La spectrométrie de masse isotopique simplifie la détermination de l'espace de diffusion de l'eau deutérée pour estimer la composition corporelle du chevreau

Isotope-ratio mass spectrometry allows simplification of the deuterium oxide diffusion space determination in order to estimate the body composition of male goat kids

LERCH S. (1), LASTEL M. L. (1), GRANDCLAUDON C. (1), BRECHET C. (2), RYCHEN G. (1), FEIDT C. (1)
(1) Université de Lorraine, EA 3998, UR Animal et Fonctionnalités des Produits Animaux, USC INRA 340, F-54518 Vandœuvre-lès-Nancy, France
(2) INRA, UMR 1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestières, F-54280 Champenoux, France

INTRODUCTION

De nombreuses méthodes ont été développées afin d'estimer *in vivo* la composition corporelle du ruminant. L'une des plus précises est celle basée sur la quantification de l'eau corporelle via la détermination de l'espace de diffusion de l'eau deutérée (EDD_2O). Elle a fait l'objet de nombreux travaux jusqu'à la fin des années 90 (Robelin, 1973 ; Speakman *et al.*, 2001). Depuis lors, son utilisation est plus parcimonieuse en raison notamment de la procédure de dosage par spectroscopie infrarouge (SIR) impliquant d'importantes quantités de D_2O à mettre en œuvre et la préparation chronophage de l'eau sanguine par sublimation. Le recours au dosage par spectrométrie de masse isotopique (SMI) peut permettre de contourner ces limitations. En effet, la sensibilité de la SMI permet de réduire la quantité de D_2O injectée et la sélectivité du dosage de simplifier la préparation de l'eau sanguine à une déprotéinisation par centrifugation peu chronophage (Ripoche *et al.*, 2006). L'objectif de ce travail était de calibrer des équations prédictives des composants corporels mesurés *post mortem* à partir de l'EDD_2O mesuré *in vivo* par SMI chez le chevreau, afin d'évaluer les performances de cette méthode simplifiée.

1. MATERIEL ET METHODES

Un chevreau a été abattu à l'âge de 14 semaines (sem.) et 16 autres ont été répartis en 2 lots de 8 et ont reçu des régimes à base de foin et de 20 g MS/j/ kg de poids vif (PV) d'aliment post-sevrage seul (lot alim-), ou complémenté de 13 g MS/j/kg PV de maïs grain (lot alim+). Quatre animaux par lot ont été abattus au bout de 8 sem. (âge 17 sem.) et les 8 restants au bout de 12 sem. (âge 21 sem.). Deux jours avant l'abattage, chaque chevreau a reçu 0,2 g / kg PV de D_2O dans la veine jugulaire via un cathéter. Des prélèvements de plasma ont été effectués avant l'injection ainsi qu'à +5, +7, +29 et +31 h post injection. Les plasmas ont subi une déprotéinisation sur tube à centrifuger (Amicon© Ultra-0.5, 10kDa, 2h, 4°C, 14 000 *g*), avant que l'enrichissement en D du filtrat ne soit déterminé par SMI exprimé en delta et atome % vs. V-SMOW (Ripoche *et al.*, 2006). L'EDD_2O a été calculé en divisant la quantité de D_2O injectée par l'intercepte de sa cinétique d'élimination, en tenant compte de l'abondance naturelle en D selon les calculs décrits par Al-Ramamneh *et al.* (2010). *Post mortem* les contenus digestifs (CD) ont été séparés du corps vide (CV), qui après congélation a été broyé à l'aide d'un concasseur et d'un mélangeur-hacheur. La teneur en eau (103°C, 48h) des CD et du CV, ainsi que celles en lipides (Folch), protéines (N x 0.65, Kjeldahl) et cendres (550°C, 6h) du CV ont ensuite été déterminées. Les données individuelles ont été analysées selon la procédure MIXED (SAS 9.3) et des régressions multiples ont été établies entre les composants corporels mesurés *post mortem* et l'EDD_2O associé au PV à l'injection (PV_{inj}) selon la procédure GLM.

Tableau 1: Equations prédictives des composants du CV mesurés *post mortem* à partir de l'EDD_2O et du PV à l'injection

	Coef des variables predictives[1]		Statistiques[2]		
Composant (kg)	EDD_2O (kg)	PV_{inj} (kg)	ETr	CVr	R^2
Eau =	+0,69(0,01)	--	0,77	5,4	0,84
Lipides =	-0,59(0,13)	+0,53(0,10)	0,34	13,1	0,83
Protéines =	NS	+0,13(0,002)	0,19	5,0	0,88
Cendres =	NS	+0,03(4.10^{-4})	0.05	5,7	0,87

[1]Moyenne (Erreur-type : SEM), *n* = 17, **terme constant toujours NS**; [2]ETr: écart type résiduel (kg), CVr: coefficient de variation résiduel (%); NS: *P* > 0,10

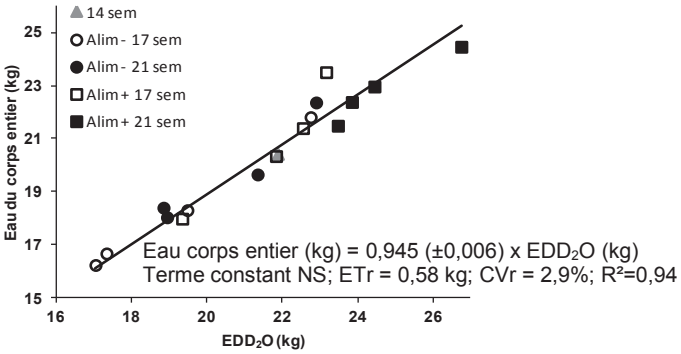

Figure 1: Relation entre l'EDD_2O et la quantité d'eau du corps entier (CD compris) mesurée *post mortem*

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Le PV à l'abattage a été supérieur pour le lot alim+ (31,4 kg) en comparaison du lot alim- (26,6 kg ; *P* < 0,01, SEM = 1.01). Par ailleurs, la teneur en eau du CV a été plus faible et celle en lipides plus élevée pour le lot alim+ que pour le lot alim- (eau : 65,9 et 68,0%, lipides : 13,1 et 11,1% pour alim+ et -, respectivement ; *P* < 0,05). Toutefois, les teneurs du CV en protéines et en cendres ne sont pas différentes entre lots et âges d'abattage (en moyenne protéines : 17,4% ; SEM=0,25 et cendres : 3,8%; SEM=0,09 ; *P* > 0,20). Une relation étroite a pu être établie entre l'EDD_2O et l'eau contenue dans le corps entier (Figure 1). La surestimation de l'eau mesurée de +5,8% par l'EDD_2O est de l'ordre de celle classiquement décrite lors d'un dosage par SIR (Robelin, 1973). L'estimation de la quantité de lipides contenue dans le CV est nettement améliorée (*P* < 0,001) lorsque l'EDD_2O est adjointe au PV_{inj} comme variables prédictives (Tableau 1), en comparaison du PV_{inj} seul (CVr=15,5% et R^2=0,76). La précision de la prédiction est comparable à celle relevée par SIR chez la chèvre (Brown et Taylor, 1986). Cependant, l'EDD_2O n'améliore pas (*P* > 0,20) les prédictions des quantités de protéines et de cendres du CV qui sont déjà estimées efficacement à l'aide du PV_{inj} seul (Tableau 1).

CONCLUSION

La méthode D_2O mesurée par SMI permet d'estimer les quantités d'eau et de lipides corporelles chez le chevreau de façon aussi précise que lors de travaux antérieurs chez le petit ruminant impliquant la SIR. Ainsi, le dosage par SMI offre une alternative intéressante à celui par SIR lors de la détermination de l'EDD_2O, en limitant les quantités de D_2O à injecter et le temps consacré à la préparation des échantillons (0,2 vs 0,5 g D_2O / kg PV et 150 vs 20 éch / j pour la SMI [présente étude] et la SIR [Robelin, 1973], respectivement).

ML Lastel réalise une thèse ADEME-INRA. Merci à F Dugny, P Hartmeyer, A Fournier, H Toussaint et S Jurjanz (UR AFPA, conduite de l'expérimentation) ; J Liger et J-F Rouaud (UMR1348 Pegase, broyage des CV) ; ainsi qu'à F Bocquier (UMR868 Selmet), J Agabriel et Y Chilliard (UMR1213 Herbivores) pour les échanges relatifs à la méthode EDD_2O.

Al-Ramamneh, D., Riek, A., Gerken, M. 2010. Animal, 4, 1606-1612
Brown, D.L., Taylor, S.J. 1986. J. Dairy Sci., 69, 1151-1155
Ripoche, N., Ferchaud-Roucher, V., Krempf, M., Ritz, P. 2006. J. Mass Spectrom., 41, 1212-1218
Robelin, J. 1973. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 13, 285-305
Speakman, J.R., Visser, G.H., Ward, S., Krol, E. 2001. In Speakman (Ed), Body composition analysis of animals, Cambridge. 56-98