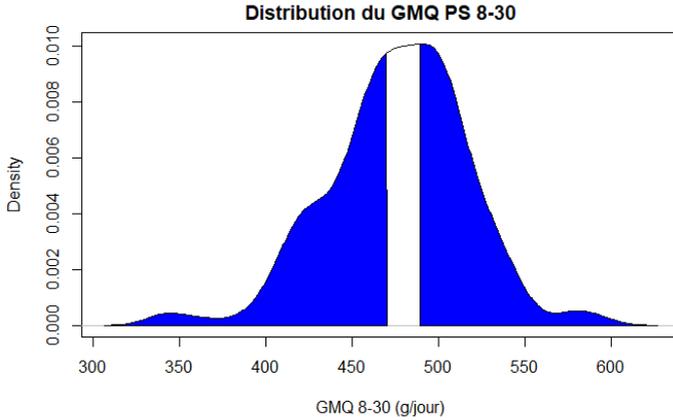


Figure 10 : Distribution du critère GMQ entre 8 et 30 kg dans les 171 élevages présélectionnés pour l'étude terrain. Les zones foncées représentent les 40% extrêmes de la distribution.

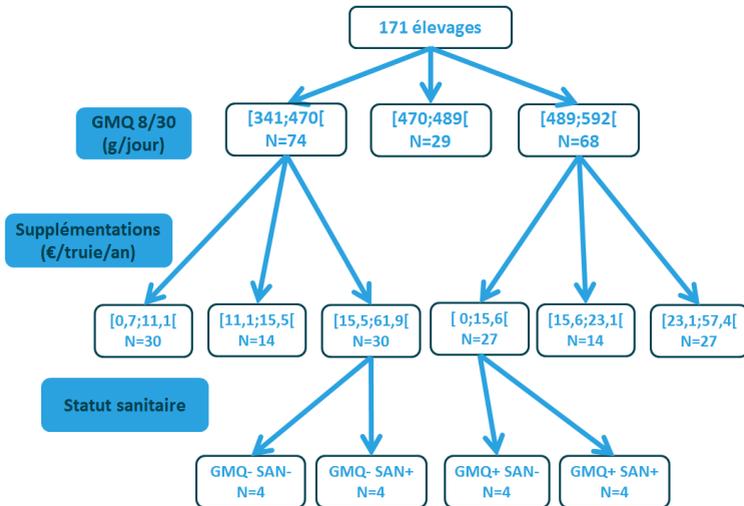


Figure 11 : Processus de sélection des élevages pour l'étude terrain selon le GMQ entre 8 et 30 kg, les dépenses de santé en suppléments (40% extrêmes) et le statut sanitaire de l'élevage.

catégories, une évaluation du statut sanitaire de l'élevage a été effectuée. Les élevages adhérents à Cooperl Arc Atlantique sont suivis par les vétérinaires de Hyovet. Les vétérinaires renseignent dans le bilan sanitaire d'élevage réalisé chaque année, le statut vis-à-vis de cinq maladies communes en production porcine : Le syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP), l'actinobacillose, la grippe, la circovirose et l'iléite à *Lawsonia intracellularis*. Pour chaque maladie, le vétérinaire a la possibilité de renseigner un statut sérologique et/ou clinique. Ainsi, pour chaque maladie, selon le bilan sanitaire de l'année 2014, le statut a été considéré comme positif en cas de statut sérologique et/ou clinique positif et/ou vaccination des truies et/ou des porcelets. Par ailleurs, le statut a été considéré comme négatif en cas de statut sérologique et/ou clinique négatif ou de données manquantes. Les données manquantes correspondent à une absence de qualification du statut vis-à-vis de la maladie, ce qui signifie que le vétérinaire n'a pas jugé utile d'investiguer ces maladies en raison de l'absence de suspicion dans l'élevage. A partir des statuts de ces cinq maladies, un score bilan sanitaire a été calculé. Pour chaque maladie, un score de 1 a été donné lorsque le statut est positif et 0 lorsqu'il est négatif ou non renseigné. Ensuite les cinq scores ont été sommés puis deux catégories d'élevages ont été créées : Les élevages SAN+ avec un bon statut sanitaire et qui ont un score

BSE inférieur ou égal à 2 et les élevages SAN- avec un mauvais statut sanitaire et un score BSE strictement supérieur à 2. Dans chaque catégorie, quatre élevages ont ensuite été sélectionnés selon leur distance par rapport à l'INRA de Saint Gilles, afin de limiter les temps de déplacements lors de la phase de prélèvement (Tableau 3, Figure 11, Figure 12).

Ainsi, suite à cette étape, 4 catégories de 4 élevages ont été créées :

- GMQ+SAN+ : Des élevages ayant des bonnes performances de croissance en post-sevrage, utilisant peu de supplémentation antibiotique et ayant un statut sanitaire favorable. Dans ces élevages, nous faisons l'hypothèse que les performances observées sont favorisées par le statut sanitaire.
- GMQ+SAN- : Des élevages ayant des bonnes performances de croissance en post-sevrage, utilisant peu de supplémentation antibiotique et ayant un statut sanitaire défavorable. Malgré des conditions sanitaires défavorables, les performances sont bonnes.
- GMQ-SAN+ : Des élevages ayant de mauvaises performances de croissance en post-sevrage, utilisant beaucoup de supplémentation antibiotique et ayant un statut sanitaire

APPROCHE EXPERIMENTALE

Tableau 3 : Statut sanitaire des élevages de l'étude terrain selon les bilans sanitaires d'élevage de l'année 2014. SDRP : Syndrome dysgénésique et respiratoire porcin, iléite : iléite à *Lawsonia intracellularis*, BSE : Bilan sanitaire d'élevage, NA : données non renseignées.

| Elevage | Catégorie initiale | Statut actinobacillose | Statut Grippe | Statut SDRP | Statut circovirose | Statut iléite | Score BSE | Catégorie SAN | Catégorie finale |
|------------|--------------------|------------------------|---------------|-------------|--------------------|---------------|-----------|---------------|------------------|
| Elevage 1 | GMQ-SUPP+ | - | + | + | + | NA | 3 | SAN- | GMQ+SAN- |
| Elevage 2 | GMQ-SUPP+ | + | + | + | + | + | 5 | SAN- | GMQ+SAN- |
| Elevage 3 | GMQ-SUPP+ | + | + | + | + | NA | 4 | SAN- | GMQ+SAN- |
| Elevage 4 | GMQ-SUPP+ | NA | + | + | + | NA | 3 | SAN- | GMQ+SAN- |
| Elevage 5 | GMQ-SUPP+ | NA | NA | + | NA | NA | 1 | SAN+ | GMQ-SAN+ |
| Elevage 6 | GMQ-SUPP+ | - | - | - | + | + | 2 | SAN+ | GMQ-SAN+ |
| Elevage 7 | GMQ-SUPP+ | + | NA | - | NA | + | 2 | SAN+ | GMQ-SAN+ |
| Elevage 8 | GMQ-SUPP+ | - | NA | - | NA | NA | 0 | SAN+ | GMQ-SAN+ |
| Elevage 9 | GMQ+SUPP- | + | NA | - | + | + | 3 | SAN- | GMQ+SAN- |
| Elevage 10 | GMQ+SUPP- | NA | NA | + | + | + | 3 | SAN- | GMQ+SAN- |
| Elevage 11 | GMQ+SUPP- | + | + | + | NA | NA | 3 | SAN- | GMQ+SAN- |
| Elevage 12 | GMQ+SUPP- | + | NA | + | + | - | 3 | SAN- | GMQ+SAN- |
| Elevage 13 | GMQ+SUPP- | NA | NA | + | NA | NA | 1 | SAN+ | GMQ+SAN+ |
| Elevage 14 | GMQ+SUPP- | - | NA | - | NA | | 0 | SAN+ | GMQ+SAN+ |
| Elevage 15 | GMQ+SUPP- | NA | NA | NA | NA | + | 1 | SAN+ | GMQ+SAN+ |
| Elevage 16 | GMQ+SUPP- | - | NA | - | NA | + | 1 | SAN+ | GMQ+SAN+ |

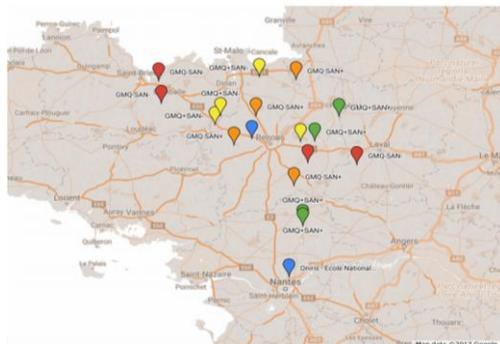


Figure 12 : Distribution géographique des élevages de l'étude terrain.

favorable. Malgré des conditions sanitaires favorables, les performances sont mauvaises.

- GMQ-SAN- : Des élevages ayant de mauvaises performances de croissance en post-sevrage, utilisant beaucoup de supplémentation antibiotique et ayant un statut sanitaire défavorable. Dans ces élevages, nous faisons l'hypothèse que les performances observées sont en partie expliquées par le statut sanitaire.

2.3.3.2 Déroutement de l'étude

Dans chaque élevage, deux porcelets de poids moyen issus de neuf portées provenant de truies représentant la pyramide des âges standard d'un élevage de porc ont été sélectionnés à 26 jours d'âge. Les 18 porcelets de chaque élevage ont été identifiés individuellement puis mis à jeun pendant au minimum 1 heure avant les mesures et prélèvements par extraction de la case de leur mère. A 33, 47 et 75 jours d'âge, les porcelets ont été mis à jeun pendant une nuit au minimum avant les prélèvements.

La liste des prélèvements et mesures effectués sur les porcelets à chaque visite est représentée en Figure 13. Le sang a été collecté à la veine jugulaire dans 4 tubes Venosafe à 26 et 33 jours d'âge : 2 tubes de 10mL et 5mL contenant de l'EDTA, 1 tube de 10mL avec de

APPROCHE EXPERIMENTALE

l'héparine et 1 tube de 10mL sans anticoagulant. A 47 et 75 jours d'âge, le sang a été collecté dans 2 tubes Venosafe de 10mL contenant respectivement de l'EDTA et de l'héparine.

Les signes cliniques observés au cours de l'étude sur les animaux expérimentaux et leurs contemporains ont été enregistrés par les éleveurs. La consistance des fèces a été évaluée à 33 et 47 jours d'âge par une manipulation individuelle de chaque animal et suite à la prise de température corporelle. La consistance des fèces a été qualifiée de dure, molle ou liquide.

Dans tous les cas, les tubes de sang secs ou contenant de l'héparine ont été conservés sur la glace jusqu'à centrifugation à 4°C à 3000g pendant 15 minutes puis le plasma a été stocké à -20°C jusqu'aux analyses. Les tubes de 10mL contenant de l'EDTA ont été conservés à température ambiante jusqu'à analyse. Les tubes de 5mL contenant de l'EDTA ont été remplis à moitié de sang et 2mL de RNA later ont été ajoutés puis le tube a été homogénéisé puis stocké à -80°C jusqu'à l'analyse.

La salive a été collectée à l'aide d'une Salivette (Sarstedt, Numbrecht, Germany) qui a ensuite été stockée dans la glace jusqu'à centrifugation pendant 15 min à 4°C à 3000g puis stockée à -20°C jusqu'à l'analyse. Les fèces ont été collectés dans des tubes de 50mL puis conservés dans la glace jusqu'à l'aliquotage au laboratoire dans

APPROCHE EXPERIMENTALE

des tubes de 2mL qui ont été stockés à -80°C jusqu'à l'analyse. Le type d'analyses effectuées et les échantillons sur lesquels elles ont été réalisées sont représentés dans le Tableau 4.

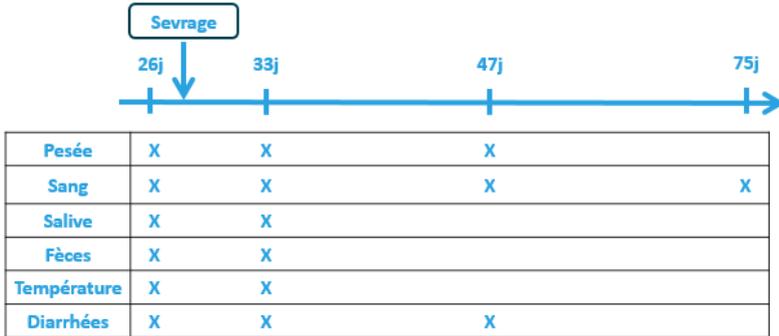


Figure 13 : Description des prélèvements et des mesures effectuées sur les porcelets durant les visites dans les élevages commerciaux de l'étude terrain

Tableau 4 : Analyses réalisées sur les échantillons prélevés sur les porcelets de l'étude terrain.

| Analyses effectuées | Type d'échantillons analysés | Matrice de collecte | Age des porcelets (j) | | | |
|---|------------------------------|---------------------|-----------------------|----|----|----|
| | | | 26 | 33 | 47 | 75 |
| Lymphocytes (total, CD4+ CD8- CD3+, CD4+ CD8+ CD3+, CD4- CD8- CD3+, CD4+ CD8+ CD3-) | Frais | EDTA | X | X | | |
| Neutrophiles, basophiles, eosinophiles, monocytes | Frais | EDTA | X | X | | |
| Hémoglobine, hématocrite, Globules rouges | Frais | EDTA | X | X | | |
| % phagocytoses par les monocytes et les PMN | Frais | EDTA | X | X | | |
| C Reactive protein | Congelé | Héparine | X | X | | |
| IgM, IgG | Congelé | Héparine | X | X | X | |
| IL-10, IL-8, TNF-alpha | Congelé | Héparine | X | X | | |
| Capacité antioxydante du plasma (BAP), Hydroperoxydes (dROM) | Congelé | Héparine | X | X | X | X |
| Vit E, Vit A | Congelé | Héparine | X | X | | |
| Urée, Créatinine, Glucose | Congelé | Héparine | X | X | X | X |
| Acides gras libres | Congelé | EDTA | X | X | | |
| Cortisol | Congelé | Héparine | | X | | |
| Expression de gènes (Fluidigm Immunité et Stress) | Congelé | Sang total | X | X | | |
| Microbiote intestinal | Congelé | NA | X | X | | |

2.3.4 Analyses de laboratoire

Toutes les analyses de laboratoire, sauf mention contraire, ont été réalisées au sein de l'UMR PEGASE à Saint Gilles.

2.3.4.1 Statut oxydant

L'évaluation du statut oxydant du porcelet au sevrage a fait l'objet de mises au point au laboratoire de l'UMR PEGASE à l'occasion de cette thèse. Ainsi, la concentration en hydroperoxydes plasmatiques et la capacité antioxydante du plasma ont été dosés sur des plasmas héparinés à partir de kits commerciaux (Tests dROM et BAP, Diacron, Grosseto, Italie). Les modes opératoires du fabricant ont été adaptés pour une utilisation sur un analyseur automatique (Konelab 20, Thermo Electron Corporation). Le test dROM mesure la concentration plasmatique en hydroperoxydes générés par la peroxydation des lipides, des protéines et des acides nucléiques (Alberti *et al.* 1999). Dans le mode opératoire utilisé, 2 μL d'échantillon sont ajoutés à 100 μL de tampon acide et 1 μL de chromogène. L'absorbance est lue à 505 nm en cinétique toutes les 98 secondes pendant 980 secondes. Une courbe étalon avec 8 points et un contrôle interne ont été utilisés. Les coefficients de variations intra- et inter-jours de dosages étaient respectivement de 6% et 8%. Les

résultats du test sont exprimés en CARRU (Unité Carratelli, 1 CARRU = 0,08 mg H₂O₂/100mL d'échantillon).

Le test BAP mesure les effets antioxydants de plusieurs molécules telles que l'acide urique, l'acide ascorbique, l'alpha-tocophérol ou la bilirubine (Benzie et Strain. 1996). Ainsi, 5 µL d'échantillon sont ajoutés à 210 µL de solution de chlorure ferrique (FeCl₃) et d'un dérivé du thiocyanate. L'absorbance est lue à 505 nm après une incubation de 5 min. Une courbe étalon avec 8 points et un contrôle interne ont été utilisés. Les coefficients de variations intra- et inter-jours de dosages étaient respectivement de 2% et 6%. Les résultats sont exprimés en µmol/L d'équivalent vitamine C, utilisée comme agent de référence de réduction de fer.

La mise en place d'un mode opératoire adapté à l'analyseur automatique a fait l'objet de contrôles de stabilité co-financés par le fournisseur italien du kit (Diacron). Ainsi, les effets de l'anticoagulant utilisé lors de la collecte (EDTA, héparine ou sans anticoagulant), du temps avant centrifugation (0, 1 ou 6 heures à 4°C), du temps (0, 1, 6 ou 12 mois) et de la température (-20°C ou -80°C) de stockage ont été testés. Les échantillons collectés avec de l'EDTA, connu pour son activité antioxydante, comme anticoagulant ont une concentration en hydroperoxydes plus faibles et une capacité antioxydante du plasma plus élevée que les échantillons collectés sans anticoagulant ou avec

de l'héparine. Il n'y a pas d'effets significatifs du temps avant centrifugation, de la durée et de la température de stockage sur ces deux dosages. Ces résultats sont en accord avec des tests de stabilité concernant le temps de stockage réalisés sur des plasma de chevaux (Celi *et al.* 2010b).

Par ailleurs, les vitamines E (alpha-tocophérol) et A (rétinol) ont été dosées sur des plasmas héparinés par chromatographie en phase liquide (HPLC) sur une colonne dédiée (Chromsystems, Germany)

2.3.4.2 Immunité

Dans l'étude terrain, des analyses sur sang frais EDTA ont été réalisées le jour même par l'USC IECM de Nantes ; celles-ci incluaient la numération-formule sanguine, le phénotypage des lymphocytes par cytométrie de flux, l'analyse de la phagocytose et la production des cytokines après stimulation des cellules sanguines en présence de LPS *ex vivo* avec dosage des interleukines IL-8, IL-10 et du facteur de nécrose tumorale (TNF)-alpha.

Dans l'étude en installation expérimentale, le nombre de leucocytes et les nombres de lymphocytes, monocytes et neutrophiles ont été mesurés avec compteur automatique de cellules sanguines calibré pour l'espèce porcine.

APPROCHE EXPERIMENTALE

L'haptoglobine a été dosée sur du plasma hépariné avec un kit commercial (Tri Delta, Irlande) sur un analyseur automatique (Konelab, Thermo Scientific). Cette méthode utilise la capacité de l'haptoglobine à se lier à l'hémoglobine libre, et ainsi, à prévenir l'activité peroxydase de l'hémoglobine à faible pH. La courbe de calibration comprenait 4 points. Le coefficient de variation inter-jour de dosage était de 12,16%.

Les IgG et les IgM ont été dosées par une ELISA sandwich quantitative sur plasma hépariné. Des échantillons dilués ont été distribués dans une plaque 96 puits préalablement coatée avec un excès d'anticorps de chèvre anti-IgG Fc de porc (ou anti-IgM). Après 1h d'incubation et un lavage, une peroxydase conjuguée à des IgG Fc (ou IgM Fc) de chèvre anti porc a été ajoutée. Les anticorps conjugués et de capture ont été acquis auprès de Bethyl (USA). Après 1h d'incubation à température ambiante et dans le noir, les plaques ont été lavées et un substrat TMB (tetramethylbenzidine, Sigma–Aldrich, France) a été ajouté. La réaction a été stoppée par l'addition de H₂SO₄ 2,5N. L'absorbance a été lue à 450 nm. La courbe de calibration comprenait 7 points. Le coefficient de variation inter-jour de dosage était de 12,05% pour les IgG et 13,74% pour les IgM.

L'interphéron alpha a été dosé par une ELISA sandwich quantitative sur plasma hépariné par l'ANSES de Ploufragan (22). Des

échantillons dilués ont été distribués dans une plaque 96 puits préalablement coatée avec un excès d'anticorps recombinant de porc anti-IFN alpha. Après 1h d'incubation et un lavage, une biotine conjuguée à un anticorps anti-IFN alpha a été ajoutée. Les anticorps conjugués et de capture ont été acquis auprès de R&D system (USA). Après 1h d'incubation à température ambiante et dans le noir, les plaques ont été lavées et un substrat TMB (tetramethylbenzidine, Sigma–Aldrich, France) a été ajouté. La réaction a été stoppée par l'addition de H₂SO₄ 2,5N. L'absorbance a été lue à 450 nm.

2.3.4.3 Métabolisme

L'urée, la créatinine et le glucose ont été dosés sur des plasmas héparinés avec des kits commerciaux (Thermo Scientific) sur un analyseur automatique (Konelab, Thermo Scientific).

L'urée est hydrolysée par l'uréase en ammoniac et en dioxyde de carbone. L'ammoniac se lie l'alpha-cétoglutarate puis réduit le nicotinamide adénine dinucleotide (NADH) pour produire du L-glutamate. L'absorbance lue à 340 nm mesure la concentration en NADH qui est proportionnelle à la concentration en urée dans l'échantillon. La courbe de calibration comprenait 6 points. Le coefficient de variation inter-jour de dosage était de 3,39%.

APPROCHE EXPERIMENTALE

Le glucose est oxydé en D-gluconate et en peroxyde d'hydrogène par la glucose oxydase. Puis le peroxyde d'hydrogène catalyse la liaison du phénol et du 4-aminoantipyrine en un composé quinone-imine coloré dont l'absorbance est lue à 510 nm. La courbe de calibration comprenait 6 points. Le coefficient de variation inter-jour de dosage était de 0,96%.

La créatinine a été dosée selon la méthode Jaffé où elle fait rougir une solution alcaline picrate. L'absorbance est lue à 510 nm. La courbe de calibration comprenait 6 points. Le coefficient de variation inter-jour de dosage était de 3,19%.

Les acides gras libres ont été dosés sur des plasmas EDTA avec un kit commercial (Wako, Allemagne) sur un analyseur automatique (Konelab, Thermo Scientific). Les acides gras libres sont transformés en Acyl-CoA qui est oxydé et produit du peroxyde d'hydrogène. En présence de peroxydase, le peroxyde d'hydrogène produit un composé bleu qui peut être mesuré à 550 nm. La courbe de calibration comprenait 6 points. Le coefficient de variation inter-jour de dosage était de 2,69%.

3 RESULTATS

3.1 Association entre statut oxydant, croissance et santé du porcelet au sevrage

Nous avons vu dans la revue bibliographique que le statut oxydant résultait de la balance entre l'ensemble des processus d'oxydation et les mécanismes antioxydants de l'organisme. Le statut oxydant a été peu étudié chez le porcelet au sevrage et il n'existe pas de données décrivant l'évolution du statut oxydant au cours de la vie du porcelet. Les quelques études publiées sur le statut oxydant du porcelet au sevrage font état d'une augmentation transitoire des produits d'oxydation au sevrage sans toutefois les associer avec la croissance et la santé des porcelets qui sont des composantes de la robustesse au sevrage telle que nous l'avons définie.

Les objectifs de cette partie sont 1) d'étudier l'évolution du statut oxydant chez le porcelet autour du sevrage ; 2) d'étudier les relations entre statut oxydant, croissance et santé autour du sevrage

Matériel et Méthodes

Dans l'étude en installation expérimentale, des porcelets (n=64) Piétrain x (Landrace x Large White), de la station expérimentale INRA de Saint Gilles (35), ont été sevrés à 21 (W21)

ou 28 (W28) jours d'âge dans des conditions optimales (CO) ou détériorées (CD) (partie 2.3.2).

Dans l'étude terrain, des porcelets mâles entiers (n=288) Piétrain x (Landrace x Large White), issus de 16 élevages commerciaux adhérents à la COOPERL, ont été sevrés à 28 jours d'âge. Dans chaque élevage, 2 jours avant le sevrage, 2 porcelets de poids moyen, issus de 9 portées ont été sélectionnés (partie 2.3.3).

Résultats

Dans l'étude en installation expérimentale, au cours de la croissance du porcelet, les dommages causés aux macromolécules de l'organisme (hydroperoxydes) augmentent progressivement ($P < 0.001$) tandis que la capacité antioxydante du plasma reste stable ($P > 0.05$, Figure 1A article PLOSOne). Il en résulte une augmentation du stress oxydant (Index de Stress Oxydant (ISO), $P < 0.001$). Au sevrage, la concentration plasmatique en hydroperoxydes ($P < 0.001$) et l'ISO ($P < 0.001$) augmentent à J+12 tandis que la capacité antioxydante du plasma diminue ($P < 0.001$) mais uniquement lorsque les conditions de sevrage sont détériorées (Tableau 1 article PLOSOne). En conditions optimales, il n'y a pas de stress oxydant au sevrage ($P > 0.05$). Dans l'étude terrain, l'augmentation de la concentration en hydroperoxydes est de plus grande amplitude et dure plus longtemps qu'en

installations expérimentales (Figure 2 article PLOSONe). En effet, 14 élevages sur 16 avaient une concentration en hydroperoxydes supérieure 19 jours après sevrage par rapport au niveau d'avant sevrage.

Dans l'étude en installation expérimentale, l'expression de la diarrhée chez le porcelet après sevrage ($P < 0.001$) ou un faible GMQ entre 26 et 47 jours d'âge ($P < 0.001$) sont associés à un plus grand ISO 12 jours après sevrage (Tableau 2 article PLOSONe). Par ailleurs, dans l'étude terrain, les porcelets qui ont une plus forte concentration plasmatique en vitamine E avant le sevrage ont un meilleur GMQ entre 26 et 47 jours d'âge ($P < 0.05$, Tableau 3 article PLOSONe). La concentration plasmatique en vitamine E chute au moment du sevrage puis se stabilise jusqu'à l'abattage des animaux. La concentration plasmatique élevée en vitamine E avant le sevrage est probablement due à une saturation des réserves adipeuses de l'animal. Au sevrage, l'augmentation de l'utilisation de la vitamine E en tant qu'antioxydant, le faible niveau d'ingestion et la plus faible activité des enzymes impliquées dans l'absorption de la vitamine E peuvent expliquer la chute importante de la concentration plasmatique en vitamine E au sevrage. La concentration plasmatique en vitamine E des truies allaitantes n'est pas associée à celle de leurs porcelets au moment du sevrage ($P > 0.05$, Figure 14) soutenant l'hypothèse que les

stocks de vitamine E des porcelets sont constitués par l'ingestion du colostrum dans les premières heures de vie.

Conclusion

- 1) Au cours de la croissance du porc, les dommages causés aux macromolécules par l'oxydation augmentent tandis que la capacité oxydante du plasma reste stable. Il en résulte une augmentation du stress oxydant au cours de la croissance. Ce résultat sur le statut oxydant est original car ce type d'étude en cinétique chez le jeune prépubère n'a jamais été publié dans aucune espèce.
- 2) Le sevrage provoque une situation de stress oxydant transitoire qui est davantage marquée en conditions détériorées, chez les porcelets exprimant des diarrhées et chez ceux ayant un faible GMQ entre 26 et 47 jours d'âge.
- 3) Une forte concentration plasmatique en vitamine E avant sevrage est associée à un fort GMQ entre 26 et 47 jours d'âge.

Question de recherche n°1

Peut-on identifier des réponses physiologiques associées à la robustesse du porcelet au sevrage ?

Le statut oxydant se dégrade au moment du sevrage et est associé à la croissance et la santé des porcelets au sevrage. Par conséquent, l'une des réponses physiologiques associées à la robustesse du porcelet au sevrage est probablement liée à sa capacité à contenir le stress oxydant au sevrage.

Valorisation:

Cette étude autour de l'évaluation du statut oxydant du porcelet autour du sevrage a fait l'objet d'une étude approfondie des déterminants du statut oxydant et de la meilleure façon de le mesurer pour répondre aux objectifs que nous nous étions fixés. Ainsi, les dosages des hydroperoxydes (dROM) et de la capacité antioxydante du plasma (BAP) ont fait l'objet de mises au point au sein de l'unité INRA PEGASE. Des tests de stabilité ont été effectués en partenariat avec le fabricant (partie 2.3.4). Par ailleurs, un suivi en cinétique de ces indicateurs a été effectué sur un nombre conséquent d'animaux

(n=64) entre 12 et 147 jours d'âge. Les résultats publiés sont ainsi les premiers de ce type. De plus, au cours de cette thèse, nous avons suivi le statut oxydant d'un nombre sans précédent de porcs (n=352), issus de 17 élevages différents ce qui nous a permis d'enrichir notre connaissance du statut oxydant autour du sevrage.

Article

BUCHET, A., BELLOC C., LEBLANC-MARIDOR M., MERLOT E. 2017. "Effects of age and weaning conditions on blood indicators of oxidative status in pigs". PLOS ONE, 12 (5), e0178487.

Communications en congrès

BUCHET A., BELLOC C., MERLOT E. 2016. "Oxidative Stress as biomarker of piglet health". ISANH. Paris. France. Communication orale.

BUCHET A., BELLOC C., MERLOT E. 2016. "Oxidative Stress as biomarker of piglet health". China Swine Industry Symposium. Shanghai. China. Communication orale.

BUCHET A., BELLOC C., SIALELLI JN., LACOSTE A., MERLOT E. 2017. « Evolution du statut oxydant du porc en

croissance et focus sur l'influence du management au sevrage ». JRP. Paris. France. Communication orale.

BUCHET A., BELLOC C., MERLOT E. 2017. «Oxidative Stress as biomarker of piglet health». ESPHM. Prague. République Tchèque. Poster

BUCHET A., BELLOC C., LE FLOC'H N, MERLOT E.2017. "Effects of age and weaning on plasma vitamin E concentration in pigs". ISANH. Paris. France. Poster

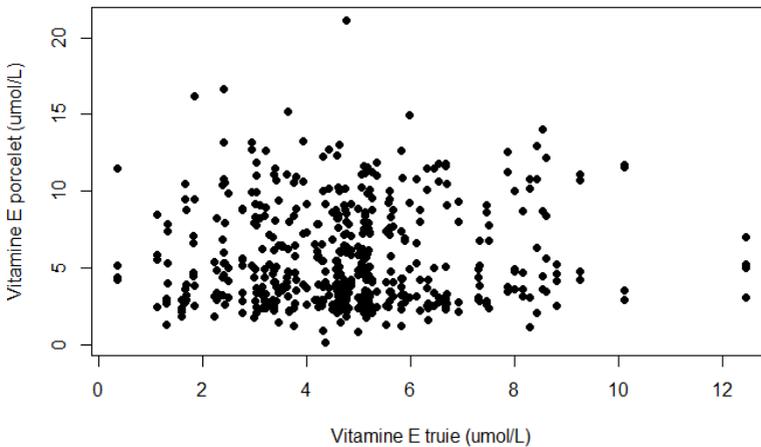


Figure 14 : Concentration plasmatique en vitamine E des truies allaitantes et de leurs porcelets. Les prélèvements ont été réalisés dans l'étude terrain lorsque les porcelets avaient 26 jours d'âge (d'après le poster présenté à l'ISANH 2017, Paris, France, Annexe

RESEARCH ARTICLE

Effects of age and weaning conditions on blood indicators of oxidative status in pigs

Arnaud Buchet^{1,2,3*}, Catherine Belloc³, Mily Leblanc-Maridor³, Elodie Merlot³

1 PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, Saint-Gilles, France, **2** Cooperl Arc Atlantique, Lamballe, France, **3** BIOEPAR, INRA, ONIRIS, Nantes, France

* arnaud.buchet@inra.fr



Abstract

Weaning is a source of social, nutritional and environmental disorders that challenge piglet health. This study assesses the relevance of using plasma indicators of oxidative status as biomarkers of health around weaning in pigs. Blood antioxidant potential (BAP), hydroperoxides (HPO), oxidative stress index (OSI, e.g. HPO/BAP), vitamin A and E concentrations were investigated in two different trials. Trial A was carried out in an experimental unit to investigate the effects of age (from 12 to 147 days of age), weaning (at 21 or 28 days of age) and management at weaning (in optimal (OC) or deteriorated (DC) conditions) on those parameters. Trial B was performed in 16 commercial pig farms to describe the variability of these indicators on field between 26 and 75 days of age. In trial A, between 12 and 147 days of age, HPO globally increased ($P < 0.001$), vitamin E concentration decreased ($P < 0.001$) whereas BAP and vitamin A concentration remained relatively stable ($P > 0.1$). Vitamins E and A concentrations dropped 5 days after weaning independently of weaning age, weaning conditions and expression of diarrhea ($P < 0.001$). Twelve days after weaning, whatever the weaning age, HPO and OSI increased in DC compared to OC piglets ($P = 0.05$ and $P < 0.01$) and in piglets exhibiting diarrhea compared to those without diarrhea ($P < 0.01$ and $P < 0.001$). In DC pigs, BAP was also decreased ($P < 0.05$) 12 days after weaning. On trial B, plasma concentrations of vitamins A and E decreased and HPO increased 5 and 19 days respectively after weaning ($P < 0.001$). Contrarily to trial A, BAP values did not drop after weaning. Piglets which had the lowest ADG (Average Daily Gain) after weaning had greater HPO and OSI and lower vitamin A and E concentrations after weaning but also lower vitamin E concentration before weaning ($P < 0.05$). In conclusion, HPO or OSI seem to be good indicators of health disorders around weaning and plasma concentration of vitamin E before weaning is associated to growth after weaning.

OPEN ACCESS

Citation: Buchet A, Belloc C, Leblanc-Maridor M, Merlot E (2017) Effects of age and weaning conditions on blood indicators of oxidative status in pigs. *PLoS ONE* 12(5): e0178487. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178487>

Editor: Dengshun Miao, Nanjing Medical University, CHINA

Received: February 10, 2017

Accepted: May 12, 2017

Published: May 24, 2017

Copyright: © 2017 Buchet et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: "All relevant data are within the paper and its Supporting Information files."

Funding: This experiment was supported by a grant from the Integrated Management of Animal Health metaprogram of INRA for the "GISA-SEVROBUST" project (www.gisa.inra.fr/en) and Cooperl Arc Atlantique. Cooperl Arc Atlantique provided support in the form of salaries for authors [AB], but did not have any additional role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Introduction

Pig production has to combine reduction of the use of antibiotics, animal health and welfare and profitability. To develop a better awareness of health and welfare of animals in farms, accurate and easy to measure indicators of health are needed. Robust indicators of oxidative

Competing interests: The salary of Arnaud BUCHET has been paid by Cooper Arc Atlantique. None of the other authors of this paper has a financial or personal relationship with other people or organizations that could inappropriately influence or bias the content of the paper. This does not alter our adherence to PLOS ONE policies on sharing data and materials.

status are possible candidates. Oxidative status reflects the equilibrium between pro- and anti-oxidant molecules in a living organism [1]. Pro-oxidants molecules are mainly free radicals produced by the respiratory chain of mitochondria. Free radicals oxidize lipids, proteins and DNA, for example, into hydroperoxides, and are responsible for cell and tissue injury if produced in excess. The antioxidant system of the organism involves endogenous components such as glutathione, superoxide dismutase or catalase, and exogenous molecules, supplied by food, such as vitamins (A, C, E) and selenium [1,2]. Under certain physiological circumstances such as immune activation, physical exercise or stress, the production of free radicals can exceed the anti-oxidant potential of the organism [1,2], generating oxidative stress. Oxidative status was proposed as an indicator of health for farm animals because the correction of oxidative stress during several infectious diseases improves health of treated animals [3].

Weaning is a health-challenging period for piglets because of nutritional, environmental and social changes, sometimes associated to bad management practices [4–6]. Furthermore, an increase of oxidative products in plasma has been shown during the second month of life of piglets, and thus after weaning [7–10]. However, it is not clear whether this oxidative stress results from weaning itself or other biological processes related to environmental factors or maturation with age. Indeed, the evolution of oxidative status with age has not been described in growing mammals. Furthermore, in commercial farms, weaning can be carried out in variable management conditions which can affect growth of piglets and health, mainly through the expression of diarrhea [11], and the impact of these conditions on oxidative status has not been described.

The aim of this study was to assess the opportunity to use indicators of oxidative status as biomarkers of piglet health in the context of weaning. For this purpose, blood indicators of antioxidant potential of the animals (Blood Antioxidant Potential (BAP), vitamin A and E concentrations, and hydroperoxides (HPO) were measured together with clinical and growth data in two experiments. A study carried out in experimental facilities was first designed to dissociate effects of age, weaning, and management conditions just after weaning on the evolution of oxidative status (trial A). Then, a second trial was performed in 16 commercial farms in order to describe oxidative status evolution around weaning in the field (trial B).

Material and methods

Animals and housing

The experiments were approved by the French ministry of research after evaluation by competent ethics committees in animal experimentation (authorizations #2015070815295160 and #CERVO-2016-6-V, from Rennes (trial A) and Nantes (trial B) committees respectively).

Trial A: Effects of management conditions at weaning and age on oxidative status. The experiment was conducted in an INRA experimental unit (Saint Gilles, France). Pietrain x (Large White x Landrace) piglets (NUCLEUS lines, France, $n = 66$) of 12.3 ± 0.5 days of age (3.8 ± 0.9 kg), originating from 12 randomly selected litters, were enrolled in this study. In order to dissociate the effects of age from those of weaning on biological measures, six litters were weaned at 21 (W21) and six others at 28 (W28) days of age. To investigate the influence of management conditions at weaning, for each weaning age and each litter, littermates were equally allocated to optimal or deteriorated post-weaning conditions (OC or DC). The deterioration of weaning conditions was based on bad hygiene, abrupt feed transition, increased animal density, heat stress and social stress. In DC, on the day of weaning, 16 entire males and 16 females were exposed to a cold stress at 20°C for 4 hours before being moved to housing pens that were not cleaned and disinfected neither after the preceding batch, nor until the end of the experiment. Each pen hosted 8 piglets ($0.20 \text{ m}^2/\text{pig}$) coming from 6 different litters. One

week later, 4 animals from each pen were moved to an empty pen and replaced by 4 non-experimental animals. Feed change from starter to weaner feed was done abruptly at 32 days of age. In optimal conditions (OC), 16 entire males and 18 females were moved from farrowing rooms to a post-weaning room previously cleaned, disinfected and heated at 28°C. Each of the 9 pens contained 2–4 piglets (1.2 x 1.3 m, 0.40 m² / piglet) from only two litters. Transition of OC piglets from starter to weaner feed was done progressively on 3 days (from 32 to 35 days of age). At 61 days of age, all the piglets (21.8 ± 5.1 kg) were transferred to common standard growing facilities until slaughter.

No antibiotic treatments were used during the study. Two OC W21 piglets died the first week after weaning probably from digestive disorders before any possible detection and medication.

Trial B: Oxidative status around weaning in commercial farms. The experiment was conducted from January to June 2015 in 16 commercial farms. Farms reared pigs of the same genetic as in Trial A (NUCLEUS lines) and weaned piglets at 28 days of age. In each farm, two days before weaning, 9 sows from different parities, in accordance with the demographic pyramid of the herd, were selected. Two apparently healthy and middle-weight entire males per litter were included in the study (288 piglets in total). Biological samplings and measurements were performed on these selected piglets at 4 visits occurring two days before (d26), and 5, 19 and 47 days after (d33, d47 and d75) the weaning day. Individual and collective medications administered to piglets during the study were recorded by the farmers.

Measures on animals and biochemical analysis

In trial A, animals were weighed weekly from 12 to 61 days and then at 88, 119 and 147 days of age. Faeces were observed daily from weaning to 61 days of age and qualified as normal or diarrheic. In trial B, animals were weighed at 26, 33 and 47 days, and faeces were observed at 33 and 47 days of age and qualified as normal or diarrheic.

In trial A, blood was collected weekly from all piglets from 12 days of age until one week after weaning, and then at 88, 119 and 147 days of age. From 1 week after weaning to 61 days of age, blood samples were also collected weekly but only on half of the piglets alternatively in order to limit the frequency of blood collection for each animal. Blood samples were collected at jugular vein in 1 Venosafe tube (Terumo, Japan) of 5 mL containing heparin as anticoagulant. In trial B, blood was collected in 10 mL heparinized tubes from the 288 selected piglets at 26, 33, 47 and 75 days of age. Blood was kept on ice until arrival to the laboratory, where it was centrifuged at 3000g for 15 minutes at 4°C and plasma was stored at -20°C until analyses.

HPO and BAP of heparin plasma were assayed by analytical methods using commercial kits (dROM and BAP tests, Diacron, Grosseto, Italy) on an automated analyser (Konelab 20, Thermo Electron Corporation). The dROM test measures the concentration of HPO generated by the peroxidation of lipids, proteins or nucleic acids [12]. Briefly, a 2 µL of heparin plasma sample was added to 100 µL of acidic buffer and 1 µL of chromogen. Absorbance was read every 98 seconds for 980 seconds at 505 nm. Standard curve with 8 points and internal control sample were used (intra and inter-assay coefficients of variation (CV) of 6 and 8% respectively). The results of the test are expressed in CARRU (Carratelli Unit, 1 CARRU = 0.08 mg H₂O₂/100mL of sample).

BAP results from the combined effects of many antioxidants such as uric acid, ascorbic acid, proteins, alpha-tocopherol or bilirubin [13]. Briefly, a 5 µL heparin plasma sample was added to a 210 µL solution of ferric chloride and thiocyanate derivat. Absorbance was read at 505 nm. Standard curve with 8 points and internal control sample were used (Intra and inter-

assay CV of 2 and 6%, respectively). The results are expressed in $\mu\text{mol/L}$ of equivalent vitamin C used as an iron-reducing reference agent.

An Oxidative Stress Index (OSI) was calculated as the ratio of HPO to BAP (CARRU/ $\mu\text{mol/L}$ of Vit C) as described by Sharma et al. [14].

Vitamin E (alpha-tocopherol) and vitamin A (retinol) concentrations were assayed on heparin plasma samples by liquid chromatography (HPLC) on a dedicated column (Chromsystems, Germany).

Statistical methods

Analysis of variance were done using the *lmer* function from *lme4* package [15] of R software [16]. The effect of age (from 12 to 147 days of age in trial A, at 26, 33, 47 or 75 days of age in trial B) on growth and blood variables was analyzed in models including age as main effect, and piglet (Trial A) or piglet nested in the farm (Trial B) as random effect. In trial A, to investigate the variations of average daily gain (ADG), weight and blood variables around weaning, only data collected from 9 days before to 19 days after weaning were used and the models included time to weaning (from -9 to +19 days), management conditions (OC vs DC), age at weaning (W21 vs W28) and their interactions as main effects, and piglet as random effect. The number of days with diarrhea for each piglet during the 19 days following weaning was analyzed with management conditions and weaning age as main effects. The influence of management conditions and weaning age on the occurrence of diarrheic pigs (pigs expressing diarrhea at least once during the 19 days following weaning vs never) were analyzed using *Chi2* test (*chisq.test* function).

Every piglet was then classified according to its expression of diarrhea (i.e. having exhibited diarrhea at least once or never during the 19 days following weaning for trial A, and at 33 or 47 days of age for trial B). For trial B only, piglets were also classified in two classes according to their ADG between 26 and 47 days of age and concentration of vitamin E at 26 days of age (lower or greater value than the median). Models including the class of diarrhea, growth or vitamin E, age (relatively to weaning in trial A or absolute age in trial B), and the corresponding interaction as main effects, and piglet as random effect were tested. For all analyses, when a significant effect ($P < 0.05$) was revealed by the analysis of variance, Tukey comparisons of adjusted means were performed using *lsm* function from *lsmeans* package [17].

Results

Time-course of pro- and antioxidant blood variables between 12 and 147 days of age (trial A)

For this analysis, data from OC, DC, W21 and W28 piglets were pooled and analyzed for the age effect only. Plasma HPO increased transiently at 33 compared to 12 days of age ($P < 0.001$), dropped back to initial levels at 47 days of age, and then continuously increased until 147 days of age ($P < 0.001$, Fig 1A). Blood Antioxidant potential (BAP) decreased at 47 compared to 12 days of age ($P < 0.01$), came back to initial levels on day 54 and then remained stable until 147 days of age. Consequently, OSI followed HPO kinetic from 0.23 (± 0.008) at 12 days to 0.30 (± 0.008) CARRU/ μmol^{-1} L of equivalent vitamin C at 33 days and increased until 0.40 (± 0.008) CARRU/ μmol^{-1} L of eq vit C at 147 days of age.

Plasma concentration of vitamin E decreased from 19 to 40 days of age (respectively 8.26 vs 1.78 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.001$, Fig 1B) and then stayed stable until 147 days of age (3.12 $\mu\text{mol/L}$, $P > 0.1$, Fig 1B). Plasmatic vitamin A was stable between 12 and 147 days of age with however some variations and a transient decrease at 33 days of age (0.43 $\mu\text{mol/L}$) relatively to

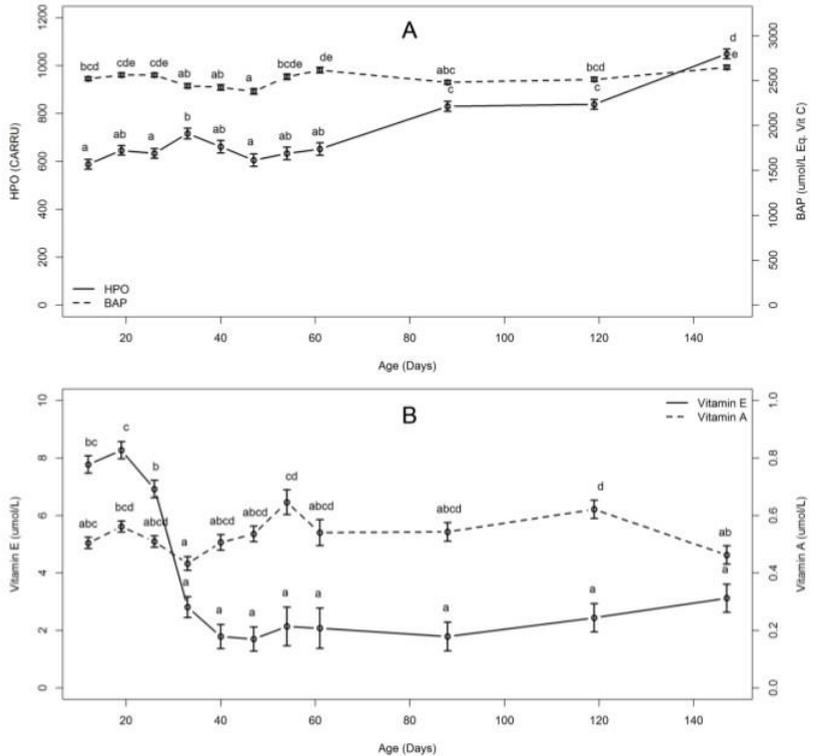


Fig 1. Plasma concentration of hydroperoxides (HPO), blood antioxidant capacity (BAP) (Fig 1A) and of vitamin E and A (Fig 1B) in pigs from 12 to 147 days of age (trial A). Half of the pigs were weaned at 21 days and half at 28 days of age. Least square means and standard error of mean (SEM) are shown. N = 64–66, excepted at 33 (n = 48) and between 40 and 61 days (n = 32). For each assay, means with different superscripts differ (P < 0.05).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178487.g001>

concentration at 12 days (P < 0.001) followed by an increase at 54 days of age (0.65 μmol/L, P < 0.001, Fig 1B).

Influence of weaning age and management conditions on growth, diarrhea and on pro- and antioxidant blood variables (trial A)

Only data collected around weaning were included in this analysis. The statistical model included the effects of weaning condition (OC vs DC), age at weaning (W21 vs W28), and the time relatively to the day of weaning (from 9 days before to 19 days after). ADG was severely

reduced after weaning, whatever age at weaning and management conditions compared to ADG during the lactation period ($P < 0.001$, Table 1). Between 5 and 11 days after weaning, ADG was lower for DC compared to OC piglets ($P < 0.05$), whereas it was similar for W21 and W28 piglets ($P > 0.1$, S1 Table).

From 0 to 19 days after weaning, 55% of piglets exhibited at least one day of diarrhea (S2 Table). The duration of diarrhea varied between 1 and 6 days. The percentage of piglets which exhibited at least one day with diarrhea was not different between OC and DC (44% and 66% respectively, $P > 0.1$) and between W21 and W28 (66% and 44% respectively, $P > 0.1$). However, between 5 and 11 days after weaning, DC were more affected than OC piglets (60% vs 26% respectively, $P < 0.05$) and W21 more affected than W28 piglets (56% vs 30%, $P < 0.05$). Moreover, over the 0-19d period after weaning, DC piglets exhibited significantly more days with diarrhea compared to OC piglets (1.56 days \pm 1.64 vs 0.59 \pm 0.74, $P < 0.01$), and W21 piglets exhibited significantly more days with diarrhea compared to W28 piglets (1.44 days \pm 1.52 vs 0.70 \pm 1.06, $P < 0.05$).

Whatever weaning age, HPO increased and BAP decreased between -2 (d-2) and 12 days (d12) relatively to weaning in DC ($P < 0.001$ and $P < 0.01$ respectively) but not OC piglets ($P > 0.1$, Table 1). Consequently, the OSI of DC piglets increased between d-2 and d12 ($P < 0.01$) resulting in a greater OSI than OC piglets on d12 ($P < 0.05$, Table 1). Whatever the weaning age and management conditions, plasma concentration of vitamin E dropped on d5 relatively to d-2 ($P < 0.001$), and then decreased until d19 ($P < 0.001$). Concentration of vitamin A decreased on d 5 ($P < 0.001$) and 12 ($P < 0.001$) compared to d-2, and was back to initial value on d19 ($P > 0.1$). BAP was greater at d5 for W21 compared to W28 ($P < 0.05$, 2595 vs 2422 $\mu\text{mol/L}$, S1 Table). HPO, OSI, vitamin E, and vitamin A concentrations were not affected by weaning age ($P > 0.1$, S1 Table).

Piglets which exhibited at least one day of diarrhea between 0 and 19 days after weaning had higher OSI on d12 compared to piglet which did not exhibit any diarrhea ($P < 0.01$, Table 2). BAP and HPO were not affected by the expression of diarrhea ($P > 0.05$). Vitamin A concentration was lower ($P < 0.05$) and vitamin E concentration tended to be greater ($P < 0.1$) in diarrheic pigs whatever the time relatively to weaning (Table 2).

Growth, diarrhea expression and pro- and antioxidant blood variables around weaning in commercial farms (trial B)

ADG was on average 190 g/day (from 111 to 281 g/day) during the first week around weaning (d26 to d33), 402 g/day (215 to 558 g/day) from d33 to d47 and 316 g/day (208 to 445 g/day) from d26 to d47. Because of the lack of attendance of farmers in recording sanitary events, diarrhea events could not be properly analyzed in this trial. During the farm visits at respectively 33 and 47 days of age, out of 288 piglets observed by experimenters, 21 and 27 piglets exhibited diarrhea. Piglets that exhibited diarrhea at 5 or 19 days after weaning (i.e. at 33 and 47 days of age) tended to display lower ADG compared to those which did not (respectively 177 vs 192 g/day at 33 days of age and 367 vs 407 g/day at 47 days of age, $P = 0.09$).

Fig 2 illustrates the variability of HPO values according to piglet age in the 16 commercial farms enrolled in trial B. On average, HPO concentration increased from 528 to 754 CARRU between 26 and 33 days ($P < 0.001$) and reached maximal concentration at 75 days of age (927 CARRU, $P < 0.001$). Between 26 and 33 days of age, HPO concentrations increased ($P < 0.05$) in 14 farms and remained stable ($P > 0.1$) in 2 farms. Between 33 and 47 days of age, they remained stable ($P > 0.1$) in 12 farms, decreased in 1 farm ($P < 0.05$) and increased ($P < 0.05$) in 3 farms. Between 47 and 75 days of age, they increased ($P < 0.05$) in 8 farms and remained stable ($P > 0.1$) in 8 farms.

Table 1. Blood oxidative status variables and growth from 9 days before to 19 days after weaning according to management conditions (optimal (OC, n = 34) or deteriorated (DC, n = 32), trial A).

| | | Time to weaning (days) | | | | | | SEM | p-values ¹ | | | | |
|--|-------------------|------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|------|--------|-----------------------|-------|-------|--------|--|
| | | d-9 | d-2 | d5 | d12 | d19 | T | | C | W | C*T | W*T | |
| HPO (CARRU) | OC | 621 ^a | 610 ^a | 679 ^{ab} | 663 ^{ab} | 592 ^a | 37 | <0.001 | 0.337 | 0.340 | 0.054 | 0.030 | |
| | DC | 620 ^a | 636 ^a | 658 ^a | 783 ^b | 668 ^{ab} | | | | | | | |
| BAP (μmol/L eq Vit C) | OC | 2547 ^{bc} | 2546 ^{bc} | 2543 ^{bc} | 2482 ^{abc} | 2488 ^{abc} | 46 | <0.001 | 0.192 | 0.006 | 0.012 | 0.021 | |
| | DC | 2546 ^c | 2569 ^c | 2473 ^{bc} | 2311 ^a | 2374 ^{ab} | | | | | | | |
| OSI (CARRU·μmol ⁻¹ ·L eq Vit C) | OC | 0.25 ^a | 0.24 ^a | 0.27 ^a | 0.28 ^a | 0.24 ^a | 0.02 | <0.001 | 0.160 | 0.947 | 0.002 | 0.056 | |
| | DC | 0.24 ^a | 0.25 ^a | 0.27 ^a | 0.35 ^b | 0.28 ^{ab} | | | | | | | |
| Vitamin E (μmol/L) | OC | 7.48 ^c | 8.24 ^{cd} | 4.12 ^b | 1.94 ^{ab} | 1.93 ^a | 0.60 | <0.001 | 0.123 | 0.188 | 0.012 | 0.104 | |
| | DC | 9.20 ^{cd} | 9.47 ^d | 3.52 ^{ab} | 2.01 ^{ab} | 1.61 ^a | | | | | | | |
| Vitamin A (μmol/L) | OC | 0.55 | 0.59 | 0.48 | 0.52 | 0.57 | 0.03 | <0.001 | 0.006 | 0.391 | 0.305 | 0.761 | |
| | DC | 0.53 | 0.53 | 0.4 | 0.38 | 0.52 | | | | | | | |
| ADG (g/day) | | Birth to d-10 | d-9 to d-3 | d-2 to d4 | d5 to d11 | d12 to d18 | | | | | | | |
| | OC | 228 ^{bcd} | 283 ^{de} | 215 ^{bc} | 204 ^{bc} | 348 ^e | 17 | <0.001 | 0.007 | 0.269 | 0.001 | <0.001 | |
| DC | 236 ^{cd} | 276 ^{de} | 175 ^b | 104 ^a | 276 ^{cd} | | | | | | | | |

¹ P-value of the effects of time to weaning (T), management condition (C), weaning age (W) and their interactions (C*T and W*T) are presented.

^{a-d} For each variable, means with different superscripts differ (P<0.05).

HPO: hydroperoxides, BAP: blood antioxidant potential, OSI, Oxidative Stress Index (OSI = HPO/BAP), ADG: average daily gain

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178487.t001>

BAP increased transiently from 2255 to 2493 μmol/L of eq vit C between 26 and 47 days of age (P < 0.001) and then decreased to 2361 μmol/L of eq vit C at 75 days of age (P < 0.001, Table 3). OSI increased between 26 and 33 days of age (from 0.23 to 0.34 CARRU/ μmol/L of eq vit C, P < 0.001), decreased at 47 days of age and then increased at 75 days of age (0.30 and 0.39 CARRU/ μmol/L of eq vit C, P < 0.001). Concentrations in vitamin E (7.84 to 3.59 μmol/

Table 2. Blood oxidative status variables and growth in piglets exhibiting diarrheas (n = 36) or not (n = 30) between 0 and 19 days after weaning (trial A).

| | | Time to weaning (days) | | | | | | SEM | p-values ¹ | | | |
|--|-------------|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------|--------|-----------------------|--------|--|--|
| | | d-9 | d-2 | d5 | d12 | d19 | T | | D | T*D | | |
| HPO (CARRU) | No Diarrhea | 645 ^a | 629 ^a | 656 ^{ab} | 642 ^{ab} | 627 ^a | 37 | <0.001 | 0.707 | 0.011 | | |
| | Diarrhea | 601 ^a | 616 ^a | 682 ^{ab} | 786 ^b | 629 ^a | | | | | | |
| BAP (μmol/L eq Vit C) | No Diarrhea | 2568 | 2561 | 2538 | 2441 | 2390 | 50 | <0.001 | 0.452 | 0.285 | | |
| | Diarrhea | 2528 | 2552 | 2479 | 2356 | 2466 | | | | | | |
| OSI (CARRU·μmol ⁻¹ ·L eq Vit C) | No Diarrhea | 0.25 ^{ab} | 0.25 ^{ab} | 0.26 ^{ab} | 0.26 ^{ab} | 0.27 ^{ab} | 0.02 | <0.001 | 0.440 | <0.001 | | |
| | Diarrhea | 0.24 ^a | 0.24 ^{ab} | 0.28 ^b | 0.35 ^c | 0.26 ^{ab} | | | | | | |
| Vitamin E (μmol/L) | No Diarrhea | 7.25 | 8.52 | 3.66 | 2.03 | 1.64 | 0.63 | <0.001 | 0.058 | 0.140 | | |
| | Diarrhea | 9.12 | 9.14 | 3.96 | 1.84 | 1.82 | | | | | | |
| Vitamin A (μmol/L) | No Diarrhea | 0.57 | 0.59 | 0.47 | 0.49 | 0.55 | 0.03 | <0.001 | 0.040 | 0.915 | | |
| | Diarrhea | 0.52 | 0.54 | 0.42 | 0.42 | 0.54 | | | | | | |
| ADG (g/day) | | Birth to d-10 | d-9 to d-3 | d-2 to d4 | d5 to d11 | d12 to d18 | | | | | | |
| | No Diarrhea | 246 | 295 | 213 | 192 | 325 | 19 | <0.001 | 0.022 | 0.643 | | |
| Diarrhea | 221 | 267 | 179 | 125 | 301 | | | | | | | |

¹ P-value of the effects of time to weaning (T), Diarrhea (D) and their interactions (T*D) are presented.

^{a-d} For each variable, means with different superscripts differ (P<0.05).

HPO: hydroperoxides, BAP: blood antioxidant potential, OSI, Oxidative Stress Index (OSI = HPO/BAP), ADG: average daily gain

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178487.t002>

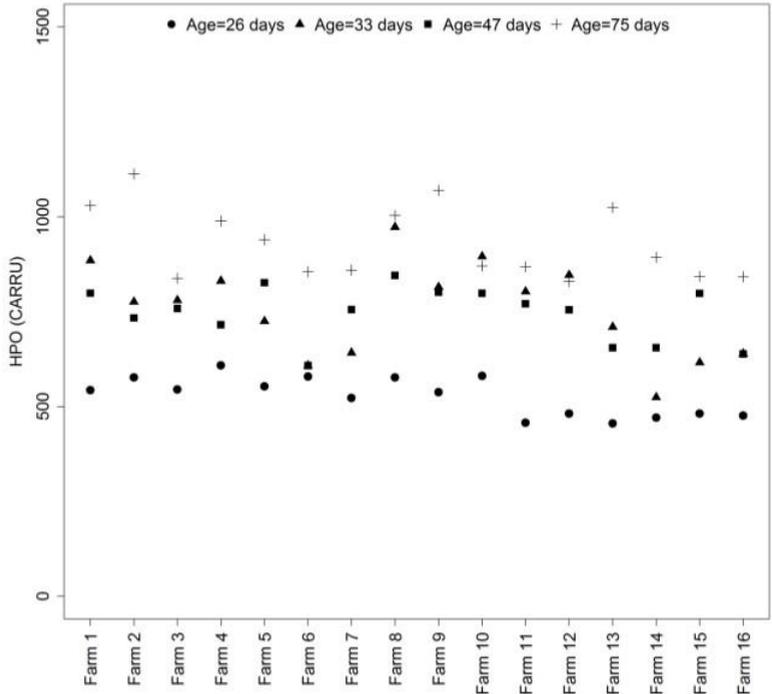


Fig 2. Mean plasma concentrations of hydroperoxides (HPO) in piglets aged from 26 to 75 days reared in 16 French commercial farms (trial B, n = 18 per farm).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178487.g002>

L) and A (0.52 to 0.45 $\mu\text{mol/L}$) decreased between 26 and 33 days of age ($P < 0.001$, Table 3). Whatever the age, piglets displaying low ADG between 26 and 47 days of age ($[-109; 317]$ g/day) had lower BAP compared to piglets with high ADG ($[318; 709]$ g/day, $P < 0.001$, Table 3). Low ADG piglets had greater HPO concentration at 33 days of age ($P < 0.01$) and OSI at 33 ($P < 0.001$) and 47 days of age ($P < 0.01$). Vitamin A concentrations were similar between the two groups of piglets at 26 days of age, but they were decreased at 33 days of age in low ADG piglets ($P < 0.001$). Interestingly, low ADG piglets had lower pre-weaning concentrations in vitamin E ($P < 0.05$). Consequently, we then compared piglets with low and high concentration of vitamin E at 26 days of age. Piglets with the highest concentration ($[7.80; 21.1]$ $\mu\text{mol/L}$) weighed 8.27 ± 0.48 kg at 26 days of age, which was not different from the weight of piglets with the lowest vitamin E concentration ($[0.17; 7.79]$ $\mu\text{mol/L}$, 8.18 ± 0.48 kg, $P > 0.1$). However, high vitamin E pigs had a better growth between 33 and 47

Table 3. Blood oxidative status variables and growth in piglets from the commercial farms displaying lower ("low ADG", -109 to 317 g/day, n = 142) or greater ("high ADG", 318 to 709 g/day, n = 140) ADG than the median between 26 and 47 days of age (trial B).

| | Growth | Age (Days) | | | | SEM | p-value | | |
|--|----------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------|---------|--------|--------|
| | | 26 | 33 | 47 | 75 | | A | G | A * G |
| HPO (CARRU) | low ADG | 528 ^a | 792 ^c | 763 ^{bc} | 910 ^d | 15 | <0.001 | 0.123 | <0.001 |
| | high ADG | 528 ^a | 719 ^b | 723 ^b | 945 ^d | | | | |
| BAP (µmol/L eq Vit C) | low ADG | 2237 | 2262 | 2440 | 2338 | 21 | <0.001 | <0.001 | 0.218 |
| | high ADG | 2270 | 2326 | 2547 | 2383 | | | | |
| OSI (CARRU·µmol ⁻¹ ·L eq Vit C) | low ADG | 0.24 ^a | 0.36 ^d | 0.32 ^c | 0.39 ^e | 0.01 | <0.001 | 0.001 | <0.001 |
| | high ADG | 0.23 ^a | 0.31 ^c | 0.28 ^b | 0.40 ^e | | | | |
| Vitamin E (µmol/L) | low ADG | 7.17 ^b | 3.27 ^a | | | 0.21 | <0.001 | <0.001 | 0.055 |
| | high ADG | 8.55 ^c | 3.90 ^a | | | | | | |
| Vitamin A (µmol/L) | low ADG | 0.51 ^b | 0.40 ^a | | | 0.01 | <0.001 | <0.001 | 0.001 |
| | high ADG | 0.53 ^b | 0.51 ^b | | | | | | |
| ADG (g/day) | | | 26 to 33 | 33 to 47 | | | | | |
| | low ADG | | 209 ^b | 450 ^d | 10 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | |
| | high ADG | | 170 ^a | 352 ^c | | | | | |

¹ P-value of the effects of Age (A), Growth (G) and their interactions (A*G) are presented.

^{a-e} For each variable, means with different superscripts differ (P<0.05)

HPO: hydroperoxides, BAP: blood antioxidant potential, OSI, Oxidative Stress Index (OSI = HPO/BAP), ADG: average daily gain

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178487.t003>

days of age (420 vs 382 g/day, P < 0.001) resulting in a higher weight at 47 days of age (15.5 vs 14.6 kg, P < 0.001).

Discussion

To our knowledge, this is the first study exploring oxidative status in young mammals from neonatal period to puberty. Indeed, on mammals, the evolution of oxidative products has been mainly explored just after birth or at senescence [1,18]. At birth, neonate moves from uterus to an external environment richer in oxygen leading to oxidative burst [18]. With senescence, oxidative damages caused to macromolecules (lipids, DNA and proteins) increase compared to mature adults, which leads to the loss of cellular functions [1]. This phenomenon has been shown in old adults for several species (human: [19], rabbit: [20], hare: [21], sheep: [22]). Results of trial A show that the concentration of oxidative products increases continuously with age in young pigs. This increase occurred while the plasma antioxidant potential as well as vitamin A concentrations remained stable. Similarly, with the exception of the initial drop due to weaning, vitamin E remained stable until puberty. Blood is the place where oxidative products from diverse origins accumulate. The increase in hydroperoxides with age in young developing animals might reflect a high rate of reactive oxygen species production resulting from the high cellular activity for tissue accretion. The possible pro-oxidant effect of growth is supported by the observation that fast growing lines of pigs have deteriorated redox status compared to slow growing lines [23,24].

At weaning, in trial A, plasma concentration of HPO increased strongly whereas antioxidant capacity decreased resulting in an increase in OSI, at least for piglets weaned in deteriorated conditions. The phenomenon of oxidative stress after weaning has been substantially described in piglets weaned between 21 and 28 days of age [7–10,25]. However, those studies did not demonstrate that the observed oxidative stress was due to weaning and not to natural ageing. In the present study, DC piglets weaned at 21 and 28 days of age displayed comparable

patterns of variations in HPO, BAP, OSI and vitamins A and E the days following weaning, confirming that the observed effects are effectively linked to weaning and not to a physiological process evolving only with age. However, the comparison of optimal and deteriorated weaning conditions showed that the occurrence of oxidative stress depends on the management and environment at weaning. High animal density, animal mixing, lack of cleaning and disinfection of the room as well as thermic stress are known to be risks factors of health problems and deteriorated growth [11]. In the experimental model developed in trial A, deteriorated conditions included several of these factors. On field conditions, in trial B, the range of HPO increase and the delay before recovery to pre-weaning concentrations seemed to be greater than in experimental facilities in most of the farms. Indeed, HPO concentrations were still higher than pre-weaning level 19 days after weaning in 14 farms out of 16. This might be due to more challenging rearing and weaning conditions in commercial farms than in our experimental facilities. Trial A results show that animals optimally managed at weaning can contain their oxidative stress.

In non-optimal weaning conditions, different causes can cumulate to generate oxidative stress. At weaning, separation from the mother and adaptation to a new physical and social environment generate a stress response, with an increase of plasma cortisol concentration, an hormone secreted by the hypothalamic-pituitary-adrenal axis [26]. Studies on growing chicken showed that glucocorticoids, added in the feed [27] or induced by thermic stress [28], increased the production of oxidative products. Thus, the neuroendocrine stress response to weaning could contribute to oxidative stress at that period.

Weaning also induces a systemic and local inflammation, as shown for example by the increase in plasma concentration of a pro-inflammatory cytokine, interleukin-1, one to two days after weaning [29] or in the haptoglobin acute phase protein 5 days after weaning [25]. At the gut level, local inflammatory responses are observed directly after weaning [30], leading in extreme cases to the exhibition of diarrhea [31]. Since inflammation is known to increase oxidative stress on farm animals [3,32,33], we can hypothesize that oxidative stress at weaning is also partly induced by inflammation.

In trial A, DC conditions were used to increase the stress of the animals (social stress) and challenge their immune system (cold stress, poor hygiene). The social stress of the animals was not measured, but the greater number of DC piglets with diarrheas for a longer period of time, compared to OC pigs suggests that the model was effective in decreasing piglet health at weaning. Their poorer health was also attested by their more severe degradation of ADG after weaning compared to OC pigs. Thus the DC model efficiently contributed to health degradation undergone by piglets at weaning and this was associated to more oxidative stress as indicated by a greater OSI 12 days after weaning. Exhibition of diarrhea in trial B was not associated with the evolution of ADG and oxidative parameters, maybe because the majority of diarrhea events were probably missed due to the deficient recording of individual sanitary events in this field study. Nevertheless, data from trial B, also suggest a link between oxidative status and health at weaning. Indeed, piglets with the lowest ADG had significantly more oxidative products, greater OSI and lower vitamin A concentration after weaning compared to piglets with the highest growth.

Usually, the increase in free radical production by the organism consumes neutralizing antioxidant molecules, and enhances the production of antioxidant enzymes and molecules [1,2]. In trial A, blood antioxidant capacity was transiently decreased 12 days after weaning, which probably reflects the use of antioxidant reserves shown, in our study, by the decrease in vitamin E and to a less extent in vitamin A plasma concentrations. The dramatic drop of vitamin E after weaning was reported in several other studies and the absolute values as well as the amplitude of the decrease observed in both trials are in accordance with the literature [34–37].

The piglet, like other mammals, is unable to synthesize vitamin E which has to be provided by the diet [38]. Lipid soluble vitamins E and A are absorbed by the intestine partly thanks to the action of lipases [39] and bile acids [40], whose activity is reduced after weaning [41], thus reducing vitamin A and E absorption. Furthermore, concentration of total lipids in the diet influences the absorption of vitamin E by the intestine [35,39]. Milk contains more fat content than starter feed [42] and thus vitamin E absorption is presumed to be higher before weaning. Consequently, the high consumption of vitamin E for pro-oxidant molecule neutralization as well as the reduction of vitamin E supply to the organism could explain the drop of vitamin E after weaning. Interestingly, piglets that displayed the lowest ADG between 26 and 47 days of age, had lower plasma concentration of vitamin E but the same weight just before weaning, as well as greater HPO concentrations 5 days after weaning. This reinforces the hypothesis of a major role of vitamin E stores before weaning.

Absolute values observed for concentration in HPO before weaning (532 CARRU at 26 days of age in average for trial A and B together) are greater than values observed on piglets before weaning in other studies: 495 CARRU at 20 days old [9], 366 CARRU at 23 days of age [9], 400 CARRU at 24 days of age [8] or 350 CARRU at 28 days of age [7]. Currently, no reference values of concentrations of HPO on piglets before weaning are available. The lack of references for oxidative status, and particularly HPO as health indicator and to qualify situation of oxidative stress, has been already underlined for ruminants [43]. Our data showed that variability within and between farms is quite important. Consequently, the relative increase between pre and post-weaning values could be a better indicator for the between farm comparison.

Conclusions

Oxidative status of pig continuously evolves from neonatal period to puberty because of the increase in plasma concentration of HPO and the stabilization of antioxidant capacity (BAP). Weaning induces a transient oxidative stress associated with diarrhea and that could be limited by optimal management conditions. OSI followed ADG and diarrhea expression, and thus could be suggested as a good indicator of piglet health at weaning. The plasma concentration of vitamin E before weaning is associated with growth. The causal relationship between oxidative stress, vitamin E stores, and health after weaning needs to be explored in order to find ways to contain oxidative stress and maintain health after weaning.

Supporting information

S1 File. Raw dataset of trial A and trial B.
(XLSX)

S1 Table. Blood oxidative status variables and growth from 9 days before to 19 days after weaning according to age at weaning (21 days of age (W21, n = 32) or 28 days of age (W28, n = 34), trial A).
(DOCX)

S2 Table. Expression of diarrhea according to the treatment groups of piglets (trial A): piglets weaned at 21 (W21, n = 32) or 28 days of age (W28, n = 34) and housed in optimal (OC, n = 34) or deteriorated conditions (DC, n = 32).
(DOCX)

Acknowledgments

Authors gratefully thank A. Lacoste, B. Lieubeau, J. Hervé, G. Mignot P. Mormede, JN. Sialelli and E. Terenina for their scientific contributions to the project, N. Le Floch for its critical advices on the manuscript and JY. Audiard, D. Boutin, B. Carrissant, R. Comte, S. Daré, J. Delamarre, H. Demay, B. Duteil, F. Guérin, P. Knapen, A. Lecorgne, M. Lefebvre, G. Martin, N. Mézière, H. Renoult, P. Roger, Y. Surel, F. Thomas and P. Touanel for their technical assistance in lab and animal care and all pig producers who participated to this experiment. This experiment was supported by a grant from the Integrated Management of Animal Health metaprogram of INRA for the "GISA-SEVROBUST" project (www.gisa.inra.fr/en) and Cooperl Arc Atlantique. Cooperl Arc Atlantique provided support in the form of salaries for authors [AB], but did not have any additional role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Author Contributions

Conceptualization: AB CB MLM EM.

Data curation: AB CB MLM EM.

Formal analysis: AB CB MLM EM.

Funding acquisition: AB CB MLM EM.

Investigation: AB CB MLM EM.

Methodology: AB CB MLM EM.

Project administration: AB CB MLM EM.

Resources: AB CB MLM EM.

Supervision: AB CB MLM EM.

Validation: AB CB MLM EM.

Visualization: AB CB MLM EM.

Writing – original draft: AB CB MLM EM.

Writing – review & editing: AB CB MLM EM.

References

- Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, USA; 2015.
- Kohen R, Nyska A. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol Pathol.* 2002; 30: 620–650. <https://doi.org/10.1080/01926230290166724> PMID: 12512863
- Lykkesfeldt J, Svendsen O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Vet J.* 2007; 173: 502–511. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.06.005> PMID: 16914330
- Funderburke DW, Seerley RW. The effects of postweaning stressors on pig weight change, blood, liver and digestive tract characteristics. *J Anim Sci.* 1990; 68: 155–162. PMID: 2303393
- Pluske JR, Le Dividich J, Verstegen MWA. Weaning the pig: concepts and consequences. Wageningen: Wageningen Academic Publishers; 2003.
- Weary DM, Jasper J, Hötzel MJ. Understanding weaning distress. *Early Weaning.* 2008; 110: 24–41. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.03.025>
- Corino C, Rossi R, Musella M, Cannata S, Pastorelli G. Growth performance and oxidative status in piglets supplemented with verbascoside and teuploside. *Ital J Anim Sci.* 2007; 6: 292–294.

8. Pastorelli G, Rossi R, Corino C. Influence of Lippia citrodora verbascoide on growth performance, anti-oxidant status, and serum immunoglobulins content in piglets. *Czech J Anim Sci.* 2012; 57: 312–322.
9. Sauerwein H, Schmitz S, Hiss S. Effects of a dietary application of a yeast cell wall extract on innate and acquired immunity, on oxidative status and growth performance in weaning piglets and on the ileal epithelium in fattened pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2007; 91: 369–380. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2006.00663.x> PMID: 17845244
10. Zhu LH, Zhao KL, Chen XL, Xu JX. Impact of weaning and an antioxidant blend on intestinal barrier function and antioxidant status in pigs. *J Anim Sci.* 2012; 90: 2581–2589. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-4444> PMID: 22896732
11. Maded F, Bridoux N, Bounaix S, Jestin A. Measurement of digestive disorders in the piglet at weaning and related risk factors. *Prev Vet Med.* 1998; 35: 53–72. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(97\)00057-3](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(97)00057-3) PMID: 9638780
12. Alberti A, Bolognini L, Macciantelli D, Caratelli M. The radical cation of N,N-diethyl-para-phenylenediamine: A possible indicator of oxidative stress in biological samples. *Res Chem Intermed.* 1999; 26: 253–267. <https://doi.org/10.1163/15685670X000769>
13. Benzie IFF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Anal Biochem.* 1996; 239: 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292> PMID: 8660627
14. Sharma RK, Pasqualotto FF, Nelson DR, Thomas AJ, Agarwal A. The reactive oxygen species—total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility. *Hum Reprod.* 1999; 14: 2801–2807. <https://doi.org/10.1093/humrep/14.11.2801> PMID: 10548626
15. Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. 2014;
16. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2015.
17. Lenth R. ismeans: Least-Squares Means. 2015.
18. Mutinati M, Pantaleo M, Roncetti M, Piccinno M, Rizzo A, Sciorsi R. Oxidative stress in neonatology. A review. *Reprod Domest Anim.* 2014; 49: 7–16. <https://doi.org/10.1111/rda.12230> PMID: 24112309
19. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 2000; 408: 239–247. <https://doi.org/10.1038/35041687> PMID: 11089981
20. Oriani G, Corino C, Pastorelli G, Pantaleo L, Rittieni A, Salvatori G. Oxidative status of plasma and muscle in rabbits supplemented with dietary vitamin E. *J Nutr Biochem.* 2001; 12: 138–143. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(00\)00132-7](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(00)00132-7) PMID: 11257462
21. Palazzo M, Vizzarri F, Cinone M, Corino C, Casamassima D. Assessment of a natural dietary extract, titrated in phenylpropanoid glycosides, on blood parameters and plasma oxidative status in intensively reared Italian hares (*Lepus corsicanus*). *Animal.* 2011; 5: 844–850. <https://doi.org/10.1017/S1751731110002569> PMID: 22440023
22. Casamassima D, Palazzo M, D'alessandro A, Colella G, Vizzarri F, Corino C. The effects of lemon verbena (*Lippia citrodora*) verbascoide on the productive performance, plasma oxidative status, and some blood metabolites in suckling lambs. *J Anim Feed Sci.* 2013; 22: 204–212.
23. Brambilla G, Civitareale C, Ballerini A, Fiori M, Amadori M, Archetti LI, et al. Response to oxidative stress as a welfare parameter in swine. *Redox Rep.* 2002; 7: 159–163. <https://doi.org/10.1179/135100002125000406> PMID: 12189046
24. Merlot E, Vincent A, Thomas F, Meunier-Salaün M-C, Damon M, Robert F, et al. Health and immune traits of Basque and Large White pigs housed in a conventional or enriched environment. *Animal.* 2012; 6: 1290–1299. <https://doi.org/10.1017/S1751731112000080> PMID: 23217232
25. Sauerwein H, Schmitz S, Hiss S. The acute phase protein haptoglobin and its relation to oxidative status in piglets undergoing weaning-induced stress. *Redox Rep.* 2005; 10: 295–302. <https://doi.org/10.1179/135100005X83725> PMID: 16438801
26. Colson V, Martin E, Orgeur P, Prunier A. Influence of housing and social changes on growth, behaviour and cortisol in piglets at weaning. *Tufts Univ Spec Sect.* 2012; 107: 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.06.001> PMID: 22691708
27. Lin H, Decuyper E, Buyse J. Oxidative stress induced by corticosterone administration in broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*): 1. Chronic exposure. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 2004; 139: 737–744. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.09.013> PMID: 15581806
28. Akbarian A, Michiels J, Degroote J, Majdeddin M, Golian A, De Smet S. Association between heat stress and oxidative stress in poultry; mitochondrial dysfunction and dietary interventions with phytochemicals. *J Anim Sci Biotechnol.* 2016; 7: 1–14.

29. McCracken BA, Gaskins HR, Ruwe-Kaiser PJ, Klasing KC, Jewell DE. Diet-Dependent and Diet-Independent Metabolic Responses Underlie Growth Stasis of Pigs at Weaning. *J Nutr.* 1995; 125: 2838–2845. PMID: 7472664
30. McCracken BA, Spurlock ME, Roos MA, Zuckermann FA, Gaskins HR. Weaning Anorexia May Contribute to Local Inflammation in the Piglet Small Intestine. *J Nutr.* 1999; 129: 613–619. PMID: 10082764
31. Fairbrother JM, Nadeau É, Gyles CL. *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Anim Health Res Rev.* 2005; 6: 17–39. <https://doi.org/10.1079/AHR2005105> PMID: 16164007
32. Lauritzen B, Lykkesfeldt J, Fris C. Evaluation of a single dose versus a divided dose regimen of amoxicillin in treatment of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs. *Res Vet Sci.* 2005; 79: 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2004.09.011> PMID: 15894026
33. Royer E, Barbe F, Rousselière Y, Chevaux E, Guillou D. Développement d'un modèle d'étude du stress oxydant chez le porcelet sevré. *Journ Rech Porc.* 2016; 48: 341–346.
34. Lauridsen C, Jensen SK. Influence of supplementation of all-rac- α -tocopheryl acetate preweaning and vitamin C postweaning on α -tocopherol and immune responses of piglets. *J Anim Sci.* 2005; 83: 1274–1286. PMID: 15890805
35. Moreira I, Mahan DC. Effect of dietary levels of vitamin E (all-rac-tocopheryl acetate) with or without added fat on weaning pig performance and tissue alpha-tocopherol concentration. *J Anim Sci.* 2002; 80.
36. Sivertsen T, Vie E, Bernhoft A, Baustad B. Vitamin E and selenium plasma concentrations in weaning pigs under field conditions in Norwegian pig herds. *Acta Vet Scand.* 2007; 49: 1–1. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-49-1> PMID: 17201915
37. Wilburn EE, Mahan DC, Hill DA, Shipp TE, Yang H. An evaluation of natural (RRR- α -tocopheryl acetate) and synthetic (all-rac- α -tocopheryl acetate) vitamin E fortification in the diet or drinking water of weaning piglets. *J Anim Sci.* 2008; 86.
38. Traber MG. Vitamin E. In: Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Tucker KL, Ziegler TR, editors. *Modern Nutrition in Health and Disease.* 11th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
39. Kayden HJ, Traber MG. Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans. *J Lipid Res.* 1993; 34: 343–358. PMID: 8468520
40. Lauridsen C, Hedemann MS, Jensen SK. Hydrolysis of tocopheryl and retinyl esters by porcine carboxyl ester hydrolase is affected by their carboxylate moiety and bile acids. *J Nutr Biochem.* 2001; 12: 219–224. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(00\)00156-X](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(00)00156-X) PMID: 11287217
41. Jensen MS, Jensen SK, Jakobsen K. Development of digestive enzymes in pigs with emphasis on lipolytic activity in the stomach and pancreas. *J Anim Sci.* 1997; 75: 437–445. <https://doi.org/10.2527/1997.752437x> PMID: 9051467
42. Bark LJ, Crenshaw TD, Leibbrandt VD. The Effect of Meal Intervals and Weaning on Feed Intake of Early Weaned Pigs. *J Anim Sci.* 1986; 62: 1233–1239. PMID: 3722016
43. Cell P. Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2010; 33: 233–240. <https://doi.org/10.3109/08923973.2010.514917> PMID: 20849293

3.2 Association entre marqueurs métaboliques et immunitaires, croissance et santé du porcelet au sevrage

Nous avons vu dans la revue bibliographique que le sevrage modifiait profondément l'anatomie du tube digestif, l'absorption des nutriments et le métabolisme. Par ailleurs, le sevrage conduit souvent à une inflammation au niveau de la muqueuse intestinale qui peut devenir systémique. En effet, il a été montré que la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires pouvait conduire à la mobilisation de protéines et d'acides aminés dans le muscle. Certaines molécules telles que l'urée, la créatinine, les acides gras libres (AGL) ou le glucose sont des indicateurs des mobilisations protéiques et énergétiques qui ont souvent lieu au sevrage. Cependant, dans les études où ces variables physiologiques ont été étudiées, le faible nombre de points autour du sevrage et le design expérimental ne permettent pas de savoir si les altérations observées sont transitoires ou non et si elles sont liées au sevrage ou au vieillissement des porcelets. De plus, nous avons fait l'hypothèse qu'une mobilisation plus importante des réserves corporelles reflétait la robustesse du porcelet au sevrage. Néanmoins, les relations entre marqueurs du métabolisme, croissance et santé n'ont pas été spécifiquement étudiées au sevrage.

Les objectifs de cette partie sont 1) d'étudier les relations entre métabolisme, immunité, croissance et santé autour du sevrage et, 2) de valider que l'activation du système immunitaire et l'ampleur de la mobilisation des réserves corporelles sont liées à la croissance et la santé du porcelet au sevrage.

Matériels et Méthodes

Dans l'étude en installation expérimentale, des porcelets (n=64) Piétrain x (Landrace x Large White), de la station expérimentale INRA de Saint Gilles (35), ont été sevrés à 21 (W21) ou 28 (W28) jours d'âge dans des conditions optimales (CO) ou détériorées (CD) (partie 2.3.2).

Résultats

La concentration en AGL a augmenté pour les porcelets W21 CO entre le sevrage et 5 jours après sevrage ($P < 0.05$, Tableau 3 article JAS). A partir du sevrage, la concentration plasmatique en glucose a diminué ($P < 0.001$) et la concentration en urée a augmenté pour les porcelets W28 seulement ($P < 0.05$, Tableau 3 article JAS). La concentration plasmatique en créatinine a augmenté transitoirement 5 jours après sevrage chez les W28 CD uniquement ($P < 0.05$, Tableau 3 article JAS). Les concentrations plasmatiques en urée et en créatinine étaient plus élevées 5 jours après sevrage pour les porcelets en CD ($P < 0.05$ et $P < 0.001$, Tableau 3 article JAS). La créatinine et

l'haptoglobine 5 jours après sevrage ($P < 0.05$ et $P < 0.01$) et l'IFN-alpha 12 jours après sevrage ($P < 0.05$) étaient plus élevés, et le GMQ entre d-2 et d4 et d5 et d11 ($P < 0.001$, Figure 1 article JAS) était plus faible pour les porcelets qui ont eu des diarrhées la semaine précédant le prélèvement. Les GMQ entre d-2 et d4 et entre d12 et d18 étaient négativement corrélés avec l'urée et la créatinine à d5 et d19 ($P < 0.001$, Tableau 4 article JAS).

Conclusion

- 1) Au sevrage, il ne semble pas y avoir d'augmentation de la mobilisation lipidique mesurée par les AGL.
- 2) Le sevrage est associé à une mobilisation protéique musculaire mesurée par la créatinine et l'urée plasmatique.
- 3) Les diarrhées sont associées à une plus forte chute de la croissance, à une plus forte inflammation et à une plus grande mobilisation musculaire (montrée par la créatinine uniquement).
- 4) La croissance des porcelets après sevrage est corrélée négativement la concentration en urée et créatinine, marqueurs de la mobilisation musculaire.

Question de recherche n°1

Peut-on identifier des réponses physiologiques associées à la robustesse du porcelet au sevrage ?

Le métabolisme du porcelet est fortement modifié au moment du sevrage et il est associé à la croissance et la santé des porcelets au sevrage. Par conséquent, la mobilisation des réserves d'acides aminés, et probablement celles constituées par le muscle, semble être un indicateur d'une moins bonne robustesse du porcelet sevré. En effet, l'ampleur de cette mobilisation 5 jours après sevrage semble associée au GMQ entre 0 et 19 jours après sevrage.

Valorisation

Article

BUCHET A., BELLOC C., LE FLOC'H N, MERLOT E. 2017. "Metabolic and immune changes around weaning and correlation with health and growth of piglets after weaning". J Anim Sci. (en préparation).

Communications en congrès

BUCHET A., BELLOC C., MERLOT E. 2016. "Effect of weaning conditions on immune parameters, growth and health of piglets". EAAP. Belfast. United Kingdom. Communication orale.

BUCHET A., BELLOC C., LE FLOC'H N., MERLOT E. 2016. « Effect of weaning conditions on metabolic parameters, growth and health of piglets". EAAP. Belfast. United Kingdom. Communication orale.

Metabolic and immune changes around weaning and correlation with health and growth of piglets after weaning¹

A. Buchet,* †‡ C. Belloc‡, N. Le Floc'h,* E. Merlot*

* PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, Saint-Gilles, France, 35590,

† Cooperl Arc Atlantique, BP 60238, Lamballe, France, 22403,

‡ BIOEPAR, INRA, ONIRIS, BP 40706, Nantes, France, 44307,

ABSTRACT

Weaning as practiced in conventional pig farms can lead to alterations of metabolism caused by digestive adaptations and the stimulation of immune system. The aims of this study were to describe blood indicators of proteins and energy metabolism around weaning and according to different weaning conditions, and to investigate the association of protein and energy metabolisms and immune activation,

¹ Authors gratefully thank O. Bourry for its contribution on IFN-alpha assay, D. Boutin, B. Carrissant, R. Comte, S. Daré, J. Delamarre, H. Demay, B. Duteil, F. Guérin, P. Knapen, A. Lecorgne, M. Lefebvre, N. Mézière, H. Renoult, P. Roger, Y. Surel, F. Thomas and P. Touanel for their technical assistance in lab and animal care. This experiment was supported by INRA and a grant from Cooperl Arc Atlantique.

RESULTATS

in relation with health and growth of piglets. To dissociate age from weaning responses and obtain variability in piglet health, a 2 x 2 factorial design was used, where piglets (n=66) were weaned at 21 or 28 d (W21 vs W28) in optimal or deteriorated management conditions (OC vs DC). Growth, clinic, immune and metabolic blood variables were measured from 9 d before to 19 d after weaning, and after overnight fasting for blood samples collected after weaning. NEFA plasma concentration increased on d5 for W21 OC piglets only ($P < 0.05$). From weaning, plasma glucose decreased in all groups ($P < 0.001$) and urea increased for W28 piglets only ($P < 0.05$). Creatinine increased on d5 in W28 and DC W21 ($P < 0.05$). Urea and creatinine were higher at d5 for DC piglets ($P < 0.05$ and 0.001). Creatinine and haptoglobin at d5 ($P < 0.05$ and $P < 0.01$) and IFN-alpha at d12 ($P < 0.05$) were greater, and ADG between d-2 and d4 and d5 and d11 ($P < 0.001$) were lower for piglets which exhibited diarrhea the week before the measure. Growth from d-2 to d4 and d12 to d18 was negatively correlated with urea and creatinine at d5 and d19 ($P < 0.001$). Our results demonstrate that leukocyte numbers, blood glucose, urea and creatinine changes are not simply related to age but result from processes associated to weaning. Expression of diarrhea was associated to lower growth with scarce modification of protein metabolism. Deteriorated weaning conditions also generated lower growth, more diarrhea, earlier immune activation and greater muscle protein mobilization. Thus, even in pathogen-free conditions,

improving health of piglets by a good hygiene and welfare at weaning can have beneficial effects on protein metabolism and subsequently support animal growth.

Key words: creatinine, diarrhea, growth, pig, urea, weaning

INTRODUCTION

Early weaning as practiced in conventional pig farms is a challenge requiring physiological and metabolic adaptations of piglet that in turn affect growth rate. Weaning speeds up the maturation of digestive tract (Lallès *et al.* 2004) and changes in the composition of gut microbiota (Kim et Isaacson. 2015; Mach *et al.* 2015) which could lead to a dysbiosis, probably responsible for the activation of the mucosal immune system (Pié *et al.* 2004) and diarrhea (Lallès *et al.* 2007). Bad management practices around weaning amplify the risk of digestive disorders and growth outcomes (Buchet *et al.* 2017).

The expression of inflammatory cytokines in gut mucosa (Pié *et al.* 2004) and the increases of inflammatory protein concentration (Sauerwein *et al.* 2007) in blood after weaning demonstrate the activation of the immune system. Simultaneously, the literature reports an increase within 2 d after weaning of blood non esterified fatty acids (NEFA) (Whittemore *et al.* 1981) and urea (McCracken *et al.* 1995), and a decrease within 1 d for glucose (Funderburke et

Seerley. 1990). Those metabolites are easy and cheap to measure and do not require the sacrifice of the animal. Since pro-inflammatory cytokines change muscle and liver protein metabolism (Le Floc'h *et al.* 2004) and stimulates energy catabolism (Johnson. 1997), exploration of the relationship between health, metabolism, and immune response at weaning could help to understand the role and the extent of immune activation in metabolic changes and subsequent growth reduction.

Thus study was designed to i) describe around weaning the evolution of blood variables related to protein and energy metabolism in different weaning conditions in order to get some references values for further studies and ii) investigate around weaning the association between protein and energy metabolism, immune activation with clinical and growth expression.

MATERIAL AND METHODS

Animal and Housing

The experiment was conducted at INRA experimental facilities in Saint Gilles, France and authorized by the Ministry of research (authorization n°2015070815295160). Piétrain x (Large White x Landrace) piglets (NUCLEUS lines, France, n=66) of 12.3 +/- 0.5 d of age (3.8 +/- 0.9 kg) were enrolled in this study. They were originating from 12 randomly selected litters. Six litters were weaned at 21 (W21)

and six litters at 28 d of age (W28). Within the two weaning ages, piglets were weaned in 1.2 x 1.3 m pens in 2 rooms heated at 28°C, corresponding respectively to optimal conditions (OC) or deteriorated conditions (DC). For OC, 16 entire males and 18 females were housed by groups of 2 to 4 individuals in 9 pens in a room that was previously cleaned and disinfected. For DC, 16 entire males and 16 females were housed by group of 8 individuals in 4 pens in the second neighbouring room that had not been cleaned or disinfected after the previous batch. Furthermore, DC piglets underwent a thermic stress of 4 hours at 20°C before entering the post-weaning room while OC piglets were transferred directly. One week after weaning, to induce a social stress, 4 animals from each DC pen were moved to 4 empty pens and all pens were completed to 8 pigs with non-experimental animals.

The same commercial feed was used for OC and DC piglets (Table 1). Feed transition between starter and weaner diets occurred at 32 d of age. It was done progressively on 3 d for OC and abruptly in 1 d for DC pigs.

No antibiotic treatment was used during the study, except for two W21 OC piglets expressing severe diarrhea that could not be cured and died 5 and 6 days after weaning.

Measures and Samples Collection

Animals were weighed weekly from 12 to 61 d of age. Feces were scored daily as normal or diarrheic.

Blood was collected by jugular puncture on all piglets 9 and 2 d before and 5 d after weaning. In order to limit the frequency of collection for each individual, blood was sampled on one half of the animals on d12 and the other half on d19 after weaning. Blood samples were collected in an uncontrolled nutritional state before weaning and following an overnight fasting after weaning in 2 Venosafe tubes (Terumo, Japan) of 5 mL containing either heparin or EDTA as anticoagulants. Blood was centrifuged at 3000g for 15 minutes at 4°C and plasma was stored at -20°C until analyses.

Assays Procedures

Urea, glucose and creatinine were analyzed on heparin plasma samples and NEFA on EDTA samples using commercial kits (Thermo Scientific, Courtaboeuf, France and Wako, Neuss, Germany) on an automated analyzer (Konelab, Thermo Scientific). Inter-assay coefficient of variation was 3.39% for urea, 0.96% for glucose, 3.19% for creatinine and 2.69% for NEFA. Haptoglobin was assayed on heparin plasma samples using a commercial kit (Tri Delta, Ireland) on the same analyser. Inter-assay coefficient of variation was 12.16%.

IgM levels were determined by quantitative sandwich ELISA in heparin plasma samples. Capture and conjugated antibodies were purchased from Bethyl (Montgomery, USA), and ELISA was performed as previously described (Couret *et al.* 2009). Inter-assay coefficient of variation was 13.74% for IgM.

The total numbers of leukocytes, lymphocytes and polymorphonuclear (PMN) leukocytes were measured with a hematology automatic cell counter calibrated for pigs (MS-9, Osny, France). Intra-assay coefficients of variation were 3% for total leukocyte, lymphocyte and PMN.

IFN-alpha was determined by quantitative sandwich ELISA in heparin plasma samples as previously described (Magnusson *et al.* 1999).

Statistical Methods

To investigate the variations of ADG and blood variables around weaning, the variables were analyzed with an ANOVA procedure using the *lmer* function from *lme4* package (Bates *et al.* 2014) of R software (R Core Team. 2015). The model included time to weaning (from d-9 to d19), management conditions (OC vs DC), age at weaning (W21 vs W28) and their interactions as main effects, and piglet as random effect or repeated data. Secondly, the effect of diarrhea was analyzed. For this purpose, an additional variable was added to identify piglets having or not diarrhea the week before each of the blood collection point. At each time point after weaning (d5, d12 and d19), ANOVAs including age at weaning (W21 vs W28) and diarrhea during the week before collection (yes vs no) as main effects were performed. When a significant effect ($P < 0.05$) was revealed by the analyses of variance, Tukey comparisons of adjusted means were

performed using *cld* function from *lsmeans* package (Lenth. 2015). The *P*-values presented in the result section are those of the Tukey test. Pearson's correlations were analyzed within each sampling day after weaning (d5, d12 and d19) between metabolic variables, haptoglobin and the average daily gain measured the week before collection day using *cor.test* function.

RESULTS

Effect of Weaning Age and Management Conditions on Growth and Diarrhea

P-values resulting from the ANOVAs performed for blood variables and ADG are presented in Table 2, numerical data for OC and DC groups along time in Table 3 and for W21 and W28 groups along time in Supplementary Table 1. Whatever the age at weaning and management conditions, ADG was dramatically reduced after weaning (d5 to d11) compared to lactation period ($P < 0.001$, Table 3). Furthermore, between 5 and 11 d after weaning, ADG was lower for DC compared to OC piglets ($P < 0.05$) but similar ($P > 0.1$) for W21 and W28 pigs.

Between 0 and 4 d after weaning, 18% of pigs (n=12) exhibited at least 1 d of diarrhea. They were 42% between 5 and 11 d (n=28) and 17% (n=11) between 12 and 18 d after weaning. Globally, from 0 to 19 d after weaning, 55% of piglets exhibited at least 1 d of diarrhea. The duration of diarrhea varied between 1 and 6 d.

Moreover, DC piglets exhibited significantly more days with diarrhea compared to OC piglets (1.56 +/- 1.64 vs 0.59 +/- 0.74 d, $P < 0.01$) as well as W21 piglets compared to W28 piglets (1.44 +/- 1.52 vs 0.70 +/- 1.06 d, $P < 0.05$).

Effects of Weaning Age and Management Conditions on Metabolic Variables

The concentration of NEFA was stable except in OC W21 piglets for which it increased between d-2 and d5 (262 to 533 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$). Whatever the age at weaning or management conditions, the plasma concentration of glucose decreased between pre-weaning (d-2 and d-9) and d5 ($P < 0.001$). Urea concentration increased between pre-weaning (d-9 and d-2) and d5 to d19 for W28 piglets only ($P < 0.05$, supplementary Table 1) and creatinine concentration increased for all groups except OC W21 between d-9 and d5 ($P < 0.05$). Urea and creatinine concentrations were higher for DC compared to OC piglets at d5 ($P < 0.05$).

Effect of Weaning Age and Management Conditions on Immune Parameters

Plasma concentrations of IFN-alpha remained stable except in OC W21 piglets for which it decreased between d-2 and d19 ($P < 0.05$). Whatever the age at weaning or the management conditions, the lymphocytes and PMN cell counts increased from d12 compared to d-

9 and d-2 ($P < 0.001$, Table 2). At d12, the PMN count was greater for DC compared to OC piglets ($P < 0.05$, Table 3). Compared to d-2, IgM concentration increased earlier for DC piglets than OC piglets (since d12 and d19 respectively, $P < 0.05$). Haptoglobin concentration increased transiently between d-2 and d5 for all groups ($P < 0.001$).

Effect of Exhibition of Diarrhea on Blood Variables and Growth around Weaning

Creatinine and haptoglobin concentrations measured at d5 were greater for piglets which had diarrhea between d0 and d4 (12.84 vs 11.65 mg/L, $P < 0.05$ and 2.52 vs 1.53 mg/dL, $P < 0.01$, respectively; Fig 1). For those piglets, ADG calculated between d-2 and d+4 was lower (140 vs. 206 g/d, $P < 0.01$). For piglets exhibiting diarrhea between d5 and d11, IFN-alpha plasma concentration was greater at d12 (238 vs 47 U/mL, $P < 0.05$) and ADG from d5 to d11 was lower (90 vs 205 g/d, $P < 0.001$). Glucose, NEFA, and urea concentrations were not different between piglets having diarrhea or not.

Correlations between Growth, Immune and Metabolic Parameters

Correlations between blood variables measured at d5, d12 and d19 after weaning and ADG expressed during the previous week are shown in Table 4. Urea and creatinine measured at d5 and d19 ($P <$

0.01), and haptoglobin measured at d12 only ($P < 0.05$) were negatively correlated with ADG measured respectively between d-2 and d4 and d12 and d18 ($P < 0.01$). IgM measured at d5 was negatively correlated with ADG ($P < 0.05$).

DISCUSSION

Implementation of a Model of Health Deterioration and Immune Stimulation at Weaning

The aim of the present study was to i) describe around weaning the evolution of blood variables related to protein and energy metabolisms in different weaning conditions in order to get some references values for further studies and ii) to investigate around weaning the association between protein and energy metabolism, immune activation together with clinical and growth expression.

In order to increase the probability to observe clinical digestive problems after weaning in our experimental facilities, deteriorated management conditions were artificially implemented to half of the animals by increasing animal density, mixing of animals, implementing a short thermic stress, no cleaning and disinfection of the post-weaning room and no transition between starter and weaner diets. Those conditions were an adaptation of a model developed previously, showing in growing pigs that deteriorated conditions stimulates the immune system (increased PMN count) and induces systemic signs of inflammation (increased haptoglobin concentration)

(Le Floc'h *et al.* 2014; Chatelet *et al.* 2017). In our study, weaning was associated with an activation of the immune system of the piglets as shown by the rise of IgM and PMN counts, and the increase of haptoglobin, attesting an on-going inflammatory response. Compared to OC, DC did not result in a greater increase in haptoglobin concentration, but PMN count was greater on d12, and the increase of IgM concentration occurred one week earlier. Furthermore, piglets exhibited a greater number of days with diarrhea in DC compared to OC. These results show that the DC conditions efficiently affected health of the piglets in association with more inflammation and immune system stimulation in comparison to OC.

Impact of Deteriorated Health and Weaning Conditions on Growth

In our experiment, ADG calculated between d5 and d11 was lower in DC compared to OC, as well as for piglets which exhibited diarrhea at least one day during the 11 days following weaning. The individual feed intake could not be measured in this study; but it is likely that this reduced ADG could be partly due to a lower feed intake in DC or diarrheic pigs. Indeed, in an experiment using deteriorated hygiene conditions, the reduction of ADG during 6 weeks after weaning was associated with a reduction of feed intake in DC compared to OC (Pastorelli *et al.* 2012b). Sickness behavior, which is commonly induced by systemic inflammatory processes, is known to

generate a reduction of feed intake (Johnson et von Borell. 1994). Another hypothesis is that reduction of ADG was caused by changes in metabolism in response to the digestive and systemic inflammation as previously suggested (Pastorelli *et al.* 2012b). In this study, serial blood samplings around weaning allowed to investigate the metabolic variations associated to these alterations in growth.

Effect of Health Deterioration on Energy Metabolism

Whatever the age at weaning or weaning conditions, glucose concentration decreased from the first blood sampling following weaning. Changes in glycaemia are in accordance with literature (Whittemore *et al.* 1981; Bark *et al.* 1986; Dunshea *et al.* 1992; Le Dividich et Sève. 2000). Before weaning, piglets suckle approximately every 45 minutes (Dunshea. 2003), which implies that animals are nutritionally in fed state most of the time, with a high glycaemia. After weaning the frequency of meals decreases to one meal every two hours in average (Bruininx *et al.* 2001), leading to an adaptation of the piglet to longer fasting states. In this study, post weaning measures were performed after an overnight fasting, which probably explains the lower concentrations of glucose compared with preweaning concentrations.

Plasma NEFA concentration reflects the balance between the entering flow from mobilization of body lipids and use by other tissues for beta-oxidation. Feed intake is commonly reduced during

the 2 weeks after weaning, which is supposed to lead to a greater mobilization of body proteins and lipids in order to meet the nutritional requirement of piglet (Le Dividich et Sève. 2000). However, in this study, no increase in NEFA was observed during the 2 weeks after weaning except in OC W21 group. This suggests that fat mobilization is not a discriminant metabolic process in the fasting weanling pig, probably because adipose reserves of the piglet are too scarce at that age (Whittemore *et al.* 1981). Thus, the increase in OC W21 group only remains surprising.

Effect of Health Deterioration on Nitrogen Metabolism

Several studies report short term alterations in plasma creatinine after transport at weaning (Wittish *et al.* 2014) or in response to different regimen in weaned or growing pigs (He *et al.* 2011; Devi et Kim. 2014; Park *et al.* 2014). To our knowledge, there is no description of the evolution of the plasma creatinine concentration around weaning. Creatinine is produced by the muscle from the catabolism of creatine, a rapidly mobilized source on energy, by a non-enzymatic reaction and is thus strongly correlated to muscle mass (Wyss et Kaddurah-Daouk. 2000). Although of limited range, we observed a slight increase in plasma creatinine 5 days after weaning, which suggests that muscle metabolism could be transiently altered. Interestingly, this was more obvious when pigs were weaned

at 28 compared to 21 days of age, for which the increase was significant in DC W21 pigs only.

Urea is the product of the degradation of amino acids (AA) (Moughan. 1999; Bender. 2014), which in fasting state, come from body protein degradation or de novo synthesis for non essential AA. In our experiment, fasted plasma urea was greater 5 days after weaning in W28 pigs only. This time corresponds to the transition from starter to weaner diet for W28 piglets while W21 pigs were still fed with the starter diet. Compared to weaner diet, starter diet had a lower protein and energy content. We could postulate that W28 piglets did not receive enough energy from the weaner diet, and thus in fasting state, started to use their body AA for gluconeogenesis.

Furthermore, the increase of urea and creatinine concentrations from preweaning to at d5 was greater for DC compared to OC piglets and in piglets exhibiting diarrhea. This might be attributed to a greater level of inflammation in piglets weaned in DC conditions or expressing diarrhea causing greater muscle and AA catabolism (Le Floc'h *et al.* 2004). This greater inflammation was ascertained by haptoglobin concentration at day 5 in piglets with diarrhea. In DC conditions, haptoglobin concentration was not greater but the immune stimulation was nevertheless greater, as discussed above, suggesting that the inflammatory component of the immune response might have been also greater even if not detectable by haptoglobin assessment. In addition to the inflammatory component, diarrhea is associated to

decreased feed digestibility which might also lead to nutrient deficiency enhancing muscle and AA degradation. This is illustrated in studies where diarrhea induced by *E. coli* K88 on 10 d old piglets (Owusu-Asiedu *et al.* 2003) or 9 d after weaning (Kiarie *et al.* 2009) increased blood urea concentration 24h after the challenge. In our study, piglets with diarrhea had similar urea but greater creatinine plasma concentration. The moderate severity of diarrhea in our experiment could explain this discrepancy. In addition, urea and creatinine concentrations 5 and 19 days after weaning were associated to ADG during the corresponding period

CONCLUSION

To conclude, our results suggested that adaptation processes to the stress of weaning were not associated with modifications of energy metabolism measured with glucose and NEFA. By contrast, the transient rises in creatinine and urea suggested that AA were mobilized from the muscle during the first weeks after weaning. These variations were negatively correlated with growth of the piglets and were amplified by poor management conditions after weaning. Thus, even in pathogen-free conditions, improving health of piglets by a good hygiene and welfare at weaning can have beneficial effects on protein metabolism and subsequently on animal growth and health.

LITTERATURE CITED

Bark, L. J., T. D. Crenshaw, and V. D. Leibbrandt. 1986. The Effect of Meal Intervals and Weaning on Feed Intake of Early Weaned Pigs. *J. Anim. Sci.* 62:1233–1239. doi:10.2134/jas1986.6251233x.

Bates, D., M. Mächler, B. Bolker, and S. Walker. 2014. Fitting linear mixed-effects models using lme4.

Bender, D. A. 2014. Introduction to nutrition and metabolism. CRC Press.

Bruininx, E. M., C. M. van der Peet-Schwering, J. W. Schrama, P. F. Vereijken, P. C. Vesseur, H. Everts, L. A. den Hartog, and A. C. Beynen. 2001. Individually measured feed intake characteristics and growth performance of group-housed weanling pigs: effects of sex, initial body weight, and body weight distribution within groups. *J. Anim. Sci.* 79. doi:/2001.792301x. Available from: <http://dx.doi.org//2001.792301x>

Buchet, A., C. Belloc, M. Leblanc-Maridor, and E. Merlot. 2017. Effects of age and weaning conditions on blood indicators of oxidative status in pigs. *PLOS ONE.* 12:e0178487. doi:10.1371/journal.pone.0178487.

Chatelet, A., F. Gondret, E. Merlot, H. Gilbert, N. C. Friggens, and N. Le Floc'h. 2017. Impact of hygiene of housing conditions on

performance and health of two pig genetic lines divergent for residual feed intake. *animal*. 1–9. doi:10.1017/S1751731117001379.

Couret, D., A. Jamin, G. Kuntz-Simon, A. Prunier, and E. Merlot. 2009. Maternal stress during late gestation has moderate but long-lasting effects on the immune system of the piglets. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 131:17–24. doi:10.1016/j.vetimm.2009.03.003.

Devi, S. M., and I. Kim. 2014. Effect of medium chain fatty acids (MCFA) and probiotic (*Enterococcus faecium*) supplementation on the growth performance, digestibility and blood profiles in weanling pigs. *Vet Med.* 59:527–535.

Dunsha, F. 2003. Metabolic and endocrine changes around weaning. In: *Weaning the pig: Concepts and consequences*. Wageningen Academic Publishers. Wageningen, The Netherlands. p. 61–80.

Dunsha, F. R., D. M. Harris, D. E. Bauman, R. D. Boyd, and A. W. Bell. 1992. Effect of somatotropin on nonesterified fatty acid and glycerol metabolism in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 70:132–140. doi:/1992.701132x.

Funderburke, D. W., and R. W. Seerley. 1990. The effects of postweaning stressors on pig weight change, blood, liver and digestive tract characteristics. *J. Anim. Sci.* 68:155–162. doi:/1990.681155x.

He, Q., H. Tang, P. Ren, X. Kong, G. Wu, Y. Yin, and Y. Wang. 2011. Dietary Supplementation with l-Arginine Partially

Counteracts Serum Metabonome Induced by Weaning Stress in Piglets. *J. Proteome Res.* 10:5214–5221. doi:10.1021/pr200688u.

Johnson, R. W. 1997. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. *J. Anim. Sci.* 75:1244–1255. doi:10.2527/1997.7551244x.

Johnson, R. W., and E. von Borell. 1994. Lipopolysaccharide-induced sickness behavior in pigs is inhibited by pretreatment with indomethacin. *J. Anim. Sci.* 72:309–314. doi:10.2527/1994.722309x.

Kiarie, E., B. A. Slominski, D. O. Krause, and C. M. Nyachoti. 2009. Acute phase response of piglets fed diets containing non-starch polysaccharide hydrolysis products and egg yolk antibodies following an oral challenge with *Escherichia coli* (k88). *Can. J. Anim. Sci.* 89:353–360. doi:10.4141/CJAS09008.

Kim, H. B., and R. E. Isaacson. 2015. The pig gut microbial diversity: Understanding the pig gut microbial ecology through the next generation high throughput sequencing. *Vet. Microbiol.* 177:242–251. doi:10.1016/j.vetmic.2015.03.014.

Lallès, J.-P., P. Bosi, H. Smidt, and C. R. Stokes. 2007. Nutritional management of gut health in pigs around weaning. *Proc. Nutr. Soc.* 66:260–268. doi:10.1017/S0029665107005484.

Lallès, J.-P., Gaëlle Boudry, Christine Favier, Nathalie Le Floc'h, Isabelle Luron, Lucile Montagne, Isabelle P. Oswald, Sandrine Pié, Christelle Piel, and Bernard Sève. 2004. Gut function and

dysfunction in young pigs: physiology. *Anim Res.* 53:301–316. doi:10.1051/animres:2004018.

Le Dividich, J., and B. Sève. 2000. Effects of underfeeding during the weaning period on growth, metabolism, and hormonal adjustments in the piglet. *Physiol. Suboptimal Growth Rev. Pap. Present.* 50th Annu. Meet. Eur. Soc. Anim. Prod. 19:63–74. doi:10.1016/S0739-7240(00)00067-9.

Le Floc'h, N., C. Knudsen, T. Gidenne, L. Montagne, E. Merlot, and O. Zemb. 2014. Impact of feed restriction on health, digestion and faecal microbiota of growing pigs housed in good or poor hygiene conditions. *Animal.* 8:1632–1642. doi:10.1017/S1751731114001608.

Le Floc'h, N., D. Melchior, and C. Obléd. 2004. Modifications of protein and amino acid metabolism during inflammation and immune system activation. *Livest. Prod. Sci.* 87:37–45. doi:10.1016/j.livprodsci.2003.09.005.

Lenth, R. 2015. *Ismeans: Least-Squares Means.*

Mach, N., M. Berri, J. Estellé, F. Levenez, G. Lemonnier, C. Denis, J.-J. Leplat, C. Chevaleyre, Y. Billon, J. Doré, C. Rogel-Gaillard, and P. Lepage. 2015. Early-life establishment of the swine gut microbiome and impact on host phenotypes. *Environ. Microbiol. Rep.* 7:554–569. doi:10.1111/1758-2229.12285.

Magnusson, U., B. Wilkie, K. Artursson, and B. Mallard. 1999. Interferon-alpha and haptoglobin in pigs selectively bred for

high and low immune response and infected with *Mycoplasma hyorhinis*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 68:131–137. doi:10.1016/S0165-2427(99)00025-2.

McCracken, B. A., H. R. Gaskins, P. J. Ruwe-Kaiser, K. C. Klasing, and D. E. Jewell. 1995. Diet-Dependent and Diet-Independent Metabolic Responses Underlie Growth Stasis of Pigs at Weaning. *J. Nutr.* 125:2838–2845.

Moughan, P. J. 1999. Protein metabolism in the growing pigs. In: *A Quantitative biology of the pig*. CAB Publications. Wallingford, Oxford, UK.

Owusu-Asiedu, A., C. M. Nyachoti, S. K. Baidoo, R. R. Marquardt, and X. Yang. 2003. Response of early-weaned pigs to an enterotoxigenic *Escherichia coli* (K88) challenge when fed diets containing spray-dried porcine plasma or pea protein isolate plus egg yolk antibody1. *J. Anim. Sci.* 81:1781–1789. doi:10.2527/2003.8171781x.

Park, J. C., S. H. Lee, J. K. Hong, J. H. Cho, I. H. Kim, and S. K. Park. 2014. Effect of Dietary Supplementation of Procyanidin on Growth Performance and Immune Response in Pigs. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 27:131–139. doi:10.5713/ajas.2013.13359.

Pastorelli, H., N. Le Floc'h, E. Merlot, M. C. Meunier-Salaün, J. van Milgen, and L. Montagne. 2012. Feed restriction applied after weaning has different effects on pig performance and health

depending on the sanitary conditions. *J. Anim. Sci.* 90:4866–4875. doi:10.2527/jas.2012-5309.

Pié, S., J. P. Lallès, F. Blazy, J. Laffitte, B. Sève, and I. P. Oswald. 2004. Weaning Is Associated with an Upregulation of Expression of Inflammatory Cytokines in the Intestine of Piglets. *J. Nutr.* 134:641–647.

R Core Team. 2015. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Sauerwein, H., S. Schmitz, and S. Hiss. 2007. Effects of a dietary application of a yeast cell wall extract on innate and acquired immunity, on oxidative status and growth performance in weanling piglets and on the ileal epithelium in fattened pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 91:369–380. doi:10.1111/j.1439-0396.2006.00663.x.

Whittemore, C. T., H. M. Taylor, R. Henderson, J. D. Wood, and D. C. Brock. 1981. Chemical and dissected composition changes in weaned piglets. *Anim. Sci.* 32:203–210. doi:10.1017/S0003356100025010.

Wittish, L. M., A. P. McElroy, A. F. Harper, and M. J. Estienne. 2014. Performance and physiology of pigs administered spray-dried plasma protein during the late suckling period and transported after weaning¹. *J. Anim. Sci.* 92:4390–4399. doi:10.2527/jas.2014-7738.

Wyss, M., and R. Kaddurah-Daouk. 2000. Creatine and Creatinine Metabolism. *Physiol. Rev.* 80:1107–1213.

Table 1 : Feed composition of starter and weaner diets

| Calculated composition | Starter diet | Weaner diet |
|-------------------------------|--------------|-------------|
| Crude Protein, g/kg of DM | 186.0 | 170.4 |
| Lipids, g/kg of DM | 61.9 | 23.3 |
| Minerals, g/kg of DM | 5.84 | 5.60 |
| NDF, g/kg of DM | 112.0 | 15.42 |
| ADF, g/kg of DM | 36.4 | 55.8 |
| Starch, g/kg of DM | 338.3 | 407.3 |
| Digestible energy, Kcal/kg | 3,435 | 3,131 |
| Metabolisable energy, Kcal/kg | 3,290 | 2,991 |
| Net Energy, Kcal/kg | 2,506 | 2,201 |
| Lys, g/kg of DM | 14.00 | 11.72 |
| Thr , g/kg of DM | 9.31 | 7.89 |
| Met, g/kg of DM | 5.23 | 3.93 |

Table 2 : Effects of time to weaning (-9, -2, 5, 12, 19 days after weaning), age at weaning (21 or 28 days of age), management conditions (optimal or deteriorated conditions) on ADG, metabolic and immune variables

| Variable | P-value ¹ | | | | | |
|-------------------------|----------------------|--------------------|----------------|--------|--------|------|
| | Time (T) | Age at weaning (A) | Conditions (C) | T*A | T*C | A*C |
| NEFA | <0.001 | 0.99 | 0.95 | 0.49 | 0.76 | 0.07 |
| Glucose | <0.001 | <0.001 | 0.71 | 0.44 | 0.01 | 0.56 |
| Urea | <0.001 | 0.07 | 0.05 | <0.001 | 0.02 | 0.13 |
| Creatinine | <0.001 | <0.001 | 0.32 | <0.001 | <0.001 | 0.87 |
| Lymphocytes | <0.001 | 0.03 | 0.64 | 0.14 | 0.18 | 0.63 |
| Polymorphonuclear cells | <0.001 | 0.32 | 0.09 | 0.01 | <0.001 | 0.32 |
| IgM | <0.001 | <0.001 | 0.22 | 0.24 | <0.001 | 0.15 |
| Haptoglobin | <0.001 | 0.17 | 0.56 | 0.08 | 0.92 | 0.10 |
| IFN-alpha | <0.001 | 0.64 | 0.62 | 0.97 | 0.41 | 0.59 |
| ADG | <0.001 | 0.27 | 0.01 | <0.001 | 0.001 | 0.31 |

¹ Values are the P-values of the ANOVA's for the main effects of the model (T, A and C) and their interactions (T*A, T*C, A*C).

Table 3 : Effect of management conditions on ADG, metabolic and immunological variables from 9 days before to 19 days after weaning. Piglets were weaned in optimal conditions (OC,n=34) or deteriorated conditions (DC, n=32).

| Item | | Time to weaning (d) | | | | | SEM | P-value ¹ |
|---|----|---------------------|--------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|------|----------------------|
| | | d-9 | d-2 | d5 | d12 | d19 | | |
| NEFA, µmol/L | DC | 316 | 292 | 385 | 264 | 338 | 43 | 0.76 |
| | OC | 274 | 286 | 422 | 274 | 352 | | |
| Glucose, mg/L | DC | 1,450 ^d | 1,400 ^d | 1,071 ^c | 911 ^{ab} | 863 ^a | 35 | 0.01 |
| | OC | 1,401 ^d | 1,349 ^d | 1,063 ^c | 1,047 ^{bc} | 893 ^{ab} | | |
| Urea, mg/L | DC | 137 ^a | 116 ^a | 237 ^d | 210 ^{cd} | 164 ^{abc} | 15 | 0.02 |
| | OC | 141 ^{ab} | 127 ^a | 188 ^{bc} | 168 ^{abc} | 152 ^{abc} | | |
| Creatinine, mg/L | DC | 10.09 ^a | 11.43 ^d | 12.51 ^e | 11.49 ^{cd} | 10.42 ^{abc} | 0.27 | <0.001 |
| | OC | 10.36 ^{ab} | 11.49 ^d | 11.27 ^{cd} | 11.23 ^{bcd} | 10.61 ^{abcd} | | |
| Lymphocytes, Millions/mm ³ | DC | 6.45 | 8.61 | 7.91 | 9.94 | 12.43 | 0.55 | 0.14 |
| | OC | 7.19 | 7.99 | 7.92 | 10.38 | 13.27 | | |
| Polymorphonuclear cells, Millions/mm ³ | DC | 5.79 ^a | 5.46 ^a | 5.71 ^a | 12.94 ^c | 12.41 ^c | 0.67 | <0.001 |
| | OC | 6.25 ^a | 5.47 ^a | 5.01 ^a | 9.41 ^b | 10.59 ^{bc} | | |
| IgM, g/L | DC | 0.45 ^a | 0.76 ^{bc} | 0.93 ^c | 1.45 ^{ef} | 1.32 ^{def} | 0.10 | <0.001 |
| | OC | 0.58 ^{ab} | 0.89 ^c | 0.96 ^{cd} | 1.10 ^{cde} | 1.69 ^f | | |
| Haptoglobin, mg/dL | DC | 0.44 | 0.41 | 1.75 | 1.01 | 0.76 | 018 | 0.92 |
| | OC | 0.42 | 0.31 | 1.63 | 1.20 | 0.68 | | |
| IFN-alpha, U/mL | DC | NA | 187 | 175 | 132 | 54 | 49 | 0.41 |
| | OC | NA | 127 | 171 | 83 | 56 | | |
| ADG, g/d | | Birth to d-10 | d-9 to d-3 | d-2 to d4 | d5 to d11 | d12 to d18 | | |
| | DC | 241 ^{bcd} | 282 ^{cde} | 182 ^{ab} | 119 ^a | 276 ^{cde} | 18 | <0.001 |
| | OC | 230 ^{bcd} | 287 ^{de} | 214 ^{bc} | 212 ^{bc} | 354 ^e | | |

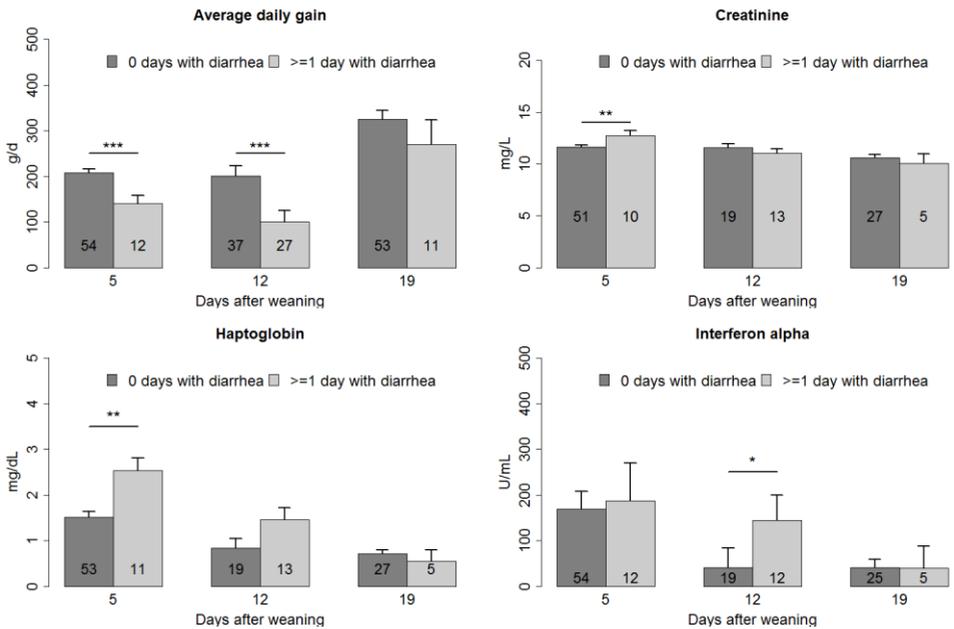
^{a,b,c,d,e} for a variable, means with different superscripts differ (P<0.05).

Table 4 : Pearson’s correlation R² coefficients between plasma concentration of metabolic and immunological variables measured 5, 12 and 19 days after weaning and ADG measured on the corresponding periods (day -2 to 4, day 5 to 11 and day 12 to 19 after weaning respectively)

| Blood variables | Date of blood variable measure and period of the corresponding ADG | | |
|-------------------------|--|-----------------|------------------|
| | Day 5 | Day 12 | Day 19 |
| | Day -2 to day 4 | Day 5 to day 11 | Day 12 to day 18 |
| NEFA | ns | ns | Ns |
| Glucose | ns | ns | ns |
| Urea | -0.26*** | ns | -0.17** |
| Creatinine | -0.19*** | ns | -0.33*** |
| Polymorphonuclear cells | ns | ns | ns |
| Lymphocytes | ns | ns | ns |
| IgM | -0.07* | ns | ns |
| Haptoglobin | ns | -0.15* | ns |
| IFN-alpha | ns | ns | ns |

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

Fig 1. Effect of diarrhea expression on ADG, metabolic and immune variables from 5 to 19 days after weaning. At each time point, means were calculated for piglets which exhibited or not diarrhea the week before. The number of animals in each group and standard error of the means are displayed on each bar. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.



Supplementary table 1.

Means of metabolic and immunological parameters and average daily gain from 9 days before to 19 days after weaning according to age at weaning (21 days of age, W21 (n=32), 28 days of age, W28 (n=34))

| | | Time to weaning (days) | | | | | SEM | p-value ¹ |
|--|-----|------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|----------------------|
| | | d-9 | d-2 | d5 | d12 | d19 | | |
| NEFA, umol/L | W21 | 267 | 291 | 428 | 281 | 334 | 44 | 0.49 |
| | W28 | 323 | 287 | 379 | 256 | 356 | | |
| Glucose, mg/L | W21 | 1,443 | 1,420 | 1,094 | 1,039 | 935 | 36 | 0.44 |
| | W28 | 1,408 | 1,329 | 1,040 | 919 | 821 | | |
| Urea, mg/L | W21 | 142 ^{abc} | 139 ^{abc} | 178 ^{bc} | 184 ^{bc} | 129 ^{abc} | 16 | <0.001 |
| | W28 | 135 ^{ab} | 104 ^a | 247 ^d | 194 ^{cd} | 187 ^{bc} | | |
| Creatinine, mg/L | W21 | 9.90 ^a | 11.00 ^b | 11.22 ^{bc} | 11.44 ^{bc} | 10.40 ^{ab} | 0.27 | <0.001 |
| | W28 | 10.56 ^{ab} | 11.92 ^{cd} | 12.56 ^d | 11.28 ^{bc} | 10.63 ^{ab} | | |
| Lymphocytes, Millions/mm ³ | W21 | 6.57 | 7.59 | 7.73 | 10.01 | 11.85 | 0.57 | 0.14 |
| | W28 | 7.07 | 9.00 | 8.10 | 10.30 | 13.85 | | |
| Neutrophiles, Millions/mm ³ | W21 | 6.32 ^a | 5.79 ^a | 4.86 ^a | 10.13 ^b | 10.53 ^b | 0.69 | 0.01 |
| | W28 | 5.72 ^a | 5.14 ^a | 5.86 ^a | 12.21 ^b | 12.48 ^b | | |
| IgM, g/L | W21 | 0.38 | 0.59 | 0.82 | 1.17 | 1.30 | 0.10 | 0.24 |
| | W28 | 0.65 | 1.06 | 1.07 | 1.39 | 1.71 | | |
| Haptoglobin, mg/dL | W21 | 0.43 | 0.31 | 1.44 | 1.25 | 0.58 | 0.18 | 0.08 |
| | W28 | 0.43 | 0.41 | 1.94 | 0.97 | 0.86 | | |
| IFNA-alpha, U/mL | W21 | NA | 176 | 181 | 122 | 66 | 49 | 0.96 |
| | W28 | NA | 139 | 164 | 94 | 44 | | |
| | | | | | | | | |
| | | Birth to d-10 | d-9 to d-3 | d-2 to d4 | d5 to d11 | d12 to d18 | | |
| ADG, g/d | W21 | 200 ^{bc} | 270 ^{de} | 226 ^{bcd} | 119 ^a | 316 ^e | 18.00 | <0.001 |
| | W28 | 264 ^{cde} | 290 ^{de} | 164 ^{ab} | 190 ^{ab} | 309 ^e | | |

^{a,b,c,d,e} for a variable, means with different superscripts differ (P<0.05).

¹ P-value of the interaction between time (T) and age at weaning (A). P-values of the complete model are displayed in Table 1.

3.3 Variables physiologiques associées à la robustesse du porcelet au sevrage

Nous avons développé dans la revue bibliographique que la robustesse du porcelet au sevrage pouvait se définir comme l'expression de performances maximales, sans dégradation de la santé quel que soit l'environnement dans lequel celui-ci est élevé. Nous avons considéré que la robustesse pouvait être approchée par la croissance après sevrage. En effet, les problèmes de santé qui surviennent chez le porcelet ont un impact sur la croissance. Ce choix résultait aussi de l'absence d'observations cliniques journalières individuelles sur les porcelets. Afin d'exprimer la performance de croissance du porcelet après le sevrage en fonction du potentiel dont il dispose effectivement au sevrage, nous avons choisi de considérer, comme indicateur de la performance des porcelets après le sevrage, le GMQ relatif (GMQR) : GMQ exprimé entre 26 et 47 jours d'âge (0 et 19 jours après sevrage) et rapporté au poids vif à 26 jours d'âge ($GMQR_{26-47} = GMQ_{26-47} / \text{Poids vif à 26 jours}$). Les deux chapitres précédents ont permis de montrer qu'au moment du sevrage en élevage, il y a une modification du métabolisme et du statut oxydant qui est associé avec la croissance et la santé des porcelets. Il s'agit désormais d'étudier les associations entre les variables physiologiques mesurées autour du sevrage et la robustesse afin

d'identifier des marqueurs candidats de la robustesse du porcelet au sevrage.

L'objectif de cette partie est donc d'étudier l'association entre les variables physiologiques mesurées avant et après sevrage et le GMQ relatif du porcelet au sevrage.

Matériel et Méthodes

Dans l'étude terrain, des porcelets mâles entiers (n=288) Piétrain x (Landrace x Large White), issus de 16 élevages commerciaux adhérents à la COOPERL, ont été sevrés à 28 jours d'âge. Les élevages ont été classés, à partir des bilans sanitaires d'élevage, en statut sanitaire dégradé (SAN-) ou élevé (SAN+). Dans chaque élevage, 2 jours avant le sevrage, 2 porcelets de poids moyen, issus de 9 portées ont été sélectionnés (partie 2.3.3).

Résultats

Le statut sanitaire de l'élevage était significativement associé avec 37 des 67 variables sanguines et zootechniques ($P < 0.05$, Tableau 1 article JRP). Le GMQR était associé au nombre de lymphocytes et de monocytes à 26 jours, à la concentration sanguine en vitamine A, acides gras libres, créatinine et immunoglobulines M et au nombre de neutrophiles à 33 jours d'âge ($P < 0.05$, Tableau 1 article JRP). Ainsi les porcelets évoluant dans un élevage SAN- montraient une plus grande activation de leur système immunitaire (davantage de

neutrophiles, basophiles, lymphocytes T4, plus forte concentration plasmatique en IgM, IL-8 et TNF-alpha), une plus grande mobilisation de leurs réserves corporelles (plus forte concentration plasmatique en urée et créatinine) et un stress oxydant plus important (plus fort index de stress oxydant, plus forte concentration plasmatique en hydroperoxydes et plus faible concentration plasmatique en vitamines E et A) après le sevrage que les porcelets SAN+. S'additionnant à l'effet du statut sanitaire, les porcelets GMQR+ montraient une moins forte mobilisation des réserves corporelles (plus faible concentration plasmatique en AGL et créatinine) et de plus fortes réserves antioxydantes (plus forte concentration plasmatique en vitamine A) après sevrage que les porcelets GMQR-. La régression linéaire du GMQR par les variables physiologiques retenait 7 des 62 variables physiologiques testées et expliquait 29% de la variance (Tableau 2 article JRP). Au final, connaissant le poids des porcelets avant le sevrage, il est possible de prédire le poids des porcelets à 47 jours d'âge à partir de variables physiologiques mesurées juste avant ou 5 jours après le sevrage (coefficient de corrélation r^2 de 0.72 avec le poids observé à 47 jours, Figure 2 article JRP).

Conclusion

- 1) Le statut sanitaire de l'élevage dans lequel sont élevés les porcelets influence fortement les concentrations de la

majorité des variables physiologiques décrivant l'immunité, le statut oxydant et le statut métabolique.

- 2) Les porcelets ayant les meilleures performances (GMQR 26-47) mobilisent moins leurs réserves corporelles et ont davantage de réserves antioxydantes 5 jours après sevrage.
- 3) Il est possible de calculer le GMQR du porcelet à partir de variables physiologiques mesurées 2 jours avant ou 5 jours après le sevrage.
- 4) Ce modèle devra être validé sur d'autres jeux de données.

Question de recherche n°2

La robustesse du porcelet au sevrage peut-elle être prédite par la mesure de variables sanguines décrivant l'état de ces différents systèmes avant le sevrage et leur réponse précoce au tout début du sevrage?

Il est possible d'associer la robustesse du porcelet au sevrage à la mesure de variables sanguines décrivant l'activation du système immunitaire, le statut oxydant et le statut métabolique du porcelet et mesurées principalement 5 jours après le sevrage.

Article

BUCHET A., MERLOT E., MORMEDE P., TERENINA E., LIEUBEAU B., MIGNOT G., HERVE J., LEBLANC MARIDOR M., LACOSTE A., SIALELLI JN., BELLOC C. 2018. “Recherche de variables physiologiques associées à la robustesse du porcelet au sevrage”. JRP. Paris. France.

Communications en congrès :

BUCHET A., BELLOC C., MERLOT E. 2017. “Looking to biological variables predicting growth during the first three weeks after weaning in pig”. EAAP. Tallinn. Estonie. Communication orale.

BUCHET A., MERLOT E., MORMEDE P., TERENINA E., LIEUBEAU B., MIGNOT G., HERVE J., LEBLANC MARIDOR M., LACOSTE A., SIALELLI JN., BELLOC C. 2018. “Recherche de variables physiologiques associées à la robustesse du porcelet au sevrage”. JRP. Paris. France. Communication orale.

Recherche de variables physiologiques associées à la robustesse du porcelet au sevrage

Arnaud BUCHET (1, 2, 3), Elodie MERLOT (1), Pierre MORMEDE (4), Elena TERENCE (4), Blandine LIEUBEAU (5), Grégoire MIGNOT (5), Julie HERVE (5), Mily LEBLANC-MARIDOR (3), Anne LACOSTE (2), Jean-Noël SIALELLI (6), Catherine BELLOC (3)

- (1) UMR PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, 35590 Saint-Gilles, France
 (2) Cooperl Arc Atlantique, BP 60238, 22403 Lamballe, France
 (3) BIOEPAR, INRA, Oniris, UBL, BP 40706, 44307 Nantes, France
 (4) Université de Toulouse INPT ENSAT, INRA, 31326 Castanet-Tolosan, France
 (5) IECM, INRA, Oniris, UBL, BP 40706, 44307 Nantes, France
 (6) SELAS Vétérinaire Hunaudaye, 22640 Plestan, France

arnaud.buchet@inra.fr

Avec la collaboration technique de Marie ALLARD, Jean-Yves AUDIART, Elodie BACOU, Raphaël COMTE, Sophie DARE, Karine HAUROGNE, Adélaïde LECORNGE, Michel LEFEBVRE, Gildas MARTIN et Françoise THOMAS.

Recherche de variables physiologiques associées à la robustesse du porcelet au sevrage

La robustesse du porcelet au sevrage peut être vue comme sa capacité à exprimer une croissance optimale sans manifester de problèmes de santé et ce quelles que soient les conditions de sevrage. L'objectif de cette étude était d'identifier des variables physiologiques mesurées autour du sevrage permettant de prédire la croissance du porcelet après sevrage. Des variables sanguines ($n=62$) décrivant l'immunité, le stress, le statut oxydant et le métabolisme ont été mesurées à 26 et 33 jours d'âge sur des porcelets ($n=288$) issus de 16 élevages commerciaux de statuts sanitaires contrastés (dégradé : SAN- ou élevé : SAN+). La robustesse a été approchée par le GMQ entre 26 et 47 jours d'âge rapporté au poids à 26 jours (GMQR 26-47). Les porcelets ont été classés par rapport à la médiane de leur élevage dans les classes de GMQR 26-47 bas (GMQR-) ou haut (GMQR+). Le statut sanitaire de l'élevage était associé avec 37 des 67 variables sanguines et zootechniques ($P < 0,05$). Ainsi les porcelets des élevages SAN- montraient une plus grande activation de leur système immunitaire, une plus grande mobilisation de leurs réserves corporelles et un stress oxydant plus important après le sevrage que les porcelets SAN+. Indépendamment de l'effet du statut sanitaire, les porcelets GMQR+ montraient une moins forte mobilisation des réserves corporelles et une plus forte concentration en vitamine A, une vitamine antioxydante, après sevrage que les porcelets GMQR-. La régression linéaire du GMQR expliquait 29% de la variance avec 7 variables. En conclusion, ce travail montre qu'il est possible de prédire partiellement le poids 19 jours après sevrage à partir d'un nombre réduit de variables physiologiques mesurées juste avant et 5 jours après le sevrage ($r^2=0,72$).

Biological markers associated with robustness of piglets at weaning

The robustness of a piglet at weaning can be seen as its ability to express optimal growth without any health problems and regardless of weaning conditions. The aim was to identify some biological markers measured around weaning that could predict growth of the piglet after weaning. Blood variables ($n=62$) describing immunity, stress, oxidative status and metabolism were measured at 26 and 33 days of age on piglets ($n=288$) from 16 commercial farms with contrasting health status (deteriorated: SAN- or good: SAN+). The robustness was approached by ADG from 26-47 days of age divided by live weight at 26 days (GMQR 26-47). Piglets were then classified according to the median of their farm in classes of low (GMQR-) or high (GMQR+) GMQR 26-47. The health status of the farm was significantly associated with 37 of 67 variables measured ($P < 0.05$). Thus, piglets reared on SAN- farms showed higher activation of the immune system, mobilization of body reserves and oxidative stress after weaning than SAN+ piglets. Independent of the effect of health status, GMQR+ piglets showed lower mobilization of body reserves and a higher concentration in vitamin A, an antioxidant vitamin, after weaning compared to those of GMQR- piglets. Linear regression of GMQR explained 29% of the variance with 7 variables. Finally, this study shows it is partly possible to predict the live weight 19 days after weaning from a reduced number of biological variables measured just before or 5 days after weaning ($r^2 = 0.72$).

INTRODUCTION

Le sevrage tel qu'il est pratiqué en élevage est un challenge pour le porcelet qui entraîne des baisses de performance et éventuellement des problèmes de santé, conduisant les éleveurs à un recours fréquent à des traitements antibiotiques. Bénéficier d'indicateurs biologiques, mesurables précocement au sevrage et associés à la robustesse de l'animal pendant les semaines critiques suivantes, permettrait par exemple d'adapter les pratiques d'élevage avant qu'un fort ralentissement de croissance ou des diarrhées ne se manifestent.

La robustesse d'un animal d'élevage est une caractéristique individuelle qui peut se définir comme la capacité à exprimer des performances zootechniques optimales sans problèmes de santé et ce quel que soit l'environnement ou les contraintes auxquels l'animal est soumis (Rauw *et al.* 1998; Theilgaard *et al.* 2007; Friggens *et al.* 2017). Dans le cas du porcelet au sevrage, la robustesse peut être vue comme la capacité du porcelet à exprimer des performances de croissance maximales sans manifester de problèmes de santé et ce quels que soient les pratiques de sevrage et le contexte sanitaire de son élevage. Il a été proposé que la robustesse d'un animal ne pouvait s'observer que dans des situations de contrainte (Friggens *et al.* 2010). En effet, dans une situation favorable, animaux robustes et non robustes devraient exprimer de bonnes performances, et il n'est alors pas possible de les différencier. Ainsi, l'identification de porcelets robustes au sevrage devrait être plus aisée dans des élevages où les conditions de sevrage

sont considérées comme difficiles (conduite non optimale, environnement thermique ou sanitaire insatisfaisant, etc).

L'objectif de cette étude est d'identifier des variables physiologiques associées à la robustesse du porcelet. Nous avons décidé d'approcher la robustesse par les performances de croissance en post sevrage. A cet effet, des suivis individuels de porcelets ont été réalisés sur le terrain dans des élevages de statuts sanitaires contrastés, où nous avons fait l'hypothèse que la robustesse des porcelets serait plus ou moins clairement exprimée selon la sévérité des contraintes environnementales. Des variables sanguines relatives au métabolisme énergétique et protéique, à l'immunité et au statut antioxydant des porcelets ont été mesurées deux jours avant et cinq jours après le sevrage. L'association de ces variables avec les performances de croissance a été étudiée.

MATERIEL ET METHODES

Dispositif expérimental

Cette étude a été réalisée dans 16 élevages naisseurs-engraisseurs adhérents de Cooper1 et selon un protocole approuvé par le Comité d'Ethique en Recherche clinique et épidémiologique Vétérinaire d'Oniris (CERVO-2016-6-V). Les élevages ont été sélectionnés selon leurs statuts sérologiques et/ou cliniques vis-à-vis du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP), de la circovirose, de la grippe, de la pleuropneumonie et de

l'iléite à *Lawsonia intracellularis* décrits dans les derniers bilans sanitaires d'élevage. Les élevages positifs (sérologie et/ou clinique) pour au moins deux agents pathogènes ont été classés en statut sanitaire dégradé (SAN-), les autres en statut sanitaire élevé (SAN+).

Des porcelets (n=288, soit n=18 par élevage), mâles entiers issus de 144 portées (n=9 par élevage) de génétique NUCLEUS Piétrain x (Landrace x Large White), ont été sélectionnés de visu à 26 jours d'âge, 2 jours avant le sevrage, en excluant les animaux a priori en mauvaise santé ou de très faible poids.

Mesures, prélèvements et analyses de laboratoires

Les porcelets ont été pesés à 26, 33 et 47 jours d'âge. Le sang a été prélevé à 26 et 33 jours d'âge dans deux tubes (Venosafe) de 10 mL contenant de l'héparine ou de l'EDTA. Des analyses sur sang frais EDTA ont été réalisées le jour même ; celles-ci incluaient la numération-formule sanguine, le phénotypage des lymphocytes par cytométrie de flux, l'analyse de la phagocytose et la production des cytokines après stimulation des cellules sanguines (dilution du sang au 1/5ème) en présence de LPS (*E. coli* O111:B4 10ng/ml) ex vivo pendant 18h avec dosage des interleukines IL-8, IL-10 et du facteur de nécrose tumorale (TNF)-alpha par Elisa (Biotechnie). Le tube contenant de l'héparine a été conservé sur de la glace jusqu'à centrifugation. Les plasmas ont ensuite été stockés à -20°C jusqu'aux dosages. Le glucose, l'urée et la créatinine ont été dosés sur plasma hépariné avec des kits

commerciaux (Thermo Scientific), les acides gras libres (AGL) sur plasma EDTA avec un kit commercial (Wako). Les hydroperoxydes et la capacité antioxydante du plasma ont été dosés sur du plasma hépariné selon des méthodes adaptées à partir de kits commerciaux (dROM et BAP, Diacron, Grosseto, Italie), comme décrit précédemment (Buchet *et al.* 2017). Tous les dosages ont été réalisés à l'aide d'un analyseur automatique (Konelab, Thermo Scientific). Les vitamines E (alpha-tocophérol) et A (rétinol) ont été dosées sur plasma héparine par HPLC sur une colonne dédiée (Chromsystems). Les immunoglobulines (Ig) G et M par ELISA selon la méthode décrite précédemment (Courret *et al.* 2009). La CRP a été dosée par ELISA à l'aide d'un kit commercial (Aviva systems biology).

Analyses statistiques

Le GMQ relatif (GMQR), exprimé entre 26 et 47 jours d'âge et rapporté au poids vif à 26 jours d'âge (GMQR 26-47 = GMQ 26-47 / Poids vif à 26 jours) a été calculé. Au sein de chaque élevage, les porcelets ont ensuite été classés dans la catégorie GMQR+ ou GMQR- selon la position de leur GMQR par rapport à la médiane de leur élevage.

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel R (R Core Team. 2015). Pour chaque variable zootechnique et sanguine mesurée (n=67), aux deux dates de mesure séparément, une analyse de variance a été réalisée avec le GMQR (GMQR- ou GMQR+), le statut sanitaire (SAN- ou SAN+) et l'interaction GMQR x SAN en variables explicatives.

Tableau 1 - Variables physiologiques sanguines décrivant les performances de croissance, l'immunité, le statut métabolique et le statut oxydant des porcelets au sein des élevages de statut sanitaire élevé (SAN+) ou dégradé (SAN-) et au sein des classes de GMQ relatif haut (GMQR+) et bas (GMQR-)¹.

| Variables mesurées ² | Valeurs moyennes par groupe | | | | Significativité statistique | | |
|---|-----------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------------|---------|------------|
| | SAN-GMQR- ¹ | SAN-GMQR+ ¹ | SAN+GMQR- ¹ | SAN+GMQR+ ¹ | SAN | GMQR | SAN x GMQR |
| Variables zootekniques : | | | | | | | |
| Poids à 26 jours (Kg) | 8,37 | 7,56 | 8,61 | 8,34 | 0,005 | 0,003 | 0,141 |
| Poids à 33 jours (Kg) | 9,42 | 9,22 | 10,33 | 10,64 | < 0,001 | 0,795 | 0,238 |
| Poids à 47 jours (Kg) | 13,70 | 14,96 | 14,39 | 16,83 | 0,002 | < 0,001 | 0,147 |
| GMQ 26-47 (g/j) | 246 | 337 | 285 | 396 | < 0,001 | < 0,001 | 0,389 |
| GMQR 26-47 (g/j/Kg) | 29,47 | 44,85 | 33,11 | 47,70 | 0,003 | < 0,001 | 0,721 |
| Variables sanguines à 26 jours : | | | | | | | |
| Hydroperoxydes (CARRU) | 535 | 494 | 554 | 530 | 0,040 | 0,080 | 0,603 |
| Index de Stress Oxydant (CARRU/μmol/L) | 0,24 | 0,22 | 0,25 | 0,23 | 0,010 | 0,140 | 0,680 |
| Acides gras libres (μmol/L) | 422 | 428 | 396 | 365 | 0,029 | 0,582 | 0,351 |
| Glucose (mg/L) | 1250 | 1204 | 1275 | 1224 | 0,278 | 0,018 | 0,907 |
| Urée (mg/L) | 136 | 132 | 153 | 157 | 0,013 | 0,990 | 0,667 |
| IgM (g/L) | 0,83 | 0,86 | 0,71 | 0,64 | 0,002 | 0,708 | 0,249 |
| Leucocytes (x 1 000/mm ³) | 13,56 | 13,87 | 11,89 | 12,15 | < 0,001 | 0,560 | 0,961 |
| Lymphocytes (x 1 000/mm ³) | 7,4 | 7,41 | 5,89 | 6,41 | < 0,001 | 0,402 | 0,382 |
| Monocytes (x 1 000/mm ³) | 0,66 | 0,63 | 0,47 | 0,44 | < 0,001 | 0,398 | 0,955 |
| Eosinophiles (x 1 000/mm ³) | 0,03 | 0,04 | 0,02 | 0,02 | 0,002 | 0,150 | 0,060 |
| Basophiles (x 1 000/mm ³) | 0,013 | 0,011 | 0,008 | 0,008 | 0,012 | 0,586 | 0,495 |
| Lymphocytes CD4+CD8- (x 1 000/mm ³) | 1,41 | 1,43 | 1,27 | 1,25 | 0,006 | 0,943 | 0,805 |
| Lymphocytes CD4+CD8+ (x 1 000/mm ³) | 0,53 | 0,44 | 0,31 | 0,33 | 0,002 | 0,836 | 0,549 |
| Lymphocytes CD4-CD8+ (x 1 000/mm ³) | 1,13 | 1,05 | 0,78 | 0,76 | < 0,001 | 0,285 | 0,136 |
| % de phagocytes parmi les cellules mononucléées | 17,19 | 17,75 | 21,52 | 22,12 | < 0,001 | 0,836 | 0,558 |
| % de phagocytes parmi les cellules polynucléées | 72,69 | 71,17 | 79,18 | 79,69 | < 0,001 | 0,755 | 0,583 |
| Variables sanguines à 33 jours : | | | | | | | |
| Capacité antioxydante (μmol/L) | 2326 | 2320 | 2167 | 2279 | 0,020 | 0,279 | 0,182 |
| Hydroperoxydes (CARRU) | 815 | 809 | 709 | 689 | < 0,001 | 0,512 | 0,725 |
| Index de Stress Oxydant (CARRU/μmol/L) | 0,36 | 0,36 | 0,33 | 0,31 | < 0,001 | 0,375 | 0,420 |
| Vitamine E (μmol/L) | 3,39 | 3,36 | 3,54 | 4,16 | 0,024 | 0,201 | 0,107 |
| Vitamine A (μmol/L) | 0,37 | 0,43 | 0,49 | 0,52 | < 0,001 | 0,016 | 0,489 |
| Acides gras libres (μmol/L) | 195 | 146 | 255 | 189 | < 0,001 | < 0,001 | 0,606 |
| Glucose (mg/L) | 943 | 944 | 1109 | 1116 | < 0,001 | 0,915 | 0,932 |
| Urée (mg/L) | 139 | 125 | 92 | 80 | < 0,001 | 0,117 | 0,916 |
| Créatinine (mg/L) | 12,27 | 11,28 | 11,30 | 10,82 | < 0,001 | < 0,001 | 0,143 |
| IgM (g/L) | 1,46 | 1,31 | 1,13 | 1,10 | < 0,001 | 0,133 | 0,338 |
| Leucocytes (x 1 000/mm ³) | 18,8 | 20,90 | 17,69 | 17,45 | < 0,001 | 0,144 | 0,070 |
| Neutrophiles (x 1 000/mm ³) | 7,24 | 8,99 | 6,81 | 6,86 | < 0,001 | 0,041 | 0,057 |
| Basophiles (x 1 000/mm ³) | 0,01 | 0,014 | 0,017 | 0,011 | 0,060 | 0,463 | 0,001 |
| Lymphocytes CD4+CD8- (x 1 000/mm ³) | 1,89 | 1,82 | 1,71 | 1,68 | 0,023 | 0,414 | 0,941 |
| Lymphocytes CD4+CD8+ (x 1 000/mm ³) | 0,73 | 0,73 | 0,54 | 0,54 | < 0,001 | 0,908 | 0,967 |
| % de phagocytes parmi les cellules polynucléées | 74,77 | 74,19 | 77,50 | 77,19 | 0,032 | 0,718 | 0,931 |
| IL-8 (pg/mL) | 285 | 215 | 122 | 133 | < 0,001 | 0,357 | 0,249 |
| TNF-alpha (pg/mL) | 111 | 146 | 69 | 68 | < 0,001 | 0,280 | 0,299 |

¹Le GMQR est le GMQ entre 26 et 47 jours d'âge rapporté au poids à 26 jours. Les animaux ont été classés en GMQR+ ou GMQR- selon leur position par rapport au GMQR médian de leur élevage.

²Soixante-sept variables physiologiques ont été mesurées. Seules les variables avec au moins un effet significatif sont présentées.

Afin de construire un modèle de prédiction du GMQR, une analyse de covariance a ensuite été réalisée pour chaque variable biologique mesurée à 26 ou à 33 jours d'âge avec le GMQR 26-47 en variable explicative. Toutes les variables physiologiques significatives ($P < 0,05$) ont été ajoutées ensemble comme variables explicatives dans une régression linéaire du GMQR 26-47. Les variables non significatives ($P > 0,05$) ont ensuite été retirées une à une jusqu'à l'obtention du modèle final. Ce modèle permet de classer les porcelets en GMQR+ ou GMQR- au sein de leur élevage. Les pourcentages de bons classements prédits par rapport au classement observé ont été comparés à l'aide d'un test du Khi2 (fonction `chisq.test`).

RESULTATS ET DISCUSSION

Effet du statut sanitaire sur les variables zootechniques et sanguines

Les porcelets issus d'élevages SAN- étaient plus légers à 26 (7,96 vs. 8,48 kg, $P < 0,01$) et à 47 jours d'âge (14,35 vs. 15,89 kg, $P < 0,01$, Tableau 1) que les porcelets issus d'élevages SAN+. De plus les porcelets SAN- ont eu un plus faible GMQ 26-47 (292 vs. 341 g/jour, $P < 0,001$) et GMQR 26-47 (37,15 vs. 40,40 g/jour/kg, $P < 0,01$). Ces résultats montrent une influence majeure du statut sanitaire de l'élevage sur les performances des porcelets en post-sevrage.

Par ailleurs, 33 variables sanguines sur 62 étaient significativement associées au statut sanitaire de l'élevage (Tableau 1).

Parmi ces variables, de nombreuses concernent l'immunité. Ainsi le nombre de cellules immunitaires (monocytes et éosinophiles à 26 jours d'âge, lymphocytes totaux, lymphocytes T4 (CD4+CD3+), neutrophiles et basophiles à 26 et 33 jours d'âge), la concentration plasmatique en IgM et la capacité des cellules à sécréter de l'IL-8 et du TNF-alpha à 33 jours d'âge étaient supérieurs pour les porcelets SAN- par rapport aux SAN+. Ceci révèle une stimulation du système immunitaire supérieure au moment du sevrage dans des élevages avec un statut sanitaire défavorable, ce qui est plutôt attendu (Petersen *et al.* 2002). Lors de l'exposition à un antigène, l'organisme met en place un ensemble de réponses, spécifiques ou non de cet antigène, se traduisant par une augmentation du nombre des cellules immunitaires circulantes, la libération de cytokines et la production d'immunoglobulines. Par exemple, la dégradation des conditions d'élevage chez le porc en croissance entraîne une réaction inflammatoire et une augmentation du nombre de neutrophiles après trois semaines de logement en conditions d'hygiène dégradées (Chatelet *et al.* 2017). Au sevrage, la plupart des réponses immunitaires du porcelet sont encore de type primaire (car il rencontre ces antigènes pour la première fois) : les immunoglobulines produites sont en majorité des IgM, et il faut environ 10 jours pour que la réponse se développe. En conséquence, une forte concentration plasmatique en IgM à 26 et 33 jours d'âge traduit une plus forte stimulation du système immunitaire des

porcelets pendant la période de lactation. En conditions expérimentales contrôlées, nous avons obtenu des résultats concordants, montrant des variations similaires des nombres de neutrophiles et des concentrations d'IgM sous l'effet de conditions détériorées chez des porcelets au sevrage (Buchet *et al.* 2016b; Buchet *et al.* 2016a).

Par ailleurs, les porcelets issus d'élevages SAN- montraient une plus forte capacité antioxydante du plasma, une plus forte concentration en hydroperoxydes, une plus faible concentration en vitamines E et A et un plus fort index de stress oxydant que les porcelets SAN+ à 33 jours d'âge. Cela traduit une dégradation plus forte du statut oxydant du porcelet après le sevrage. A ce stade, les porcelets subissent un stress oxydant caractérisé par une augmentation des produits d'oxydation et une diminution des réserves antioxydantes dans le sang (Buchet *et al.* 2017). Par ailleurs, la détérioration des conditions de sevrage et les diarrhées entraînent une détérioration du statut oxydant (Buchet *et al.* 2017). La capacité antioxydante d'un individu résulte de l'action de molécules antioxydantes exogènes telles que les vitamines E et A et de molécules endogènes (superoxyde dismutase, catalase ou glutathion). Lorsqu'un individu est soumis à davantage d'attaques radicalaires, il utilise les molécules antioxydantes exogènes et augmente sa production de molécules antioxydantes endogènes (Trachootham *et al.* 2008). En conséquence, nous pouvons faire l'hypothèse que la plus

forte capacité antioxydante chez les animaux SAN- à 33 jours d'âge est le reflet de davantage de stress oxydatif pendant la phase de lactation.

De plus, les animaux issus d'élevages SAN- avaient une plus forte concentration plasmatique en AGL et urée à 26 jours d'âge que les porcelets issus d'élevages SAN+. A 33 jours d'âge, ils avaient une plus faible concentration plasmatique en AGL et glucose et une plus forte concentration en urée et créatinine. Ces variables traduisent l'état de la mobilisation énergétique et protéique après le sevrage qui est dépendant de la quantité de nutriments disponibles et des besoins pour l'entretien et la croissance de l'animal. Au sevrage, l'ingestion diminue et entraîne une mobilisation des réserves corporelles (Le Dividich et Sève. 2000). Les réserves lipidiques sont d'abord mobilisées puis les protéines musculaires (Sève *et al.* 1986). Les plus fortes concentrations plasmatiques en créatinine et en urée chez les porcelets SAN- après le sevrage pourraient indiquer une mobilisation protéique musculaire plus importante, venant peut-être compenser une mobilisation lipidique insuffisante chez ces animaux. De plus, nous avons montré que le système immunitaire des porcelets SAN- était plus activé que celui des SAN+. Or la réaction inflammatoire peut générer du catabolisme protéique (Le Floc'h *et al.* 2004), ce qui pourrait aussi expliquer la plus forte mobilisation protéique chez les porcelets SAN-.

Effet de la classe de GMQR 26-47 intra-élevage sur les variables zootechniques et sanguines

Dans cette étude, nous avons considéré que la capacité d'adaptation d'un porcelet au sevrage pouvait être évaluée par ses performances de croissance en début de post-sevrage. Or dans l'étude présente, le GMQ mesuré entre 26 et 47 jours d'âge était corrélé au poids à 26 jours d'âge ($r^2=0,40$). L'influence du poids de sevrage a aussi été montrée sur la croissance jusqu'à l'abattage dans plusieurs études (Bruininx *et al.* 2001; Quiniou *et al.* 2002; Paredes *et al.* 2012). Ceci reflète le fait que le GMQ après le sevrage résulte non seulement des capacités réelles d'adaptation du porcelet au sevrage mais aussi des conditions de déroulement de la gestation et de la lactation (conduisant au poids de sevrage). Aussi, pour exprimer la performance de croissance des porcelets en fonction du potentiel dont ils disposaient au jour du sevrage, en s'affranchissant au maximum de l'influence du poids au sevrage, nous avons choisi de considérer le GMQ relatif (GMQR), exprimé entre 26 et 47 jours d'âge et rapporté au poids vif à 26 jours d'âge.

Indépendamment du statut sanitaire de l'élevage, les porcelets GMQR+, ayant un GMQR 26-47 supérieur à la médiane au sein de leur élevage, étaient plus légers à 26 jours (7,95 vs. 8,49 kg, $P < 0,01$) mais plus lourds à 47 jours (15,95 vs. 14,30 kg, $P < 0,01$) que les porcelets GMQR- (Tableau 1). De plus, les porcelets GMQR+ avaient une plus faible concentration plasmatique en glucose à 26 jours d'âge (1207 vs. 1259 mg/L, $P <$

0,05), une concentration plus forte en vitamine A (0,48 vs. 0,43 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0,05$), plus faible en AGL (167 vs. 225 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0,001$), créatinine (11,05 vs. 11,79 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0,001$) et un plus grand nombre de neutrophiles (7,93 vs. 7,03, $P < 0,05$) à 33 jours d'âge que les porcelets GMQR-. Cela signifie que, indépendamment du statut sanitaire, les animaux qui mobilisaient le moins leurs réserves corporelles, probablement grâce à un niveau d'ingestion plus élevé, avaient les meilleurs GMQR 26-47. De plus, les GMQR+ avaient une concentration plasmatique supérieure en vitamine A dans le plasma après le sevrage, peut-être parce qu'ils ont subi moins de stress oxydant au moment du sevrage et / ou ont eu un apport d'antioxydants alimentaires supérieur grâce à leur meilleur niveau d'ingestion après sevrage. Enfin le nombre de neutrophiles à 33 jours d'âge n'était supérieur pour les GMQR+ que dans les élevages SAN- (interaction SAN x GMQR 26-47, $P < 0,1$). Les neutrophiles sont des cellules impliquées dans la réponse immunitaire innée. Ainsi, en élevage SAN-, il semble que les animaux ayant la meilleure croissance avaient une capacité à développer une réponse immunitaire de plus forte amplitude.

Construction d'un modèle de prédiction du GMQR 26-47

Nous avons montré avec la précédente analyse que les variables physiologiques associées à l'immunité, au métabolisme et au statut oxydant étaient différentes en fonction du statut sanitaire de l'élevage et que certaines d'entre elles étaient également différentes en

fonction du GMQR 26-47. Nous avons construit une régression linéaire afin de prédire le GMQR 26-47 à partir des variables physiologiques étudiées dans la partie précédente. Des modèles avec le GMQR 26-47 en variable réponse et une variable biologique en variable expliquée ont été construits puis toutes les variables significatives ont été incluses dans une unique régression linéaire du GMQR 26-47. Les variables non significatives ont été enlevées une à une pour arriver au modèle final présenté dans le tableau 2 et permettant d'expliquer 29% de la variance du GMQR 26-47.

Tableau 2 - Coefficients de régression et pourcentage de variance expliquée par les variables physiologiques sanguines retenues dans le modèle final d'analyse de variance du GMQR 26-47

| Variables | Coefficient | Variance expliquée |
|---------------------------|-------------|--------------------|
| Intercepte | 52,05 | |
| Nb de lymphocytes à 26 j | 1,34 | 5% |
| Nb de monocytes à 26 j | -8,74 | 4% |
| Nb de neutrophiles à 33 j | 0,68 | 4% |
| IgM à 33 j | -4,7 | 4% |
| Vitamine A à 33 j | 15,07 | 4% |
| Acides gras libres à 33 j | -0,011 | 2% |
| Créatinine à 33 j | -1,89 | 7% |
| Résidus | | 71% |

L'analyse effectuée dans la première partie nous permet d'affirmer que les 7 variables de ce modèle sont fortement associées au statut sanitaire de l'élevage. En conséquence, ce modèle de prédiction du GMQR 26-47 intègre des variables qui ne sont pas indépendantes du statut sanitaire de l'élevage. De plus 4 de ces variables (neutrophiles, vitamine A, AGL et créatinine à 33 jours)

sont associées également à la classe de GMQR 26-47, ce qui permet de prédire partiellement le potentiel de croissance non lié au statut sanitaire de l'élevage.

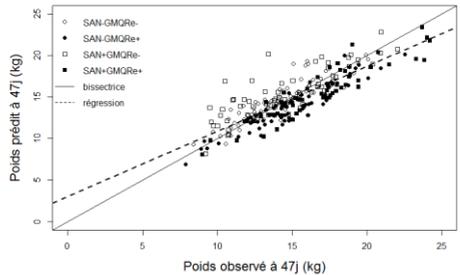


Figure 2 - Poids vifs à 47 jours d'âge calculé à partir du GMQR 26-47 prédit par le modèle et du poids vif observé à 26 jours d'âge, présenté en fonction du poids vif réel observé à 47 jours d'âge

Nous pouvons ainsi prédire le poids vif à 47 jours d'âge, calculé à partir du GMQR 26-47 estimé et du poids vif mesuré à 26 jours d'âge. La corrélation de la prédiction avec le poids à 47 jours d'âge observé est présentée en Figure 2 ($r^2 = 0,72$).

Nous avons décidé d'approcher dans cette étude la robustesse du porcelet au sevrage par le GMQR 26-47. Nous avons proposé de définir les individus robustes comme ceux qui, au sein de chaque élevage, ont un GMQR 26-47 au-dessus de la médiane et les non robustes comme ceux qui ont un GMQR 26-47 en dessous. Le tableau 3 montre que la classe d'appartenance prédite (GMQR+ ou GMQR-) est correcte dans 68% des cas. La proportion d'animaux bien classés s'étend de 10/18 à 16/18 animaux selon les élevages. Par ailleurs,

la prédiction n'est pas significativement différente entre les élevages SAN- et les élevages SAN+ ($P > 0,05$).

Tableau 3 - Nombre de porcs affectés correctement aux classes GMQR+ ou GMQR- grâce au modèle linéaire de prédiction du GMQR en comparaison au classement obtenu à partir du GMQR 26-47 réel observé (18 porcs par élevage).

| Statut sanitaire | Elevage | Nombre de porcs bien classés ¹ (/18) |
|------------------|------------|---|
| SAN- | Elevage 1 | 12 |
| | Elevage 2 | 13 |
| | Elevage 3 | 14 |
| | Elevage 4 | 10 |
| | Elevage 5 | 16 |
| | Elevage 6 | 13 |
| | Elevage 7 | 12 |
| | Elevage 8 | 12 |
| SAN- | | 72% |
| SAN+ | Elevage 9 | 10 |
| | Elevage 10 | 9 |
| | Elevage 11 | 12 |
| | Elevage 12 | 12 |
| | Elevage 13 | 10 |
| | Elevage 14 | 12 |
| | Elevage 15 | 12 |
| | Elevage 16 | 14 |
| SAN+ | | 64% |
| Total | | 68% |

¹ Les porcs ont été classés en GMQR+ ou GMQR- selon la position de leur GMQR par rapport à la médiane de leur élevage.

CONCLUSION

En conclusion, les variables sanguines mesurées autour du sevrage sont

fortement associées au statut sanitaire de l'élevage. Les animaux élevés dans un élevage à statut sanitaire dégradé ont une plus forte activité de leur système immunitaire, mobilisent plus leurs réserves corporelles et ont davantage de stress oxydant. Certaines variables décrivent néanmoins également le potentiel de croissance en plus du statut sanitaire. Les animaux ayant un fort GMQ relatif entre 26 et 47 jours mobilisent moins de réserves corporelles et ont davantage de vitamine A. Il est ainsi possible de proposer un modèle associant le GMQ relatif du porcelet sur les 20 jours suivant le sevrage et des variables sanguines concernant les réserves antioxydantes, la mobilisation des réserves énergétiques et protéiques et l'activation du système immunitaire. Si nous considérons la robustesse comme l'appartenance à une classe de fort GMQR au sein de chaque élevage, le modèle classe bien les individus dans 68% des cas. La précision du classement de la robustesse du porcelet au sein de chaque élevage pourrait probablement être meilleure, notamment grâce à une caractérisation fine des événements de santé au moment du sevrage. Dans tous les cas, ce modèle devra être précisé sur une autre cohorte d'animaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bruininx E.M., van der Peet-Schwering C.M., Schrama J.W., Vereijken P.F., Vesseur P.C., Everts H., den Hartog L.A., Beynen A.C., 2001. Individually measured feed intake characteristics and growth performance of group-housed weanling pigs: effects of sex, initial body weight, and body weight distribution within groups. *J. Anim. Sci.*, 79, 301-308.

- Buchet A., Belloc C., Le Floc'h N., Merlot E., 2016. Effects of weaning conditions on metabolic parameters, growth and health of piglets. In 67th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, p 677. Belfast, UK.
- Buchet A., Belloc C., Leblanc-Maridor M., Merlot E., 2017. Effects of age and weaning conditions on blood indicators of oxidative status in pigs. PLOS ONE, 12 (5), e0178487.
- Buchet A., Belloc C., Merlot E., 2016. Effects of weaning conditions on immune parameters of piglets. In 67th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, p 317. Belfast, UK.
- Chatelet A., Gondret F., Merlot E., Gilbert H., Friggens N.C., Le Floc'h N., 2017. Impact of hygiene of housing conditions on performance and health of two pig genetic lines divergent for residual feed intake. *Animal*, 1-9.
- Couret D., Jamin A., Kuntz-Simon G., Prunier A., Merlot E., 2009. Maternal stress during late gestation has moderate but long-lasting effects on the immune system of the piglets. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 131, 17-24.
- Friggens N.C., Blanc F., Berry D.P., Puillet L., 2017. Review: Deciphering animal robustness. A synthesis to facilitate its use in livestock breeding and management. *Animal*, 1-15.
- Friggens N.C., Sauvant D., Martin O., 2010. Vers des définitions opérationnelles de la robustesse s'appuyant sur des faits biologiques: l'exemple de la nutrition. *INRA Prod Anim*, 23, 43-52.
- Le Didovich J., Sève B., 2000. Effects of underfeeding during the weaning period on growth, metabolism, and hormonal adjustments in the piglet. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 19, 63-74.
- Le Floc'h N., Melchior D., Obléd C., 2004. Modifications of protein and amino acid metabolism during inflammation and immune system activation. *Livest. Prod. Sci.*, 87, 37-45.
- Paredes S.P., Jansman A.J.M., Verstegen M.W.A., Awati A., Buist W., Den hartog L.A., Van hees H.M.J., Quiniou N., Hendriks W.H., Gerrits W.J.J., 2012. Analysis of factors to predict piglet body weight at the end of the nursery phase1. *J Anim Sci*, 90, 3243-3251.
- Petersen H.H., Ersbøll A.K., Jensen C.S., Nielsen J.P., 2002. Serum-haptoglobin concentration in Danish slaughter pigs of different health status. *Prev. Vet. Med.*, 54, 325-335.
- Quiniou N., Dagorn J., Gaudré D., 2002. Variation of piglets' birth weight and consequences on subsequent performance. *Livest. Prod. Sci.*, 78, 63-70.
- R Core Team, 2015. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria,
- Rauw W.M., Kanis E., Noordhuizen-Stassen E., Grommers F., 1998. Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. *Livest. Prod. Sci.*, 56, 15-33.
- Seve B., Reeds P., Fuller M., Cadenhead A., 1986. Protein synthesis and retention in some tissues of the young pig as influenced by dietary protein intake after early-weaning. Possible connection to the energy metabolism. *Reprod. Nutr. Dév.*, 26, 849-861.
- Theilgaard P., Sánchez J.P., Pascual J.J., Berg P., Friggens N.C., Baselga M., 2007. Late reproductive senescence in a rabbit line hyper selected for reproductive longevity, and its association with body reserves. *Genet. Sel. Evol.*, 39, 207.
- Trachootham D., Lu W., Ogasawara M.A., Valle N.R.-D., Huang P., 2008. Redox Regulation of Cell Survival. *Antioxid. Redox Signal.*, 10, 1343-1374.

4 DISCUSSION GENERALE

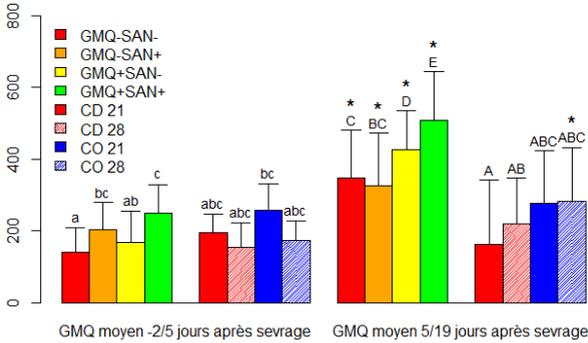


Figure 15 : Evolution du GMQ moyen des porcelets dans les études terrain (16 élevages commerciaux, sevrage à 28 jours d'âge, moyenne par catégorie d'élevage, n=72 par catégorie, GMQ- : GMQ 8-30kg faible, GMQ+ : GMQ 8-30kg fort, SAN- : statut sanitaire défavorable, SAN+ : statut sanitaire favorable) et en installation expérimentale (sevrage à 21 ou 28 jours d'âge, moyenne par âge au sevrage et conditions de sevrage, CD : conditions détériorées, CO : conditions optimales). abc/ABC: des lettres différentes montrent des GMQ moyens différents au sein d'une même période (P<0.05). * : GMQ moyen 5 à 19j différent du GMQ moyens -2 à 5j pour un même groupe.

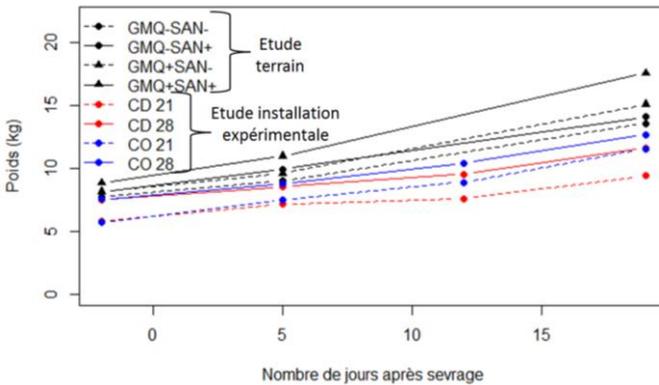


Figure 16 : Evolution du poids vif des porcelets dans les études terrain (16 élevages commerciaux, sevrage à 28 jours d'âge, moyenne par catégorie d'élevage, n=72 par catégorie, GMQ- : GMQ 8-30 kg faible, GMQ+ : GMQ 8-30 kg fort, SAN- : statut sanitaire défavorable, SAN+ : statut sanitaire favorable) et en installation expérimentale (sevrage à 21 ou 28 jours d'âge, moyenne par âge au sevrage et conditions de sevrage, CD : conditions détériorées, CO : conditions optimales)

Au cours de ce travail de thèse, nous avons pour objectifs 1) d'identifier les réponses physiologiques associées à la robustesse du porcelet au sevrage et 2) de prédire par la mesure de variables sanguines décrivant ces réponses et mesurées avant ou immédiatement après le sevrage la robustesse du porcelet. Pour cela nous avons mis en place deux études exploitant la complémentarité entre installation expérimentale, permettant un contrôle de certains facteurs d'élevage, et terrain, permettant d'explorer la variabilité des conditions d'élevage.

4.1 Dégradation des performances et de la santé des porcelets sevrés en environnement défavorable

Dans les deux études, nous avons observé des porcelets dans des environnements variables (du plus favorable au plus défavorable) que nous avons créés (étude en installation expérimentale) ou choisis (étude terrain). Nous allons montrer dans cette partie l'effet de la dégradation de l'environnement sur les performances et la santé des porcelets après le sevrage.

4.1.1 Dégradation des performances en environnement défavorable

4.1.1.1 Dégradation du GMQ des porcelets des conditions dégradées dans l'étude en installation expérimentale

Le GMQ mesuré entre 5 et 11 jours après le sevrage était plus faible chez les animaux des conditions détériorées que ceux des conditions optimales (Tableau 3, Article JAS). Les études utilisant un modèle de dégradation des conditions d'élevage comparable ont aussi rapporté un plus faible GMQ pour les porcelets élevés en cages individuelles en conditions détériorées après le sevrage que pour ceux élevés en conditions optimales (Le Floc'h *et al.* 2006; Pastorelli *et al.* 2012c; Pastorelli *et al.* 2012b).

4.1.1.2 Dégradation du GMQ des porcelets issus des élevages SAN- de l'étude terrain

Le GMQ mesuré entre 26 et 47 jours d'âge chez les porcelets issus des élevages SAN- était inférieur à celui mesuré chez les porcelets issus des élevages SAN+ ce qui confirme un effet du statut sanitaire défavorable de l'élevage sur les performances. En effet, les animaux issus des élevages GMQ- avaient un plus faible GMQ entre 5 et 19 jours après le sevrage que les porcelets issus des élevages

GMQ+ (Figure 15, $P < 0.05$) ce qui était attendu. Au-delà du statut sanitaire, nous avons également sélectionné des élevages avec des performances moyennes en post-sevrage contrastées. Cependant, les données dont nous disposons pour le GMQ 8-30kg moyen des élevages provenaient de la Gestion Technique d'Élevage et nous savions que ce GMQ 8-30 kg était bien souvent une estimation parce que peu d'animaux sont réellement pesés au sevrage et au transfert en engraissement. Par conséquent, ces résultats nous permettent de valider notre classement selon les performances moyennes en post-sevrage.

4.1.1.3 Comparaison des performances entre l'étude en installation expérimentale et l'étude terrain

Nous pouvons faire l'hypothèse que les plus faibles GMQ observés entre 1 et 3 semaines après sevrage dans l'étude en installation expérimentale par rapport à l'étude terrain sont en partie dus au plus faible poids de sevrage de ces porcelets. En effet, dans l'étude en installation expérimentale, le poids de sevrage des porcelets sevrés à 28 jours d'âge était inférieur à la moyenne des poids de sevrage observés dans l'étude terrain (7,52 vs 8,21, $P < 0,05$, Figure 16 et Tableau 5). Or, plusieurs études ont montré que le poids au sevrage influençait le GMQ entre 27 et 63 jours d'âge

DISCUSSION GENERALE

Tableau 5 : Résultats zootechniques et relevés de santé des études terrain et en installation expérimentale.

| | Etude terrain | Etude installation expérimentale | | | |
|--|---------------|----------------------------------|-------------|-----------|-------------|
| Age au sevrage (jours) | 28 | 28 | 28 | 21 | 21 |
| Conditions d'élevages | NA | Optimales | Détériorées | Optimales | Détériorées |
| N | 288 | 16 | 16 | 16 | 16 |
| Poids 2 jours avant sevrage | 8.21 | 7.55 | 7.48 | 5.73 | 5.77 |
| Poids 5 jours après sevrage | 9.89 | 8.77 | 8.57 | 7.53 | 7.13 |
| Poids 19 jours après sevrage | 15.12 | 12.71 | 11.62 | 11.57 | 9.41 |
| Nombre moyen de porcelet par portées d'origine 2 jours avant sevrage | 11.33 | 11.33 | 11.19 | 10.50 | 10.87 |
| Poids moyen de la portée 2 jours avant sevrage | 7.55 | 7.27 | | 6.32 | |
| GMQ -2/5 j | 190 | 174 | 155 | 256 | 195 |
| GMQ 5/19 j | 402 | 281 | 268 | 275 | 162 |
| GMQR -2/5 j | 23.6 | 24.1 | 20.8 | 45.2 | 34.6 |
| GMQR 5/19 j | 40.5 | 32.8 | 26.0 | 35.8 | 22.6 |
| % d'animaux ayant reçu au moins un traitement antibiotique entre 0 et 19 jours après sevrage | 52 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| % d'animaux ayant eu au moins 1 jour avec diarrhée entre 0 et 5 jours après sevrage | NA | 17 | 19 | 6 | 31 |
| % d'animaux ayant eu de la diarrhée le 5 ^{ème} jour après sevrage | 6 | 17 | 12 | 6 | 25 |
| % d'animaux ayant eu au moins 1 jour avec diarrhée entre 0 et 19 jours après sevrage | NA | 28 | 63 | 63 | 69 |
| % d'animaux ayant eu de la diarrhée le 19 ^{ème} jour après sevrage | 10 | 0 | 12 | 6 | 6 |
| Nombre moyen de jours avec diarrhées entre 0 et 19 jours après sevrage pour les animaux ayant eu au moins un jour de diarrhées | NA | 1.4 | 1.7 | 1.3 | 3.0 |

(Quiniou *et al.* 2002), ou entre 27 et 61 jours d'âge (Bruininx *et al.* 2001). Dans cette dernière étude, il n'y a un effet significatif du poids de sevrage sur le GMQ qu'entre 40 et 61 jours d'âge mais pas sur le début de la période de post-sevrage entre 27 et 40 jours d'âge suggérant ainsi un effet d'autant plus important avec l'âge (Bruininx *et al.* 2001). Dans les deux études, nous avons pour objectif de sélectionner des porcelets de poids moyen au sein de chaque portée. Or, le poids moyen de portée était légèrement supérieur dans l'étude terrain par rapport à l'étude en installation expérimentale (7,55 vs 7,27 kg, $P < 0,1$, Tableau 5). D'autre part, dans l'étude terrain, il s'avère que nous avons sélectionné des individus plus lourds que le poids moyen de leur portée (8,21 vs 7,55, $P < 0,001$).

Enfin, hormis ces différences de poids de sevrage, les problèmes cliniques observés durant la période de post-sevrage pourraient contribuer à expliquer les différences de GMQ observées dans nos deux études. En accord avec la littérature, les problèmes de santé observés sur les animaux expérimentaux de nos deux études ont été majoritairement des diarrhées (Zimmerman *et al.* 2012). Par ailleurs, nous avons montré dans cette thèse une réduction de GMQ en post-sevrage pour les animaux ayant eu de la diarrhée (Figure 1, Article JAS). Ceci est en accord avec les études conduites sur le

terrain (Madec *et al.* 1998; Jensen *et al.* 2017) ou en installation expérimentale (Montagne *et al.* 2012; Pastorelli *et al.* 2012c) qui montraient également que les diarrhées étaient associées à des plus faibles GMQ en phase de post sevrage.

4.1.2 Dégradation de la santé des porcelets en environnement défavorable

4.1.2.1 Dégradation de la santé dans l'étude en installation expérimentale

4.1.2.1.1 Expression des diarrhées selon les conditions de sevrage

Dans l'étude en installation expérimentale, nous avons observé davantage de diarrhées et un plus faible GMQ entre 5 et 19 jours après sevrage en conditions détériorées qu'en conditions optimales (Tableau 5). Le modèle de détérioration des conditions sanitaires d'élevage a été initialement développé pour stimuler une réponse immunitaire chez les porcelets sans avoir recours à l'inoculation par un agent infectieux (Le Floc'h *et al.* 2006). De plus, il s'avère qu'il permet d'induire davantage de diarrhées (Montagne *et al.* 2012; Pastorelli *et al.* 2012c; Pastorelli *et al.* 2012b). Dans notre étude, nous avons amplifié ce modèle par un stress thermique au sevrage, une augmentation de la densité animale et un mélange des animaux une

semaine après le sevrage. Ainsi, nous avons montré uniquement entre 5 et 11 jours après le sevrage, que le nombre de porcelets ayant eu au moins un jour de diarrhée était plus élevé en conditions détériorées qu'en conditions optimales (56% vs 30%, $P < 0,05$). Par ailleurs, les porcelets sevrés en conditions détériorées ont eu davantage de jours de diarrhées entre 0 et 19 jours après le sevrage qu'en conditions optimales (1,56 vs 0,74 jours, $P < 0,01$). Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature. En effet, dans les mêmes installations expérimentales, sur des porcelets sevrés à 28 jours d'âge mais logés en cases individuelles, des porcelets élevés en conditions détériorées avaient eu davantage de diarrhées qu'en conditions optimales (42% vs 29%) au cours des 5 jours suivant le sevrage (Montagne *et al.* 2012).

4.1.2.1.2 Expression différentielle des diarrhées entre les porcelets sevrés à 21 et 28 jours d'âge

L'étude en installation expérimentale permet de confirmer qu'en plus des conditions environnementales, l'âge au sevrage est un facteur important pour l'expression des diarrhées. En effet, le pourcentage de porcelets sevrés à 21 jours d'âge et ayant eu au moins un jour de diarrhée entre 5 et 11 jours après sevrage est plus grand que pour les porcelets sevrés à 28 jours d'âge (Annexe 11). De plus, entre

0 et 19 jours après sevrage, les porcelets sevrés à 21 jours d'âge ont eu en moyenne plus de jours de diarrhées que ceux sevrés à 28 jours d'âge (Article PLOS One). Ceci suggère un effet de l'âge au sevrage sur l'expression de diarrhées. Dans une étude réalisée dans 106 élevages, le sevrage à 21 jours d'âge a été identifié comme facteur de risque d'expression des diarrhées par rapport à un sevrage à 28 jours d'âge (Madec *et al.* 1998). En effet, la susceptibilité aux infections des porcelets sevrés à 21 jours d'âge est probablement plus grande que celle des porcelets sevrés à 28 jours d'âge (Wagstrom *et al.* 2000). Le système immunitaire, en particulier au niveau intestinal, n'est pas aussi développé à 21 qu'à 28 jours d'âge. Il se structure progressivement de la naissance jusqu'à sept semaines d'âge où son organisation atteint celle d'un animal mature (Stokes *et al.* 2004). De plus, la perte de l'intégrité de la barrière intestinale liée au sevrage est plus prononcée chez des porcelets sevrés à 18 jours d'âge par rapport à des porcelets sevrés à 28 jours d'âge (Smith *et al.* 2010). Or, une association entre la perte de l'intégrité de la barrière intestinale, via une diminution de l'expression des gènes codant pour les protéines des jonctions serrées, et l'expression de diarrhées a été suggérée sur des porcelets de 8 kg ayant été inoculés oralement par des *E. coli* entérotoxigènes (Gao *et al.* 2013).

4.1.2.2 Santé des porcelets sevrés dans l'étude terrain

4.1.2.2.1 Facteurs expliquant le faible nombre de jours où les diarrhées ont été observées

L'observation des diarrhées dans l'étude terrain a été effectuée quotidiennement et de façon individuelle par 10 éleveurs sur 16. Nonobstant, nous avons décidé de ne retenir que les observations des diarrhées réalisées lors des visites à 5 et 19 jours après sevrage. En effet, nous avons détecté des diarrhées chez des porcelets lors de nos visites alors que, le même jour, l'éleveur n'avait parfois pas observé de diarrhées sur ces mêmes animaux. Nous pouvons tenter d'expliquer cette différence d'observation. En effet, nous avons souhaité réaliser cette étude dans plusieurs élevages commerciaux afin d'augmenter la diversité des animaux échantillonnés. Aussi, les élevages ont été sélectionnés sur des caractéristiques de statut sanitaire et de performances moyennes mais pas sur l'engagement des éleveurs. Afin de faciliter le travail d'observation des éleveurs, nous avons rassemblé les animaux expérimentaux, identifiés individuellement à l'aide de grandes boucles, dans une même case de post-sevrage, et nous avons mis à disposition de l'éleveur un dispositif d'enregistrement en lien avec une interface web (IPC, Zoetis). Cependant, ces observations se rajoutaient au travail quotidien de

l'éleveur. Nous ne pouvons donc pas exclure que les éleveurs n'aient pas eu suffisamment de temps à consacrer à la détection de signes cliniques. Par ailleurs, l'observation des diarrhées ayant été faite par les éleveurs, ceci peut impliquer un biais lié à l'observateur dans la caractérisation des diarrhées, celui-ci étant différent dans chaque élevage. Nous aurions pu mettre en place un système de scoring des diarrhées tel qu'il en existe dans la littérature (Pedersen *et al.* 2011; Pedersen et Toft. 2011) avec une formation commune des observateurs de chaque élevage. Néanmoins, ce sont des méthodes qui demandent du temps de formation et d'observation, ce qui est difficilement applicable en élevage. Enfin, les éleveurs ont observé les diarrhées sans manipuler individuellement chaque animal comme nous l'avons fait lors de l'étude en installation expérimentale. A l'inverse, les observations cliniques effectuées le 5^{ème} et le 19^{ème} jour après sevrage, lors de nos visites, l'ont été dans les mêmes conditions que pour l'étude en installation expérimentale : mêmes observateurs, avec une manipulation individuelle des animaux et une prise de température corporelle qui facilitait la défécation des animaux et in fine l'observation des fèces.

4.1.2.2 Etude du lien entre les diarrhées observées le 5^{ème} jour après le sevrage et l'utilisation d'antibiotiques dans l'étude terrain

Peu de diarrhées ont été observées le 5^{ème} jour après sevrage dans l'étude terrain (Tableau 5). En effet, le pourcentage d'animaux ayant eu des diarrhées le 5^{ème} jour après le sevrage était de 6% dans l'étude terrain contre 15% dans l'étude en installation expérimentale. Nous pouvons faire l'hypothèse que les traitements antibiotiques ont réduit l'occurrence des diarrhées dans les élevages de l'étude terrain. En effet, alors qu'aucun porcelet de l'étude en installation expérimentale n'a reçu de traitement antibiotique, près de la moitié des individus, issus de neuf élevages, a reçu un traitement antibiotique dans l'étude terrain (Tableau 5). Ces traitements étaient presque exclusivement collectifs, administrés dans l'eau, dans l'aliment ou par injection (Figure 17). Ainsi, le 5^{ème} jour après le sevrage, des porcelets de six élevages recevaient des antibiotiques à visée digestive, dans l'aliment 1^{er} âge, avec notamment pour spectre les *E. coli*. Ainsi, sur les seize porcelets qui ont été observés avec une diarrhée le 5^{ème} jour après le sevrage, seulement deux l'ont été dans des élevages où des antibiotiques étaient administrés.

DISCUSSION GENERALE

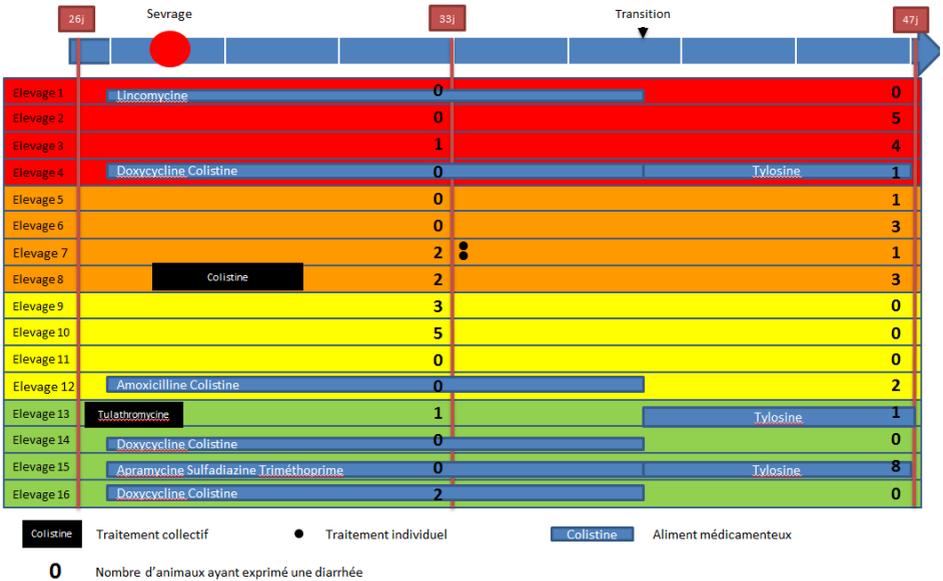


Figure 17 : Traitements antibiotiques administrés entre 26 et 47 jours d'âge et diarrhées observées à 33 et 47 jours d'âge chez les porcelets de l'étude terrain (n=288 porcelets, n=16 élevages). La couleur des lignes correspond à la catégorie d'élevage (rouge : GMQ-SAN-, orange : GMQ-SAN+, jaune : GMQ+SAN- et vert : GMQ+SAN+ ; GMQ- : GMQ 8-30 kg faible, GMQ+ : GMQ 8-30 kg fort, SAN- : statut sanitaire défavorable, SAN+ : statut sanitaire favorable)

4.1.2.2.3 Utilisation des antibiotiques par les élevages GMQ+SAN+ de l'étude terrain

Parmi les six élevages où des antibiotiques ont été administrés le 5^{ème} jour après le sevrage, trois étaient des élevages GMQ+SAN+ qui, dans notre étude, ont les meilleures performances moyennes en post-sevrage et aussi le statut sanitaire le plus favorable. A priori, compte tenu de leur statut sanitaire favorable, ces élevages ne devraient pas être ceux qui ont le plus recours aux antibiotiques. La qualification du statut sanitaire de l'élevage, telle que nous l'avons faite, semble bien représenter la réalité du statut sanitaire des animaux. En effet, la détermination du statut sanitaire des élevages, vis-à-vis de cinq maladies (SDRP, circovirose, actinobacillose à *Actinobacillus pleuropneumoniae*, grippe et iléite à *Lawsonia intracellularis*), a été faite sur la base des résultats d'analyses sérologiques, des observations cliniques et des protocoles vaccinaux. Or, ces documents n'étaient pas uniformément renseignés. Nous avons donc effectué des analyses sérologiques individuelles des porcelets vis-à-vis du SDRP, de la grippe, de l'actinobacillose à *Actinobacillus pleuropneumoniae* et de la circovirose. Les données n'ont pas été présentées dans ce manuscrit car leur analyse n'est pas terminée. Cependant, les premiers résultats confirment le classement que nous avons fait sur la base du bilan

sanitaire d'élevage. Par contre, ce statut sanitaire ne prend pas en compte les troubles digestifs rencontrés en début de post-sevrage dans la mesure où il ne prend pas en compte de maladies induisant des troubles digestifs en début de post-sevrage. Par conséquent, malgré leur statut sanitaire favorable, nous ne pouvons pas exclure que ces élevages aient eu par le passé des problèmes digestifs récurrents justifiant l'utilisation d'une supplémentation systématique d'antibiotique dans l'aliment 1^{er} âge.

De plus, nous pouvons émettre l'hypothèse que les éleveurs des élevages GMQ+SAN+ avaient un profil les conduisant à avoir davantage recours aux antibiotiques dans leur élevage. En effet, il a été montré qu'il existait des déterminants psycho-sociaux à l'administration des antibiotiques par les éleveurs. Ainsi, l'évaluation du risque lié à la dégradation de la santé des porcs peut conduire certains éleveurs à déclencher des traitements antibiotiques plus précocément (Fortané *et al.* 2015).

4.1.2.3 Etude des diarrhées dans les études terrain et en installation expérimentale

Les diarrhées ont été observées de manière individuelle dans les deux études. Elles ont été quotidiennes pour l'étude en installation expérimentale alors qu'elles ont été ponctuelles, uniquement le 5^{ème} et

DISCUSSION GENERALE

le 19^{ème} jour après le sevrage, pour l'étude terrain. Ces observations ponctuelles ne permettent pas de décrire de façon fiable l'expression des diarrhées sur les trois premières semaines de sevrage. En effet, si dans l'étude en installation expérimentale, le pourcentage d'animaux observés avec de la diarrhée le 5^{ème} jour après le sevrage est similaire à celui observé au cours des cinq premiers jours de sevrage, le pourcentage de porcelets observés avec de la diarrhée le 19^{ème} jour après le sevrage est nettement inférieur au pourcentage d'animaux ayant eu au moins un jour de diarrhée entre 0 et 19 jours après sevrage (Tableau 5). Par conséquent, nous ne pouvons pas comparer l'expression des diarrhées dans les deux études.

4.2 Compréhension des réponses physiologiques mises en place en environnement défavorable

Un ensemble de réponses physiologiques se met en place au moment du sevrage chez le porcelet. Lorsque les conditions d'environnement sont dégradées, le porcelet adapte ses réponses physiologiques au nouvel environnement. Nous allons discuter dans cette partie, à partir des données obtenues dans nos deux études, différentes réponses physiologiques d'adaptation du porcelet lors d'un sevrage en environnement défavorable. Les évolutions de chaque variable biologique liée à l'âge, au sevrage ou aux conditions d'environnement dans nos deux études sont synthétisées en Annexe 12.

4.2.1 L'activation du système immunitaire est de plus grande ampleur et plus rapide lors d'un sevrage en environnement défavorable

La réponse inflammatoire consécutive au sevrage est bien documentée dans la littérature. En effet, le sevrage induit une altération de la muqueuse intestinale qui facilite le passage d'antigènes ce qui est associé à une réaction inflammatoire au niveau

local (McCracken *et al.* 1999; Spreuwenberg *et al.* 2001; Boudry *et al.* 2004; Pié *et al.* 2004) qui induit, notamment, le recrutement des monocytes et des neutrophiles sur le site inflammé. Les répercussions peuvent être systémiques comme le montre l'augmentation de la concentration plasmatique en IL-1 deux jours après un sevrage à 19 jours (McCracken *et al.* 1995) ou en protéines inflammatoires, telle que l'haptoglobine sept jours après un sevrage à 30 jours d'âge (Sauerwein *et al.* 2007).

Les conditions détériorées de l'étude en installation expérimentale ont provoqué une activation plus importante du système immunitaire que dans les conditions optimales. En effet, si la concentration plasmatique en IgM a augmenté de la même façon quelles que soient les conditions entre 9 jours avant et 5 jours après sevrage, elle augmente plus rapidement (entre 5 et 12 jours après sevrage) en conditions détériorées qu'en conditions optimales (entre 5 et 19 jours après sevrage). Les IgM sont les premiers anticorps produits par les lymphocytes B lors d'une réponse immunitaire primaire. La concentration plasmatique en IgM augmente une dizaine de jour après la première rencontre avec un antigène impliquant une réponse humorale (Male *et al.* 2012). Par conséquent, les différences de cinétique de la concentration plasmatique en IgM observées 12 jours après le sevrage résultent de réponses immunitaires primaires

initiées une dizaine de jour auparavant ce qui est concomitant avec le sevrage et l'application des conditions contrastées d'élevage.

De plus, le nombre de neutrophiles circulants est resté stable entre 9 jours avant et 5 jours après sevrage quelles que soient les conditions d'élevage avant d'augmenter à partir de 12 jours après sevrage pour tous les animaux. Le nombre de neutrophiles circulants était plus élevé 12 jours après sevrage pour les porcelets en conditions dégradées par rapport aux porcelets en conditions optimales. Les neutrophiles sont des cellules immunitaires, d'une durée de vie de 2 à 3 jours, qui ont, entre autres, une activité de phagocytose (Male *et al.* 2012). Par conséquent, l'augmentation du nombre de neutrophiles circulants 12 jours après sevrage résulte d'une stimulation ayant eu lieu entre 5 et 12 jours après sevrage, donc après le sevrage et l'application des conditions contrastées d'élevage.

L'ensemble de ces indicateurs confirment que le sevrage induit une inflammation et une plus forte activation du système immunitaire en conditions dégradées. Par contre, la concentration plasmatique en haptoglobine, une protéine de la phase aigüe qui est synthétisée en grande quantité lors d'une inflammation (Eckersall *et al.* 1996), a augmenté, de façon transitoire, 5 jours après sevrage quelles que soient les conditions d'élevage. Les résultats obtenus avec des porcelets sevrés à 28 jours d'âge mais logés en cases individuelles en

utilisant le même modèle de détérioration des conditions d'élevage montrent des concentrations plasmatiques en haptoglobine mesurées après le sevrage identiques (Montagne *et al.* 2012; Pastorelli *et al.* 2012c) ou supérieures (Le Floc'h *et al.* 2009; Le Floc'h *et al.* 2006) en conditions détériorées par rapport aux conditions optimales. Par conséquent, l'haptoglobine n'est pas toujours un marqueur de l'inflammation reproductible pour discriminer les deux conditions d'élevage au moment du sevrage.

En accord avec l'étude en installation expérimentale, les données de l'étude terrain montrent également une plus forte activation du système immunitaire des porcelets sevrés dans des environnements défavorables. En effet, nous avons montré que les porcelets des élevages de statut sanitaire défavorable SAN- avaient, 5 jours après le sevrage, davantage de neutrophiles circulants et une concentration plasmatique supérieure en IL-8 et TNF-alpha, deux cytokines proinflammatoires que les porcelets des élevages de statut sanitaire favorable SAN+.

4.2.2 Le métabolisme protéique est transitoirement modifié après sevrage en environnement défavorable : hypothèse d'une mobilisation des réserves musculaires

Le métabolisme protéique a été modifié après le sevrage par une mobilisation des réserves musculaires qui a été de plus grande ampleur dans les environnements défavorables de nos deux études. Nous avons utilisé l'urée et la créatinine comme marqueurs du métabolisme des acides aminés et des protéines musculaires respectivement. L'urée est un produit de dégradation des acides aminés dans le foie qui n'est donc pas spécifique de la dégradation des protéines musculaires. La créatinine est le produit de la dégradation non enzymatique, relativement constante, de la créatine dans le muscle. La quantité de créatine présente dans les muscles est proportionnelle à la masse musculaire (Wyss et Kaddurah-Daouk. 2000). La créatinine est ensuite excrétée dans l'urine. En conséquence, chez l'humain en bonne santé, l'excrétion quotidienne de créatinine est relativement constante d'un jour à l'autre, raison pour laquelle une anomalie de la concentration en créatinine est communément utilisée comme marqueur de pathologie rénale, notamment en médecine humaine (Wyss et Kaddurah-Daouk. 2000). Malgré l'accroissement

de la concentration plasmatique en créatinine, nos animaux n'ont pas pu avoir d'insuffisance rénale car il s'agit d'une pathologie qui survient plutôt chez l'adulte (Zimmerman *et al.* 2012). Nous avons donc utilisé la créatinine dans nos études comme marqueur de la mobilisation protéique musculaire.

Dans l'étude en installation expérimentale, les concentrations plasmatiques en urée et en créatinine n'ont pas évolué après le sevrage chez les porcelets sevrés à 21 jours d'âge. Nous comparerons donc les données des porcelets sevrés à 28 jours d'âge. Chez les porcelets sevrés en conditions optimales, la concentration plasmatique en urée a augmenté transitoirement tandis que la concentration plasmatique en créatinine est restée stable entre 2 jours avant et 5 jours après sevrage. Par conséquent, davantage d'acides aminés ont été dégradés après le sevrage mais sans pouvoir affirmer que ces acides aminés provenaient ou non d'une augmentation du catabolisme musculaire. Chez les porcelets sevrés en conditions détériorées, les concentrations plasmatiques en urée et en créatinine ont augmenté transitoirement entre 2 jours avant et 5 jours après sevrage. Par conséquent, ces augmentations transitoires traduisent probablement un plus fort catabolisme des protéines musculaires qui a conduit à un ralentissement de la croissance. En effet, en conditions détériorées,

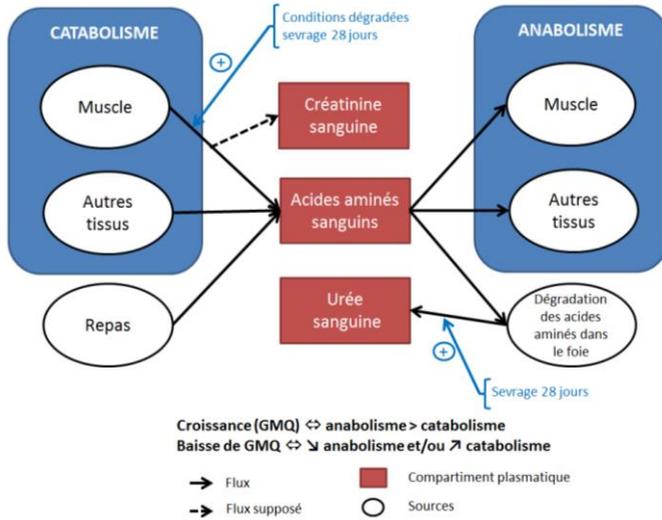


Figure 18 : Relations entre créatinine, urée et GMQ dans le cas du porcelet en croissance. Le sevrage accroît vraisemblablement le catabolisme des acides aminés et celui des protéines musculaires

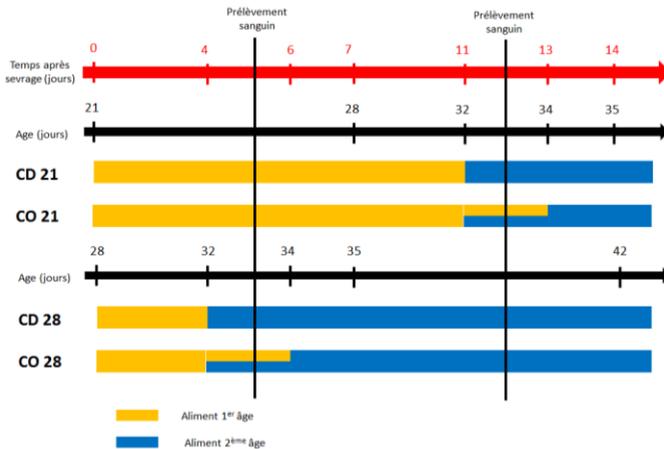


Figure 19 : Distribution des aliments 1^{er} et 2^{ème} âge dans l'étude en installation expérimentale selon l'âge des animaux et selon leur âge au sevrage en conditions optimales (CO) ou détériorées (CD).

nous avons observé un plus faible GMQ entre 5 et 11 jours après le sevrage qu'en conditions optimales, qui provient d'une diminution de l'anabolisme protéique dans le muscle et/ou d'une augmentation du catabolisme protéique (Figure 18). Par ailleurs, nous avons montré une corrélation négative entre le GMQ mesuré entre 2 jours avant et 5 jours après sevrage et les concentrations plasmatiques en urée et en créatinine. Les données de l'étude terrain vont également dans le sens de l'hypothèse d'un plus grand catabolisme des protéines musculaires en environnement défavorable. En effet, les porcelets élevés en élevage SAN- avaient des concentrations plasmatiques en urée et en créatinine plus élevées 5 jours après sevrage que les porcelets issus d'élevages SAN+.

Afin de vérifier nos hypothèses, il conviendrait de mettre en place une étude visant à mesurer le turnover protéique musculaire. Pour ce faire, des méthodologies basées sur l'utilisation d'acides aminés marqués nous permettraient de mesurer spécifiquement la synthèse des protéines dans le muscle (Rennie *et al.* 1994). La dégradation des protéines musculaires peut être estimée à partir de la N-méthylhistidine. Il s'agit de l'acide aminé histidine qui est méthylé uniquement lors la synthèse de l'actine dans le muscle. Lors de la dégradation du muscle, la N-méthylhistidine est excrétée dans le sang

et dégradée permettant ainsi d'estimer la dégradation musculaire (van den Hemel-Grooten *et al.* 1998).

Dans l'étude en installation expérimentale, nous avons probablement involontairement davantage dégradé les conditions de sevrage, par l'alimentation, chez les porcelets sevrés à 28 jours d'âge par rapport aux porcelets sevrés à 21 jours d'âge. En effet, 5 jours après le sevrage, les porcelets sevrés à 21 jours d'âge et 28 jours d'âge ne consommaient pas le même aliment (Figure 19). L'aliment 1^{er} âge contenait 18.6% de protéines brutes et 2506 Kcal/Kg d'énergie nette alors que l'aliment 2^{ème} âge était composé de 17.0% de protéines brutes et 2200 Kcal/kg d'énergie nette. Par conséquent, 5 jours après le sevrage, les porcelets sevrés à 28 jours d'âge ont consommé un aliment moins riche en protéines brutes et en énergie que les porcelets sevrés à 21 jours d'âge ce qui peut probablement expliquer en partie pourquoi ils ont davantage catabolisé de protéines musculaires.

4.2.3 Les faibles réserves lipidiques n'ont pas permis une augmentation de la mobilisation des AGL au sevrage

Sous l'action du glucagon notamment, les acides gras libres sont libérés des tissus adipeux. Les AGL sont donc des indicateurs de la mobilisation lipidique. Les porcelets au sevrage ont de faibles réserves lipidiques (Whittemore *et al.* 1981) ce qui limite leur capacité à mobiliser leurs réserves sous forme d'AGL au sevrage. Plusieurs études ont néanmoins montré une augmentation de la concentration plasmatique en acides gras libres après le sevrage (Bark *et al.* 1986; Whittemore *et al.* 1981) et une diminution de la teneur totale en lipides du porcelet (Whittemore *et al.* 1981) traduisant une mobilisation lipidique. Dans l'étude en installation expérimentale, la concentration plasmatique en acides gras libres est restée stable entre 9 jours avant et 19 jours après sevrage pour tous les porcelets sauf les porcelets sevrés à 21 jours d'âge en conditions optimales chez qui la concentration a augmenté de façon transitoire 5 jours après sevrage. Par conséquent, nous ne retrouvons l'augmentation de la mobilisation lipidique au sevrage mentionnée dans la littérature uniquement pour un des quatre groupes expérimentaux sans avoir d'éléments d'explications pour ce groupe là. Le fait que la concentration plasmatique en AGL n'ait pas augmenté au sevrage chez les porcelets

de trois des quatre groupes expérimentaux pourrait s'expliquer par une diminution des réserves lipidiques des porcelets liée à la sélection génétique des animaux. En effet, les études citées ci-dessus ont été réalisées dans les années 80. Depuis ces années, la sélection génétique des porcs est orientée vers la maximisation du taux de viande maigre des carcasses ce qui a conduit à une réduction des dépôts lipidiques des animaux (IFIP. 2013).

4.2.4 Le statut oxydant du porcelet est plus fortement dégradé lors d'un sevrage en environnement défavorable

Dans nos deux études, nous avons évalué le statut oxydant à l'aide de différents indicateurs. Les hydroperoxydes sont des produits de l'oxydation des macromolécules (lipides, protéines et ADN) de l'organisme par les radicaux libres (Halliwell et Gutteridge. 2015). La capacité antioxydante du plasma mesure la capacité du plasma à réduire du fer Fe^{3+} en Fe^{2+} . Il s'agit de mesurer la capacité d'un individu à faire face à l'oxydation provoquée par les radicaux libres (Benzie et Strain. 1996). Les vitamines E et A sont des molécules qui ont, entre autre, un rôle antioxydant. Enfin, l'index de stress oxydant est le rapport entre la concentration plasmatique en hydroperoxydes et la capacité antioxydante du plasma (Sharma *et al.* 1999).

Dans les conditions optimales de l'étude en installation expérimentale, nous avons montré que les concentrations plasmatiques en vitamine E et A des porcelets diminuaient tandis que la concentration plasmatique en hydroperoxydes et la capacité antioxydante du plasma restaient stables entre 2 jours avant et 5 jours après le sevrage. Dans les élevages SAN+ de l'étude terrain, la concentration plasmatique en hydroperoxydes et l'index de stress oxydant des porcelets ont augmenté tandis que les concentrations plasmatiques en vitamines E et A ont diminué sans modification de la capacité antioxydante entre 2 jours avant et 5 jours après le sevrage quel que soit le statut sanitaire de l'élevage. Ainsi, dans l'étude en installation expérimentale, en conditions optimales, nous pouvons penser qu'il y a eu une augmentation de la production de produits d'oxydation qui a conduit à la mobilisation des systèmes de défenses antioxydants, telle que la vitamine E, mais que l'organisme s'est bien adapté et que les capacités de défense de l'organisme n'ont pas été épuisées puisqu'il n'y a pas eu de diminution de la capacité antioxydante du plasma. De nombreuses études ont montré la diminution de la concentration plasmatique en vitamine E au sevrage sans cependant montrer de lien avec les concentrations plasmatiques en molécules oxydées (Mahan. 1991; Sivertsen *et al.* 2007; Wilburn *et al.* 2008). Il n'existe pas à notre connaissance d'études analysant

l'effet du sevrage sur la concentration plasmatique en vitamine A. Les évolutions des concentrations plasmatiques en vitamines E et A ne permettent pas d'estimer l'ampleur de l'évolution des réserves en vitamines E et A de l'organisme dans les tissus adipeux notamment. Ainsi, une mesure des concentrations en vitamines E et A dans plusieurs tissus permettrait de vérifier l'hypothèse d'une diminution des réserves corporelles en vitamines E et A après le sevrage suggérée par les évolutions de concentrations plasmatiques (Lauridsen et Jensen. 2005). Contrairement aux porcelets des conditions optimales de l'étude en installation expérimentale, les porcelets des élevages SAN+ de l'étude terrain n'ont pas réussi à contenir l'augmentation des produits d'oxydation traduisant ainsi une dégradation du statut oxydant. Cependant, cette dégradation du statut oxydant des porcelets issus des élevages SAN+ ne s'est pas traduit par de moins bonnes performances puisque le GMQ entre 5 et 19 jours après sevrage est plus élevé que pour les porcelets des conditions optimales de l'étude en installation expérimentale.

Dans les conditions détériorées de l'étude en installation expérimentale, nous avons montré que les concentrations plasmatiques en vitamine E et A diminuaient entre 2 jours avant et 5 jours après le sevrage tandis que la capacité antioxydante du plasma des porcelets diminuait et la concentration plasmatique en hydroperoxydes

augmentait entre 2 jours avant et 12 jours après sevrage. Dans les élevages SAN- de l'étude terrain, la concentration plasmatique en hydroperoxydes et l'index de stress oxydant des porcelets ont augmenté tandis que les concentrations plasmatiques en vitamines E et A ont diminué sans modification de la capacité antioxydante entre 2 jours avant et 5 jours après le sevrage. Par contre, nous avons montré, 5 jours après sevrage, que les porcelets des élevages SAN- avaient une plus forte capacité antioxydante, une concentration plasmatique plus grande en hydroperoxydes, plus faible en vitamine E et A et un index de stress oxydant plus élevé que les porcelets des élevages SAN+. Ainsi, en environnement défavorable, l'ensemble de nos données vont dans le sens d'une dégradation du statut oxydant du porcelet après le sevrage. Nous avons montré précédemment, qu'après le sevrage en conditions détériorées, le système immunitaire des porcelets était davantage activé qu'en conditions optimales. Les augmentations de l'activité métabolique d'un tissu et/ou de l'activité du système immunitaire sont susceptibles d'augmenter la production de radicaux libres (Halliwell et Gutteridge. 2015). Par conséquent, en conditions détériorées, nous pouvons émettre l'hypothèse que davantage de radicaux libres ont été produits et qu'ils ont endommagé les macromolécules de leur environnement immédiat produisant ainsi des hydroperoxydes dont l'accumulation a été détectable dans le plasma.

DISCUSSION GENERALE

En accord avec cette hypothèse, des auteurs ont montré que les concentrations plasmatiques en haptoglobine et en hydroperoxydes mesurées 3 et 6 semaines après sevrage étaient corrélées, suggérant ainsi une association entre inflammation et stress oxydant (Sauerwein *et al.* 2005). Ces résultats suggèrent que les porcelets élevés en environnement défavorable subissent davantage d'oxydation, probablement en lien avec la plus forte activation de leur système immunitaire décrite précédemment, mais qu'ils ne parviennent pas à contenir la dégradation de leur statut oxydant car la concentration plasmatique en produits d'oxydation augmente malgré la diminution des réserves antioxydantes, telle que la vitamine E, et de la capacité antioxydante.

4.2.5 Conclusion

Dans nos deux études, nous avons montré que le système immunitaire était davantage activé et le statut oxydant davantage dégradé lorsque le sevrage avait lieu dans des environnements défavorables (Figure 20). Nous avons vu dans la revue bibliographique que l'activation du système immunitaire et la réponse au stress provoquait une augmentation de l'oxydation provoquant ainsi une dégradation du statut oxydant. Nous n'avons pas mesuré la réponse au stress dans nos études. Cependant, nous avons observé qu'après un sevrage en environnement défavorable nous observions de façon concomitante une plus forte dégradation du statut oxydant, une plus forte activation du système immunitaire, un ralentissement plus important de la croissance et davantage de diarrhées. Par ailleurs, la survenue de diarrhées provoque également un ralentissement de la croissance qui est associé à la mobilisation des réserves corporelles de l'animal. Ainsi, chez les animaux connaissant un ralentissement de la croissance et exprimant des diarrhées, que nous pourrions qualifier de peu robustes, nous observons de façon concomitante, une plus grande activation du système immunitaire, une plus forte dégradation du statut oxydant et une plus forte mobilisation des réserves corporelles.

DISCUSSION GENERALE

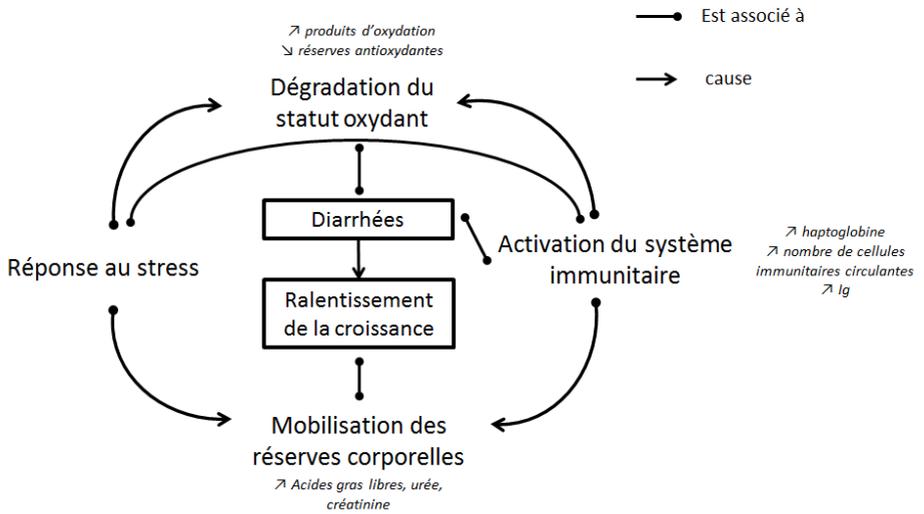


Figure 20 : Réponses physiologiques se mettant en place au sevrage du porcelet et observées au cours des études terrain et en installation expérimentale

4.3 Modèle d'association entre robustesse du porcelet au sevrage et variables sanguines

Dans la littérature publiée sur la robustesse, les auteurs se sont attachés à définir conceptuellement la robustesse (Rauw *et al.* 1998; Knap. 2005; Mormède et Terenina. 2012; Friggens *et al.* 2017), ou à émettre des hypothèses sur les réponses physiologiques à la robustesse (Theilgaard *et al.* 2007; Mormède et Terenina. 2012; Friggens *et al.* 2017) afin d'envisager la mise en place d'une sélection génétique prenant en compte la robustesse ou d'identifier des individus ayant ou non les caractéristiques liées à la robustesse. Par exemple, des auteurs ont émis l'hypothèse que les animaux ayant une forte activation de l'axe corticotrope lors de la perception d'une situation de stress étaient les plus robustes (Mormède et Terenina. 2012). Une sélection divergente sur ce caractère a ensuite été appliquée puis différentes études ont été menées sur ces deux populations de porcs. Cependant, l'identification concrète, sur le terrain ou dans des expériences, de porcs robustes n'a jamais été tentée. Ce travail de thèse nous a permis de décrire certaines réponses physiologiques mises en œuvre par le porcelet au sevrage et d'identifier des variables physiologiques sanguines associées à la croissance du porcelet au sevrage. Nous avons supposé que cette dernière reflétait bien la robustesse dans le

cas du porcelet au sevrage. La précision de notre étude d'association nous a permis de classer les individus dans la bonne classe de robustesse dans 68% des cas. Cette tentative d'association entre robustesse et variables sanguines n'a, à notre connaissance, pas de précédent dans la bibliographie.

4.3.1 Justification du choix du GMQ relatif en tant qu'indicateur de la robustesse des porcelets en post sevrage

4.3.1.1 Le GMQ en post-sevrage est un élément important de la robustesse au sevrage mais il résulte également des phases de gestation et de lactation

Le GMQ en post-sevrage est un indicateur de la santé des porcelets. En effet, nous avons montré dans notre étude en installation expérimentale que les porcelets qui avaient exprimés des diarrhées sur les deux premières semaines de sevrage avaient eu un plus faible GMQ que les porcelets n'en ayant pas eus. L'effet d'une dégradation de la santé sur la diminution du GMQ des porcs de différents âges a été montré dans de nombreuses études qui ont servi de base à une méta-analyse sur le sujet (Pastorelli *et al.* 2012d).

Cependant, le GMQ en post-sevrage est corrélé au poids de sevrage. Dans notre étude terrain, nous avons montré une corrélation entre le poids de sevrage et le GMQ entre 26 et 47 jours d'âge (Figure 21, $r^2=0,19$). Ceci est en accord avec plusieurs études qui ont montré une corrélation entre le poids de sevrage et le GMQ sur les 5 premières semaines de sevrage (Quiniou *et al.* 2002; Bruininx *et al.* 2001).

Or, le poids de sevrage est fortement corrélé au poids de naissance et au déroulement de la lactation. En effet, Quiniou *et al.* ont montré que le poids de naissance était corrélé au poids de sevrage ($r^2=0,57$) (Quiniou *et al.* 2002). De la même façon, Huting *et al.* ont montré que les porcelets de moins de 1,25 kg à la naissance avaient un plus faible poids au sevrage à 28 jours d'âge que des porcelets ayant un poids moyen de plus de 1,50 kg à la naissance (Huting *et al.* 2017).

Par conséquent, le GMQ mesuré entre 26 et 47 jours d'âge ne permet pas d'estimer la robustesse du porcelet au sevrage de façon satisfaisante puisqu'il est également, en partie, le reflet du déroulement de la phase de lactation et de gestation. Par exemple, un fort GMQ en post-sevrage peut être le reflet d'une bonne adaptation du porcelet au sevrage ou seulement résulter d'un poids de sevrage élevé. Par conséquent, nous avons proposé d'utiliser le GMQ relatif

(GMQR), qui permet d'interpréter le GMQ en prenant en compte le poids de sevrage.

4.3.1.2 Le GMQR 26-47 permet de mesurer la performance de croissance en post-sevrage en tenant compte du poids de sevrage

Le GMQR 26-47 est le rapport entre le GMQ mesuré entre 26 et 47 jours d'âge et le poids vif à 26 jours d'âge. Contrairement au GMQ 26-47, le GMQR 26-47 n'est pas corrélé au poids à 26 jours d'âge (Figure 22, $r^2=0.02$). De la même façon, Huting et al. ont montré que des porcelets nés légers ou lourds avaient un poids de sevrage et des GMQR entre 28 et 61 et 61 et 88 jours décorrélés (Huting *et al.* 2017). Ainsi, avec un potentiel donné par leur poids de naissance au départ, ces porcelets avaient exprimé des performances de croissance comparables aux porcelets plus lourds, au regard du « capital poids » dont ils disposaient au départ.

Nous pouvons illustrer la différence entre les deux variables en prenant l'exemple de trois porcelets issus de l'étude terrain avec des GMQ 26-47 proches (Tableau 6). Pour ces trois individus, l'utilisation du GMQ 26-47 comme indicateur de performances nous conduit à considérer que ces porcelets se sont adaptés de la même façon au sevrage. Or compte tenu de

DISCUSSION GENERALE

Tableau 6 : Poids à 26 et 47 jours d'âge et GMQ relatif entre 26 et 47 jours d'âge (GMQR 26-47) pour trois porcelets ayant des GMQ 26-47 proches dans l'étude terrain (GMQR 26-47 = GMQ 26-47/Poids vifs à 26 jours d'âge)

| Porcelets | Poids à 26 jours d'âge (kg) | GMQ 26-47 (g/jour) | GMQR 26-47 (g/jour/kg) | Poids à 47 jours d'âge (kg) |
|------------|-----------------------------|--------------------|------------------------|-----------------------------|
| Porcelet A | 6,0 | 298 | 50 | 12,6 |
| Porcelet B | 7,6 | 305 | 40 | 14,3 |
| Porcelet C | 9,7 | 304 | 31 | 16,4 |

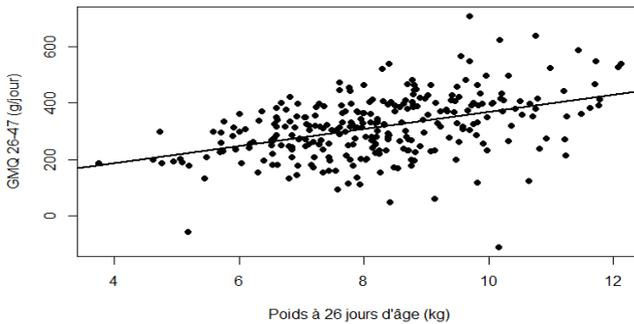


Figure 21 : GMQ entre 26 et 47 jours d'âge selon le poids de sevrage dans l'étude terrain. La droite de régression linéaire est représentée ($r^2=0.19$)

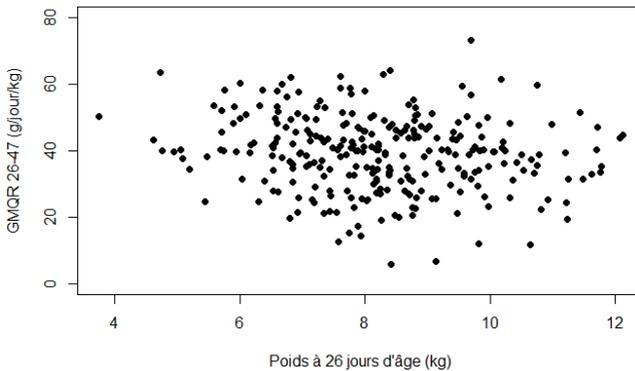


Figure 22 : GMQ relatif entre 26 et 47 jours d'âge (GMQR 26-47 = GMQ 26-47/Poids vifs à 26 jours d'âge) selon le poids de sevrage dans l'étude terrain.

son poids de sevrage élevé et du lien entre le GMQ et le poids de sevrage, le porcelet C aurait dû avoir un GMQ 26-47 plus élevé que le porcelet A. Ceci suggère que le porcelet C s'est moins bien adapté au sevrage que le porcelet A et c'est ce que nous permet de montrer le GMQR 26-47, qui est de de 31 g/kg/jour pour le porcelet C contre 50 g/kg/jour pour le porcelet A.

4.3.1.3 Le GMQR 26-47 prend en compte la santé du porcelet en post-sevrage

Nous avons choisi de ne pas intégrer de données de santé dans notre définition de la robustesse car nous avons considéré que les observations cliniques dont nous disposions le 5^{ème} et le 19^{ème} jour après le sevrage n'étaient pas suffisantes pour évaluer l'état de santé du porcelet sur les premières semaines après le sevrage. Cependant, le GMQR 26-47 permet de prendre en compte la santé des porcelets même s'il en est un indicateur imparfait. En effet, dans l'étude en installation expérimentale, les porcelets qui ont eu des diarrhées 5 et 11 jours après sevrage avaient des GMQR plus faibles sur cette période que les porcelets n'ayant pas eus de diarrhées (Tableau 7). Par ailleurs, nous avons montré dans l'étude terrain que les porcelets issus d'élevages SAN- avaient de plus faibles GMQR entre 26 et 47 jours d'âge que les porcelets issus d'élevages SAN+. Cependant, un faible

DISCUSSION GENERALE

GMQR n'est pas toujours lié à des problèmes de santé et un fort GMQR à une absence de problème de santé. En effet, l'expression de performances de croissance résulte de multiples paramètres autres que la santé tels que le potentiel génétique, la qualité de l'alimentation ou le niveau d'ingestion (Black, 2009). Par conséquent, seule l'intégration de données cliniques en complément des données de performance permettrait de pleinement prendre en compte ces deux composantes de la robustesse. Le calcul d'un index de robustesse multicritère pourrait donc être une approche intéressante à développer ultérieurement.

Tableau 7 : GMQ relatif sur les trois semaines suivant le sevrage (GMQR = GMQ / Poids vifs en début de période) selon l'expression ou non de diarrhées dans l'étude en installation expérimentale.

| | | GMQR (g/jour/kg) | | p-value |
|-------------------------------------|----------------------|--|--|---------|
| | | Porcelets ayant exprimé 0 jour de diarrhées | Porcelets ayant exprimé 1 jour ou plus de diarrhées | |
| Période après le sevrage | -2 à 4 jours | 32 | 25 | <0,1 |
| | 5 à 11 jours | 24 | 12 | <0,01 |
| | 12 à 19 jours | 35 | 33 | ns |

4.3.2 L'équation d'association entre robustesse et variables sanguines permet de définir quelques caractéristiques du porcelet robuste au sevrage

Le modèle d'analyse du GMQR 26-47 du porcelet au sevrage comprend des variables qui décrivent l'activité du système immunitaire (monocytes et lymphocytes circulants à 26 jours d'âge, neutrophiles circulants et concentration plasmatique en IgM à 33 jours d'âge), la mobilisation des réserves corporelles (concentrations plasmatiques en AGL et créatinine à 33 jours d'âge) et la concentration plasmatique en vitamine A. Ainsi, à partir de l'étude des variables de ce modèle, nous sommes en mesure de dégager quelques caractéristiques du porcelet que nous définissons comme robuste au sevrage.

4.3.2.1 Caractéristiques avant le sevrage du porcelet robuste au sevrage

Nous avons montré que le nombre de monocytes circulants à 26 jours d'âge et la concentration plasmatique en IgM à 33 jours d'âge étaient négativement corrélés au GMQR 26-47. Ceci témoigne plutôt, comme indiqué précédemment (partie 4.2), d'une plus faible activation du système immunitaire en phase de lactation des porcelets ayant un fort GMQR 26-47. Ceci est illustré par l'effet statistique du

statut sanitaire de l'élevage sur ses trois variables physiologiques et signifie que ces variables permettent de prédire une part de la variabilité du GMQR en apportant de l'information relative au fait que les porcelets ont été exposés à un environnement sanitaire défavorable depuis la phase de lactation, que leur organisme a par le passé et continue probablement encore au moment du sevrage à répondre à ces agressions microbiennes, et que cela aura fort probablement un impact sur leur croissance. Une association négative entre le nombre de monocytes circulants et le GMQ a également été montrée chez des porcs à l'engrais (Clapperton *et al.* 2005; Clapperton *et al.* 2008). Néanmoins, ces auteurs suggèrent que cette association pourrait être génétique et non phénotypique, c'est-à-dire ne pas forcément refléter uniquement un effet de l'environnement (Clapperton *et al.* 2009).

De plus, nous avons montré que le nombre de lymphocytes circulants à 26 jours d'âge était positivement corrélé au GMQR 26-47. Les nombres de cellules immunitaires circulants et leur dynamique d'évolution temporelle sont très dépendants de la nature de l'infection à laquelle un animal est exposé. En effet, des auteurs ont montré que les porcs d'élevages positifs pour le PCV2 avaient moins de lymphocytes circulants que les porcs des élevages négatifs (Lopez-Rodriguez *et al.* 2016). De plus, des cochettes ont également montré une diminution du nombre de lymphocytes circulants lors d'une

infection par le virus du SDRP (Ladinig *et al.* 2014). Par conséquent, un faible nombre de lymphocytes circulants ne reflète pas forcément une absence de stimulation du système immunitaire.

4.3.2.2 Caractéristiques après le sevrage du porcelet robuste au sevrage

Nous avons montré précédemment que notre modèle d'association entre le GMQR 26-47 et variables sanguines comprenait quatre variables (concentrations plasmatiques en AGL, créatinine, vitamine A et neutrophiles circulants mesurés à 33 jours d'âge) qui sont influencées par le statut sanitaire de l'élevage (Tableau 1 du papier JRP). Mais nous avons aussi montré un effet de la classe de GMQR intra élevage sur ces variables. Ce qui signifie qu'en plus d'apporter de l'information relative au statut sanitaire des animaux, ces 4 variables reflètent également des différences de potentiel de croissance liées à d'autres caractéristiques que celles de l'environnement car elles reflètent un avantage des animaux GMQR+ aussi bien en élevage SAN+ qu'en élevage SAN-.

Le nombre de neutrophiles circulants à 33 jours d'âge est corrélé positivement au GMQR 26-47. Il témoigne de l'activation du système immunitaire après le sevrage. En effet, les neutrophiles ont une durée de vie de 2 à 3 jours et sont notamment mobilisés lors d'une

réaction inflammatoire. Nous pouvons émettre l'hypothèse que les porcelets qui sont en capacité de synthétiser et mobiliser rapidement, un grand nombre de neutrophiles éliminent plus rapidement les agents pathogènes au moment du sevrage.

Les concentrations plasmatiques en créatinine et en acides gras libres à 33 jours d'âge sont corrélées négativement au GMQR 26-47. Nous avons émis l'hypothèse précédemment (partie 4.2) que la concentration plasmatique en créatinine était un indicateur du métabolisme protéique musculaire. Par conséquent, nous pouvons suggérer que les porcelets ayant un fort GMQR 26-47 mobilisent moins de protéines musculaires durant les cinq premiers jours après le sevrage. De la même façon, les porcelets qui ont une plus faible concentration plasmatique en AGL cinq jours après le sevrage ont un plus fort GMQR 26-47. Par conséquent, nous pouvons dire que les porcelets ayant un fort GMQR 26-47 mobilisent moins leurs réserves lipidiques que les porcelets ayant un faible GMQR 26-47. Étonnament, la concentration plasmatique en urée à 33 jours d'âge n'est pas retenue dans le modèle de prédiction du GMQR alors qu'elle est corrélée au GMQR 26-47 (Tableau 8). Comme, les concentrations plasmatiques en créatinine et en urée à 33 jours d'âge sont significativement corrélées ($r^2=0,40$), la concentration plasmatique en

DISCUSSION GENERALE

Tableau 8 : Coefficients r^2 de corrélation de Pearson entre le GMQ ou le GMQ relatif mesurés entre 26 et 47 jours d'âge (GMQR 26-47 = GMQ 26-47/Poids vif à 26 jours d'âge) et les concentrations sanguines des variables physiologiques mesurées à 33 jours d'âge dans l'étude terrain. (* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$).

| | GMQ 26-47 | GMQR 26-47 |
|---------------------------------------|-----------|------------|
| Hydroperoxydes (dROM) | -0,07*** | -0,05*** |
| Capacité antioxydante du plasma (BAP) | ns | ns |
| Index de stress oxydant | -0,07*** | -0,03*** |
| Vitamine E | +0,02*** | +0,02* |
| Vitamine A | +0,11*** | +0,09*** |
| Urée | -0,04*** | -0,06*** |
| Créatinine | ns | -0,012*** |
| Glucose | ns | ns |
| Acides gras libres | ns | -0,03** |

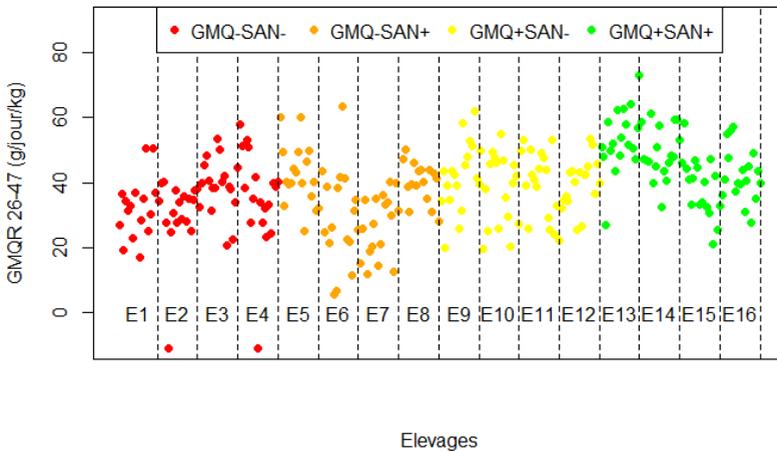


Figure 23 : Représentation des GMQ relatifs individuels mesurés entre 26 et 47 jours d'âge au sein de chaque élevage dans l'étude terrain (GMQR 26-47 = GMQ 26-47/Poids vif à 26 jours d'âge) (16 élevages commerciaux, sevrage à 28 jours d'âge, $n=18$ porcelets par élevage, GMQ- : GMQ 8-30kg faible, GMQ+ : GMQ 8-30kg fort, SAN- : statut sanitaire défavorable, SAN+ : statut sanitaire favorable)

urée a probablement été éliminée du modèle lors de la procédure de sélection des variables car elle ne permettait pas d'expliquer davantage de variance du GMQR 26-47. L'ensemble de ces résultats indique donc que les porcelets qui, dès les cinq premiers jours après le sevrage, mobilisent peu leurs réserves protéiques et lipidiques, sont des porcelets qui ont une bonne croissance relative sur les 19 premiers jours après le sevrage. Cette faible mobilisation est peut-être simplement le reflet d'une bonne ingestion d'aliment solide dès le 1^{er} jour après le sevrage, mais nous ne pouvons pas le vérifier en l'absence de données d'ingestion.

La concentration plasmatique en vitamine A à 33 jours d'âge est corrélée positivement au GMQR 26-47. La vitamine A est, entre autres, une molécule antioxydante. Nous pouvons émettre l'hypothèse que les porcelets qui ont les concentrations plasmatiques en vitamine A les plus hautes à 33 jours d'âge ont eu moins d'attaques radicalaires et donc probablement moins eu besoin de puiser dans leurs réserves de molécules antioxydantes. Une explication serait que les porcelets ayant un fort GMQR 26-47 ont davantage de réserves antioxydantes après le sevrage que les porcelets avec un faible GMQR 26-47. Néanmoins, les concentrations plasmatiques en hydroperoxydes et en vitamine E du plasma sont significativement mais faiblement corrélées au GMQR 26-47 (Tableau 8) et elles ne sont pas différentes selon les

classes de GMQR intra élevage. L'utilisation de la vitamine A pourrait donc avoir eu d'autres causes que le contrôle du stress oxydant. En effet, la vitamine A joue également un rôle majeur dans le bon fonctionnement de l'immunité innée et acquise du tube digestif en favorisant le maintien de l'intégrité de la muqueuse intestinale (Quadro *et al.* 2000), l'expression par les cellules dendritiques de récepteurs nécessaires à la domiciliation des lymphocytes B et T dans le GALT (Mora et von Andrian. 2009; Iwata *et al.* 2004) et la synthèse d'IgA (Quadro *et al.* 2000). De plus, d'un point de vue clinique, des études épidémiologiques ont montré qu'une déficience en vitamine A chez le bébé favorisait la survenue de diarrhées (Barreto *et al.* 1994) et que l'apport de vitamine A permettait une meilleure restauration de l'intégrité de la muqueuse intestinale après la survenue de diarrhées (Thurnham *et al.* 2000). Il n'y a pas d'études sur l'éventuel rôle bénéfique de la vitamine A chez le porcelet. Néanmoins, au vu des connaissances chez l'humain, nous pourrions imaginer qu'au moment du sevrage, la stimulation du GALT et les atteintes à l'intégrité mucosale conduisent à une augmentation de la consommation de vitamine A, au point d'épuiser les réserves hépatiques en vitamine A et de conduire à une chute de la concentration sérique en vitamine A du porcelet. Chez les porcelets montrant un GMQR bas, les plus faibles niveaux de vitamine A à 33

jours pourraient refléter soit le fait qu'ils disposaient de plus faibles réserves hépatiques de vitamine A avant le sevrage, soit qu'ils en ont plus utilisé que les porcelets de fort GMQR parce que leur muqueuse digestive a été plus challengée.

4.3.3 Prise en compte de l'environnement dans l'analyse de la robustesse

Dans notre étude, nous avons choisi de définir la robustesse du porcelet au sevrage comme la capacité à avoir de fortes performances et à être en bonne santé quelles que soient les conditions d'environnement. Par conséquent, le mode de prise en compte des conditions d'environnement dans l'étude d'association entre robustesse et variables physiologiques nous semblait important. Nous avons choisi d'échantillonner des porcelets issus d'environnements que nous avons sélectionnés comme étant très divers avec l'objectif d'avoir un gradient supposé de possibilités d'expression de la robustesse. En effet, la sélection d'élevage avec des statuts sanitaires et des GMQ 8-30 contrastés nous a permis d'échantillonner des porcelets issus d'élevages ayant a priori une grande variabilité d'environnements, des plus favorables (GMQ+SAN+) aux plus dégradés (GMQ-SAN-). Nous avons mesuré une grande variabilité de GMQR dans notre population (Figure 23) et avons été capable

d'expliquer 29% de la variance du GMQR 26-47 à partir de variables sanguines mesurées sur ces animaux avant ou juste après le sevrage.

Nous aurions pu faire le choix de ne sélectionner que des porcelets issus d'élevages ayant des environnements dégradés. En effet, certains auteurs ont émis l'hypothèse que la robustesse s'exprimait davantage lorsque l'environnement dans lequel évoluaient les animaux était dégradé (Friggens *et al.* 2017). Ainsi, en suivant cette hypothèse, nous aurions maximisé nos chances d'identifier des animaux robustes et donc d'identifier des variables sanguines marqueurs de cette robustesse. Cependant, dans ce cas, nous aurions analysé les données en définissant la robustesse comme l'expression de fortes performances en bonne santé dans des environnements défavorables et non plus quelles que soient les conditions d'environnement comme nous l'avons initialement définie. Ainsi, réaliser cette analyse revient à émettre l'hypothèse que les animaux qui ont été identifiés comme robustes dans des environnements dégradés le seront également dans des environnements favorables. Or, nous ne savons rien de cette hypothèse. Une étude, comparant les performances de porcs en croissance issus de génétique européenne ou américaine élevés dans des environnements favorables ou dégradés, a montré que les animaux ayant le plus faible âge à l'abattage en environnement dégradé n'étaient pas issus de la même génétique que

ceux ayant le plus faible âge à l'abattage en environnement favorable (Schinckel *et al.* 1999). Ceci suggère que l'évaluation de la robustesse dans des environnements défavorables uniquement peut être différente d'une évaluation dans tous types d'environnements.

4.3.4 Précision du modèle d'association entre robustesse et variables physiologiques

A partir de la prédiction du GMQR, nous avons considéré que les porcs robustes étaient ceux qui avaient un GMQR situé au dessus de la médiane de leur élevage. Ainsi, l'équation de calcul du GMQR que nous avons présentée précédemment permet de classer dans 68% des cas un animal dans la bonne classe de robustesse. Ce classement n'a pas, à notre connaissance, de précédent dans la littérature, nous ne pouvons pas comparer sa précision avec d'autres données publiées. Un classement au hasard en utilisant la même méthode permettrait de bien classer les animaux dans 50% des cas. Aussi, nous avons ici un modèle qui nous permet de mieux classer les porcelets selon leur robustesse que le hasard ($P < 0.001$). A l'inverse, mal classer des porcelets dans un tiers des cas semble finalement une erreur assez grande. Il convient donc de s'attacher à tenter d'améliorer la précision de notre modèle.

4.4 Perspectives de recherches

Au cours de ce travail de thèse, nous avons identifié certaines réponses physiologiques liées à la robustesse du porcelet au sevrage ainsi que des marqueurs biologiques de ces réponses qui nous ont permis de construire un modèle d'association entre robustesse du porcelet au sevrage et variables physiologiques. Plusieurs perspectives, à court et moyen termes pourraient être proposées à la suite de cette thèse.

4.4.1 Exploitation de l'ensemble des données produites pendant la thèse

L'ensemble des données générées pendant la thèse telles que les données de microbiote intestinal et de l'expression de gènes impliqués dans la réponse immunitaire et la réponse de stress par les cellules sanguines ne sont pas complètement analysées et n'ont pas encore été intégrées à l'analyse de la robustesse.

Nous pouvons émettre l'hypothèse qu'il existe des profils de microbiote intestinal chez le porcelet avant le sevrage favorisant (ou non) son adaptation au sevrage. Des études en installations expérimentales ont identifié des liens entre le profil de microbiote intestinal et, la croissance d'une part, et les diarrhées d'autre part. En

effet, les porcelets qui avaient un microbiote à 36 jours d'âge caractérisé par une plus forte proportion relative de bactéries du genre *Prevotella*, avaient un meilleur GMQ, après sevrage, entre 29 et 70 jours d'âge que les porcelets qui avaient un microbiote caractérisé par une plus forte proportion relative de bactéries du genre *Ruminococcus* (Mach *et al.* 2015). Une autre étude a montré que le microbiote des porcelets ayant exprimé des diarrhées montrait une plus forte abondance d'Entérobactéries et une plus faible abondance de Bacteroidetes à 30 jours d'âge, soit 8 jours avant l'expression clinique de ces diarrhées (Dou *et al.* 2017). Néanmoins, ces associations devront être confirmées puisque ces deux études ont porté sur de faibles effectifs d'animaux (respectivement $n=31$ et $n=20$).

La robustesse du porcelet au sevrage est susceptible d'être associée à différents profils d'expression de gènes codant pour des protéines impliquées dans la réponse au stress ou l'immunité. En effet, nous avons montré dans nos études que le système immunitaire du porcelet était stimulé au moment du sevrage. De plus, notre modèle nous a permis d'associer la robustesse du porcelet au sevrage à une moindre activation du système immunitaire pendant la phase de lactation et à une activation 5 jours après le sevrage. Par ailleurs, le porcelet est soumis à de multiples facteurs de stress autour du sevrage. En conséquence, l'étude de l'expression de gènes codant pour des

protéines impliquées dans la réponse au stress ou la réponse immunitaire pourrait permettre l'identification de profils d'expression associés à la robustesse du porcelet au sevrage. Ainsi, une étude, sur des porcelets de 42 jours d'âge, a montré que 65 gènes codant pour des protéines impliquées dans la réponse au stress ou la réponse immunitaire étaient différenciellement exprimées dans les cellules sanguines lors de la réponse à une injection d'ACTH (Sautron *et al.* 2015). Par conséquent, des différences d'expression de gènes avant et après sevrage, selon le niveau de stress perçu par le porcelet, sont susceptibles de se produire.

L'intégration de ces nouvelles données dans la constitution du modèle d'association entre robustesse du porcelet au sevrage et variables physiologiques permettra peut-être d'améliorer la précision du modèle. De plus, avec l'appui de statisticiens, nous pouvons envisager l'utilisation d'autres méthodes statistiques, comme par exemple l'utilisation des réseaux bayésiens ou une analyse discriminante par la méthode des moindres carrés (PLS-DA), qui permettront peut-être d'améliorer la précision du modèle.

4.4.2 Validation des variables identifiées comme associées à la robustesse du porcelet au sevrage

Dans tous les cas, les marqueurs biologiques identifiés devront être validés sur un autre jeu de données qui nécessitera la mise en place d'une nouvelle expérimentation.

L'inclusion d'animaux issus d'élevages commerciaux ayant des statuts sanitaires et des performances moyennes contrastés a permis d'apporter une variabilité importante à notre échantillon. En effet, un élevage constitue un environnement complexe avec notamment un statut sanitaire qui influence, comme nous l'avons vu (partie 3.3.3), les performances et la santé des porcelets au sevrage. Les statuts sanitaires des installations expérimentales en porc sont bien souvent plus élevés que le statut sanitaire des élevages sur le terrain. De plus, il semble particulièrement difficile de reproduire en installations expérimentales des conditions de statut sanitaire et de conduite d'élevage rencontrées sur le terrain. A l'inverse, il est plus aisé en installation expérimentale d'effectuer un nombre important de mesures, de mettre en place des conditions d'élevages adaptées à la compréhension de réponses physiologiques. Par conséquent, l'utilisation des installations expérimentales et des élevages sur le terrain semble complémentaire.

Dans l'idéal, cette nouvelle étude devrait porter sur davantage d'élevages et prendre en compte les diversités observées sur le terrain en termes d'âge au sevrage ou de génétique. Il serait particulièrement intéressant de reprendre les marqueurs qui ont été mesurés dans notre étude et d'en ajouter de nouveaux, par exemple la N-méthylhistidine, qui permettrait de mieux explorer le catabolisme protéique musculaire. De plus, nous pourrions envisager de mesurer d'autres marqueurs biologiques, par des approches sans a priori telle que la métabolomique ou la protéomique, ou comportementaux, ce qui nous permettrait de compléter nos variables physiologiques. Par ailleurs, il semble essentiel de reprendre les mêmes points de prélèvements que ceux que nous avons dans notre étude, 2 jours avant et 5 et 19 jours après le sevrage afin d'être en mesure de comparer les deux études. Néanmoins, il serait peut-être pertinent d'ajouter un point de prélèvement 12 jours après le sevrage. En effet, nous avons vu dans l'étude en installation expérimentale, qu'un certain nombre de variables physiologiques, notamment les variables immunitaires, étaient davantage affectées 12 jours après sevrage.

Enfin, il conviendra, dans les prochaines études, de mettre les moyens humains permettant d'observer quotidiennement, et de façon fiable, les signes cliniques des porcelets après le sevrage. Il s'agit d'une donnée qui a manqué à notre étude. La récolte de ces données

permettra d'intégrer la santé à la définition de la robustesse mais nécessitera la création d'une variable synthétique combinant le GMQ relatif et l'observation des données de santé.

4.4.3 Création d'une variable synthétique décrivant la robustesse

Nous pourrions imaginer moduler les données de GMQ relatif en fonction des observations de santé. Nous avons défini le porcelet robuste comme celui ayant de fortes performances en bonne santé quels que soient les environnements dans lequel il est élevé. En pratique, dans notre étude, nous pouvons faire l'hypothèse qu'il s'agit des individus ayant le meilleur GMQ relatif entre 26 et 47 jours d'âge sans problèmes de santé au sein de chaque élevage.

Dans notre étude de la robustesse, nous avons défini qu'au sein d'un élevage, les individus qui avaient un GMQ relatif au-dessus de la médiane de leur élevage étaient robustes. Nous avons choisi de ne pas prendre en compte les données de santé car nous avons jugé que les observations cliniques individuelles quotidiennes faites par les éleveurs n'étaient pas fiables et que les observations faites le 5^{ème} (33 jours d'âge) et le 19^{ème} jour après sevrage (47 jours d'âge) par les expérimentateurs étaient fiables mais pas représentatives de la santé des animaux sur les trois semaines après le sevrage. Néanmoins, nous

pouvons utiliser ces données pour illustrer la façon dont nous pourrions calculer une variable synthétique décrivant la robustesse. Ainsi, actuellement, dans notre étude, nous avons des individus que nous avons qualifiés de robustes puisqu'ils ont un GMQ relatif mesuré entre 26 et 47 jours d'âge au-dessus de la médiane de leur élevage mais qu'ils ont eu des diarrhées (triangles rouges pleins, Figure 24).

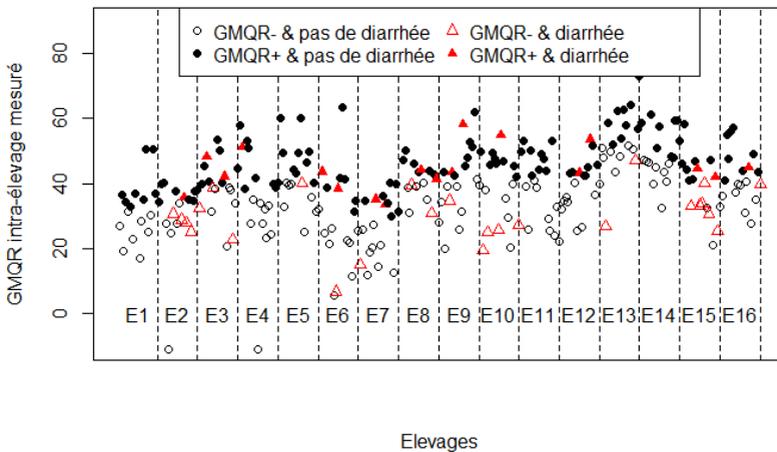


Figure 24 : GMQ relatif mesuré entre 26 et 47 jours d'âge au sein de chaque élevage de l'étude terrain ($GMQR_{26-47} = GMQ_{26-47} / Poids\ viv\ à\ 26\ jours\ d'âge$). GMQR- : GMQ relatif individuel mesuré en dessous de la médiane de son élevage, GMQR+ : GMQ relatif individuel mesuré au dessus de la médiane de son élevage, E1 : Elevage n°1, diarrhée : diarrhée observée à 33 et/ou 47 jours d'âge, pas de diarrhée : pas de diarrhée observée à 33 et 47 jours d'âge.

DISCUSSION GENERALE

Nous pouvons envisager de recalculer le GMQ relatif pour chaque porcelet en le modulant par les observations de santé. Par exemple, nous pourrions réduire le GMQ relatif des porcelets ayant eu au moins un jour de diarrhée sur les trois premières semaines de sevrage en appliquant un coefficient multiplicateur de 0,5 au GMQ relatif mesuré entre 26 et 47 jours d'âge et conserver le GMQ relatif des animaux sans diarrhée en appliquant un coefficient multiplicateur de 1.

$$GMQR\ 26-47\ modul\acute{e} = GMQR\ 26-47\ mesur\acute{e} \times 0,5\ (si\ diarrh\acute{e}es)$$

$$GMQR\ 26-47\ modul\acute{e} = GMQR\ 26-47\ mesur\acute{e} \times 1\ (si\ pas\ de\ diarrh\acute{e}es)$$

Le calcul de ce nouveau GMQ relatif entre 26 et 47 jours d'âge permet de pénaliser les individus ayant eu au moins un jour de diarrhée sur les trois premières semaines de sevrage, qui ont un GMQ relatif modulé en dessous de la médiane de leur élevage (triangles rouges pleins, Figure 25) et qui ne sont donc plus qualifiés de robustes selon nos critères.

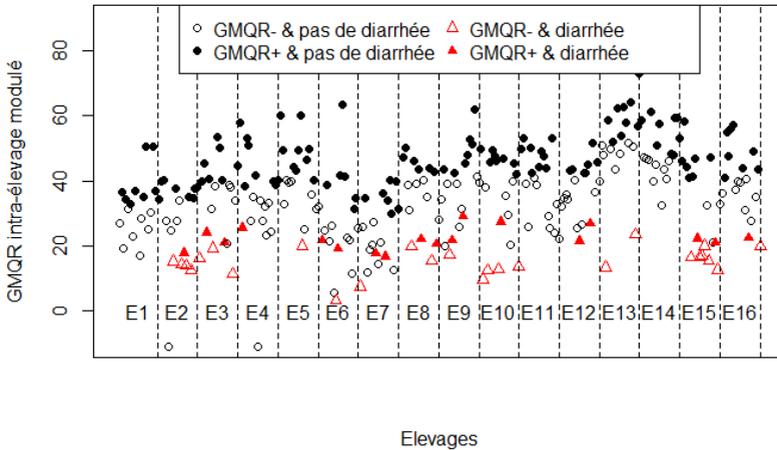


Figure 25 : GMQR 26-47 modulé selon l'élevage. GMQR 26-47 modulé = GMQR 26-47 mesuré x 0,5 (si diarrhées sur les trois premières semaines de sevrage) et GMQR 26-47 modulé = GMQR 26-47 mesuré x 1 (si pas de diarrhées sur les trois premières semaines de sevrage) GMQR- : GMQR individuel mesuré en dessous de la médiane de son élevage, GMQR+ : GMQR individuel mesuré au dessus de la médiane de son élevage.
E1 : Elevage n°1.

Cette méthode de modulation du GMQ relatif entre 26 et 47 jours d'âge ne prend pas en compte la sévérité des diarrhées, en termes de nombre de jours notamment, dans le coefficient multiplicateur utilisé pour le calcul du GMQ relatif 26-47 modulé. En effet, dans cet exemple, un coefficient de 0,5 est appliqué à partir d'un jour de diarrhée quel que soit le nombre de jour total de diarrhées. Or, nous pouvons penser qu'un individu qui aurait eu un seul jour de

diarrhée sur les trois premières semaines de sevrage serait plus robuste qu'un individu qui en aurait eu 15. Si cette sévérité n'est pas prise en compte dans le coefficient multiplicateur, elle l'est dans le GMQ relatif 26-47 puisque nous avons montré qu'il était réduit lors de problèmes de santé. Par conséquent, nous pouvons penser qu'un individu qui aurait eu 1 seul jour de diarrhée aurait un GMQ relatif 26-47 supérieur à celui qui aurait eu 15 jours de diarrhées sur les 3 semaines suivant le sevrage.

4.4.4 Etudes d'intervention permettant de mieux étudier les réponses physiologiques au sevrage

Indépendamment de l'étude de marqueurs de la robustesse, un des objectifs de cette thèse était de tenter d'expliquer les réponses physiologiques des porcelets soumis à différentes conditions de sevrage. Nous avons vu précédemment que les marqueurs que nous avons choisis nous ont permis d'émettre des hypothèses sur certaines réponses physiologiques sans toutefois être en mesure de les valider.

Il serait particulièrement intéressant d'explorer plus en détails le métabolisme protéique, notamment au niveau musculaire, chez le porcelet au sevrage. En effet, nous avons émis l'hypothèse d'une modification du métabolisme protéique au moment du sevrage et lors

de l'application de conditions détériorées de sevrage. Toutefois, les marqueurs que nous avons choisis, la créatinine et l'urée, ne nous permettaient pas de vérifier l'hypothèse d'une mobilisation des protéines musculaires au sevrage. De plus, nous n'avons pas non plus mesuré l'ingestion individuelle des animaux ni contrôlé le temps entre le repas et le prélèvement de sang, données qui sont particulièrement importantes dans ce genre d'étude. La meilleure compréhension du turnover protéique, notamment au niveau du muscle, chez le porcelet au sevrage permettrait de valider ou non notre hypothèse.

La mobilisation des réserves adipeuses à jeun est un phénomène bien connu et documenté dans la littérature. Toutefois, dans notre étude en installation expérimentale, nous n'observons pas, sauf pour les porcelets sevrés à 21 jours d'âge en conditions optimales, d'augmentation de la concentration en acides gras libres, marqueurs de la mobilisation lipidique après le sevrage alors qu'elle est décrite dans la littérature. Cependant, ces études ont été publiées dans les années 80 et depuis les porcs ont été sélectionnés, notamment, sur la production de muscle, réduisant probablement la quantité de réserves adipeuses. Aussi, nous avons émis l'hypothèse que les porcelets de notre étude avaient de faibles réserves adipeuses qui ne leur ont pas permis d'augmenter le niveau de leur mobilisation lipidique après le sevrage. Par conséquent, il conviendrait de mettre en

DISCUSSION GENERALE

place une étude permettant d'évaluer la quantité de réserves lipidiques des porcelets au sevrage et donc leurs possibilités de mobilisation des réserves.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Les objectifs de cette thèse étaient d'identifier des réponses physiologiques associées à la robustesse du porcelet au sevrage et de prédire cette robustesse à partir de variables sanguines décrivant ces réponses mesurées avant et après le sevrage. Nous avons défini la robustesse du porcelet au sevrage dans cette étude comme la capacité d'un porcelet à avoir de bonnes performances de production, en bonne santé quel que soit l'environnement dans lequel il est élevé.

Nous avons mis en évidence que le statut oxydant du porcelet se dégrade au moment du sevrage et qu'il est associé à la croissance et la santé du porcelet après le sevrage. En conséquence, nous avons identifié le statut oxydant comme une réponse physiologique associée à la robustesse du porcelet au sevrage. De plus, nous avons montré que le système immunitaire du porcelet était activé au moment du sevrage. Par ailleurs, le métabolisme est fortement modifié après le sevrage et il est associé à la croissance et la santé du porcelet au sevrage. En conséquence, nous avons identifié le métabolisme, notamment protéique, comme une réponse associée à la robustesse du porcelet au sevrage. Nous avons montré que les variables physiologiques mesurées avant et après sevrage étaient fortement influencées par le statut sanitaire de l'élevage. De plus, en approchant la robustesse par le GMQ relatif entre 26 et 47 jours d'âge, nous avons associé la robustesse du porcelet au sevrage à la mesure, 2 jours avant

et 5 jours après sevrage, de variables sanguines décrivant l'activation du système immunitaire, le statut métabolique et la concentration en vitamine A.

Cette association entre robustesse du porcelet au sevrage et variables physiologiques n'a pas de précédent dans la littérature. Elle permet, en l'état actuel de classer les porcelets dans la bonne classe de robustesse dans deux tiers des cas. L'intégration de nouvelles variables physiologiques pourrait permettre d'améliorer à l'avenir la qualité du modèle d'association entre robustesse du porcelet au sevrage et variables physiologiques. De nouvelles études sont nécessaires afin de valider les marqueurs biologiques qui ont été identifiés dans cette étude, éventuellement d'améliorer la précision de cette association et enrichir notamment avec des données cliniques la définition de notre variable « robustesse ».

L'identification précoce des marqueurs de la robustesse au sevrage pourrait permettre de mettre en place des soins ciblés aux porcelets selon leur niveau de robustesse. A cet effet, il conviendra d'orienter les efforts de recherche pour le développement et la mise en place d'un outil de diagnostic de la robustesse utilisable sur le terrain. L'utilisation d'un tel outil nécessite qu'il soit fiable et précis, utilisable facilement et à faible coût et qu'il donne des résultats

CONCLUSION GENERALE

rapidement afin de permettre à l'éleveur de prendre les mesures appropriées pour les animaux.

Par ailleurs, il paraît particulièrement pertinent d'étudier la possibilité de sélectionner génétiquement des porcs sur la robustesse au sevrage. A cet effet, lorsque les marqueurs de la robustesse auront été validés, il conviendra d'étudier, avec l'appui de généticiens, l'héritabilité de ces marqueurs afin d'envisager ou non une intégration de la robustesse au sevrage dans les objectifs de sélection des porcs.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alberti A., Bolognini L., Macciantelli D., Caratelli M. 1999. The radical cation of N,N-diethyl-para-phenyldiamine: A possible indicator of oxidative stress in biological samples. *Res. Chem. Intermed.*, 26, 253-267.
- Aubry A., Quiniou N., Le Cozler Y., Querné M. 2004. Modélisation de la croissance et de la consommation d'aliment des porcs de la naissance à l'abattage: actualisation des coefficients appliqués aux critères standardisés de performances en Gestion Technico-Economique. *Journ. Rech. Porc.*, 36, 409-422.
- Auldust D.E., Carlson D., Morrish L., Wakeford C.M., King R.H. 2000. The influence of suckling interval on milk production of sows. *J. Anim. Sci.*, 78, 2026-2031.
- Aurousseau B. 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod Anim*, 15, 15.
- Ballatori N., Hammond C.L., Cunningham J.B., Krance S.M., Marchan R. 2005. Molecular mechanisms of reduced glutathione transport: role of the MRP/CFTR/ABCC and OATP/SLC21A families of membrane proteins. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 204, 238-255.
- Bark L.J., Crenshaw T.D., Leibbrandt V.D. 1986. The Effect of Meal Intervals and Weaning on Feed Intake of Early Weaned Pigs. *J. Anim. Sci.*, 62, 1233-1239.
- Barreto M., Farenzena G., Fiaccone R., Santos L.M., Assis A.M., Araújo M.P., Santos P.A. 1994. Effect of vitamin A supplementation on diarrhoea and acute lower-respiratory-tract infections in young children in Brazil. *The Lancet*, 344, 228-231.
- Bates D., Mächler M., Bolker B., Walker S. 2014. Fitting linear mixed-effects models using lme4.
- Beaulieu A.D., Aalhus J.L., Williams N.H., Patience J.F. 2010. Impact

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- of piglet birth weight, birth order, and litter size on subsequent growth performance, carcass quality, muscle composition, and eating quality of pork¹. *J. Anim. Sci.*, 88, 2767-2778.
- van Beers Schreurs H., Vellenga L., Wensing T., Breukink H. 1992. The pathogenesis of the post-weaning syndrome in weaned piglets; a review. *Vet. Q.*, 14, 29-34.
- Beilharz R.G., Luxford B.G., Wilkinson J.L. 1993. Quantitative genetics and evolution: Is our understanding of genetics sufficient to explain evolution? *J. Anim. Breed. Genet.*, 110, 161-170.
- Bender D.A. 2014. Introduction to nutrition and metabolism. CRC Press,
- Bendich A., Machlin L.J., Scandurra O., Burton G.W., Wayner D.D.M. 1986. The antioxidant role of vitamin C. *Adv. Free Radic. Biol. Med.*, 2, 419-444.
- Benzie I.F.F., Strain J.J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Anal. Biochem.*, 239, 70-76.
- Berry D.P., Wall E., Pryce J.E. 2014. Genetics and genomics of reproductive performance in dairy and beef cattle. *animal*, 8, 105-121.
- Black J. 2009. Models to predict feed intake. In *Voluntary feed intake in pigs* (ed. D Torrallardona and E Roura), 323-351.
- Boudry G., Péron V., Le Huërou-Luron I., Lallès J.P., Sève B. 2004. Weaning induces both transient and long-lasting modifications of absorptive, secretory, and barrier properties of piglet intestine. *J. Nutr.*, 134, 2256-2262.
- Breusing N., Grune T. 2010. Biomarkers of protein oxidation from a chemical, biological and medical point of view. *Exp. Gerontol.*, 45, 733-737.
- Bruininx E.M., van der Peet-Schwering C.M., Schrama J.W., Vereijken P.F., Vesseur P.C., Everts H., den Hartog L.A.,

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Beynen A.C. 2001. Individually measured feed intake characteristics and growth performance of group-housed weanling pigs: effects of sex, initial body weight, and body weight distribution within groups. *J. Anim. Sci.*, 79, 301-308.
- Buchet A., Belloc C., Le Floc'h N., Merlot E. 2016a. Effects of weaning conditions on metabolic parameters, growth and health of piglets. In 67th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, p 677. Belfast, UK.
- Buchet A., Belloc C., Leblanc-Maridor M., Merlot E. 2017. Effects of age and weaning conditions on blood indicators of oxidative status in pigs. *PLOS ONE*, 12 (5), e0178487.
- Buchet A., Belloc C., Merlot E. 2016b. Effects of weaning conditions on immune parameters of piglets. In 67th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, p 317. Belfast, UK.
- Casamassima D., Palazzo M., Martemucci G., Vizzarri F., Corino C. 2012. Effects of verbascoside on plasma oxidative status and blood and milk production parameters during the peripartum period in Lacaune ewes. *Small Rumin. Res.*, 105, 1-8.
- Celi P. 2010. Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 33, 233-240.
- Celi P., Di Trana A., Claps S. 2010a. Effects of plane of nutrition on oxidative stress in goats during the peripartum period. *Aust. J. Exp. Agric.*, 184, 95-99.
- Celi P., Sullivan M., Evans D. 2010b. The stability of the reactive oxygen metabolites (d-ROMs) and biological antioxidant potential (BAP) tests on stored horse blood. *Vet. J.*, 183, 217-218.
- Chatelet A., Gondret F., Merlot E., Gilbert H., Friggens N.C., Le Floc'h N. 2017. Impact of hygiene of housing conditions on performance and health of two pig genetic lines divergent for residual feed intake. *Animal*, 1-9.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ching S., Mahan D.C., Wiseman T.G., Fastinger N.D. 2002. Evaluating the antioxidant status of weanling pigs fed dietary vitamins A and E. *J. Anim. Sci.*, 80, 2396-2401.
- Clapperton M., Bishop S.C., Cameron N.D., Glass E.J. 2005. Associations of acute phase protein levels with growth performance and with selection for growth performance in Large White pigs. *Anim. Sci.*, 81, 213-220.
- Clapperton M., Diack A., Matika O., Glass E., Gladney C., Mellencamp M., Hoste A., Bishop S. 2009. Traits associated with innate and adaptive immunity in pigs: heritability and associations with performance under different health status conditions. *Genet. Sel. Evol.*, 41, 54.
- Clapperton M., Glass E.J., Bishop S.C. 2008. Pig peripheral blood mononuclear leucocyte subsets are heritable and genetically correlated with performance. *animal*, 2, 1575-1584.
- Colson V., Martin E., Orgeur P., Prunier A. 2012. Influence of housing and social changes on growth, behaviour and cortisol in piglets at weaning. *Physiol. Behav.*, 107, 59-64.
- Colson V., Orgeur P., Foury A., Mormède P. 2006. Consequences of weaning piglets at 21 and 28 days on growth, behaviour and hormonal responses. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 98, 70-88.
- Corino C., Rossi R., Musella M., Cannata S., Pastorelli G. 2007. Growth performance and oxidative status in piglets supplemented with verbascoside and teupolioside. *Ital J Anim Sci*, 6, 292-294.
- Couret D., Jamin A., Kuntz-Simon G., Prunier A., Merlot E. 2009. Maternal stress during late gestation has moderate but long-lasting effects on the immune system of the piglets. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 131, 17-24.
- Devi S.M., Kim I. 2014. Effect of medium chain fatty acids (MCFA) and probiotic (*Enterococcus faecium*) supplementation on the growth performance, digestibility and blood profiles in

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- weanling pigs. *Vet Med*, 59, 527-535.
- Di Trana A., Celi P., Claps S., Fedele V., Rubino R. 2006. The effect of hot season and nutrition on the oxidative status and metabolic profile in dairy goats during mid lactation. *Anim. Sci.*, 82, 717-722.
- Donaldson G.P., Lee S.M., Mazmanian S.K. 2016. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat Rev Micro*, 14, 20-32.
- Dou S., Gadonna-Widehem P., Rome V., Hamoudi D., Rhazi L., Lakhali L., Larcher T., Bahi-Jaber N., Pinon-Quintana A., Guyonvarch A., Huërou-Luron I.L.E., Abdennebi-Najar L. 2017. Characterisation of early-life fecal microbiota in susceptible and healthy pigs to post-weaning diarrhoea. *PLOS ONE*, 12, e0169851.
- Dunshea F. 2003. Metabolic and endocrine changes around weaning. In *Weaning the pig: Concepts and consequences*, 61-80. Wageningen, The Netherlands, Wageningen Academic Publishers.
- Dunshea F.R., Harris D.M., Bauman D.E., Boyd R.D., Bell A.W. 1992. Effect of somatotropin on nonesterified fatty acid and glycerol metabolism in growing pigs. *J. Anim. Sci.*, 70, 132-140.
- Eckersall P.D., Saini P.K., McComb C. 1996. The acute phase response of acid soluble glycoprotein, α 1-acid glycoprotein, ceruloplasmin, haptoglobin and C-reactive protein, in the pig. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 51, 377-385.
- Fairbrother J.M., Nadeau É., Gyles C.L. 2005. *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Anim. Health Res. Rev.*, 6, 17-39.
- Favier A. 2003. Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actual. Chim.*, 7.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Finkel T. 2014. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 15, 411-421.
- Finkel T., Holbrook N.J. 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408, 239-247.
- Forchielli M.L., Walker W.A. 2005. The role of gut-associated lymphoid tissues and mucosal defence. *Br. J. Nutr.*, 93, S41-S48.
- Fortané N., Bonnet-Beaugrand F., Hémonic A., Samedi C., Savy A., Belloc C. 2015. Learning processes and trajectories for the reduction of antibiotic use in pig farming: a qualitative approach M. J. Woodward, éd. *Antibiotics*, 4, 435-454.
- Friggens N.C., Blanc F., Berry D.P., Puillet L. 2017. Review: Deciphering animal robustness. A synthesis to facilitate its use in livestock breeding and management. *Animal*, 1-15.
- Friggens N.C., Sauvant D., Martin O. 2010. Vers des définitions opérationnelles de la robustesse s'appuyant sur des faits biologiques: l'exemple de la nutrition. *INRA Prod Anim*, 23, 43-52.
- Funderburke D.W., Seerley R.W. 1990. The effects of postweaning stressors on pig weight change, blood, liver and digestive tract characteristics. *J. Anim. Sci.*, 68, 155-162.
- Gao Y., Han F., Huang X., Rong Y., Yi H., Wang Y. 2013. Changes in gut microbial populations, intestinal morphology, expression of tight junction proteins, and cytokine production between two pig breeds after challenge with *Escherichia coli* K88: A comparative study1. *J. Anim. Sci.*, 91, 5614-5625.
- Glorieux C., Zamocky M., Sandoval J.M., Verrax J., Calderon P.B. 2015. Regulation of catalase expression in healthy and cancerous cells. *Free Radic. Biol. Med.*, 87, 84-97.
- Gresse R., Chaucheyras-Durand F., Fleury M.A., Van de Wiele T., Forano E., Blanquet-Diot S. 2017. Gut Microbiota Dysbiosis

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- in Postweaning Piglets: Understanding the Keys to Health. *Trends Microbiol.*, 25, 851-873.
- Gutzeit C., Magri G., Cerutti A. 2014. Intestinal IgA production and its role in host-microbe interaction. *Immunol. Rev.*, 260, 76-85.
- Halliwell B. 1988. Albumin—An important extracellular antioxidant? *Biochem. Pharmacol.*, 37, 569-571.
- Halliwell B., Gutteridge J.M. 2015. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, USA,
- Halliwell B., Whiteman M. 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br. J. Pharmacol.*, 142, 231-255.
- He Q., Tang H., Ren P., Kong X., Wu G., Yin Y., Wang Y. 2011. Dietary Supplementation with l-Arginine Partially Counteracts Serum Metabonome Induced by Weaning Stress in Piglets. *J. Proteome Res.*, 10, 5214-5221.
- van den Hemel-Grooten H.N.A., Rathmacher J.A., Jan Garsen G., Schreurs V.V.A.M., Verstegen M.W.A. 1998. Whole body 3-methylhistidine production and proteinase activities in porcine muscle after protein-free feeding and realimentation. *Livest. Prod. Sci.*, 55, 145-156.
- Hémonic A., Chauvin C., Corrége I., Guinaudeau J., Soyer J., Berthelot N., Delzescaux D., Verliat F. 2013. Mise au point d'un outil de suivi des usages d'antibiotiques dans la filière porcine: Etude des quantités utilisées et des modalités d'administration à partir du panel Inaporc. *Journ. Rech. Porc.*, 45, 255-260.
- Heo J., Kattesh H.G., Roberts M.P., Schneider J.F. 2003. Plasma levels of cortisol and corticosteroid-binding globulin (CBG) and hepatic CBG mRNA expression in pre- and postnatal pigs. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 25, 263-273.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Hermes-Lima M., Moreira D.C., Rivera-Ingraham G.A., Giraud-Billoud M., Genaro-Mattos T.C., Campos É.G. 2015. Preparation for oxidative stress under hypoxia and metabolic depression: Revisiting the proposal two decades later. *Free Radic. Biol. Med.*, 89, 1122-1143.
- Hessing M.J.C., Scheepens C.J.M., Schouten W.G.P., Tielen M.J.M., Wiepkema P.R. 1994. Social rank and disease susceptibility in pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 43, 373-387.
- Holm B., Bakken M., Klemetsdal G., Vangen O. 2004. Genetic correlations between reproduction and production traits in swine. *J. Anim. Sci.*, 82, 3458-3464.
- Hopwood D.E., Hampson D.J. 2003. Interactions between the intestinal microflora, diet and diarrhoea, and their influences on piglet health in the immediate post-weaning period. In *Weaning the pig: Concepts and consequences*, 199-218. Wageningen, The Netherlands.
- Hulbert A.J., Pamplona R., Buffenstein R., Buttemer W.A. 2007. Life and Death: Metabolic Rate, Membrane Composition, and Life Span of Animals. *Physiol. Rev.*, 87, 1175-1213.
- Huting A.M.S., Almond K., Wellock I., Kyriazakis I. 2017. What is good for small piglets might not be good for big piglets: The consequences of cross-fostering and creep feed provision on performance to slaughter¹². *J. Anim. Sci.*, 95, 4926-4944.
- IFIP. 2007. Consignes d'enregistrement en GTE - Tableau de Bord.
- IFIP. 2013. Memento de l'éleveur de porcs. 7^{ème} édition.,
- Iwata M., Hirakiyama A., Eshima Y., Kagechika H., Kato C., Song S.-Y. 2004. Retinoic Acid Imprints Gut-Homing Specificity on T Cells. *Immunity*, 21, 527-538.
- Jarvis S., Moinard C., Robson S.K., Sumner B.E.H., Douglas A.J., Seckl J.R., Russell J.A., Lawrence A.B. 2008. Effects of weaning age on the behavioural and neuroendocrine development of piglets. *Early Weaning*, 110, 166-181.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Jensen V.F., Jorsal S.-E.L., Toft N. 2017. A cross-sectional study of oral antibacterial treatment patterns in relation to specific diarrhoeal pathogens in weaner pigs. *Vet. Microbiol.*, 203, 18-27.
- Jin L., Yan S., Shi B., Bao H., Gong J., Guo X., Li J. 2014. Effects of vitamin A on the milk performance, antioxidant functions and immune functions of dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 192, 15-23.
- Johnson R.W. 1997. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. *J. Anim. Sci.*, 75, 1244-1255.
- Johnson R.W., von Borell E. 1994. Lipopolysaccharide-induced sickness behavior in pigs is inhibited by pretreatment with indomethacin. *J. Anim. Sci.*, 72, 309-314.
- Kato L.M., Kawamoto S., Maruya M., Fagarasan S. 2014. The role of the adaptive immune system in regulation of gut microbiota. *Immunol. Rev.*, 260, 67-75.
- Kayden H.J., Traber M.G. 1993. Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans. *J. Lipid Res.*, 34, 343-358.
- Kiarie E., Slominski B.A., Krause D.O., Nyachoti C.M. 2009. Acute phase response of piglets fed diets containing non-starch polysaccharide hydrolysis products and egg yolk antibodies following an oral challenge with *Escherichia coli* (k88). *Can. J. Anim. Sci.*, 89, 353-360.
- Kim H.B., Isaacson R.E. 2015. The pig gut microbial diversity: Understanding the pig gut microbial ecology through the next generation high throughput sequencing. *Vet. Microbiol.*, 177, 242-251.
- Kitano H. 2004. Biological robustness. *Nat Rev Genet*, 5, 826-837.
- Klindt J. 2003. Influence of litter size and creep feeding on preweaning gain and influence of preweaning growth on growth to slaughter in barrows. *J. Anim. Sci.*, 81, 2434-2439.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Knap P.W. 2005. Breeding robust pigs. *Aust. J. Exp. Agric.*, 45, 763-773.
- Kohen R., Nyska A. 2002. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Pathol.*, 30, 620-650.
- Ladinig A., Gerner W., Saalmüller A., Lunney J.K., Ashley C., Harding J.C. 2014. Changes in leukocyte subsets of pregnant gilts experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and relationships with viral load and fetal outcome. *Vet. Res.*, 45, 128.
- Lallès J.-P., Bosi P., Smidt H., Stokes C.R. 2007. Nutritional management of gut health in pigs around weaning. *Proc. Nutr. Soc.*, 66, 260-268.
- Lallès J.-P., Boudry G., Favier C., Le Floc'h N., Luron I., Montagne L., Oswald I.P., Pié S., Piel C., Sève B. 2004. Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. *Anim Res*, 53, 301-316.
- Lallès J.P., David J.C. 2011. Fasting and refeeding modulate the expression of stress proteins along the gastrointestinal tract of weaned pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 95, 478-488.
- Lauridsen C., Hedemann M.S., Jensen S.K. 2001. Hydrolysis of tocopheryl and retinyl esters by porcine carboxyl ester hydrolase is affected by their carboxylate moiety and bile acids. *J. Nutr. Biochem.*, 12, 219-224.
- Lauridsen C., Jensen S.K. 2005. Influence of supplementation of all-rac- α -tocopheryl acetate preweaning and vitamin C postweaning on α -tocopherol and immune responses of piglets. *J. Anim. Sci.*, 83, 1274-1286.
- Le Dividich J., Rooke J., Herpin P. 2005. Nutritional and immunological importance of colostrum for the new-born pig. *J. Agric. Sci.*, 143, 469-485.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Le Dividich J., Sève B. 2000. Effects of underfeeding during the weaning period on growth, metabolism, and hormonal adjustments in the piglet. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 19, 63-74.
- Le Floc'h N., Jondreville C., Matte J.J., Seve B. 2006. Importance of sanitary environment for growth performance and plasma nutrient homeostasis during the post-weaning period in piglets. *Arch. Anim. Nutr.*, 60, 23-34.
- Le Floc'h N., Knudsen C., Gidenne T., Montagne L., Merlot E., Zemb O. 2014. Impact of feed restriction on health, digestion and faecal microbiota of growing pigs housed in good or poor hygiene conditions. *Animal*, 8, 1632-1642.
- Le Floc'h N., LeBellego L., Matte J.J., Melchior D., Sève B. 2009. The effect of sanitary status degradation and dietary tryptophan content on growth rate and tryptophan metabolism in weaning pigs. *J. Anim. Sci.*, 87, 1686-1694.
- Le Floc'h N., Melchior D., Obled C. 2004. Modifications of protein and amino acid metabolism during inflammation and immune system activation. *Livest. Prod. Sci.*, 87, 37-45.
- Le Naou T., Le Floc'h N., Louveau I., Gilbert H., Gondret F. 2012. Metabolic changes and tissue responses to selection on residual feed intake in growing pigs. *J. Anim. Sci.*, 90, 4771-4780.
- Lenth R. 2015. *lsmeans: Least-Squares Means*.
- Lewis D.F.V. 2002. Oxidative stress: the role of cytochromes P450 in oxygen activation. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 77, 1095-1100.
- Lin M.T., Flint Beal M. 2003. The oxidative damage theory of aging. *Clin. Neurosci. Res.*, 2, 305-315.
- Lopez-Rodriguez A., Dewulf J., Meyns T., Del-Pozo-Sacristán R., Andreoni C., Goubier A., Chapat L., Charreyre C., Joisel F., Maes D. 2016. Effect of sow vaccination against porcine

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- circovirus type 2 (PCV2) on virological profiles in herds with or without PCV2 systemic disease. *Can. Vet. J.*, 57, 619-628.
- Lykkesfeldt J., Svendsen O. 2007. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Vet. J.*, 173, 502-511.
- Mach N., Berri M., Estellé J., Levenez F., Lemonnier G., Denis C., Leplat J.-J., Chevaleyre C., Billon Y., Doré J., Rogel-Gaillard C., Lepage P. 2015. Early-life establishment of the swine gut microbiome and impact on host phenotypes. *Environ. Microbiol. Rep.*, 7, 554-569.
- Madec F., Bridoux N., Bounaix S., Jestin A. 1998. Measurement of digestive disorders in the piglet at weaning and related risk factors. *Prev. Vet. Med.*, 35, 53-72.
- Magnusson U., Wilkie B., Artursson K., Mallard B. 1999. Interferon-alpha and haptoglobin in pigs selectively bred for high and low immune response and infected with *Mycoplasma hyorhinis*. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 68, 131-137.
- Mahan D.C. 1991. Assessment of the influence of dietary vitamin E on sows and offspring in three parities: reproductive performance, tissue tocopherol, and effects on progeny. *J. Anim. Sci.*, 69, 2904-2917.
- Male D., Brostoff J., Roth D.B., Roitt I. 2012. *Immunologie*. Elsevier, 8ème., 600 p.
- Marsland A.L., Bachen E.A., Cohen S., Rabin B., Manuck S.B. 2002. Stress, immune reactivity and susceptibility to infectious disease. *Physiol. Behav.*, 77, 711-716.
- Mason S.P., Jarvis S., Lawrence A.B. 2003. Individual differences in responses of piglets to weaning at different ages. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 80, 117-132.
- Mayne S.T. 2003. Antioxidant Nutrients and Chronic Disease: Use of Biomarkers of Exposure and Oxidative Stress Status in Epidemiologic Research. *J. Nutr.*, 133, 933S-940S.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- McCracken B.A., Gaskins H.R., Ruwe-Kaiser P.J., Klasing K.C., Jewell D.E. 1995. Diet-Dependent and Diet-Independent Metabolic Responses Underlie Growth Stasis of Pigs at Weaning. *J. Nutr.*, 125, 2838-2845.
- McCracken B.A., Spurlock M.E., Roos M.A., Zuckermann F.A., Gaskins H.R. 1999. Weaning Anorexia May Contribute to Local Inflammation in the Piglet Small Intestine. *J. Nutr.*, 129, 613-619.
- McOrist S., Corona-Barrera E. 2015. Intestinal diseases of pigs. In : Niewold Theo (Eds), *Intestinal health, key to maximise growth performance in livestock*, 51-70. The Netherlands, Wageningen Academic Publishers.
- Merlot E. 2004. Conséquences su stress sur la fonction immunitaire chez les animaux d'élevage. *INRA Prod Anim*, 17, 255-264.
- 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, G173.
- Monaghan P., Metcalfe N.B., Torres R. 2009. Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs: mechanisms, measurements and interpretation. *Ecol. Lett.*, 12, 75-92.
- Montagne L., Le Floc'h N., Arturo-Schaan M., Foret R., Urdaci M.C., Le Gall M. 2012. Comparative effects of level of dietary fiber and sanitary conditions on the growth and health of weanling pigs. *J. Anim. Sci.*, 90, 2556-2569.
- Mora J.R., von Andrian U.H. 2009. Role of retinoic acid in the imprinting of gut-homing IgA-secreting cells. *Roles Retin. Acid Lymph. Differ.*, 21, 28-35.
- Moreira I., Mahan D.C. 2002. Effect of dietary levels of vitamin E (all-rac-tocopheryl acetate) with or without added fat on weanling pig performance and tissue alpha-tocopherol concentration. *J. Anim. Sci.*, 80.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Mormède P., Terenina E. 2012. Molecular genetics of the adrenocortical axis and breeding for robustness. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 43, 116-131.
- Mormède P., Terenina E., Gress L., Billon Y., Ferchaud S., Larzul C. 2016. Analyse génétique de la réponse à l'ACTH chez le porc, relation avec des caractères de robustesse. *Journ. Rech. Porc. En Fr.*, 48, 263-266.
- Mosenthin R. 1998. Physiology of Small and Large Intestine of Swine - Review -. *Asian-Australas J Anim Sci*, 11, 608-619.
- van der Most P.J., de Jong B., Parmentier H.K., Verhulst S. 2011. Trade-off between growth and immune function: a meta-analysis of selection experiments. *Funct. Ecol.*, 25, 74-80.
- Moughan P.J. 1999. Protein metabolism in the growing pigs. In *A Quantitative biology of the pig*, Wallingford, Oxford, UK, CAB Publications.
- Murata H. 2007. Stress and acute phase protein response: An inconspicuous but essential linkage. *Vet. J.*, 173, 473-474.
- Nagy B., Fekete P.Z. 2005. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. *Int. J. Med. Microbiol.*, 295, 443-454.
- O'Connell N.E., Beattie V.E., Sneddon I.A., Breuer K., Mercer J.T., Rance K.A., Sutcliffe M.E.M., Edwards S.A. 2005. Influence of individual predisposition, maternal experience and lactation environment on the responses of pigs to weaning at two different ages. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 90, 219-232.
- Oriani G., Corino C., Pastorelli G., Pantaleo L., Ritieni A., Salvatori G. 2001. Oxidative status of plasma and muscle in rabbits supplemented with dietary vitamin E. *J. Nutr. Biochem.*, 12, 138-143.
- Owusu-Asiedu A., Nyachoti C.M., Baidoo S.K., Marquardt R.R., Yang X. 2003. Response of early-weaned pigs to an enterotoxigenic *Escherichia coli* (K88) challenge when fed diets containing spray-dried porcine plasma or pea protein

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- isolate plus egg yolk antibody. *J. Anim. Sci.*, 81, 1781-1789.
- Pácha J. 2000. Development of Intestinal Transport Function in Mammals. *Physiol. Rev.*, 80, 1633.
- Palace V.P., Khaper N., Qin Q., Singal P.K. 1999. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radic. Biol. Med.*, 26, 746-761.
- Palazzo M., Vizzarri F., Cinone M., Corino C., Casamassima D. 2011. Assessment of a natural dietary extract, titrated in phenylpropanoid glycosides, on blood parameters and plasma oxidative status in intensively reared Italian hares (*Lepus corsicanus*). *Animal*, 5, 844-850.
- Paredes S.P., Jansman A.J.M., Verstegen M.W.A., Awati A., Buist W., Den Hartog L.A., Van hees H.M.J., Quiniou N., Hendriks W.H., Gerrits W.J.J. 2012. Analysis of factors to predict piglet body weight at the end of the nursery phase. *J Anim Sci*, 90, 3243-3251.
- Park J.C., Lee S.H., Hong J.K., Cho J.H., Kim I.H., Park S.K. 2014. Effect of Dietary Supplementation of Procyanidin on Growth Performance and Immune Response in Pigs. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 27, 131-139.
- Pastorelli G., Rossi R., Corino C. 2012a. Influence of *Lippia citriodora* verbascoside on growth performance, antioxidant status, and serum immunoglobulins content in piglets. *Czech J. Anim. Sci.*, 57, 312-322.
- Pastorelli H., Le Floc'h N., Merlot E., Meunier-Salaün M.C., van Milgen J., Montagne L. 2012b. Feed restriction applied after weaning has different effects on pig performance and health depending on the sanitary conditions. *J. Anim. Sci.*, 90, 4866-4875.
- Pastorelli H., Le Floc'h N., Merlot E., Meunier-Salaün M.C., van Milgen J., Montagne L. 2012c. Sanitary housing conditions modify the performance and behavioural response of weaned

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- pigs to feed- and housing-related stressors. *Animal*, 6, 1811-1820.
- Pastorelli H., van Milgen J., Lovatto P., Montagne L. 2012d. Meta-analysis of feed intake and growth responses of growing pigs after a sanitary challenge. *Animal*, 6, 952-961.
- Pedernera M., Celi P., García S.C., Salvin H.E., Barchia I., Fulkerson W.J. 2010. Effect of diet, energy balance and milk production on oxidative stress in early-lactating dairy cows grazing pasture. *Vet. J.*, 186, 352-357.
- Pedersen K.S., Stege H., Nielsen J.P. 2011. Evaluation of a microwave method for dry matter determination in faecal samples from weaned pigs with or without clinical diarrhoea. *Prev. Vet. Med.*, 100, 163-170.
- Pedersen K.S., Toft N. 2011. Intra- and inter-observer agreement when using a descriptive classification scale for clinical assessment of faecal consistency in growing pigs. *Prev. Vet. Med.*, 98, 288-291.
- Pérez V.I., Bokov A., Van Remmen H., Mele J., Ran Q., Ikeno Y., Richardson A. 2009. Is the Oxidative Stress Theory of Aging Dead? *Biochim. Biophys. Acta*, 1790, 1005-1014.
- Petersen H.H., Ersbøll A.K., Jensen C.S., Nielsen J.P. 2002. Serum-haptoglobin concentration in Danish slaughter pigs of different health status. *Prev. Vet. Med.*, 54, 325-335.
- Phocas F., Bobe J., Bodin L., Charley B., Dourmad J.-Y., Friggens N.C., Hocquette J.-F., Le Bail P.-Y., Le Bihan-Duval E., Mormede P., Quéré P., Schelcher F. 2014. Des animaux plus robustes: un enjeu majeur pour le développement durable des productions animales nécessitant l'essor du phénotypage fin et à haut débit. *INRA Prod Anim*, 27, 181-194.
- Pié S., Lallès J.P., Blazy F., Laffitte J., Sève B., Oswald I.P. 2004. Weaning is associated with an upregulation of expression of inflammatory cytokines in the intestine of piglets. *J. Nutr.*,

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 134, 641-647.
- Piñeiro M., Piñeiro C., Carpintero R., Morales J., Campbell F.M., Eckersall P.D., Toussaint M.J.M., Lampreave F. 2007. Characterisation of the pig acute phase protein response to road transport. *Vet. J.*, 173, 669-674.
- Pluske J.R., Hampson D.J., Williams I.H. 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livest. Prod. Sci.*, 51, 215-236.
- Pongratz G., Straub R.H. 2014. The sympathetic nervous response in inflammation. *Arthritis Res. Ther.*, 16, 504.
- Prévéraud D., Desmarchelier C., Rouffineau F., Devillard E., Borel P. 2015. A meta-analysis to assess the effect of the composition of dietary fat on α -tocopherol blood and tissue concentration in pigs. *J. Anim. Sci.*, 93, 1177-1186.
- Quadro L., Gamble M.V., Vogel S., Lima A.A.M., Piantedosi R., Moore S.R., Colantuoni V., Gottesman M.E., Guerrant R.L., Blaner W.S. 2000. Retinol and Retinol-Binding Protein: Gut Integrity and Circulating Immunoglobulins. *J. Infect. Dis.*, 182, S97-S102.
- Quesnel H., Brossard L., Valancogne A., Quiniou N. 2008. Influence of some sow characteristics on within-litter variation of piglet birth weight.
- Quiniou N., Dagorn J., Gaudré D. 2002. Variation of piglets' birth weight and consequences on subsequent performance. *Livest. Prod. Sci.*, 78, 63-70.
- R Core Team. 2015. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria,
- Rauw W.M., Kanis E., Noordhuizen-Stassen E., Grommers F. 1998. Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. *Livest. Prod. Sci.*, 56, 15-33.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Rennie M.J., Smith K., Watt P.W. 1994. Measurement of human tissue protein synthesis: an optimal approach. *Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab.*, 266, E298-E307.
- Rhouma M., Fairbrother J.M., Beaudry F., Letellier A. 2017. Post weaning diarrhea in pigs: risk factors and non-colistin-based control strategies. *Acta Vet. Scand.*, 59, 31.
- Roche M., Rondeau P., Singh N.R., Tarnus E., Bourdon E. 2008. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lett.*, 582, 1783-1787.
- Rooks M.G., Garrett W.S. 2016. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat Rev Immunol*, 16, 341-352.
- de Ruyter E.M., van Wetter W.H.E.J., Lines D.S., Plush K.J. 2017. Gradually reducing sow contact in lactation is beneficial for piglet welfare around weaning. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 193, 43-50.
- Salak-Johnson J.L., McGlone J.J. 2007. Making sense of apparently conflicting data: Stress and immunity in swine and cattle1. *J. Anim. Sci.*, 85, E81-E88.
- Salmon H., Berri M., Gerdtz V., Meurens F. 2009. Humoral and cellular factors of maternal immunity in swine. *Dev. Comp. Immunol.*, 33, 384-393.
- Sauerwein H., Schmitz S., Hiss S. 2007. Effects of a dietary application of a yeast cell wall extract on innate and acquired immunity, on oxidative status and growth performance in weanling piglets and on the ileal epithelium in fattened pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 91, 369-380.
- Sauerwein H., Schmitz S., Hiss S. 2005. The acute phase protein haptoglobin and its relation to oxidative status in piglets undergoing weaning-induced stress. *Redox Rep.*, 10, 295-302.
- Sautron V., Terenina E., Gress L., Lippi Y., Billon Y., Larzul C., Liaubet L., Villa-Vialaneix N., Mormède P. 2015. Time course of the response to ACTH in pig: biological and transcriptomic

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- study. *BMC Genomics*, 16, 961.
- Schinckel A., Richert B., Frank J., Kendall D. 1999. Genetic by environmental interactions for pig growth. *Purdue Swine Day Rep.*, 93-103.
- Sève B., Reeds P., Fuller M., Cadenhead A. 1986. Protein synthesis and retention in some tissues of the young pig as influenced by dietary protein intake after early-weaning. Possible connection to the energy metabolism. *Reprod. Nutr. Dév.*, 26, 849-861.
- Sharma R.K., Pasqualotto F.F., Nelson D.R., Thomas A.J., Agarwal A. 1999. The reactive oxygen species—total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility. *Hum. Reprod.*, 14, 2801-2807.
- Shelton N.W., Dritz S.S., Nelssen J.L., Tokach M.D., Goodband R.D., DeRouchey J.M., Yang H., Hill D.A., Holzgraefe D., Hall D.H., Mahan D.C. 2014. Effects of dietary vitamin E concentration and source on sow, milk, and pig concentrations of α -tocopherol. *J. Anim. Sci.*, 92, 4547-4556.
- Sivertsen T., Vie E., Bernhoft A., Baustad B. 2007. Vitamin E and selenium plasma concentrations in weanling pigs under field conditions in Norwegian pig herds. *Acta Vet. Scand.*, 49, 1-1.
- Smith F., Clark J.E., Overman B.L., Tozel C.C., Huang J.H., Rivier J.E.F., Blisklager A.T., Moeser A.J. 2010. Early weaning stress impairs development of mucosal barrier function in the porcine intestine. *Am. J. Physiol. - Gastrointest. Liver Physiol.*, 298, G352.
- Sommer F., Backhed F. 2013. The gut microbiota: masters of host development and physiology. *Nat Rev Micro*, 11, 227-238.
- Somogyi A., Prosta K., Pusztai P., Tulassay Z., Nagy G. 2007. Antioxidant measurements. *Physiol Meas*, 28, 15.
- Spreeuwenberg M.A.M., Verdonk J.M.A.J., Gaskins H.R., Verstegen M.W.A. 2001. Small Intestine Epithelial Barrier Function Is Compromised in Pigs with Low Feed Intake at Weaning. *J.*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Nutr., 131, 1520-1527.
- Stokes C.R., Bailey M., Haverson K., Harris C., Jones P., Inman C., Pié S., Oswald I.P., Williams B.A., Akkermans A.D. 2004. Postnatal development of intestinal immune system in piglets: implications for the process of weaning. *Anim. Res.*, 53, 325-334.
- Stokes C.R., Bailey M., Wilson A.D. 1994. Immunology of the porcine gastrointestinal tract. *Spec. Issue Porc. Immunol.*, 43, 143-150.
- Surles R.L., Mills J.P., Valentine A.R., Tanumihardjo S.A. 2007. One-time graded doses of vitamin A to weanling piglets enhance hepatic retinol but do not always prevent vitamin A deficiency. *Am. J. Clin. Nutr.*, 86, 1045-1053.
- Taverna M., Marie A.-L., Mira J.-P., Guidet B. 2013. Specific antioxidant properties of human serum albumin. *Ann Intensive Care*, 3, 2-7.
- Theilgaard P., Sánchez J.P., Pascual J.J., Berg P., Friggens N.C., Baselga M. 2007. Late reproductive senescence in a rabbit line hyper selected for reproductive longevity, and its association with body reserves. *Genet. Sel. Evol.*, 39, 207.
- Thurnham D.I., Northrop-Clewes C.A., McCullough F.S.W., Das B.S., Lunn P.G. 2000. Innate Immunity, Gut Integrity, and Vitamin A in Gambian and Indian Infants. *J. Infect. Dis.*, 182, S23-S28.
- Traber M.G. 2012. Vitamin E. In : Lippincott Williams & Wilkins (Eds), *Modern Nutrition in Health and Disease*, Baltimore, 11^e éd.
- Trachootham D., Lu W., Ogasawara M.A., Valle N.R.-D., Huang P. 2008. Redox Regulation of Cell Survival. *Antioxid. Redox Signal.*, 10, 1343-1374.
- Tsigos C., Chrousos G.P. 2002. Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J. Psychosom. Res.*, 53,

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 865-871.
- Turner S.P., Ewen M., Rooke J.A., Edwards S.A. 2000. The effect of space allowance on performance, aggression and immune competence of growing pigs housed on straw deep-litter at different group sizes. *Livest. Prod. Sci.*, 66, 47-55.
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39, 44-84.
- Vente-Spreuwenberg M., Beynen A.C. 2003. Diet-mediated modulation of small intestinal integrity in weaned piglets. In *Weaning the pig, concepts and consequences*, Wageningen Publishers.
- Wagstrom E.A., Yoon K.-J., Zimmerman J.J. 2000. Immune components in porcine mammary secretions. *Viral Immunol.*, 13, 383-397.
- Wathes C.M., Miller B.G., Bourne F.J. 1989. Cold stress and post-weaning diarrhoea in piglets inoculated orally or by aerosol. *Anim. Sci.*, 49, 483-496.
- Whittemore C.T., Taylor H.M., Henderson R., Wood J.D., Brock D.C. 1981. Chemical and dissected composition changes in weaned piglets. *Anim. Sci.*, 32, 203-210.
- Wijtten P.J.A., Meulen J. van der, Verstegen M.W.A. 2011. Intestinal barrier function and absorption in pigs after weaning: a review. *Br. J. Nutr.*, 105, 967-981.
- Wilburn E.E., Mahan D.C., Hill D.A., Shipp T.E., Yang H. 2008. An evaluation of natural (RRR- α -tocopheryl acetate) and synthetic (all-rac- α -tocopheryl acetate) vitamin E fortification in the diet or drinking water of weanling pigs. *J. Anim. Sci.*, 86.
- Williams P.N., Collier C.T., Carroll J.A., Welsh T.H., Laurenz J.C. 2009. Temporal pattern and effect of sex on lipopolysaccharide-induced stress hormone and cytokine

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- response in pigs. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 37, 139-147.
- Winter S.E., Winter M.G., Xavier M.N., Thiennimitr P., Poon V., Keestra A.M., Laughlin R.C., Gomez G., Wu J., Lawhon S.D., Popova I., Parikh S.J., Adams L.G., Tsohis R.M., Stewart V.J., Bäumlér A.J. 2013. Host-derived nitrate boosts growth of *E. coli* in the inflamed gut. *Science*, 339, 708-711.
- Wittish L.M., McElroy A.P., Harper A.F., Estienne M.J. 2014. Performance and physiology of pigs administered spray-dried plasma protein during the late suckling period and transported after weaning. *J. Anim. Sci.*, 92, 4390-4399.
- Wolter B.F., Ellis M., Corrigan B.P., DeDecker J.M. 2002. The effect of birth weight and feeding of supplemental milk replacer to piglets during lactation on preweaning and postweaning growth performance and carcass characteristics. *J. Anim. Sci.*, 80, 301-308.
- Wyss M., Kaddurah-Daouk R. 2000. Creatine and Creatinine Metabolism. *Physiol. Rev.*, 80, 1107-1213.
- Xiao L. et al. 2016. A reference gene catalogue of the pig gut microbiome. *Nat. Microbiol.*, 1, 16161.
- Xie C., Wang Q., Wang J., Tan B., Fan Z., Deng Z., Wu X., Yin Y. 2016. Developmental changes in hepatic glucose metabolism in a newborn piglet model: A comparative analysis for suckling period and early weaning period. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 470, 824-830.
- Zimmerman J.J., Karriker L., Ramirez A., Schwartz K., Stevenson G. éd. 2012. *Diseases of swine*. Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex, 10th ed., 983 p.

ANNEXES

| | |
|--|-----|
| ANNEXE 1 : OXIDATIVE STRESS AS BIOMARKER OF PIGLET HEALTH AT WEANING (ISANH 2016, PARIS, FRANCE)..... | 289 |
| ANNEXE 2 : EFFECT OF AGE AND WEANING ON PLASMA VITAMINE E CONCENTRATION IN PIGS (ISANH 2017, PARIS, FRANCE)..... | 290 |
| ANNEXE 3 : EVOLUTION DU STATUT OXYDANT DU PORC EN CROISSANCE ET FOCUS SUR L'INFLUENCE DE LA CONSUITE AU SEVRAGE (JRP 2017, PARIS, FRANCE) | 292 |
| ANNEXE 4 : OXIDATIVE STRESS AS INDICATOR OF PIGLET HEALTH AT WEANING (ESPHM 2017, PRAGUE, RÉPUBLIQUE TCHÈQUE)..... | 298 |
| ANNEXE 5 : EFFECT OF WEANING CONDITIONS ON THE EVOLUTION OF PIGLET PLASMA CONCENTRATION OF VITAMIN E (EAAP 2017, TALLINN, ESTONIE)..... | 300 |
| ANNEXE 6 : EFFECT OF WEANING CONDITIONS ON METABOLIC PARAMETERS, GROWTH AND HEALTH OF PIGLETS (EAAP 2016, BELFAST, ROYAUME UNI) | 301 |
| ANNEXE 7 : EFFECTS OF WEANING CONDITIONS ON IMMUNE PARAMETERS OF PIGLETS (EAAP 2016, BELFAST, ROYAUME UNI) | 302 |
| ANNEXE 8 : LOOKING TO BIOLOGICAL VARIABLES PREDICTING GROWTH DURING THE FIRST THREE WEEKS AFTER WEANING IN PIG (EAAP 2017, TALLINN, ESTONIE) | 303 |
| ANNEXE 9 : SEVROBUST: IDENTIFICATION DE MARQUEURS DE LA ROBUSTESSE DU PORCELET AU SEVRAGE (RENCONTRES GISA 2016, PARIS, FRANCE) | 304 |
| ANNEXE 10 : SYMPTOMES RELEVES ET TRAITEMENTS SUR LES PORCELETS DE L'ETUDE TERRAIN ET LEURS CONTEMPORAINS ENTRE 28 ET 47 JOURS D'AGE..... | 305 |
| ANNEXE 11 : OBSERVATION INDIVIDUELLE DES DIARRHEES CHEZ LES PORCELETS DE L'ETUDE EN INSTALLATION EXPERIMENTALE ENTRE 18 ET 47 JOURS D'AGE..... | 306 |

ANNEXE 12 : VARIATIONS DES VARIABLES PHYSIOLOGIQUES DANS L'ETUDE TERRAIN ET DANS L'ETUDE
EN INSTALLATION EXPERIMENTALE EN FONCTION DE L'AGE, DU SEVRAGE ET DES CONDITIONS
D'ENVIRONNEMENTS. 307

Annexe 1 : Oxidative stress as biomarker of piglet health at weaning (ISANH 2016, Paris, France)

OXIDATIVE STRESS AS BIOMARKER OF PIGLET HEALTH AT WEANING

BUCHET, Arnaud (1); BELLOC, Catherine (2); MERLOT, Elodie (1)

1: PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, Saint-Gilles, France - Cooperl Arc Atlantique, Lamballe, France

2: INRA, UMR 1300 BioEpAR, Nantes, France

arnaud.buchet@rennes.inra.fr

Weaning leads to social, nutritional and housing changes for the piglet and challenges health. This study assessed the opportunity to use biomarkers of oxidative stress to qualify piglet health. Piglets were weaned at 21 or 28 days of age in optimal (OC) or deteriorated (DC) conditions (n=16 per group). In OC post-weaning pens, animals originating from 2 litters were housed by 4 in cleaned pens. In DC pens, animals originating from 4 litters were housed by 8 in dirty pens. From 12 to 61 days of age, blood was collected for reactive oxygen metabolites (dROM) and biological antioxidant potential (BAP) measurements, and pigs were weighed weekly. Average daily weight gain (ADG) was lower in DC than OC pigs ($P<0.001$) and slowed down for 11 days after weaning. Greater Oxidative Stress Index (OSI, dROM/BAP) was transiently observed 12 days after weaning compared to pre-weaning levels for DC but not OC pigs ($P<0.05$) due to higher dROM ($P=0.04$) and similar BAP concentrations ($P=0.48$). BAP concentration decreased ($P<0.001$) 19 days after weaning whatever conditions. OSI was negatively ($P<0.001$) influenced by ADG.

In conclusion, management conditions deteriorating piglets' health at weaning without obvious clinical signs can be detected by measuring oxidative stress status.

Annexe 2 : Effect of age and weaning on plasma vitamine E concentration in pigs (ISANH 2017, Paris, France).

EFFECTS OF AGE AND WEANING ON PLASMA VITAMIN E CONCENTRATION IN PIGS

BUCHET, Arnaud (1,2,3); BELLOC, Catherine (3); LE FLOCH, Nathalie (1); MERLOT, Elodie (1)

1: INRA, UMR 1348 PEGASE, Saint Gilles, France; 2: Cooperl Arc Atlantique, Lamballe, France

3: ONIRIS, INRA, UMR 1300 BioEpAR, Nantes, France

arnaud.buchet@inra.fr

We investigated the evolution of plasma vitamin E concentration [vit E] from birth to puberty in pigs. In trial A, 64 piglets were weaned at either 21 or 28 days of age. In trial B, 288 piglets from 16 commercial farms were weaned at 28 days. Blood was collected from 12 to 147 days of age in trial A, and at 26- (on sows and piglets) and 33-days-old (on piglets only) in trial B. In both trials, a dramatic drop of [vit E] ($P < 0.001$) was observed 5 days after weaning.

In trial A, this drop was similar whatever the age at weaning ($P > 0.05$), after what concentration remained stable until 147 days of age. In trial B, [vit E] of 26-days-old piglets and their corresponding lactating sows were not correlated ($P > 0.05$). Before weaning, the high plasma [vit E] could be explained by the high vit E content in colostrum and milk leading to the saturation of body fat reserves.

The drop at weaning could be explained by high antioxidant requirements combined to a low feed intake and decreased activity of the enzymes involved in vit E absorption. The relatively low [vit E] thereafter suggests an incomplete reconstitution of body reserves.

Effects of age and weaning on plasma vitamin E concentration in pigs

BUCHET Arnaud^{abc}, BELLOC Catherine^c, LE FLOC'H Nathalie^d, MERLOT Elodie^d

^aUMR PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, 35590 Saint-Gilles, France, ^bCooperl Arc Atlantique, BP 60238, 22403 Lamballe, France ^cBIOEPAR, INRA, ONIRIS, BP 40706, 44307 Nantes, France

Introduction

Pig production has to combine the reduction of the use of antibiotics with sustainability and profitability. Currently, antibiotics are mainly used on piglets after weaning (Collineau et al. 2016). In fact, weaning constitutes a source of social, emotional and nutritional perturbations for the young piglet which could lead to health problems and which explain why antibiotics are used. Weaning and health problems lead to oxidative stress. Vitamin E, as antioxidant, is able to neutralize pro-oxidant molecules in the organism. However, the kinetics of variation of the concentration of vitamin E around weaning remain unknown. The aim of this study was to investigate the evolution of plasma vitamin E from birth to puberty.

Material and Methods

TRIAL A: Experimental unit

4 batches of 16 animals:

- Weaning at 21 or 28 days of age
- Deteriorated or optimal management conditions immediately after weaning

Blood sampling from 12 to 147 days of age

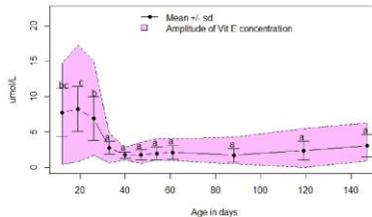
Assay: Vitamin E (HPLC Chromsystems)

TRIAL B: Commercial farms

288 animals from 16 farms and from 144 sows:

- Weaning at 28 days of age
- Blood sampling at 26 and 33 days of age
Assay: Vitamin E (HPLC Chromsystems)

Results

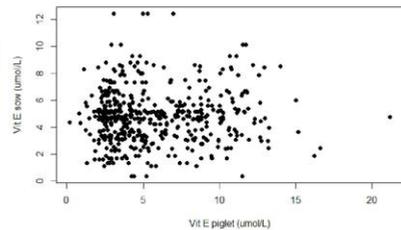


TRIAL A: Evolution and amplitude of vitamin E concentration in blood of piglets. No effect of management conditions ($P>0.05$) or age at weaning ($P>0.05$).

- High blood concentration of vit E before weaning probably due to high absorption rate of vit E linked with fat content of milk (Kayden and Traber, 1993, Moreira and Mahan, 2002) and saturation of body reserve (Lauridsen and Jensen, 2005).
- No influence of blood concentration of vit E of sows on blood concentration of vit E of piglets at the end of lactation period (26 days of age).
- High decrease at weaning whatever age at weaning or management conditions probably due to use as antioxidant (Halliwell and Gutteridge, 2015), maturation of immune system (Lauridsen and Jensen, 2005), decreased feed intake and decreased absorption rate of vit E (Kayden and Traber, 1993, Lauridsen, 2001).

| | Age in days | |
|---------------|-------------|-----------|
| umol/L | 26 | 33 |
| Mean | 7.84 | 3.59 |
| Min | 0.17 | 0.81 |
| Max | 21.15 | 12.60 |

TRIAL B: Evolution and amplitude of vitamin E concentration in blood of piglets.



TRIAL B: At 26 days of age, no correlation between blood concentration of vitamin E of sows and their piglets ($P>0.05$)

Conclusion

- The evolution of vitamin E is mainly impacted by weaning itself
- There is a high variability of vitamin E concentrations, especially before weaning



Annexe 3 : Evolution du statut oxydant du porc en croissance et focus sur l'influence de la conduite au sevrage (JRP 2017, Paris, France)

2017. Journées Recherche Porcine, 49, 189-194.

Evolution du statut oxydant du porc en croissance et focus sur l'influence de la conduite au sevrage

Arnaud BUCHET (1, 2, 3), Catherine BELLOC (3), Jean-Noël SIALELLI (4), Anne LACOSTE (2), Elodie MERLOT (1)

(1) UMR PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, 35590 Saint-Gilles, France

(2) Cooperl Arc Atlantique, BP 60238, 22403 Lamballe, France

(3) BIOEPAR, INRA, ONIRIS, BP 40706, 44307 Nantes, France

(4) SELAS Vétérinaire Hunaudaye, 22640 Plestan, France

arnaud.buchet@inra.fr

Avec la collaboration technique de Daniel BOUTIN, Bernard CARRISSANT, Raphaël COMTE, Sophie DARE, Josselin DELAMARRE, Hervé DEMAY, Bruno DUTEIL, Fabien GUERIN, Philippe KNAPEN, Adélaïde LECORGNE et Michel LEFEBVRE, Henry RENOULT, Patrice ROGER, Yannick SUREL, Françoise THOMAS et Patrick TOUANEL (1)

Evolution du statut oxydant du porc en croissance et focus sur l'influence de la conduite au sevrage

Le sevrage est source de perturbations sociales, nutritionnelles et environnementales pour le porcelet et compromet sa santé. Cette étude vise à évaluer les effets de l'âge ainsi que de diverses conditions de sevrage sur le statut oxydant du porcelet. Les porcelets ont été suivis de 12 à 147 jours d'âge, sevrés à 21 ou 28 jours dans des conditions optimales (CO) ou détériorées (CD) (n=16 par groupe). Les porcs ont ensuite été logés en conditions standards de 62 jours d'âge jusqu'à l'abattage. De 12 à 147 jours d'âge, les produits d'oxydation (dROM) et la capacité antioxydante (BAP) ont été dosés dans le plasma. Le gain moyen quotidien (GMQ) a été plus ralenti entre 4 et 10 jours après sevrage pour les porcelets CD que CO ($P<0,001$). Les porcelets CD ont présenté davantage de jours avec de la diarrhée entre 0 et 19 jours après sevrage que les porcelets CO ($P<0,001$). L'indice de Stress Oxydant (ISO, dROM/BAP) a augmenté en CD mais pas en CO 12 jours après sevrage ($P<0,01$) par une augmentation des dROM ($P=0,05$) et une diminution du BAP ($P<0,05$). Les porcelets ayant eu au moins un jour de diarrhée entre le sevrage et 19 jours après sevrage ont eu un ISO plus grand ($P<0,001$) et davantage de dROM ($P<0,01$) 12 jours après sevrage. Par la suite, l'ISO des porcs augmente graduellement avec l'âge ($P<0,001$). En conclusion, au sevrage, l'ISO se révèle être un indicateur pertinent de santé du porcelet puisqu'il évolue de façon associée avec la fréquence des diarrhées et le ralentissement de la croissance en conditions détériorées. L'établissement de valeurs de références semble nécessaire afin de permettre une meilleure interprétation du statut oxydant.

Evolution of the oxidative status of growing pig and focus on the influence of management at weaning

Weaning is a source of social, nutritional and environmental disorders for piglet and challenges its health. This study aims to assess effects of age and management conditions at weaning on the oxidative status of piglet. Piglets were included in the study from 12 to 147 days of age, weaned at 21 or 28 days of age in optimal (OC) or deteriorated (DC) conditions (n=16 per group). Pigs were then housed in standards conditions from 62 days of age to slaughter. From 12 to 147 days of age, oxidative products (dROM) and antioxidant capacity (BAP) were measured in plasma. Average daily weight gain (ADG) was more reduced between 4 and 10 days after weaning for DC than OC piglets ($P<0.001$). DC piglets exhibited more days with diarrhea between 0 and 19 days after weaning than OC piglets ($P<0.01$). Oxidative stress Index (OSI, dROM/BAP) increased for DC but not for OC piglets 12 days after weaning ($P=0.003$) due to a dROM increase ($P=0.05$) and a decrease of BAP ($P<0.05$). Piglets which had at least one day with diarrhea between 0 and 19 days after weaning had higher OSI ($P<0.001$) and more dROM ($P<0.01$) 12 days after weaning. Later on, OSI of pigs increased gradually with age ($P<0.001$). In conclusion, at weaning, OSI seems to be a good marker of piglet's health as it is associated with frequency of diarrhea and reduction of growth in deteriorated conditions. The establishment of reference values seems necessary in order to be able to give a better explanation of oxidative status.

INTRODUCTION

La production porcine doit concilier la réduction de l'utilisation des antibiotiques, le bien-être animal et la rentabilité. Actuellement, les porcelets en post-sevrage reçoivent la majorité des antibiotiques utilisés en production porcine (Hemonic *et al.*, 2013). Au sevrage, le porcelet subit de nombreux facteurs de stress et parfois des conduites d'élevage détériorées qui peuvent favoriser la survenue de troubles de santé et justifier l'emploi d'antibiotiques (Funderburke et Seerley, 1990 ; Pluske *et al.*, 2003 ; Weary *et al.*, 2008). Le statut oxydant a été proposé comme marqueur de l'état de santé d'un porcelet en post-sevrage (Sauerwein *et al.*, 2005). Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production de molécules pro-oxydantes et leur neutralisation par des molécules antioxydantes. Les molécules pro-oxydantes sont produites principalement par la chaîne respiratoire et par l'activité du système immunitaire. De nombreuses molécules endogènes (SOD, catalase, glutathione peroxydase) ou exogènes (vitamine E, vitamine A, sélénium) ont un pouvoir antioxydant (Halliwell et Gutteridge, 2015 ; Kohen et Nyska, 2002). Plusieurs études ont montré, chez le porc, une augmentation du stress oxydant au sevrage (Casamassima *et al.*, 2013 ; Corino *et al.*, 2007 ; Pastorelli *et al.*, 2012 ; Robert *et al.*, 2009 ; Sauerwein *et al.*, 2005 ; Sauerwein *et al.*, 2007). Cependant, les effets de la conduite au sevrage sur l'évolution du stress oxydant n'ont pas été explorés. L'objectif de cette étude est d'analyser les effets du sevrage et de la conduite au sevrage sur l'évolution du statut oxydant autour du sevrage d'une part, puis jusqu'à l'abattage d'autre part.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

Cet essai a été mené à la station expérimentale INRA de Saint Gilles (35) et approuvé par le comité rennais d'éthique en expérimentation animale (autorisation n°2015070815295160). Des porcelets Piétrain x (Large White x Landrace) (lignées NUCLEUS, n=66) âgés de 12,3 ± 0,5 jours (3,8 ± 0,9 kg) ont été intégrés à l'étude. Ils étaient issus de 12 portées sélectionnées au hasard. Afin de dissocier les effets de l'âge et du sevrage, six portées ont été sevrées à 21 jours d'âge et les six autres à 28 jours. Pour chacune de ces portées, un nombre égal de porcelets a été sevré dans des conditions optimales ou détériorées. Dans les conditions optimales (CO), 16 mâles entiers et 18 femelles étaient logés par quatre, dans une salle de huit cases (1,2 x 1,3 m) chauffée à 28°C et préalablement lavée et désinfectée. La transition des porcelets CO de l'aliment 1^{er} âge vers le 2^{ème} âge s'est faite progressivement sur trois jours. Dans les conditions détériorées (CD), 16 mâles entiers et 16 femelles étaient logés par huit, occupant quatre cases d'une salle de huit cases (1,2 x 1,3 m) chauffée à 28°C. Cette salle n'a été ni lavée ni désinfectée après le passage de la bande précédente. Au sevrage, les porcelets CD ont subi un stress thermique de quatre heures à 20°C avant leur entrée en post-sevrage. Une semaine après sevrage, quatre porcelets de chaque case ont été déplacés vers quatre cases vides et quatre porcelets hors-étude ont été ajoutés dans chacune des huit cases. Le changement de l'aliment 1^{er} âge vers le 2^{ème} âge des porcelets CD s'est fait sans transition. A 61 jours d'âge, les porcelets (21,8 ± 5,1 kg) ont été transférés dans des conditions d'élevage standards jusqu'à l'abattage.

Aucun traitement antibiotique n'a été utilisé durant l'étude. Deux porcelets sont morts la première semaine après sevrage en conditions optimales suite à des diarrhées.

1.2. Mesures, prélèvements et analyses de laboratoires

Les animaux ont été pesés chaque semaine de 12 à 61 jours d'âge puis à 88, 119 et 147 jours d'âge. Les matières fécales ont été observées quotidiennement et individuellement du sevrage à 61 jours d'âge et qualifiées de normales ou diarrhéiques.

La totalité des porcelets (n=66) a été prélevée à chaque prélèvement sanguin jusqu'à une semaine après sevrage puis à 88, 119 et 147 jours d'âge. D'une semaine après sevrage à 61 jours d'âge, la moitié des porcelets (n=32) a été prélevée à chaque journée de collecte, afin de limiter la fréquence des prélèvements subis par chaque individu. Les prélèvements ont été effectués à la veine jugulaire dans deux tubes de 5mL (Terumo, Japon) contenant de l'héparine. Les tubes ont été centrifugés à 3000g pendant 15 minutes à 4°C et le plasma a été stocké à -20°C jusqu'aux analyses.

La concentration en espèces réactives à l'oxygène (ROS) a été mesurée par spectrophotométrie, à l'aide d'un kit commercial (Test dROM, Diacron, Grosseto, Italie), sur un analyseur automatique (Konelab, Thermo). Ce test mesure la concentration en hydroperoxydes tel que le peroxyde d'hydrogène généré par l'oxydation des lipides, des protéines ou des acides nucléiques. Dans ce test, les hydroperoxydes de l'échantillon (2µL), en présence du fer libéré par les protéines plasmatiques sous l'action d'un tampon oxyde (100µL), produisent des radicaux alkoxy et peroxy qui oxydent à leur tour un substitut d'amines aromatiques (N,N-diethylparaphénylène diamine, 1µL) produisant un dérivé de coloration rose détectable à 505 nm (Alberti *et al.*, 1999). L'absorbance est lue toutes les 98 secondes pendant 980 secondes à 505 nm. Les résultats sont exprimés en CARRU (Carratelli Unit, 1 CARRU=0.08 mg H₂O₂/100mL d'échantillon).

Les antioxydants ont été mesurés par la détermination de la capacité antioxydante du plasma (Test BAP, Diacron, Grosseto, Italie) sur un analyseur automatique (Konelab, Thermo). L'échantillon (5µL) est ajouté à une solution contenant du chlorure de fer et un dérivé de thiocyanate (210µL). L'intensité de la décoloration reflète la capacité du plasma à réduire les ions ferriques en ions ferreux. Le potentiel cumulé de nombreux antioxydants est mesuré par ce test tels que l'acide urique, l'acide ascorbique, les protéines, l'alpha-tocophérol ou la bilirubine (Benzie et Strain, 1996). Les résultats sont exprimés en µmol/L d'équivalent vitamine C, utilisée comme agent de référence de réduction du fer.

L'Index de Stress Oxydant (ISO) a été calculé par le ratio dROM /BAP (CARRU)/(µmol/L de Vit C) tel que proposé par (Sharma *et al.*, 1999).

1.3. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées sur le logiciel R (R Core Team, 2015). L'effet de l'âge de 12 à 147 jours a été analysé par un modèle mixte avec la fonction *lmer* du package *lme4* (Bates *et al.*, 2014) avec l'âge en effet fixe et le porcelet en données répétées, sans inclure les effets de la conduite et de l'âge au sevrage. Pour analyser l'effet du sevrage, les données ont été centrées par rapport à la date de sevrage. L'analyse de l'effet du temps relativement à la date de sevrage, de la conduite et de l'âge au sevrage et l'analyse de l'effet de l'expression des diarrhées ont été réalisées avec la fonction *lmer* du package *lme4* avec le porcelet en données répétées. Pour toutes les analyses, les comparaisons post-hoc ont été conduites avec le test de Tukey en utilisant la fonction *cid* du package *lsmeans* (Lenth, 2015).

2. RESULTATS

2.1. Evolution des paramètres du statut oxydant pendant la phase de croissance

Quels que soient la conduite et l'âge au sevrage, la concentration plasmatique en dROM a augmenté transitoirement de 633 CARRU à 26 jours d'âge à 716 CARRU à 33 jours d'âge puis de façon continue jusqu'à 147 jours d'âge (1049 CARRU, Figure 1). La capacité antioxydante a diminué de 2560 $\mu\text{mol/L}$ d'équivalent vitamine C à 26 jours d'âge à 2378 à 47 jours d'âge puis s'est stabilisée au niveau d'avant sevrage avant de remonter légèrement à 147 jours d'âge (2651 $\mu\text{mol/L}$ d'équivalent vitamine C). En conséquence, l'ISO a suivi l'évolution des hydroperoxydes passant de 0,25 CARRU/ $\mu\text{mol/L}$ à 26 jours d'âge à 0,30 à 33 jours d'âge et a augmenté avec l'âge jusqu'à 0,40 CARRU/ $\mu\text{mol/L}$ à 147 jours d'âge.

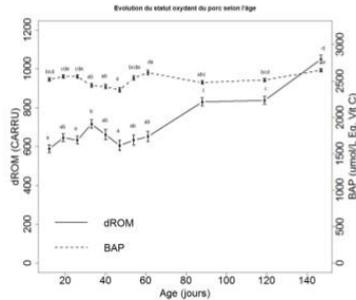


Figure 1 – Evolution de la concentration plasmatique en hydroperoxydes (dROM) et de la capacité antioxydante de plasma (BAP) de 12 à 147 jours d'âge chez le porc. Pour chaque dosage, les points n'ayant pas de lettre en commun ont des valeurs significativement différentes ($P < 0,05$).

2.2. Effet du sevrage et de la conduite sur les paramètres du statut oxydant

Le GMQ a été fortement ralenti au sevrage, quelle que soit la conduite, par rapport au GMQ de la semaine précédente (Tableau 1). Le GMQ des porcelets a été plus faible entre cinq et 11 jours après sevrage pour les conditions détériorées comparées aux conditions optimales (104 vs 204 g/jour, $P < 0,05$). Cependant, à aucun moment, le poids n'a été significativement différent entre les porcelets CO et CD.

Quel que soit l'âge au sevrage, la capacité antioxydante du plasma a diminué et la concentration en hydroperoxydes a augmenté entre deux jours avant et 12 jours après sevrage chez les porcelets sevrés avec une conduite CD ($P < 0,05$) mais pas avec la conduite CO ($P > 0,1$, Tableau 1). Quel que soit l'âge au sevrage, l'ISO a suivi l'évolution des dROM avec un ISO significativement plus élevé 12 jours après sevrage pour les porcelets CD que pour les porcelets CO par rapport à l'ISO 2 jours avant sevrage (Figure 2).

Entre zéro et 19 jours après sevrage, les porcelets des conditions détériorées ont eu en moyenne plus de jours avec diarrhées qu'en conditions optimales (1,56 \pm 1,64 contre 0,59

\pm 0,74 jours, $P < 0,01$). Parmi les animaux qui ont eu au moins un jour de diarrhée entre zéro et 19 jours après sevrage, les porcelets CD ont eu en moyenne des diarrhées plus longues que les porcelets CO (2,38 \pm 1,46 contre 1,33 \pm 0,49 jours, $P < 0,05$).

Les animaux ayant eu au moins un jour de diarrhée ont connu une augmentation de leur concentration en dROM et de leur ISO 12 jours après sevrage mais pas les animaux n'ayant eu aucun jour de diarrhée (786 vs 642 CARRU pour le dROM et 0,35 vs 0,26 CARRU/ $\mu\text{mol/L}$ pour l'ISO, $P < 0,05$) par rapport à leur niveau d'avant sevrage. Il n'y a pas eu de différences d'évolution de la capacité antioxydante autour du sevrage ou de GMQ entre les animaux ayant présentés au moins un jour de diarrhée et les autres (Tableau 2).

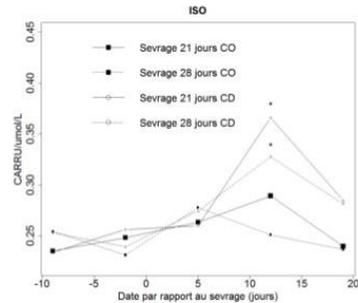


Figure 2 – Evolution de l'index de stress oxydant (ISO) selon l'âge et la conduite (CO : conditions optimales, CD : conditions détériorées) autour du sevrage chez le porcelet (pour chaque groupe, les étoiles indiquent des différences significatives ($P < 0,05$) par rapport à la valeur 2 jours avant sevrage).

3. DISCUSSION

Les effets de l'âge sur l'augmentation des produits d'oxydation chez des individus en croissance ne sont pas décrits dans la littérature. A notre connaissance, il s'agit ici de la première étude explorant le statut oxydant en cinétique d'un jeune mammifère de la période néonatale à la puberté. Par contre, les effets du vieillissement sur l'augmentation des produits d'oxydation chez l'homme adulte sénescent sont bien documentés. Avec l'âge, il y a une augmentation des dommages causés aux macromolécules (lipides, protéines et ADN) qui provoquent une perte des fonctions cellulaires de l'organisme (Halliwell et Gutteridge, 2015). Ce phénomène a été montré chez l'adulte dans de nombreuses espèces (ovins : (Casamassima *et al*, 2013) ; lapin : (Oriani *et al*, 2001), lièvre : (Palazzo *et al*, 2011) ou humain (Finkel et Holbrook, 2000)). L'augmentation des produits d'oxydation dans notre étude chez des individus en croissance répond donc peut-être à la même cause que l'augmentation due au vieillissement observée chez l'adulte sénescent.

Les valeurs absolues observées pour la concentration en hydroperoxydes avant le sevrage (633 CARRU) sont au-dessus des valeurs observées chez les porcelets avant sevrage dans d'autres études: 495 CARRU à 20 jours d'âge (Sauerwein *et al*, 2007), 366 CARRU à 23 jours d'âge (Sauerwein *et al*, 2007), 400 CARRU à 24 jours d'âge (Pastorelli *et al*, 2012) ou 350

2017. Journées Recherche Porcine, 49.

CARRU à 28 jours d'âge (Corino *et al.*, 2007). Il n'existe actuellement pas de valeurs de référence permettant de qualifier la concentration usuelle d'hydroperoxydes chez le porcelet avant sevrage.

Tableau 1 – Evolution de la croissance et du statut oxydant de la naissance à 19 jours après sevrage selon la conduite (CO : conditions optimales (n=34), CD : conditions détériorées (n=32))

| | | Période en jours par rapport au sevrage | | | | | | | p-value | | | |
|------------------------|----|---|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|------------------|-----------|----------------|--------------------|--------|--------|
| | | Naissance à -10 | -9 à -3 | -2 à 4 | 5 à 11 | 12 à 18 | ETR ¹ | Temps (T) | Conditions (C) | Age au sevrage (A) | C*T | A*T |
| GMQ (g/jour) | CO | 228 ^{bc,d} | 283 ^{bc} | 215 ^{bc} | 204 ^{bc} | 348 ^a | 17 | <0,001 | 0,007 | 0,269 | 0,001 | <0,001 |
| | CD | 236 ^{cd} | 276 ^{cd} | 175 ^b | 104 ^a | 276 ^{cd} | | | | | | |
| | | Période en jours par rapport au sevrage | | | | | | | p-value | | | |
| | | -9 | -2 | 5 | 12 | 19 | ETR ¹ | Temps (T) | Conditions (C) | Age au sevrage (A) | C*T | A*T |
| Poids (Kg) | CO | 4,66 ^a | 6,64 ^{ab} | 8,15 ^{cd} | 9,59 ^{de} | 12,03 ^e | 0,34 | <0,001 | 0,219 | <0,001 | <0,001 | 0,466 |
| | CD | 4,69 ^a | 6,63 ^{bc} | 7,85 ^{de} | 8,58 ^e | 10,51 ^{de} | | | | | | |
| dROM (CARRU) | CO | 621 ^a | 610 ^a | 679 ^{ab} | 663 ^{ab} | 592 ^a | 37 | <0,001 | 0,337 | 0,340 | 0,050 | 0,030 |
| | CD | 620 ^a | 636 ^a | 658 ^a | 783 ^a | 668 ^{ab} | | | | | | |
| BAP (µmol/L éq. vit C) | CO | 2547 ^{bc} | 2546 ^{bc} | 2543 ^{bc} | 2482 ^{abc} | 2488 ^{abc} | 46 | <0,001 | 0,192 | 0,006 | 0,012 | 0,021 |
| | CD | 2546 ^c | 2569 ^c | 2473 ^{bc} | 2311 ^a | 2374 ^{ab} | | | | | | |
| ISO (CARRU/µmol/L) | CO | 0,25 ^a | 0,24 ^a | 0,27 ^a | 0,28 ^a | 0,24 ^a | 0,02 | <0,001 | 0,160 | 0,947 | 0,002 | 0,056 |
| | CD | 0,24 ^a | 0,25 ^a | 0,27 ^a | 0,35 ^b | 0,28 ^{ab} | | | | | | |

^a Pour chaque variable, les valeurs ne présentant aucune lettre commune diffèrent significativement entre elles (P<0.05).

¹ Ecart-type résiduel

Dans une revue sur l'utilisation du statut oxydant, et notamment des hydroperoxydes, comme marqueurs de santé chez les ruminants, (Celi, 2010) souligne également la difficulté de qualifier une situation de stress oxydant en l'absence de valeurs de références. En conséquence, pour la comparaison du statut oxydant entre différents élevages, il pourrait être intéressant de s'affranchir des valeurs absolues des paramètres mesurés au profit d'une étude de l'évolution de ces marqueurs en prenant comme niveau de référence, la valeur de chaque paramètre avant le sevrage.

Nous observons qu'au sevrage, la concentration plasmatique en dROM et l'Indice de Stress Oxydant augmentent fortement et la capacité antioxydante du plasma diminue, tout au moins chez les porcs sevrés avec la conduite détériorée. Ce phénomène de stress oxydant au sevrage a été abondamment décrit chez le porcelet (Corino *et al.*, 2007 ; Pastorelli *et al.*, 2012 ; Robert *et al.*, 2009 ; Sauerwein *et al.*, 2007 ; Sauerwein *et al.*, 2005 ; Zhu *et al.*, 2012). Néanmoins, ces études ne permettaient pas de prouver que le stress oxydant observé résultait bien du sevrage et non du simple écoulement du temps depuis la naissance. Ce vieillissement aurait pu être associé à l'épuisement de réserves antioxydantes acquises in utero, ou à l'accumulation de molécules pro-oxydantes en liaison avec les agressions environnementales multiples et les phénomènes de maturation physiologique associés ayant cours depuis la naissance. L'évolution assez comparable du dROM, du BAP et de l'OSI après sevrage entre les animaux sevrés à 21 et 28 jours laisse penser que les effets observés sont bien liés au sevrage et non à un processus physiologique évoluant uniquement avec l'âge. Le sevrage est une source de multiples facteurs susceptibles d'influencer le statut oxydant de l'animal (Funderburke et Seerley, 1990 ; Pluske *et al.*, 2003 ; Colson, Orgeur, Courboulay,

et al., 2006 ; Colson, Orgeur, Foury, *et al.*, 2006 ; Weary *et al.*, 2008). Il induit de l'inflammation, principalement au niveau intestinal, se caractérisant entre autre par une augmentation de la concentration plasmatique en une cytokine pro-inflammatoire, l'interleukine-1, un à deux jours après sevrage (McCracken *et al.*, 1995) ou par une augmentation de la concentration en haptoglobine cinq jours après sevrage (Sauerwein *et al.*, 2005). Chez le porcelet, au sevrage, les augmentations concomitantes d'indicateurs d'inflammation et des produits d'oxydation ont été montrées dans plusieurs études (Sauerwein *et al.*, 2005 ; Sauerwein *et al.*, 2007 ; Robert *et al.*, 2009). Par ailleurs, l'inflammation déclenchée après un challenge immunitaire est connue pour augmenter le stress oxydant chez les animaux d'élevages (Lauritzen *et al.*, 2005 ; Lykkesfeldt et Svendsen, 2007 ; Royer *et al.*, 2016). Nous pouvons donc émettre l'hypothèse d'un stress oxydant induit en partie par une augmentation de l'inflammation dans notre étude.

Les causes du stress au sevrage sont multiples : séparation de la mère, mélange avec de nouveaux individus ou adaptation à un nouvel environnement. Une augmentation de la concentration plasmatique en cortisol, hormone sécrétée par l'axe corticotrope en réponse à un stress, a été montrée chez le porcelet sevré (Pluske *et al.*, 2003). De plus, des études chez le poulet en croissance ont montré qu'un ajout dans l'aliment de corticostérone, équivalent du cortisol chez l'oiseau (Lin *et al.*, 2004), ou l'application d'un stress thermique (Akbarian *et al.*, 2016) induisaient une augmentation de la production de produits d'oxydation. Ainsi, le stress pourrait, en plus de l'inflammation, expliquer en partie l'augmentation de la production de produits d'oxydation chez le porcelet au sevrage.

2017. Journées Recherche Porcine, 49.

Tableau 2 – Evolution de la croissance et du statut oxydant de la naissance à 19 jours après sevrage selon l'expression de diarrhées pendant au moins un jour du sevrage à 19 jours après sevrage (sans diarrhées (n=30), avec diarrhées (n=36))

| | Statut des porcelets | Période en jours par rapport au sevrage | | | | | | ETR ¹ | p-value | | |
|-------------------------|----------------------|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------|------------------|---------------|--------|--|
| | | Naissance à -10 | -9 à -3 | -2 à 4 | 5 à 11 | 12 à 18 | Temps (T) | | Diarrhées (D) | T*D | |
| GMQ (g/jour) | avec diarrhées | 246 | 295 | 213 | 192 | 325 | 19 | <0,001 | 0,022 | 0,643 | |
| | sans diarrhées | 221 | 267 | 179 | 125 | 301 | | | | | |
| | | Période en jours par rapport au sevrage | | | | | | ETR ¹ | p-value | | |
| | | -9 | -2 | 5 | 12 | 19 | Temps | | Diarrhées | T*D | |
| dROM (CARRU) | avec diarrhées | 601 ^a | 616 ^a | 682 ^{ab} | 786 ^a | 629 ^a | 37 | <0,001 | 0,707 | 0,011 | |
| | sans diarrhées | 645 ^a | 629 ^a | 656 ^{ab} | 642 ^{ab} | 627 ^a | | | | | |
| BAP (µmol/L. èq. vit C) | avec diarrhées | 2528 | 2552 | 2479 | 2356 | 2466 | 50 | <0,001 | 0,452 | 0,285 | |
| | sans diarrhées | 2568 | 2561 | 2538 | 2441 | 2390 | | | | | |
| ISO (CARRU/µmol/L) | avec diarrhées | 0,24 ^a | 0,24 ^{ab} | 0,28 ^b | 0,35 ^b | 0,26 ^{ab} | 0,02 | <0,001 | 0,44 | <0,001 | |
| | sans diarrhées | 0,25 ^{ab} | 0,25 ^{ab} | 0,26 ^{ab} | 0,26 ^{ab} | 0,27 ^{ab} | | | | | |

^a Pour chaque variable, les valeurs ne présentant aucune lettre commune diffèrent significativement entre elles (P<0.05).¹ Ecart-type résiduel

La capacité antioxydante diminue jusqu'à 12 jours après sevrage. Le sang est le milieu dans lequel les molécules antioxydantes d'origines diverses s'accumulent. En réponse à une augmentation de la concentration en radicaux libres dans les cellules, des molécules antioxydantes exogènes ou endogènes piègent les radicaux libres. L'augmentation des radicaux libres induit une production accrue de molécules antioxydantes par les cellules (Halliwell et Gutteridge, 2015; Kohen et Nyska, 2002). En conséquence, la diminution de la capacité antioxydante du plasma pourrait être due à une utilisation accrue induite par l'augmentation des produits d'oxydation et/ou à une production plus faible de molécules antioxydantes par l'organisme possiblement due à un déficit nutritionnel caractéristique du porcelet au sevrage.

Dans notre étude, seuls les porcelets logés en conditions détériorées ont eu un stress oxydant tandis que les animaux des conditions optimales ont été en mesure de le contenir. Les conditions détériorées ont vraisemblablement contribué à dégrader la santé des porcelets dans les jours suivant le sevrage, comme en attestent la plus grande fréquence de diarrhées et la dégradation plus sévère du GMQ. La forte densité, le mélange d'animaux, l'absence de lavage et de désinfection de la salle de même que le stress thermique sont connus pour être des facteurs de risque de problèmes cliniques et de performances

dégradées (Madec *et al*, 1998), et peuvent donc expliquer ce résultat. En particulier, nous avons montré dans cette étude que l'expression de diarrhée est associée à un plus fort stress oxydant, or avec la conduite CD les porcs ont été plus nombreux à présenter des diarrhées, qui dureraient également plus longtemps qu'en conduite CO. De plus, en conditions détériorées, le nombre important d'animaux par case (huit), provenant de huit portées, suivi d'un nouveau mélange d'animaux une semaine après sevrage a probablement fortement augmenté le stress social des porcelets et donc amplifié l'effet du sevrage sur le statut oxydant.

CONCLUSION

En conclusion, l'état de stress oxydant du porc augmente au cours de la croissance par une augmentation de la concentration plasmatique en produits d'oxydation et une stabilisation de la capacité antioxydante. Le sevrage provoque une augmentation transitoire du stress oxydant qui est amplifiée par l'application de conditions détériorées d'une part et par la survenue de diarrhées d'autre part. Il est enfin à souligner que l'établissement de valeurs de références semble nécessaire afin de permettre une meilleure interprétation du dROM et du BAP.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alkbarian A. et al. 2016. Association between heat stress and oxidative stress in poultry; mitochondrial dysfunction and dietary interventions with phytochemicals. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 7, 1-14.
- Alberti A., Bolognini L., Macclantelli D., Caratelli M., 1999. The radical cation of N,N-diethyl-para-phenylendiamine: A possible indicator of oxidative stress in biological samples. *Res. Chem. Intermed.*, 26, 253-267.
- Bates D., Mächler M., Bolker B., Walker S., 2014. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *ArXiv Prepr. ArXiv14065823*.
- Benzi L.F., Strain J.J., 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of « Antioxidant Power ». *The FRAP Assay. Anal. Biochem.*, 239, 70-76.
- Casamassima D. et al., 2013. The effects of lemon verbena (*Lippia citriodora*) verbascoside on the productive performance, plasma oxidative status, and some blood metabolites in suckling lambs. *J. Anim. Feed Sci.*, 22, 204-212.
- Celi P., 2010. Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 33, 233-240.
- Colson V., Orgeur P., Courboulay V., et al., 2006. Grouping piglets by sex at weaning reduces aggressive behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 97, 152-171.
- Colson V., Orgeur P., Foury A., Mormède P., 2006. Consequences of weaning piglets at 21 and 28 days on growth, behaviour and hormonal responses. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 98, 70-88.
- Corino C., Rossi R., Musella M., Cannata S., Pastorelli G., 2007. Growth performance and oxidative status in piglets supplemented with verbascoside and teupolisoido. *Ital J Anim Sci.*, 6, 292-294.
- Finkel T., Holbrook N.J., 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408, 239-247.
- Funderburke D.W., Seerley R.W., 1990. The effects of postweaning stressors on pig weight change, blood, liver and digestive tract characteristics. *J. Anim. Sci.*, 68, 155-162.
- Hallwell B., Gutteridge J.M., 2015. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, USA.
- Hemonic A. et al. 2013. Mise au point d'un outil de suivi des usages d'antibiotiques dans la filière porcine: Etude des quantités utilisées et des modalités d'administration à partir du panel Inaporc. *Journ. Rech. Porc.*, 45, 255-260.
- Kohen R., Nyska A., 2002. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Pathol.*, 30, 620-650.
- Lauritzen B., Lykkesfeldt J., Friis C., 2005. Evaluation of a single dose versus a divided dose regimen of amoxicillin in treatment of Actinobacillus pleuropneumoniae infection in pigs. *Res. Vet. Sci.*, 79, 61-67.
- Lenth R., 2015. lsmmeans: Least-Squares Means. Consultable : <https://CRAN.R-project.org/package=lsmmeans>.
- Lin H., Decuyperre E., Buysse J., 2004. Oxidative stress induced by corticosterone administration in broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*): 1. Chronic exposure. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.*, 139, 737-744.
- Lykkesfeldt J., Svendsen O., 2007. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Vet. J.*, 173, 502-511.
- Madec F., Bridoux N., Bounaïk S., Jestin A., 1998. Measurement of digestive disorders in the piglet at weaning and related risk factors. *Prev. Vet. Med.*, 35, 53-72.
- McCracken B.A., Gaskins H.R., Ruwe-Kaiser P.J., Klasing K.C., Jewell D.E., 1995. Diet-Dependent and Diet-Independent Metabolic Responses Underlie Growth Stasis of Pigs at Weaning. *J. Nutr.*, 125, 2838-2845.
- Oriani G. et al. 2001. Oxidative status of plasma and muscle in rabbits supplemented with dietary vitamin E. *J. Nutr. Biochem.*, 12, 138-143.
- Palazzo M., Vizzari F., Cinone M., Corino C., Casamassima D., 2011. Assessment of a natural dietary extract, titrated in phenylpropanoid glycosides, on blood parameters and plasma oxidative status in intensively reared Italian hares (*Lepus corsicanus*). *Animal*, 5, 844-850.
- Pastorelli G., Rossi R., Corino C., 2012. Influence of *Lippia citriodora* verbascoside on growth performance, antioxidant status, and serum immunoglobulins content in piglets. *Czech J. Anim. Sci.*, 57, 312-322.
- Pluske J., Dividich J., Verstegen M., 2003. Weaning the pig. *Concept Consequences Wagening. Neth. Wagening. Acad. Publ.*, 432.
- R Core Team, 2015. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, Consultable : <https://www.R-project.org/>.
- Robert F. et al. 2009. Evaluation et correction du stress oxydatif du porcelet en post-sevrage. *Journ. Rech. Porc.*, 41, 173-178.
- Royer E., Barbe F., Roussellère Y., Chevaux E., Guillou D., 2016. Développement d'un modèle d'étude du stress oxydant chez le porcelet sevré. *Journ. Rech. Porc.*, 48, 341-346.
- Sauerwein H., Schmitz S., Hiss S., 2007. Effects of a dietary application of a yeast cell wall extract on innate and acquired immunity, on oxidative status and growth performance in weaning piglets and on the ileal epithelium in fattened pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 91, 369-380.
- Sauerwein H., Schmitz S., Hiss S., 2005. The acute phase protein haptoglobin and its relation to oxidative status in piglets undergoing weaning-induced stress. *Redox Rep.*, 10, 295-302.
- Sharma R.K., Pasqualotto F.F., Nelson D.R., Thomas A.J., Agarwal A., 1999. The reactive oxygen species—total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility. *Hum. Reprod.*, 14, 2801-2807.
- Weary D.M., Jasper J., Hötzel M.J., 2008. Understanding weaning distress. *Early Weaning*, 110, 24-41.
- 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.

Annexe 4 : Oxidative Stress as indicator of piglet health at weaning (ESPHM 2017, Prague, République Tchèque)

Oxidative stress as indicator of piglet health at weaning

BUCHET Arnaud^{abc}, BELLOC Catherine^c, MERLOT Elodie^a

^a PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, 35590 Saint-Gilles, France

^b Cooperl Arc Atlantique, BP 60238, 22403 Lamballe, France

^c BIOEPAR, ONIRIS, INRA, BP 40706, 44307 Nantes, France

arnaud.buchet@rennes.inra.fr

Weaning is a source of social, nutritional and environmental changes for piglet that challenge its health. This study aims to assess the opportunity to use plasma hydroperoxide (dROM) concentration and antioxidant capacity (BAP), two indicators of oxidative status, as indicator of piglet health in the context of weaning. In order to dissociate effects of age and management conditions on the evolution of oxidative status around weaning, a study was carried out, where piglets were followed from 12 to 147 days of age, and weaned at 21 or 28 days of age in optimal (OC) or deteriorated (DC) conditions (n=16 per group). Oxidative products (dROM), antioxidant capacity (BAP), vitamin E and A were measured in plasma. DC piglets had lower ADG ($P<0.001$) and more diarrhea ($P<0.01$) between 0 and 19 days after weaning compared to OC piglets. Oxidative stress index (OSI, dROM/BAP) increased for DC but not OC piglets after weaning ($P<0.01$) due to increased dROM ($P=0.05$) and decreased BAP ($P<0.05$). Piglets which exhibited diarrhea between 0 and 19 days after weaning had higher OSI ($P<0.001$) and dROM ($P<0.01$) 12 days after weaning. The concentrations of vitamin E and A dropped after weaning ($P<0.001$). Present data indicate that oxidative stress index can be affected by sub-optimal weaning conditions such as deteriorated management conditions and exhibition of diarrhea. Therefore, oxidative stress index seems to be a relevant candidate as a indicator of piglet health in the context of weaning.

Oxidative stress as indicator of piglet health at weaning

BUCHET Arnaud^{abc}, BELLOC Catherine^c, MERLOT Elodie^a

^aUMR PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, 35590 Saint-Gilles, France, ^bCooperl Arc Atlantique, BP 60238, 22403 Lamballe, France
^bBIOEPAR, INRA, ONIRIS, BP 40706, 44307 Nantes, France

Introduction

Weaning is a health-challenging period for piglets because of nutritional, environmental and social changes, sometimes associated to bad management practices. This study aims to assess the opportunity to use plasma hydroperoxides (HPO) concentration and blood antioxidant capacity (BAP), vitamin E and A, markers of oxidative status, as indicators of piglet health in the context of weaning.

Material and Methods

4 batches of 16 animals:

- Weaning at 21 or 28 days of age
- Deteriorated or optimal management conditions (Table)
- No antibiotic treatment

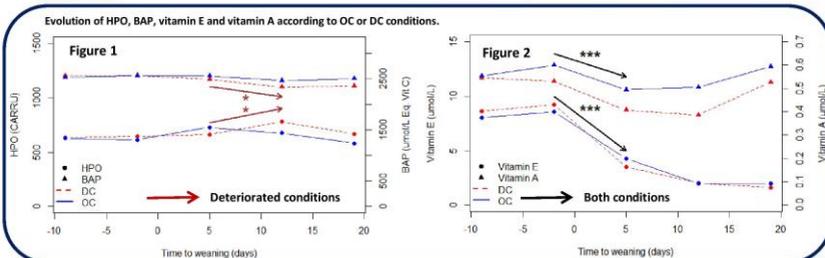
Blood sampling and weighing weekly from 12 to 61 days of age

Assays: dROM (HPO), BAP, vitamins E and A (HPLC Chromsystems)

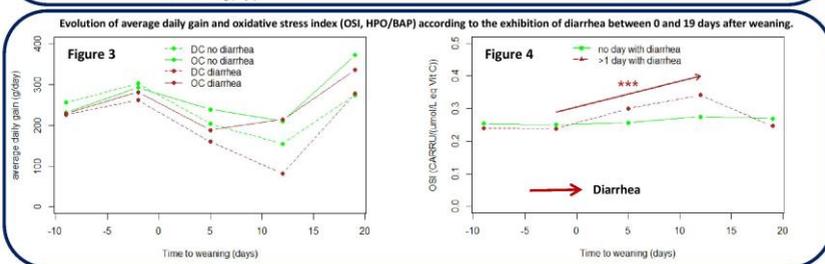
| Management Conditions | Optimal (OC) | Deteriorated (DC) |
|-----------------------|-----------------------|--|
| Density | 4 piglets/pen | 8 piglets/pen |
| Animal mixing | 2 litters/pen | 8 litters/pen Mixing 1 week after weaning |
| Room cleanliness | Cleaned + disinfected | Not Cleaned + not disinfected |
| T°C during transfer | Directly at 28°C | 4h waiting at 20°C |
| Feed transition | On 3 days | Direct |

Results

Evolution of HPO, BAP, vitamin E and vitamin A according to OC or DC conditions.



Evolution of average daily gain and oxidative stress index (OSI, HPO/BAP) according to the exhibition of diarrhea between 0 and 19 days after weaning.



Conclusion

In this study we observed:

- Amplification of the effect of deteriorated conditions on piglet growth (Figure 3)
 - High decrease of vitamins E and A concentration at weaning (Figure 2)
 - No oxidative stress due to weaning only (optimal conditions, Figure 1)
 - Oxidative stress in deteriorated conditions (both HPO and BAP, Figure 1) and for piglets exhibiting diarrhea (Figure 4)
- There is an interest to use oxidative stress as a marker of piglet health at weaning.



Annexe 5 : Effect of weaning conditions on the evolution of piglet plasma concentration of vitamin E (EAAP 2017, Tallinn, Estonie)

Effects of weaning conditions on the evolution of piglet plasma concentration of vitamin

E

BUCHET A.^{abc}, BELLOC C^c, LE FLOC'H N.^a, MERLOT E.^a

^a INRA, UMR 1348 PEGASE, F-35590 Saint Gilles, France

^b Cooperl Arc Atlantique, BP 60238, F-22403 Lamballe, France

^c ONIRIS, INRA, UMR 1300 BioEpAR, BP 40706, F-44307 Nantes, France

Weaning causes oxidative stress in piglets. Endogenous and exogenous vitamin E (vit E) participates to the neutralization of pro-oxidant molecules in the organism. This study aimed to analyze the effect of weaning conditions on the evolution of plasma vitamin E concentration on piglets. In trial A, piglets born from 12 litters were weaned at either 21 (W21) or 28 (W28) days of age in optimal (OC) or deteriorated (DC) conditions (n=16 per group). Piglets from OC group originating from 2 litters were housed by 4 (0.39 m²/pig) in cleaned and disinfected pens. Those from DC group originating from 4 litters were housed by 8 (0.20 m²/pig) in dirty pens after a waiting time of 4 h at 20°C. From 12 to 61 days of age, blood was collected and pigs were weighed weekly and then at 88, 119 and 147 days of age. In trial B, piglets (n=288 from 144 sows) from 16 commercial farms were weaned at 28 days of age. Blood samples were collected when piglets were 26- (on sows and piglets) and 33-days old (on piglets only). In both trials, weaning led to a dramatic drop of the plasma concentration of vit E (P<0.001). In trial A, this drop was similar whatever the age at weaning or housing conditions (P>0.05). After weaning, vit E concentration remained stable until 147 days of age. In trial B, piglet plasma concentration of vit E at 26 days of age was not associated with lactating sow vit E concentrations (P>0.05) and was different between farms (P<0.001). The higher plasma concentration of vit E before weaning could be explained by the high vit E content in colostrum and milk leading to the saturation of body fat reserves of the piglet. At weaning, the high requirements of vit E for antioxidant purposes as well as low feed intake, lower fat content of the feed compared to milk and lower activity of the enzymes involved in vit E absorption could explain the dramatic drop of plasma vit E. The relatively low concentrations of vit E until slaughter age could reflect an incomplete reconstitution of body reserves. To conclude, weaning led to a drop of plasma concentration of vit E whatever the weaning conditions indicating dramatic changes in vit E status and metabolism at weaning.

Annexe 6 : Effect of weaning conditions on metabolic parameters, growth and health of piglets (EAAP 2016, Belfast, Royaume Uni)

Effects of weaning conditions on metabolic parameters, growth and health of piglets

BUCHET A.^{abc}, BELLOC C.^c, LE FLOC'H N.^a, MERLOT E.^a

^a INRA, UMR 1348 PEGASE, F-35590 Saint Gilles, France

^b Cooperl Arc Atlantique, BP 60238, F-22403 Lamballe, France

^c ONIRIS, INRA, UMR 1300 BioEpAR, BP 40706, F-44307 Nantes, France

Social, nutritional and spatial changes at weaning generate very high adaptive requirements for piglets. This study investigated the effects of management practices and age at weaning on metabolic status, growth and health of piglets. Piglets born from 12 litters were weaned at either 21 (W21) or 28 (W28) days of age in optimal (OC) or deteriorated (DC) conditions (n=16 per group). In OC post-weaning pens, animals originating from 2 litters were housed by 4 (0.39 m²/pig) in cleaned and disinfected pens. In DC post-weaning pens, animals originating from 4 litters were housed by 8 (0.20 m²/pig) in dirty pens after a waiting time of 4 h at 20°C. One week after weaning, DC pigs were mixed again. From 12 to 61 days of age, blood was collected and pigs were weighed weekly. Diarrheas were recorded daily. Plasma concentrations of metabolites were measured. Body weight (BW) was significantly lower from 47 days of age in DC compared to OC (P<0.001) and, from 54 days of age, for W28 compared to W21 (P<0.001). Average daily gain of the week before blood sampling influenced positively non-esterified fatty acids (NEFA) and urea concentrations (P<0.05) and negatively creatinine concentration (P<0.001). After weaning, diarrhea frequency was greater in DC than OC (P<0.05) and negatively influenced by BW at weaning (P<0.05). Whatever the age and conditions at weaning, NEFA and urea concentrations increased at weaning (P<0.05) whereas glucose concentration consistently decreased with time (P<0.001). Five days after weaning, creatinine concentration was higher in DC than OC pigs (P<0.01), and urea concentration in W28 than W21 pigs (P<0.001). The increase in NEFA, urea and creatinine concentrations after weaning probably reflects lipolysis and muscle catabolism. Whatever the age at weaning, DC increase diarrhea occurrence and protein and lipid mobilization, which consistently slows down piglet growth.

Annexe 7 : Effects of weaning conditions on immune parameters of piglets (EAAP 2016, Belfast, Royaume Uni)

Effects of weaning conditions on immune parameters of piglets

BUCHET A.^{abc}, BELLOC C.^c, MERLOT E.^a

^a PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, 35590 Saint Gilles, France

^b Cooperl Arc Atlantique, BP 60238, 22403 Lamballe, France

^c BIOEPAR, INRA, ONIRIS, BP 40706, 44307 Nantes, France

Weaning leads to social, nutritional and spatial changes for piglets inducing very high adaptive requirements. The aim of this study is to analyze the effects of weaning and management practices at weaning on the immune stimulation of piglets. To dissociate the weaning from the ageing effect, a 2 x 2 factorial design was used, where 64 piglets born from 12 litters were weaned in optimal (OC) or deteriorated (DC) farming conditions (n=16 per group) at either 21 (W21) or 28 (W28) days of age. In OC post-weaning pens, animals originating from 2 litters were housed by 4 (0.39 m²/pig) in cleaned and disinfected pens. In DC post-weaning pens, animals originating from 4 litters were housed by 8 (0.20 m²/pig) in dirty pens after a waiting time of 4 h at 20°C. One week after weaning, DC pigs were mixed again. From 12 to 61 days of age, animals were blood sampled weekly for leucocyte count and immunoglobulin G (IgG) and M (IgM) measurement. Concentration in IgG decreased from 12 to 40 days of age and stabilized thereafter (P<0.001). Concentration in IgM and lymphocyte count regularly increased from 12 to 47 days of age (P<0.001). IgG and IgM concentrations were positively (P < 0.05) while lymphocyte count was negatively (P < 0.01) influenced by body weight. Neutrophil counts were stable until 5 days after weaning, but increased 12 days after weaning (P<0.001). This rise was greater in DC than OC pigs (P<0.001) and in W28 compared to W21 pigs (P<0.01). DC pigs had also greater IgM concentrations 12 days after weaning compared to OC pigs (P<0.001). In conclusion, the greater neutrophil count and IgM production in DC pigs 12 days after weaning, regardless the age at weaning, indicates that challenging conditions lead to higher stimulation of the immune system compared to optimal weaning conditions. This might explain the metabolic and growth differences observed between OC and DC pigs described in another abstract of this meeting.

Annexe 8 : Looking to biological variables predicting growth during the first three weeks after weaning in pig (EAAP 2017, Tallinn, Estonie)

Looking to biological variables predicting growth during the first three weeks after weaning in pig

BUCHET A.^{abc}, MERLOT E.^a, BELLOC C.^c.

^a INRA, UMR 1348 PEGASE, F-35590 Saint Gilles, France

^b Cooperl Arc Atlantique, BP 60238, F-22403 Lamballe, France

^c ONIRIS, INRA, UMR 1300 BioEpAR, BP 40706, F-44307 Nantes, France

Pig production needs to conciliate the reduction of the use of antibiotics and animal welfare while maintaining profitability. The early detection of animals with high risks of diseases could allow the implementation of individual care and/or treatments. This study aims to look for the association of health of piglets after weaning with biological variables measured before or immediately after weaning. Growth was used here as a rough indicator of health. Piglets (n=270) coming from 15 commercial farms, weaned at 28 days of age, were blood sampled at 26 and 33 days of age and weighed at 26, 33, 47 days of age. Biological parameters (n=19) concerning immunity, stress, oxidative stress or nutrients metabolism were measured. Considering the strong correlation between average daily gain (ADG) and live weight, the relative 26/47 ADG, calculated as the ratio of GMQ between 26 and 47 days of age and live weight at 26 days of age, was used. A linear model was built for each biological variable, testing its explanatory role on relative 26/47 ADG. Then a Bonferroni correction was implemented and all variables with significance below 0.1 were included together in a final model. This model included farm effect, plasma day 26 hemoglobin and day 33 creatinine, non-esterified fatty acids (NEFA) and vitamin A plasma concentrations. The model explained 43% of the variance of relative 26/47 ADG with 31% accounting for farm effect and 6% for creatinine concentration. Apart from farm effect, piglets having a low relative 26/47 ADG displayed low hemoglobin concentration before weaning, and high protein (high creatinine) and energy (high NEFA) mobilization and low antioxidant concentration of vitamin A in blood after weaning. This study gives promising insights of the early detection of piglets with low relative growth after weaning.

Annexe 9 : Sevrobust: Identification de marqueurs de la robustesse du porcelet au sevrage (Rencontres GISA 2016, Paris, France)

SEVROBUST : Identification de marqueurs de la robustesse du porcelet au sevrage

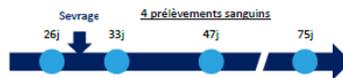
BUCHET Arnaud^{abc}, MERLOT Elodie^a, MORMEDE Pierre^d, TERENINA Elena^d, LIEUBEAU Blandine^e,
MIGNOT Grégoire^e, HERVE Julie^e, LEBLANC MARIDOR Mily^c, BELLOC Catherine^c
^aUMR PEGASE, Agronomie Ouest, INRA, 35590 Saint-Gilles, France, ^bCooperl Arc Atlantique, BP 60288, 22403 Lamballe, France ^cBIOEPAR, INRA, ONIRIS, BP 40706, 44307 Nantes, France, ^dUniversité de Toulouse INPT ENSAT, INRA, 31326 Castanet-Tolosan, France, ^eTECM, INRA, ONIRIS, BP 40706, 44307 Nantes, France

Introduction

La production porcine doit concilier la réduction de l'utilisation d'antibiotique, le bien-être et la santé des animaux ainsi que la rentabilité. Le sevrage est la principale phase où les antibiotiques sont utilisés en élevage de porcs (Hémonic et al. 2013). L'identification *a priori* de porcelets robustes au sevrage permettrait de mettre en place des mesures personnalisées (médecine et alimentation de précision). L'objectif du projet SEVROBUST est d'identifier des marqueurs de la robustesse du porcelet au sevrage.

Plan expérimental

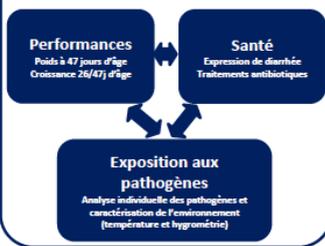
288 porcelets mâles entiers, sevrés à 28 jours d'âge, issus de 16 élevages commerciaux sélectionnés pour leur statut sanitaire et leur performances moyennes de croissance 8/30Kg contrastés



Définition de la robustesse

Robustesse = maintien des performances, de la santé et du bien-être du porcelet dans des environnements (élevages) divers

Construction d'un score de robustesse avec 3 composantes :



Variables biologiques étudiées

| | |
|-----------------------|---|
| Statut oxydant | dROM, BAP, ISO, vitamine E, vitamine A |
| Immunité | CRP, IgM, IgG, hémoglobine, hématocrite, nombre de globules rouges, lymphocytes, basophiles, éosinophiles, monocytes % de lymphocytes T totaux et sous-populations T (CD4+CD8-, CD4+CD8+, CD4+CD8+ HL, CD4+CD8+ Miel), lymphocytes B % de phagocytose par les monocytes et les polymorphonucléaires |
| Métabolisme | Acides gras libres, glucose, créatinine, urée |
| Stress | Cortisol, expression dans le sang total de gènes sensibles à l'activation de l'axe corticotrope mesurée par Fluidigm |
| Zootéchnie | Poids |
| Santé | Diarrhée, température rectale et traitements antibiotiques |
| Microbiote | Flore digestive des porcelets |

Score de robustesse

Association

Biomarqueurs

Les analyses de l'association entre chaque variable biologique et le score de robustesse défini permettront de sélectionner des biomarqueurs de la robustesse du porcelet au sevrage. Une seconde étude, visant à évaluer le caractère prédictif des biomarqueurs associés au score de robustesse du porcelet devra être mise en place.

Projet financé par GISA, Cooperl, Zoetis et le PSDR « Grand Ouest »



Annexe 10 : Symptômes relevés et traitements sur les porcelets de l'étude terrain et leurs contemporains entre 28 et 47 jours d'âge.

| Age (jours) | | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 |
|-------------------------|----------|------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|-------|------|------|------|
| Jours après sevrage (S) | | S | S+1 | S+2 | S+3 | S+4 | S+5 | S+6 | S+7 | S+8 | S+9 | S+10 | S+11 | S+12 | S+13 | S+14 | S+15 | S+16 | S+17 | S+18 | S+19 |
| Eleveage 1 | GMQ-SAN- | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | D | | D * | D * | | | D |
| Eleveage 2 | GMQ-SAN- | - | - | - | - | - | - | D | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | D |
| Eleveage 3 | GMQ-SAN- | | | R | | | | D | | | | R | R | R | R | R | | | | D | D |
| Eleveage 4 | GMQ-SAN- | | | | | | | R | **D | | | R * | | | *R | | | | | | D |
| Eleveage 5 | GMQ-SAN+ | | | | | | | D | | | | | | | | | | | | | D |
| Eleveage 6 | GMQ-SAN+ | **? | | | | | | | | R | DR | D | DR | DR | DRL | DRL | DRL | DR *L | DR | DR | DR |
| Eleveage 7 | GMQ-SAN+ | | | R | | D 2 | | D | | | | R | | | R | | | D | R | | D |
| Eleveage 8 | GMQ-SAN+ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Eleveage 9 | GMQ+SAN- | D | | | DL | | | D | | | | | | | | | | | | | |
| Eleveage 10 | GMQ+SAN- | | | DL I | | DL | | D | D | D | D | D | D | D | L | | LI | | | | L |
| Eleveage 11 | GMQ+SAN- | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Eleveage 12 | GMQ+SAN- | D | | R | | DR | | DL | | | | | | | | | | | | | D |
| Eleveage 13 | GMQ+SAN+ | Tous | R | | | | | D | R | R * | | | | | | | | | | | L |
| Eleveage 14 | GMQ+SAN+ | | | *A | | | L | D | | | | | | | | | | | | | |
| Eleveage 15 | GMQ+SAN+ | R | L * | | L | | | | | | | | | | | | | | | | L * |
| Eleveage 16 | GMQ+SAN+ | | L | L | | L | D | L | *R | D | D | | D | | | | | | | | D D |

Traitement collectif par voie orale

- Visée digestive
- Visée digestive et respiratoire
- Visée digestive et streptococcie
- Tylosine

Traitement individuel par injection

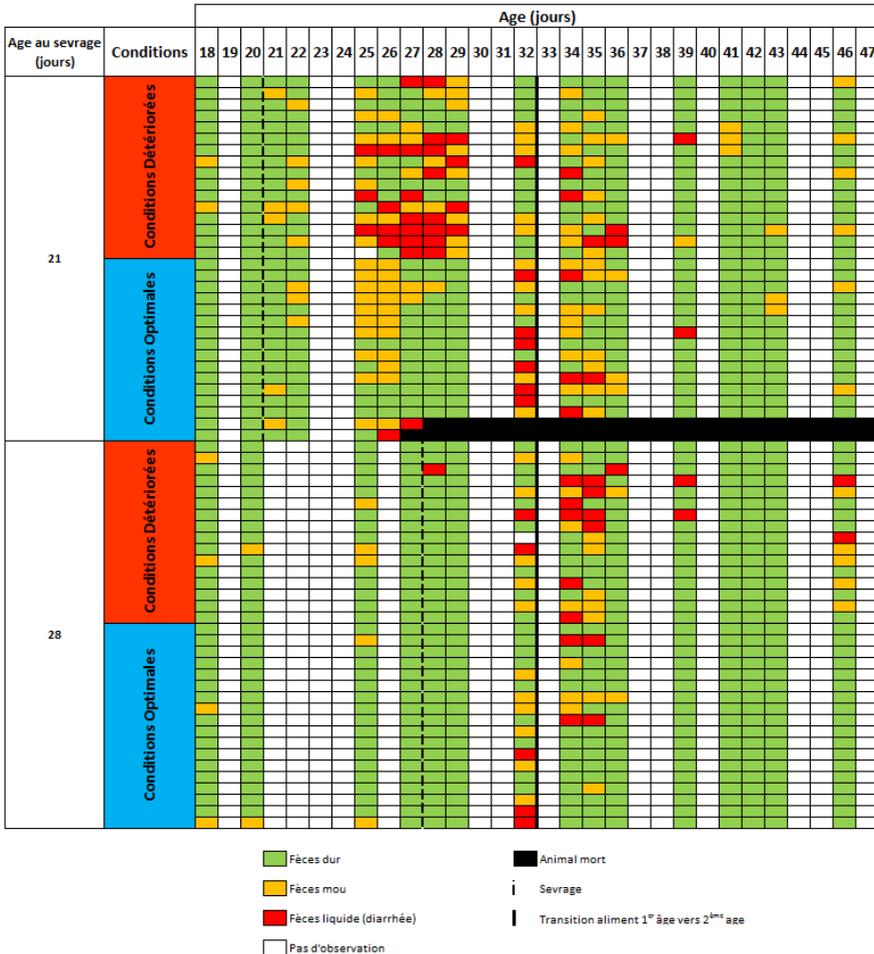
- Nombre d'animaux en italique, motif du traitement selon couleur

Symptômes relevés : R : respiratoire, D : digestif, L : locomoteur, A : autre. Le symptôme est indiqué en gras lorsqu'il a été relevé par l'expérimentateur INRA lors de sa visite et non par l'éleveur.

*, **, *** : 1, 2, 3 morts (la cause de la mortalité est indiquée par R, D, L, A ou ? si la cause est inconnue

- : absence d'observation par l'éleveur

Annexe 11 : Observation individuelle des diarrhées chez les porcelets de l'étude en installation expérimentale entre 18 et 47 jours d'âge.



Chaque ligne représente un porcelet

Annexe 12 : Variations des variables physiologiques dans l'étude terrain et dans l'étude en installation expérimentale en fonction de l'âge, du sevrage et des conditions d'environnements.

| | Variation liée à l'âge | Variation transitoire au sevrage | Variation irréversible au sevrage | Variation liée à l'environnement* |
|---------------------------------|------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Hydroperoxydes | ↗ | ↗ | non | ↗ |
| Capacité antioxydante du plasma | non | ↘ | non | ↘ |
| Vitamine E | non | ↘ | non | non |
| Vitamine A | non | ↘ | non | non |
| Urée | non | ↗ | non | non |
| Créatinine | ↗ | ↗ | non | ↗ |
| Glucose | non | non | ↘ | non |
| Acides Gras Libres | non | non | non | ↗ (SAN-) |
| Lymphocytes | ↗ | non | non | non |
| Neutrophiles | non | non | ↗ | ↗ |
| IgM | ↗ | non | non | ↗ |
| Haptoglobine | non | ↗ | non | non |

* Sauf mention contraire, variation liée à un environnement défavorable (Conditions détériorées de l'étude en installation expérimentale ou élevage avec un statut sanitaire défavorable (SAN-) dans l'étude terrain.

RÉSUMÉ ABSTRACT

Identification de marqueurs de la robustesse du porcelet au sevrage

La notion de robustesse peut se définir par le maintien des performances et de la santé quelles que soient les conditions d'environnement. Le sevrage constitue la phase où la plus grande quantité d'antibiotiques est utilisée car il est source de perturbations multiples pour le porcelet. L'identification de porcs robustes permettrait d'envisager des soins spécifiques et/ou une sélection génétique sur ce caractère. Les objectifs de cette thèse étaient d'identifier certains marqueurs physiologiques associés à la robustesse du porcelet au sevrage et de prédire cette robustesse par des variables physiologiques décrivant ces réponses mesurées avant et après sevrage. Pour répondre à cet objectif, des variables physiologiques ont d'abord été mesurées dans des environnements très divers puis celles associées à la robustesse ont été identifiées. Une première étude a été conduite en installation expérimentale visant à étudier les effets de l'âge, des conditions de sevrage et de la santé sur l'évolution de variables sanguines descriptives du statut immunitaire et métabolique, du stress, et du statut redox autour du sevrage. Par ailleurs, dans une deuxième étude, des variables physiologiques ont été mesurées dans 16 élevages commerciaux autour du sevrage. Les performances de croissance et le statut sanitaire étaient les 2 facteurs de variations d'élevages contrôlés. L'analyse des données a permis de mettre en évidence une forte influence du statut sanitaire sur les variables physiologiques mesurées autour du sevrage. Des variables descriptives du statut oxydant, du statut métabolique et de l'activation du système immunitaire ont été associées à la robustesse du porcelet au sevrage. Ainsi, les porcelets les plus robustes sont ceux qui, dans des environnements favorables ou défavorables, ont une capacité à limiter leur stress oxydant, à moins mobiliser de réserves corporelles et à activer rapidement leur système immunitaire. Ces variables devront être validés à l'aide d'autres jeux de données.

Mots-clés : robustesse, sevrage, porc, biomarqueurs.

Identification of markers of the robustness of piglets at weaning

The concept of robustness can be defined as the ability to maintain performances and health whatever environmental conditions. Weaning is the step where the biggest part of antibiotics is used because it is the source of multiple perturbations for the piglet. The identification of robust pigs could allow settling specific care and/or genetic selection on this criteria. The objectives of this thesis were to identify physiological parameters associated with the robustness of piglet at weaning and to predict this robustness by biological variables describing those measured responses before and after weaning. To answer to this objective, physiological variables were first measured in very different environments and, then, those ones associated with the robustness were identified. A first experiment was realized in experimental unit, aiming to study the effects of age, weaning conditions and health on the evolution of blood variables describing immune and metabolic status, stress and oxidative stress around weaning. In a second study, some physiological markers were measured on piglets coming from 16 commercial farms around weaning. Growth performances and health status were the two controlled factors of variations of farms. The analysis of data allowed us to show a high influence of health status on physiological variables around weaning. Some variables describing oxidative status, metabolic status and the activation of immune system were associated with the robustness of piglet at weaning. Thus, the most robust piglets are those ones who, in favorable or unfavorable environments, have a capacity to limit their oxidative stress, to mobilize less body reserves and to activate quickly their immune system. Those variables will have to be validated with other datasets.

Keywords: robustness, weaning, pig, biomarkers



AGROCAMPUS OUEST • Institut supérieur des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
65 rue de Saint-Brieuc – CS84215 – F-35042 Rennes Cedex
Tél. : 02 23 48 50 00
www.agrocampus-ouest.fr

