



Ghylène  
Goudet

Ingénieur de recherche dans  
l'unité mixte de recherche de  
Physiologie de la Reproduction  
et des Comportements

[ghylene.goudet@inrae.fr](mailto:ghylene.goudet@inrae.fr)

### Partenaire(s)



### Financeur(s)



## Biomarqueurs salivaires du stade du cycle de reproduction chez la jument

Ghylène Goudet<sup>1</sup>, Stéphane Beauclercq<sup>2</sup>, Anne-Lyse Lainé<sup>1</sup>, Cécile Douet<sup>1</sup>, Amandine Gesbert<sup>3</sup>, Philippe Barrière<sup>3</sup>, Thierry Blard<sup>3</sup>, Yvan Gaude<sup>3</sup>, Fabrice Reigner<sup>3</sup>, Stéfan Deleuze<sup>4</sup>, Lydie Nadal-Desbarats<sup>5</sup>

<sup>1</sup> UMR PRC INRAE Centre Val de Loire,

<sup>2</sup> UMR BOA INRAE Centre Val de Loire,

<sup>3</sup> UE PAO INRAE Centre Val de Loire,

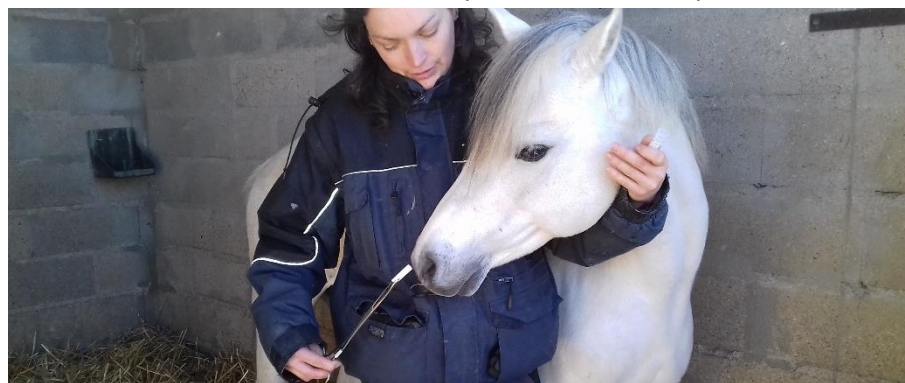
<sup>4</sup> Faculté de Médecine Vétérinaire, Département des Sciences Cliniques-Clinique Equine, Université de Liège,

<sup>5</sup> UMR 1253, iBrain, INSERM, Université de Tours.

Type de présentation : poster – projet de R&D

### Ce qu'il faut retenir :

Nous recherchons des biomarqueurs du stade du cycle de reproduction dans la salive de jument comme alternative aux prélèvements de sang. Nous avons identifié 14 métabolites ou groupes de métabolites ayant des concentrations salivaires significativement différentes entre les stades (anoestrus saisonnier, phase préovulatoire, phase lutéale, début de gestation). En particulier, deux biomarqueurs potentiels sont intéressants : la créatine pour détecter l'ovulation et l'alanine pour détecter la sortie d'anoestrus. Leurs concentrations sont compatibles avec la limite de détection de kits de dosage commerciaux. Une étude est en cours pour confirmer leur pertinence.



© Ghylène Goudet

En partenariat avec :



## 1 Contexte et objectifs

La prise en compte du bien-être animal est une demande de la société civile, qui est particulièrement sensible à la douleur infligée à l'animal d'élevage. La maîtrise de la reproduction dans la filière équine implique des actes potentiellement douloureux, notamment au moment des prises de sang. En effet, les prélèvements de sang réalisés pour des dosages hormonaux afin d'évaluer le stade du cycle de reproduction ou pour diagnostiquer un problème de reproduction peuvent être stressants et provoquer une douleur plus ou moins importante en fonction de l'animal et du manipulateur, ce qui peut compromettre la relation humain-équidé et conduire à une réaction de retrait potentiellement dangereuse.

L'objectif de notre laboratoire est de développer des méthodes alternatives pour limiter les actes invasifs dans le cadre de la reproduction des mammifères d'élevage, et notamment de trouver une alternative aux prises de sang. Les prélèvements de salive sont des actes non douloureux et non invasifs, qui peuvent être effectués facilement sur le terrain sans contrainte de l'animal. Ils sont utilisés fréquemment chez l'humain, notamment chez les enfants, et sont en cours de développement chez les mammifères domestiques.

L'objectif de ce travail était d'analyser l'ensemble des métabolites (le métabolome) dans la salive de juments à différents stades du cycle de reproduction, afin d'identifier des biomarqueurs salivaires du stade du cycle des juments.

## 2 Méthode

Nous avons collecté de la salive sur six juments de type Welsh à sept stades physiologiques successifs :

- en anoestrus saisonnier,
- en phase préovulatoire trois jours, deux jours, un jour avant l'ovulation et le jour de l'ovulation,
- en phase lutéale six jours après l'ovulation,
- en début de gestation 18 jours après ovulation et insémination artificielle.

La salive a été collectée à l'aide d'une Salivette® qui contient un tampon placé dans la bouche de la femelle afin qu'il s'imbibes de salive (photo), puis remis dans son tube et centrifugé pour récupérer la salive.

Des prélèvements sanguins ont été réalisés en même temps que les prélèvements de salive pour comparer les concentrations dans la salive et dans le plasma.

Les concentrations salivaires et plasmatiques des métabolites ont été analysées par spectrométrie de résonance magnétique nucléaire du proton, technique de référence en termes de spécificité, reproductibilité et précision. Les résultats ont été analysés par une ANOVA en mesures répétées par la méthode de Geisser et Greenhouse et des tests de comparaisons multiples de Tukey.

## 3 Résultats

Nous avons identifié 59 métabolites dans la salive équine et 51 métabolites dans le plasma équin. Ils comprennent des sucres, des acides aminés, des acides organiques, des composés organiques et des nucléosides. Parmi ces métabolites, 31 sont présents dans la salive et dans le plasma.

### 3.1 Dans la salive équine

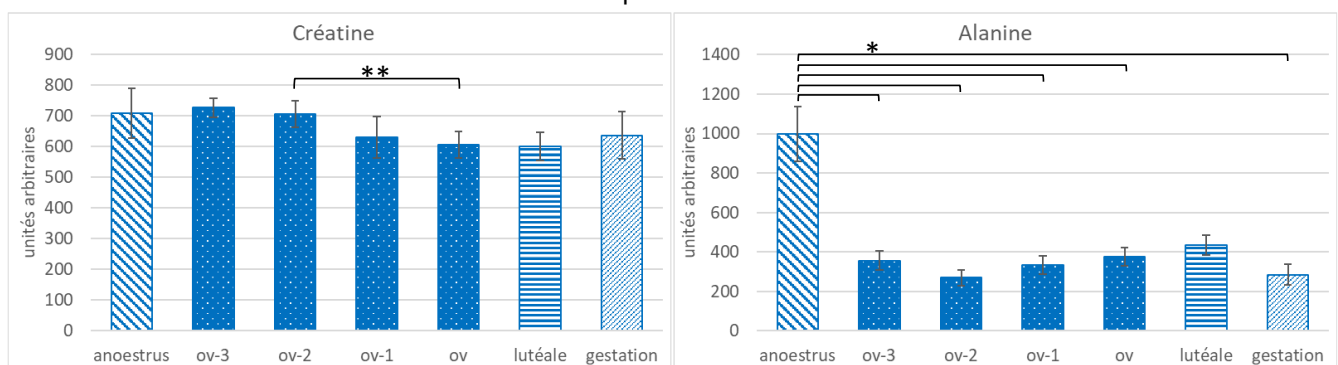
Dans la salive équine, 14 métabolites ou groupes de métabolites avaient des concentrations significativement différentes entre les stades physiologiques. Donc la composition de la salive varie en fonction du stade de reproduction des juments.

Les concentrations salivaires de quatre métabolites ou groupes de métabolites étaient significativement différentes au cours des quatre jours précédant l'ovulation. En particulier, la concentration salivaire de créatine diminuait significativement dans les deux jours précédant l'ovulation jusqu'à l'ovulation (figure 1). Donc la diminution de la

concentration de créatine dans la salive pourrait permettre de détecter le moment de l'ovulation. La créatine est donc un biomarqueur salivaire potentiel de l'ovulation.

Les concentrations salivaires de 11 métabolites ou groupes de métabolites étaient significativement différentes entre le stade d'anoestrus saisonnier et les autres stades. En particulier, la concentration salivaire d'alanine est significativement plus élevée pendant l'anoestrus saisonnier que pendant les autres phases (figure 1). Donc la diminution de la concentration d'alanine dans la salive pourrait permettre de détecter la sortie d'anoestrus et la reprise des cycles ovariens. L'alanine est donc un biomarqueur salivaire potentiel de la sortie d'anoestrus.

Figure 1 : Concentrations de la créatine et de l'alanine dans la salive de jument en fonction du stade de reproduction



Anoestrus : en anoestrus saisonnier ; ov-3 : 3 jours avant l'ovulation ; ov-2 : 2 jours avant l'ovulation ; ov-1 : 1 jour avant l'ovulation ; ov : le jour de l'ovulation ; lutéale : en phase lutéale 6 jours après ovulation ; gestation : en début de gestation 18 jours après ovulation et insémination ; \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$

### 3.2 Dans le plasma équin

Dans le plasma équin, 30 métabolites ou groupes de métabolites ont des concentrations significativement différentes entre les stades physiologiques.

Les concentrations plasmatiques de cinq métabolites ou groupes de métabolites diffèrent significativement au cours des quatre jours précédant l'ovulation. En particulier, la concentration plasmatique de sérine diminue significativement entre trois et deux jours avant ovulation, la concentration de diméthyl-sulfone diminue significativement dans les deux jours précédant l'ovulation, et la concentration de valine diminue significativement entre trois et un jour avant l'ovulation. Donc la diminution de la concentration de ces métabolites dans le plasma pourrait permettre de détecter le moment de l'ovulation.

Les concentrations plasmatiques de 17 métabolites ou groupes de métabolites sont significativement différentes entre le stade d'anoestrus et les autres stades. En particulier, la concentration plasmatique de créatinine est significativement plus élevée et la concentration plasmatique de thréonine et 3-hydroxyisobutyrate est significativement plus faible pendant l'anoestrus saisonnier que pendant les autres phases. Donc la modification de la concentration de ces métabolites dans le plasma pourrait permettre de détecter la sortie d'anoestrus.

## 4 Conclusions et applications pratiques

En conclusion, les concentrations dans la salive de plusieurs métabolites sont significativement différentes entre les stades du cycle de reproduction des juments. Il est donc possible d'identifier des biomarqueurs salivaires du stade du cycle des juments.

Plusieurs biomarqueurs candidats sont particulièrement intéressants. La créatine est un biomarqueur salivaire potentiel de l'ovulation. L'alanine est un biomarqueur salivaire potentiel de la sortie d'anoestrus. Dans une étude précédente nous avons montré que la prégénolone est un biomarqueur salivaire potentiel du début de gestation (1, 2). Une étude complémentaire sur un plus grand nombre de juments est en cours pour confirmer ces résultats et valider la pertinence de ces biomarqueurs.

De plus, les concentrations salivaires de ces métabolites sont compatibles avec la limite de détection des kits de dosage commerciaux. C'est pourquoi plusieurs kits de dosages colorimétriques sont actuellement testés pour doser ces métabolites avec une méthode de dosage simple, rapide et peu coûteuse, afin de développer un test salivaire applicable sur le terrain.

Ce travail permettra de développer un dosage salivaire utilisable en élevage pour identifier le stade physiologique des juments, et notamment pour la détection de l'ovulation, les tests de cyclicité ou de gestation. Les prélèvements de sang pourront être remplacés par des prélèvements de salive non douloureux et non invasifs. De plus, l'éleveur pourra réaliser un suivi précis et régulier du cycle de la jument dans le cadre d'un élevage de précision afin d'améliorer les performances de reproduction de ses femelles, tout en limitant l'utilisation des hormones destinées à maîtriser le cycle.

## 5 Pour en savoir plus

- (1) Ghylène Goudet, Cécile Douet, Antoine Pianos, Léna Haddad, Fabrice Reigner, Stéfan Deleuze, Philippe Liere, 2022. Saliva and plasma steroidome in mare during reproductive stages: a GC-MS/MS study. *Frontiers in Animal Science* 3:1055179. doi: 10.3389/fanim.2022.1055179.
- (2) Ghylène Goudet, Cécile Douet, Antoine Pianos, Léna Haddad, Amandine Gesbert, Philippe Barrière, Thierry Blard, Anne-Lyse Lainé, Stefan Deleuze, Fabrice Reigner, Philippe Liere. Dosage des hormones stéroïdiennes dans la salive de juments. Journées sciences & innovations équinés, 20-21 mai 2021.