

Protéines végétales dans les aliments d'allaitement : aspects nouveaux en matière de digestion et de pathologie digestive

J.P. LALLÈS, R. TOULLEC

*INRA, Laboratoire du Jeune Ruminant,
65, rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes cedex, France*

RÉSUMÉ – Pendant la dernière décennie, la production d'aliments d'allaitement dans l'Union européenne s'est caractérisée par une réduction importante (sauf aux Pays-Bas où elle a augmenté), une régression du taux d'incorporation de poudre de lait écrémé (qui reste cependant deux fois plus élevé en France qu'aux Pays-Bas), et enfin la progression des aliments dits « sans lait » (qui représentent moins de 20 % du total en France, mais plus de 70 % aux Pays-Bas). L'incorporation des protéines végétales dans les aliments d'allaitement pour veaux diminue de façon variable les performances et la digestibilité. Cela s'explique par une accélération de la vidange gastrique réduisant l'action du suc gastrique, par une modification des profils de sécrétions enzymatiques, par une plus grande résistance de certaines fractions peptidiques à la digestion intestinale et, dans certains cas, par un accroissement des pertes azotées endogènes. Avec le soja (et probablement le pois ou le lupin), l'obtention de résultats satisfaisants nécessite des traitements visant à dénaturer les protéines et à réduire leur immunogénicité, tels qu'un chauffage en milieu hydroethanolique ou une protéolyse enzymatique. D'ailleurs, il est maintenant possible de prévoir la digestibilité de l'azote des dérivés du soja à partir de l'immunoréactivité résiduelle de leurs globulines, en particulier celle de la β -conglycinine. Les protéines de blé posent peu de problèmes de digestion. Les troubles digestifs induits par la consommation prolongée de dérivés antigéniques du soja chez le veau mettent en jeu des allergènes alimentaires (notamment la β -conglycinine), des cellules du système immunitaire digestif, et enfin des médiateurs biochimiques responsables des désordres absorbatifs, sécrétoires et moteurs intestinaux. En revanche, l'agneau et le chevreau préruminants semblent être moins sensibles aux effets du soja.

Incorporation of plant protein into milk replacers : new insights into digestion and digestive disorders

J.P. LALLÈS, R. TOULLEC

*INRA, Laboratoire du Jeune Ruminant,
65, rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes cedex, France*

SUMMARY – The major features of the production of milk replacers in the European Union over the last decade have been its important reduction (except in the Netherlands where it has increased), a decrease of the incorporation level of skim milk powder (which, however, remain twice as high in France as in the Netherlands), and finally an increase of the « zero milk » formulas (representing less than 20 % and more than 70 % of the French and the Dutch production, respectively). Introducing plant protein into milk replacers for calves reduces performance and digestibility to a variable extent. This is explained by an increased abomasal emptying rate associated with a reduced action of gastric juice, by changes in secretory profiles of enzymes, by a higher resistance of particular peptide fractions to intestinal digestion and, sometimes, by an increased endogenous loss of nitrogen. With soya (and probably with pea or lupin), products need to be processed by treatments aimed at denaturing protein structure and at reducing immunogenicity, such as heating with aqueous ethanol or enzymatic proteolysis. Incidentally, it is now possible to predict accurately the digestibility of nitrogen from soya products from their content of immunoreactive globulins, particularly β -conglycinin. In contrast, wheat protein is highly digestible irrespective of treatments. Digestive disturbances induced by the chronic consumption of antigenic soya products in calves involve dietary allergens (particularly β -conglycinin), cells of the gut immune system, and finally biochemical mediators responsible for absorptive, secretory and motor disorders. Preruminant lambs and kids seem to be less sensitive than calves to the effects of soya.

INTRODUCTION

La production industrielle d'aliments d'allaitement pour veaux de boucherie a commencé en Europe au début des années soixante. Elle avait alors pour but principal de valoriser la poudre de lait écrémé, dont une quantité de plus en plus importante ne trouvait pas de débouché solvable en alimentation humaine, par suite du développement de la production laitière et de l'industrialisation de la collecte et des activités de transformation. Pour promouvoir son utilisation, une prime de dénaturation avait été instituée en 1958. Les premiers aliments étaient très riches en poudre de lait écrémé (75 %), condition essentielle à l'époque pour obtenir des résultats techniques acceptables. Les glucides étaient surtout apportés par du glucose et de la poudre de lactosérum, dont la qualité était parfois insuffisante. Cette situation a lentement évolué jusqu'en 1971, où le taux moyen de poudre de lait écrémé était encore de 62 % en France, malgré l'absence de contrainte réglementaire. Une brusque diminution des stocks de poudre de lait écrémé a alors provoqué une augmentation de son prix, et une réduction du taux moyen à 52 % en 1972. Il en est résulté un recours notable à d'autres sources de protéines (lactosérum en l'état ou partiellement dé lactosé, levures d'alcanes, farines de soja, concentrats de soja, de poisson et de pomme de terre). La situation s'est rapidement inversée et, en 1976, la Communauté européenne a lié l'octroi de la prime de dénaturation à un taux d'incorporation d'au moins 60 %. Alors, la technique dite « des deux sacs », consistant à mélanger deux aliments contenant res-

pectivement 60 et 0 % de poudre de lait écrémé, s'est rapidement propagée. A partir de 1984, la politique des quotas laitiers a provoqué une réduction drastique et durable de la production de poudre de lait écrémé, dont les stocks ont été épuisés fin 1988. Le taux minimum de poudre de lait écrémé permettant d'obtenir la prime de dénaturation a varié depuis selon l'état des stocks de poudre de lait écrémé ; de 35 % à partir de février 1993, il est repassé à 50 % depuis le 1^{er} juillet 1996, mais le taux moyen est généralement un peu plus bas (33 % en 1995 dans l'Union européenne). Il en résulte que la poudre de lait écrémé n'apporte plus qu'environ 50 % des protéines. Le reste provient approximativement pour moitié du lactosérum et du lactosérum dé lactosé et pour moitié de sources non laitières (soja, blé, pomme de terre et poisson hydrolysé). Entre 1987 et 1995, la production d'aliments d'allaitement a baissé de 17,5 % dans l'Union Européenne et de 34 % en France, mais elle a augmenté de près de 8 % aux Pays-Bas (tableau 1). Pendant la même période, le taux d'incorporation de poudre de lait écrémé a diminué de 35 % dans l'Union européenne (de 21 % en France, et de 60 % aux Pays-Bas). La proportion de lactosérum dans les aliments d'allaitement a avoisiné 40 % dans l'Union européenne en 1995, mais les statistiques disponibles ne permettent pas de connaître la situation dans chaque pays. Enfin, la proportion d'aliments sans poudre de lait écrémé est restée faible en France entre 1987 et 1995 (tableau 1). En revanche, les Pays-Bas se sont distingués par la production massive de ce type d'aliments.

Tableau 1
Evolution de la production d'aliments d'allaitement, du taux d'incorporation de poudre de lait écrémé, et de la proportion d'aliments sans poudre de lait écrémé.

	CEE à 12		FRANCE		PAYS-BAS	
	1987	1995	1987	1995	1987	1995
Production d'aliments d'allaitement (milliers de tonnes)	2140	1766	841	554	692	745
Taux d'incorporation de la poudre de lait écrémé (%)	51,4	33,4	57,5	45,2	39,2	23,6
Proportion d'aliments sans poudre de lait écrémé (%)	nd	nd	5,1	19,2	29,4*	77**

*nd non disponible ; * valeur pour 1989 ; ** valeur estimée pour 1994*

Source : Fédération de la Vitellerie Française

Pour pouvoir être incorporées dans les aliments d'allaitement, les sources de protéines doivent être appétibles, solubles ou faciles à maintenir en suspension, bien équilibrées en acides aminés indispensables ou aisées à compléter, dépourvues d'activités antinutritionnelles, et pauvres en constituants peu digestibles (glucides complexes) et en fer dans le cas des aliments destinés au veau de boucherie. Le remplacement de la majeure partie de la poudre de lait

écrémé par d'autres sources de protéines, notamment d'origine végétale, a des conséquences importantes sur la physiologie digestive et le métabolisme du préruminant, qui limitent l'efficacité des aliments, surtout pour les niveaux d'alimentation les plus élevés. Des synthèses complémentaires sur la digestion des protéines végétales et sur les réactions d'hypersensibilité digestive ont été publiées récemment (Lallès et Toullec, 1996a,b).

1. INFLUENCE SUR LA DIGESTION DANS LA CAILLETTE ET SUR LES SÉCRÉTIONS DIGESTIVES

La suppression de la coagulation entraînée par le remplacement de la caséine provoque une accélération de l'évacuation gastrique des protéines et des lipides, qui semble être d'autant plus accentuée que les protéines utilisées sont plus solubles (revue de Toullec et Lallès, 1995). La protéolyse et la lipolyse sont réduites dans la caillette à cause de la diminution du temps de contact avec la salive et le suc gastrique. Les protéines non caséiniques sont également moins sensibles à l'action de la chymosine et de la pepsine. Ainsi, chez le veau nourri au lait, les caséines α_1 et β ne sont présentes sous forme intacte dans les effluents gastriques que pendant la première heure postprandiale. En revanche, les globulines majeures de la farine de soja (glycine et β -conglycine) et du pois (légumine) y sont encore présentes sous forme immunoréactive 6 h après le repas. Leur disparition au-delà de 5 h 30 pourrait être due à la baisse du pH, qui favorise l'action de la pepsine. Les caséines elles-mêmes sont moins hydrolysées dans le cas d'une substitution partielle, ne permettant plus la formation d'un coagulum ferme. L'arrivée massive, dans le duodénum, de quantités accrues de protéines et de lipides moins hydrolysés a vraisemblablement des effets négatifs sur la digestion intestinale. Cependant, ces effets varient avec la nature des protéines. Ainsi, les protéines de lactosérum accélèrent davantage l'évacuation gastrique que celles des concentrats de soja, mais ont moins d'effet sur la digestibilité. Cela est probablement dû à leur hydrolyse moins difficile sous l'action des enzymes agissant dans l'intestin grêle. La digestion plus rapide des protéines et des lipides entraîne une accumulation des acides aminés libres et des triglycérides dans le sang pendant les 5 à 7 premières heures postprandiales (revue de Toullec et al, 1983). Toutefois, le taux plasmatique de glucose croît moins après le repas, ce qui pourrait résulter d'une augmentation de la sécrétion d'insuline ou de la sensibilité des tissus à ce peptide (Grizard et al, 1982). Malgré cela, les mécanismes d'utilisation métabolique des acides aminés et des triglycérides peuvent être débordés pendant plusieurs heures.

Les résultats concernant l'influence de la nature des protéines alimentaires sur les sécrétions gastriques et pancréatiques sont contradictoires. Ainsi, une diminution de la quantité de chymosine présente dans la muqueuse et le contenu de la caillette ont été observés par Garnot et al (1974, 1977) en remplaçant la caséine du lait par des protéines de lactosérum ou de soja. Une réduction de la sécrétion de protéase avec des protéines de soja a été rapportée par Williams et al (1976), chez des veaux porteurs d'une poche gastrique. Cependant, ces effets des protéines de soja sur la muqueuse de la caillette n'ont pas été retrouvés par Guilloteau et al (1986a). Ces divergences pourraient être dues à la diversité des conditions expérimentales.

Plusieurs auteurs ont observé un effet négatif des protéines de soja sur les quantités de protéases sécrétées par le pancréas ou présentes dans la glande (revue de Guilloteau et Le Huërou-Luron, 1996). Toutefois, l'utilisation d'une technique améliorée de mesure de la sécrétion pancréatique, permettant de collecter, échantillonner et réintroduire très rapidement le suc, a conduit récemment à des résultats différents (Guilloteau et Le Huërou-Luron, 1996). Ainsi, la quantité totale de trypsine sécrétée quotidiennement n'a pas été affectée

en remplaçant la caséine par un concentrat protéique de soja traité à l'alcool. Cependant, la cinétique de sécrétion a été modifiée : la production a été plus importante pendant les 2 premières heures après chaque repas et plus faible de 11 à 14 h après le repas du soir. L'augmentation initiale a probablement été due à l'accroissement plus important du taux circulant de cholécystokinine (Guilloteau et al, 1986a), lui-même déterminé par l'accélération de l'évacuation gastrique des protéines et des lipides. Le pancréas serait donc capable d'adapter le rythme de ses sécrétions à la nature des protéines ou à l'accélération du transit. En revanche, à notre connaissance, aucune donnée n'est disponible sur l'influence de la nature des protéines sur les sécrétions biliaires et intestinales. Il est possible que ces dernières soient affectées, lorsque les protéines introduites dans l'aliment entraînent une altération de l'épithélium intestinal, comme cela a été observé avec de la farine de soja antigénique (Kilshaw et Slade, 1982 ; Lallès et al, 1996c).

2. DIGESTION INTESTINALE

2.1. NATURE DES PROTÉINES INDIGÉRÉES

Les protéines du lait sont pratiquement entièrement digérées dans l'intestin grêle (Tolman et Beelen, 1996), si l'on excepte les immunoglobulines du colostrum qui parviennent en proportion importante à la fin de l'iléon (Toullec et al, 1996, résultats non publiés). De petites quantités de protéines alimentaires franchissent la paroi intestinale sous forme peu ou pas dégradée (revue de Toullec et Lallès, 1995). Cela est négligeable en termes de bilan digestif mais peut avoir des conséquences importantes au plan physiopathologique. Ainsi, à la suite de l'ingestion d'un aliment contenant du pois cru, de la légumine est détectée sous forme immunoréactive dans le sang périphérique. Certaines protéines non laitières parviennent en partie sous forme immunoréactive à la fin de l'intestin grêle. C'est le cas notamment pour la légumine du pois, et la glycine, l' α -conglycine et la β -conglycine du soja, dont les quantités détectées correspondent respectivement à environ 2, 10, 1 et 1 % des quantités ingérées (Bush et al, 1992 ; Tukur et al, 1993). Ces fractions indigérées peuvent être partiellement dégradées. Ainsi, la glycine native est constituée de six sous-unités comprenant chacune un polypeptide basique (20 kDa) et un polypeptide acide (40 kDa) liés par un pont disulfure (revue de Guéguen et Cerletti, 1994). Quatre fractions de glycine immunoréactive ont été mises en évidence dans les digesta, par immunoeempreinte, lorsque l'aliment contient du soja antigénique (Tukur, 1995). Elles sont constituées de polypeptides basiques intacts, associés à des polypeptides acides partiellement digérés (21, 17, 14 et 7 kDa). La digestion des polypeptides basiques semble donc être limitée par leur inclusion à l'intérieur de la molécule de glycine. Les diverses techniques immunochimiques ne permettent cependant pas de quantifier la totalité des protéines alimentaires indigérées, parce que certaines d'entre elles ne sont plus reconnues par les anticorps préparés contre les formes natives ou ont été transformées en protéines microbiennes. D'autres approches, telles que celles basées sur les comparaisons de profils d'acides aminés ou le marquage des protéines alimentaires ou endogènes, doivent être associées aux techniques immunochimiques pour quantifier les différentes fractions protéiques indigérées.

Chez le veau nourri au lait, la composition en acides aminés des digesta iléaux varie très peu suivant le moment après le repas (Guilloteau et al, 1986b) ; elle est toujours très différente de celle des diverses protéines du lait et des bactéries. Lorsque la caséine est remplacée par des protéines de soja traité à l'alcool, la composition des digesta est voisine de celle observée avec le lait quand le débit est minimum, mais s'en écarte d'autant plus que le débit augmente. Un mélange commun de protéines endogènes et microbiennes semble donc échapper à la digestion dans l'intestin grêle, indépendamment de la nature des protéines alimentaires. Il pourrait correspondre à la moyenne des compositions obtenues avec le lait quel que soit le débit et avec le soja quand le débit est minimum. Les parts respectives d'origine endogène et bactérienne peuvent être estimées en déterminant le mélange théorique de protéines modèles de protéines endogènes et bactériennes, dont la composition se rapproche le plus de celle effectivement observée. La composition moyenne des fèces d'agneau axénique nourri au lait et du méconium de veau peut être utilisée comme modèle de protéines endogènes indigérées non modifiées par la flore et celle des bactéries fécales de porc et de mouton pour représenter les bactéries se développant à la fin de l'iléon. Dans ces conditions, le mélange commun de protéines indigérées comprend 65 % de protéines endogènes et 35 % de protéines bactériennes. Ces dernières proviendraient principalement de la transformation des protéines endogènes dans l'iléon distal, où la population microbienne devient plus abondante que dans les segments antérieurs.

Ce mélange commun constitue la quasi-totalité des protéines indigérées chez le préruminant nourri au lait, en accord avec la digestibilité réelle des protéines du lait pratiquement complète. La quantité de protéines indigérées augmente avec l'incorporation de protéines de substitution. Parfois, la composition en acides aminés des digesta n'est pas notablement modifiée. Cela suggère que la proportion de protéines alimentaires demeure peu importante et que ce sont les quantités de protéines endogènes et bactériennes indigérées qui croissent. C'est le cas notamment avec les protéines de pois et de soja hydrolysé (Bush et al, 1992 ; Nunes do Prado et al, 1989a). Ainsi, en admettant que la légumine indigérée avec

un aliment dans lequel 35 % des protéines sont apportées par du pois cru soit représentative de l'ensemble des protéines de pois, celles-ci ne constitueraient que 7 % des protéines totales indigérées. En revanche, la quantité de trypsine est multipliée par 3,2 avec le pois cru (Lallès et Toullec, 1994) et celle de protéines bactériennes par 1,7 avec le soja traité à l'alcool (Guilloteau et al, 1986b) ; celle-ci augmente également avec la quantité de glucides indigérés dans l'intestin grêle. Le plus souvent, l'incorporation de protéines de substitution s'accompagne de changements importants dans la composition en acides aminés des digesta (revue de Toullec et Lallès, 1995). Ces changements ne peuvent s'expliquer par des variations dans les parts respectives des protéines endogènes et bactériennes ; ils sont donc dus à une proportion élevée de protéines alimentaires. Ainsi, en admettant que la glycine, l' α -conglycine et la β -conglycine indigérées avec un aliment dans lequel la moitié des protéines sont apportées par de la farine de soja d'activité antigénique modérée soient représentatives de l'ensemble des protéines de soja, celles-ci constitueraient environ 30 % des protéines indigérées (Tukur et al, 1993). Sauf exception, la composition des digesta reste très différente de celle des aliments, à cause de la présence des protéines endogènes et bactériennes, mais aussi parce que ce sont des fractions alimentaires particulières qui échappent à la digestion. La composition de ces dernières peut être approchée en calculant celle du supplément d'indigéré protéique résultant du remplacement des protéines du lait, dans la mesure où les quantités de protéines endogènes et bactériennes n'ont pas trop augmenté. La composition du supplément d'indigéré varie beaucoup avec l'origine et le traitement des protéines (tableau 2). Ainsi, avec les produits issus du soja, surtout les concentrats traités à l'alcool, le supplément est particulièrement riche en acide aspartique et en acide glutamique ; il pourrait être largement constitué par des fractions des sous-unités acides de la glycine. Dans le cas des protéines de blé, il est très riche en acide glutamique et en proline ; il pourrait donc être principalement constitué par l'heptapeptide répétitif Pro-Gln-Gln-Pro-Phe-Pro-Gln, lequel est très abondant dans la partie N-terminale des protéines majeures du gluten (Tatham et Shrewry, 1985).

Tableau 2
Digestibilité iléale de l'azote de quelques sources de protéines végétales de remplacement, et composition en quelques acides aminés des suppléments d'indigéré iléaux correspondants [adapté de Branco-Pardal et al (1995), Caugant et al (1993) et Tukur et al (1995)].

		SOJA ¹	SOJA ²	LUPIN ³	GLUTEN ⁴
Digestibilité iléale apparente (% valeurs témoins)		88	99	97	92
Digestibilité iléale vraie ⁵		89	98	97	93
Suppléments d'indigéré iléaux	• Asp	10,0	22,1	12,6	5,0
(% somme des acides aminés dosés)	• Glu	20,5	14,1	41,5	34,7
	• Pro	7,2	6,2	4,5	19,9

¹Farine chauffée.

^{2,3}Concentrats protéiques partiellement hydrolysés.

⁴De blé vital.

⁵[ingéré - (indigéré total - indigéré avec le lait)] / ingéré.

2.2. DIGESTIBILITÉ APPARENTE ET VRAIE À LA FIN DE L'ILÉON

La digestibilité apparente varie largement avec la nature des protéines et les traitements technologiques (tableau 2). Les pertes totales d'azote endogène peuvent être divisées en deux fractions : non spécifique (FEN) et spécifique (FES) (Sève et Henry, 1996). FEN provient du fonctionnement intrinsèque du tube digestif. FES est due aux caractéristiques de la source de protéines alimentaires, telles que les activités antinutritionnelles, etc. Un moyen pour pallier en partie la difficulté de la mesure des pertes endogènes totales avec les diverses sources de protéines est de corriger les quantités totales indigérées par soustraction de FEN. La différence représente la somme [fractions alimentaires indigérées (FAI) + FES] = FAES. Puisque la digestibilité réelle des protéines du lait est complète chez le veau préruminant, les flux d'azote et d'acides aminés indigérés avec le lait peuvent être considérés comme représentatifs de FEN. Cette approche permet de calculer la digestibilité vraie [(ingéré - FAES) / ingéré], qui fournit des valeurs additives pour les apports d'azote et d'acides aminés par les diverses sources de protéines introduites en mélange dans un aliment (tableau 2). Partant de l'hypothèse que FES a la même composition en acides aminés que FEN, nous avons tenté d'estimer le flux maximal de FES et, par différence, le flux de FAI (figure 1). Avec les produits issus du soja, FES représente 30 à 42 % de FEN et FAI environ 42 %, dans le cas de la farine chauffée et du concentrat extrait à l'éthanol. En revanche, un traitement plus approprié réduit de 6 à 8 fois FES, et de moitié FAI. La sensibilisation au pois cru entraîne un accroissement considérable de FES et de FAI. Enfin, avec du lupin partiellement hydrolysé ou avec du gluten de blé vital, la majeure partie du supplément d'indigéré est d'origine alimentaire.

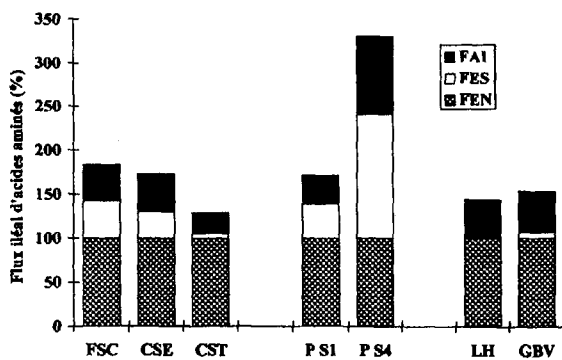


Figure 1.

Exemples de répartition des flux d'acides aminés iléaux entre fraction endogène non spécifique (FEN), fraction endogène spécifique (FES) et fraction alimentaire indigérée (FAI), chez le veau ayant consommé des laits de remplacement contenant diverses sources de protéines végétales. Les flux des diverses fractions sont exprimés en pourcentage des valeurs observées avec les régimes témoins à base de poudre de lait écrémé (base 100 = FEN = 15 ± 1,4 g d'acides aminés/kg de matière sèche ingérée). Le flux d'endogène total (FEN + FES) maximal a été calculé en supposant : 1) que le flux iléal d'acides aminés mesuré avec le régime témoin représente FEN en quantité et en composition d'acides aminés, et 2) que FEN et FES ont des compositions identiques en acides aminés.

FSC farine de soja chauffée, CSE concentrat protéique de soja extrait à l'éthanol aqueux à chaud (Caugant et al, 1993). CST concentrat de soja ayant subi des traitements non divulgués par le fabricant (Tukur et al, 1995). P farine de pois crue après une semaine (P S1) et quatre (P S4) semaines de distribution (Bush et al, 1992). LH concentrat protéique de lupin partiellement hydrolysé (Tukur et al, 1995). GBV gluten de blé vital (Branco Pardo et al, 1995).

La digestibilité vraie de l'azote sous forme d'acides aminés est très voisine de celle de l'azote total. En revanche, elle est plus élevée pour les acides aminés indispensables et semi-indispensables, sauf pour la cystine et la thréonine qui présentent parfois des valeurs plus faibles. La digestibilité de l'arginine est toujours l'une des plus élevées, ce qui est cohérent avec la facilité avec laquelle elle est libérée par les enzymes pancréatiques. Les traitements améliorent la digestibilité des produits issus du soja, qui se classent dans l'ordre croissant suivant : farine, concentrat traité à l'alcool et isolat hydrolysé. Le pois cru est un peu inférieur à la farine de soja et les différences croissent avec la durée de distribution, par suite du développement de réactions d'intolérance (Bush et al, 1992). Le pois prégélatinisé est voisin du concentrat de soja traité à l'alcool, et le blé solubilisé voisin de l'hydrolysé de soja. Enfin, la digestibilité ne semble pas diminuer notablement quand le taux de substitution de la poudre de lait écrémé par le blé solubilisé ou la farine de soja augmente de 35 à 70 ou de 32 à 48 %. Cela confirme l'intérêt de la digestibilité vraie pour calculer les apports d'acides aminés en quantités équivalentes à celles fournies par la poudre de lait.

Malgré ses avantages sur la digestibilité apparente, la digestibilité vraie n'est pas un critère suffisant pour déterminer les interactions entre le tube digestif et les sources de protéines. En effet, outre les aspects cinétiques qui peuvent être appréciés en étudiant l'évacuation gastrique et l'évolution des taux circulants d'acides aminés libres et de triglycérides (Nunes Do Prado et al, 1989b), les sources de protéines peuvent affecter les sécrétions, les desquamations, l'état et le renouvellement de la muqueuse intestinale, l'activité de la flore etc., pour des raisons mécaniques ou à cause de la présence de facteurs antinutritionnels ou allergéniques. Les fractions endogènes sont digérées en majeure partie dans l'intestin grêle ; cependant, si leur production est accrue, l'augmentation de la synthèse protéique qui en résulte est très coûteuse. Ce phénomène, qui n'a encore été que peu exploré, pourrait, dans certains cas, contribuer à réduire les performances des animaux.

3. INTOLÉRANCE AUX PROTÉINES ALIMENTAIRES

3.1. GÉNÉRALITÉS

L'intolérance aux protéines alimentaires a surtout été étudiée par les équipes britanniques de P. Porter (Unilever, Sharnbrook) et de J.W. Sissons (AFRC, Shinfield). Elle concerne essentiellement le veau préruminant qui reçoit des laits de remplacement contenant des protéines de soja, mais elle a également été observée avec du pois (Bush et al, 1992) et, plus rarement, du gluten de blé (Kilshaw et Slade, 1982). Les protéines végétales insuffisamment dénaturées entraînent généralement une réduction de l'appétit, de la digestibilité et de la croissance, même lorsque les facteurs considérés comme antinutritionnels chez le monogastrique (antiprotéases et lectines) ont été inactivés (revues de Sissons 1982 ; Van Dijk et al, 1988 ; Lallès, 1993). Certains veaux développent en quelques semaines une sensibilisation intestinale, associée à une forte production d'anticorps dirigés contre les principales protéines du soja ou du pois. Les traitements supprimant l'activité antigénique des protéines du soja, c'est-à-dire leur aptitude à provoquer la formation d'anticorps, permettent également d'améliorer leur utilisation par le veau.

Cela n'est cependant pas suffisant pour établir l'implication des anticorps dans les troubles observés, l'activité antigénique n'étant pas synonyme d'activité allergénique. Cette dernière désigne l'aptitude d'une substance appelée allergène à provoquer des réactions d'hypersensibilité mettant en jeu des mécanismes immunitaires spécifiques. Les réactions d'hypersensibilité concernant le tube digestif peuvent être classées en trois types principaux (I, III et IV) (revue de Lallès, 1993). La réaction de type I ou d'hypersensibilité immédiate est caractérisée par une réponse aiguë, survenant dans l'heure qui suit l'ingestion de l'allergène. Elle est médiée par des anticorps cytotropiques (ou réagines), de la classe des IgE, fixés sur des mastocytes et/ou des basophiles ; ces cellules sont activées par la fixation de l'allergène sur les anticorps, ce qui déclenche la libération de médiateurs de l'inflammation (amines vasoactives, protéases, etc.). La réaction de type III ou semi-retardée met en jeu la formation de complexes anticorps-allergène (complexes immuns), l'activation du complément et l'agrégation des plaquettes, entraînant la libération de médiateurs de l'inflammation, suivant quelques heures après le contact avec l'allergène. La réaction de type IV ou retardée est principalement un processus chronique médié par des lymphocytes T spécifiques, entraînant la libération de cytokines. Chez l'animal sensible, une faible digestion des protéines antigéniques est associée à une atrophie villositaire et à une perméabilité accrue de l'intestin grêle à l'égard des macromolécules. Les perturbations concomitantes de la motricité entraînent une réduction importante du temps de transit intestinal et l'apparition de diarrhées. Cependant, les interactions fines entre les systèmes digestif (motricité, sécrétion, absorption) et immunitaire (anticorps, cellules) ne sont pas connues. Leur élucidation permettrait de mieux contrôler notamment l'efficacité des traitements technologiques appliqués aux protéines.

3.2. NATURE DES AGENTS RESPONSABLES ET MÉCANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES

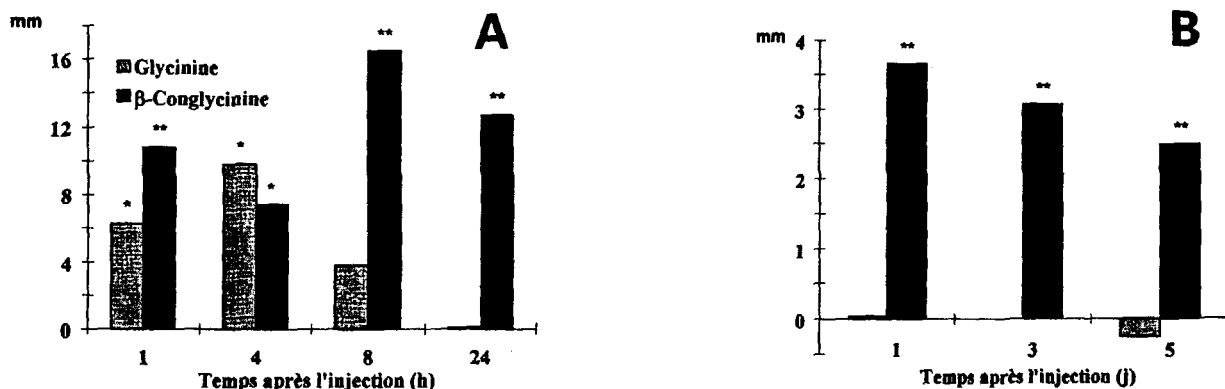
On sait depuis longtemps que la glycine et le β -conglycinine du soja sont immunogéniques chez le veau (revue de Sissons, 1982), mais des travaux récents ont montré que

l' α -conglycinine, les lectines et les inhibiteurs protéasiques de Bowman-Birk le sont également (Lallès et al, 1995b). Dans le sang, la réponse IgG1 a été systématiquement observée contre tous les antigènes étudiés, alors que la réponse IgM n'a jamais été significative ; la réponse IgA a été significative excepté contre l' α -conglycinine, et celle IgG2 aussi, excepté contre la glycine et les lectines. En revanche, dans les sécrétions de la muqueuse jéjunale, ce sont les réponses IgM et IgG2 qui ont été les plus systématiques, les réponses IgG1 et IgA n'ayant été significatives que contre le β -conglycinine et les lectines. Par ailleurs, les veaux recevant du soja antigénique ne semblent pas développer d'anticorps circulants contre la protéine *Gly m Bd 30 K* (Hessing et al, 1995), une fraction 7S mineure du soja, très allergénique et responsable de dermatite atopique chez l'homme (Ogawa et al, 1993).

L'identification des allergènes du soja, c'est-à-dire des fractions impliquées dans les troubles, était demeurée imprécise jusqu'à tout récemment. Les tentatives de caractérisation des véritables allergènes par ELISA ou immunoempreinte à l'aide de sondes monoclonales anti-IgE bovines (Thatcher et Gershwin, 1988) ont été infructueuses (Dréau, 1994 ; Hessing et al, 1995). Cependant, l'injection intradermique de glycine, d' α -conglycinine, de β -conglycinine, de lectines et d'inhibiteurs protéasiques de Bowman-Birk a induit des œdèmes et des épaissements cutanés chez les veaux sensibilisés, suggérant qu'ils seraient impliqués dans des réactions immunitaires, de type immédiat, semi-retardé et/ou retardé (Lallès et al, 1996a). Ainsi, la réponse à la glycine a été relativement rapide et brève, alors que celle à la β -conglycinine persiste pendant au moins 5 jours (figure 2). La nature cellulaire de cette dernière réaction est renforcée par la capacité de la β -conglycinine, mais pas de la glycine, à stimuler la prolifération *in vitro* des lymphocytes sanguins des veaux recevant de la farine de soja antigénique.

Au plan morphologique, nous avons observé une réduction de la hauteur des villosités du jéjunum proximal, de 25 % avec du soja non antigénique et de 36 % avec du soja antigénique par rapport à un régime à base de poudre de lait écrémé (Lallès et al, 1996c). Le raccourcissement des villosités jéju-

Figure 2
Réponses cutanées nettes (i.e différences entre groupes soja antigénique et témoin lait) à l'injection intradermique de glycine et de β -conglycinine chez des veaux préruminants ayant consommé une farine de soja antigénique pendant trois mois. A : diamètre de l'œdème cutané (mm), B : variation d'épaisseur du pli cutané (mm) (adapté de Lallès et al, 1996a).



nales est donc dû au moins autant au remplacement des protéines du lait qu'aux réactions immunitaires. Les densités des lymphocytes B (tous isotypes) et des lymphocytes T auxiliaires (CD4+) et suppresseurs (CD8+) dans la lamina propria jéjunale, et celle des CD8+ dans l'épithélium, ont été accrues avec le soja antigénique ; contrairement à l'atrophie villositaire, ces modifications ont été liées essentiellement aux réactions immunitaires, puisqu'elles ne se sont pas produites avec le soja non antigénique. Les désordres moteurs associés à la sensibilisation intestinale et à l'apparition de diarrhées se caractérisent par une réduction de la durée moyenne des complexes myoélectriques migrants et de celle des phases de quiescence. Nous avons observé leur apparition chez les veaux sensibilisés quand la farine de soja chauffée apporte plus de 17,5 % de l'azote total de l'aliment (Lallès et al, 1995a). Cela correspond à environ 7 et 6 mg de glycine et de β -conglycinine immunoréactives par gramme de protéines ingérées, respectivement (soit 40 et 35 mg/kg^{0,75} par repas).

Compte tenu des résultats des tests cutanés et de lymphoprolifération *in vitro* décrits précédemment, les altérations morphologiques et fonctionnelles de l'intestin grêle pourraient être dues à une hyperactivation des lymphocytes T auxiliaires dans la lamina propria, conduisant au relargage local de cytokines pro-inflammatoires, associée à une lyse cellulaire cytotoxique de l'épithélium. D'autres cellules, telles que les mastocytes intestinaux (revue de Sissons et Tolman, 1991), armés par des anticorps spécifiques de certaines protéines du soja, participent probablement aux troubles locaux, en libérant des médiateurs. Parmi ceux-ci, l'histamine, *via* les récepteurs de type H-1, joue un rôle important dans les perturbations motrices et sécrétoires (Lallès et al, 1994b). En revanche, les dérivés résultant de l'action de la cyclooxygénase sur l'acide arachidonique ne semblent pas être impliqués.

4. CRITÈRES DU CHOIX DES PRODUITS ISSUS DU SOJA

Des produits très diversifiés sont préparés industriellement à partir du soja. La cuisson des farines, précédée ou non d'une extraction à l'eau, permet d'obtenir des produits bien utilisés par les monogastriques, mais non par le veau préruminant. Une dénaturation plus poussée des protéines par voie physicochimique (notamment par chauffage en milieu hydro-éthanolique) ou enzymatique (protéolyse) est nécessaire pour améliorer notablement la digestibilité, tout en réduisant la production d'anticorps spécifiques et les troubles morphologiques et fonctionnels de l'intestin grêle. Les glucides du soja sont une source d'inconfort digestif (oligosides) ou sont très peu digestibles (cellulose et hémicelluloses). Les concentrats, dépourvus d'oligosides, et surtout les isolats, pratiquement dépourvus de glucides, sont donc plus intéressants que les farines. Il importe toutefois de disposer de tests *in vitro* permettant de prévoir l'aptitude des produits issus du soja à être bien tolérés par le veau préruminant. A partir de l'analyse de neuf produits commerciaux, nous avons pu établir des relations linéaires significatives entre, d'une part, la digestibilité apparente fécale de l'azote du soja et, d'autre part, les proportions de protéines « natives » (solubles dans un tampon carbonate et précipitables à pH 4,5), celles de glycine, d' α -conglycinine et de β -conglycinine immunoréactives et enfin l'activité antitrypsique (Lallès et al, 1996b). C'est avec

la β -conglycinine que la relation a été la plus forte ($r = 0,95$, au lieu de 0,68 à 0,82 avec les autres paramètres). En revanche, la digestibilité a semblé être indépendante du niveau de lectines immunoréactives. L'association des protéines natives (PN), de l'activité antitrypsique (TUI) et de l' α -conglycinine (α CG) à la β -conglycinine (β CG) a permis d'obtenir une équation de régression linéaire multiple prédisant la digestibilité apparente de l'azote du soja (DANS) avec une précision de 1 % :

$$\text{DANS} = 85,6 - 0,75^c \beta\text{CG} - 1,6^b \text{TUI} + 2,5^b \alpha\text{CG} - 0,01^a \text{PN}$$

$r = 0,998$; écart-type résiduel = 0,751

(DANS en % ; α CG, β CG et PN en mg/g de matières azotées ; TUI : unités de trypsine inhibée/mg de matières azotées ; a, b, c: $p < 0,10 - 0,001 - 0,0001$).

La glycine étant moins bien digérée dans l'intestin grêle que la β -conglycinine (Tukur et al, 1993), il est surprenant que l'immunoréactivité de cette dernière permette de mieux prédire la digestibilité. Cela pourrait être dû à son implication beaucoup plus forte dans les réactions immunitaires, en particulier celles d'hypersensibilité retardée (Lallès et al, 1996a). Elle est d'ailleurs un meilleur prédicteur de la formation d'anticorps anti-soja (Tukur, 1995). La β -conglycinine pourrait également avoir un effet inflammatoire sur la muqueuse intestinale, suivant d'autres mécanismes. En effet, chez les veaux nourris exclusivement au lait, son injection intradermique provoque une réaction œdémateuse supérieure à celle des autres protéines de soja (Lallès et al, 1994a).

Le dosage des activités antigéniques conditionne donc le choix rationnel des produits issus du soja. Les résultats ci-dessus ont été obtenus en utilisant, en ELISA, des sérums hyperimmuns dirigés contre les formes natives des protéines (Tukur et al, 1993 ; Lallès et al, 1996b). En revanche, les activités antigéniques obtenues avec certains anticorps monoclonaux dirigés contre la glycine ou la β -conglycinine (Plumb et al, 1994, 1995) ont rarement été corrélées avec celles fournies par les sérums hyperimmuns (Tukur et al, 1996) ; en conséquence, elles ont rarement permis de prédire la digestibilité ou l'immunogénicité avec fiabilité. Ces anticorps monoclonaux sont probablement trop spécifiques d'un déterminant antigénique donné pour rendre compte du comportement global du soja *in vivo*.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

De nombreux travaux ont été effectués sur la digestion des protéines de remplacement par le veau préruminant. La digestibilité iléale des principales sources de protéines de remplacement a été mesurée et l'origine des fractions indigérées a été partiellement évaluée. Cependant, beaucoup de travaux doivent encore être effectués pour vérifier et compléter ces données, ainsi que pour préciser l'influence de la nature des protéines sur les productions endogènes à différents niveaux du tube digestif, en particulier dans l'intestin grêle. Pour cela, il sera nécessaire d'associer les techniques de marquage (¹⁵N) des matières azotées alimentaires ou endogènes à celles de fractionnement et de caractérisation biochimique (chromatographie, électrophorèse, immunochimie, etc.) des principaux constituants des digesta. Au plan physiopathologique, l'amélioration de la compréhension des réactions d'hypersensibilité digestive a permis de valider l'emploi de certains critères analytiques, en particulier la teneur en β -conglycinine immunoréactive, pour choisir de façon

rationnelle les produits issus du soja. Il reste toutefois à démontrer les effets des diverses protéines antigéniques sur l'intestin grêle *in vivo*. D'autres protéines végétales sont incorporées dans les aliments d'allaitement ou présentent un potentiel nutritionnel intéressant, moyennant des traitements adéquats. Il faudra donc également envisager leurs effets au plan physiopathologique. Enfin, les effets indésirables du soja antigénique, particulièrement importants chez le veau, semblent être beaucoup plus faibles chez l'agneau (Grongnet et al, 1994) ou le chevreau (C. Ouédraogo et al, 1996, résultats non publiés), pour des raisons qui restent à établir.

La portée de ces travaux doit également être replacée dans le contexte général de la production de veau de boucherie, principal utilisateur des aliments d'allaitement. Le constat majeur est que la production d'aliments et celle de viande de veau régressent fortement en France, alors qu'elles poursuivent

leur progression aux Pays-Bas. Cela résulte en partie du coût moins élevé des aliments aux Pays-Bas, grâce à une diversification plus grande des sources de protéines. Cette diversification est facilitée par des plans d'alimentation moins intensifs et par la production de carcasses plus lourdes, permettant également de diminuer l'incidence du coût du veau de 8 jours. Cette logique, poussée à l'extrême, menace l'identité de la viande de veau, caractérisée par sa couleur claire et sa tendreté. Comme l'a souligné Barbin (1996), il est nécessaire de définir et de garantir le produit, en développant labels et certificats de conformité. Cependant, la réduction des coûts de production est impérative car le prix relatif de la viande de veau est excessif. En ce qui concerne les aliments, cette réduction passe par un recours accru aux protéines de substitution, ce qui doit être possible sans altérer les caractéristiques de la viande.

RÉFÉRENCES

- BARBIN G., 1996. In : Fédération de la Vitellerie Française (Editeur), Le veau à l'horizon de l'an 2000. Paris, France. 305-315.
- BRANCO PARDAL P., LALLES J.P., FORMAL M., GUILLOTEAU P., TOULLEC R., 1995. *Reprod. Nutr. Dev.*, 35, 639-654.
- BUSH R.S., TOULLEC R., CAUGANT I., GUILLOTEAU P., 1992. *J. Dairy Sci.*, 75, 3539-3552.
- CAUGANT I., TOULLEC R., FORMAL M., GUILLOTEAU P., SAVOIE L., 1993. *Reprod. Nutr. Dev.*, 33, 335-347.
- DREAU D., 1994. Thèse de Docteur de l'ENSA de Rennes, N° 94/13, série B/51, 1-174.
- GARNOT P., VALLES E., THAPON J.L., TOULLEC R., TOMASSONE R., RIBADEAU-DUMAS B., 1974. *J. Dairy Res.*, 41, 19-23.
- GARNOT P., TOULLEC R., THAPON J.L., MARTIN P., MINH-THU HOANG, MATHIEU C.M., RIBADEAU-DUMAS B., 1977. *J. Dairy Res.*, 44, 9-23.
- GRIZARD J., TOULLEC R., GUILLOTEAU P., PATUREAU-MIRAND P., 1982. *Reprod. Nutr. Dev.*, 22, 475-484.
- GRONGNET J.F., LALLES J.P., WEREME A., GELBCKE D., 1994. In BAREJ W., ZABIELSKI R., OSTASZEWSKI P. (Editors), *The Development of Digestive and Metabolic Processes in New Born and Growing Ruminants*. Warsaw Agricultural University, Poland. 87-91.
- GUEGUEN J., CERLETTI P., 1994. In HUDSON J.F. (Editor), *New and Developing Sources of Food Proteins*. Chapman & Hall, USA. 145-193.
- GUILLOTEAU P., TOULLEC R., PATUREAU-MIRAND P., PRUGNAUD J., 1981. *Reprod. Nutr. Dev.*, 21, 885-899.
- GUILLOTEAU P., CORRING T., CHAYVIALLE J.A., BERNARD C., SISSONS J.W., TOULLEC R., 1986a. *Reprod. Nutr. Dev.*, 26, 717-728.
- GUILLOTEAU P., TOULLEC R., GRONGNET J.F., PATUREAU-MIRAND P., PRUGNAUD J., SAUVANT D., 1986b. *Br. J. Nutr.*, 55, 571-592.
- GUILLOTEAU P., LE HUEROU-LURON I., 1996. In Fédération de la Vitellerie Française (Editeur), *Le veau de boucherie à l'horizon de l'an 2000*. Paris, France. 177-198.
- HESSING M., BLEEKER H., TSUJI H., OGAWA T., VLOOSWIJK R., 1995. *Grain Legumes*, 11, 20.
- KILSHAW P.J., SLADE H., 1982. *Res. Vet. Sci.*, 33, 305-308.
- LALLES J.P., 1993. *Livest. Prod. Sci.*, 34, 181-202.
- LALLES J.P., TOULLEC R., 1994. *Ann. Zootech.*, 43, 263.
- LALLES J.P., BRANCO-PARDAL P., TOULLEC R., 1994a. In BAREJ W., ZABIELSKI R., OSTASZEWSKI P. (Editors), *The Development of Digestive and Metabolic Processes in New Born and Growing Ruminants*. Warsaw Agricultural University, Poland. 99-103.
- LALLES J.P., DUVAUX-PONTER C., SISSONS J.W., TOULLEC R., 1994b. *Neuro-gastroenterol. Motility*, 6, 140.
- LALLES J.P., BENKREDDA D., TOULLEC R., 1995a. *J. Vet. Med. A.*, 42, 467-478.
- LALLES J.P., DREAU D., HUET A., TOULLEC R., 1995b. *Res. Vet. Sci.*, 59, 56-60.
- LALLES J.P., TOULLEC R., 1996a. *INRA Prod. Anim.*, sous presse.
- LALLES J.P., TOULLEC R., 1996b. In Fédération de la Vitellerie Française (Editeur), *Le veau de boucherie à l'horizon de l'an 2000*. Paris, France. 217-236.
- LALLES J.P., DREAU D., SALMON H., TOULLEC R., 1996a. *Res. Vet. Sci.*, 60, 111-116.
- LALLES J.P., TUKUR H.M., TOULLEC R., MILLER B.G., 1996b. *J. Dairy Sci.*, 79, 475-484.
- LALLES J.P., DREAU D., FEMENIA F., PARODI A.L., TOULLEC R., 1996c. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 52, 105-115.
- NUNES DO PRADO I., TOULLEC R., GUILLOTEAU P., GUEGUEN J., 1989a. *Reprod. Nutr. Dev.*, 29, 425-439.
- NUNES DO PRADO I., TOULLEC R., LALLES J.P., GUEGUEN J., HINGAND L., GUILLOTEAU P., 1989b. *Reprod. Nutr. Dev.*, 29, 413-424.
- NUNES DO PRADO I., TOULLEC R., GUILLOTEAU P., GUEGUEN J., 1990. *Reprod. Nutr. Dev.*, 30 (suppl. 2), 195^s-196^s.
- OGAWA T., TSUJI H., BANDO N., KITAMURA K., ZHU Y.L., HIRANO H., NISHIKAWA K., 1993. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 57, 1030-1033.
- PLUMB G.W., MILLS E.N.C., TATTON M.J., D'URSEL C.C.M., LAMBERT N., MORGAN M.R.A., 1994. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 834-840.
- PLUMB G.W., LAMBERT N., MILLS E.N.C., TATTON M.J., D'URSEL C.C.M., BOGRACHEVA T., MORGAN M.R.A., 1995. *J. Sci. Food Agric.*, 67, 511-520.
- SEVE B., HENRY Y., 1996. In NUNES A.F., PORTUGAL A.V., COSTA J.P., RIBEIRO J.R. (Editors), *Protein Metabolism and Nutrition*. E.A.A.P. Publication n° 80, Santarém, Portugal. 59-82.
- SISSONS J.W., 1982. *Proc. Nutr. Soc.*, 41, 53-61.
- SISSONS J.W., TOLMAN H., 1991. In D'MELLO J.P.F., DUFFUS C.M. (Editors), *Toxic Factors in Crop Plants*. Edinburgh, United-kingdom. 62-85.
- TATHAM A.S., SCHREWRY P.R., 1985. *J. Cereal Sci.*, 3, 103-113.
- THATCHER E.F., GERSHWIN L.J., 1988. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 18, 53-66.
- TOLMAN G.H., BEELEN G.M., 1996. In Fédération de la Vitellerie Française (Editeur), *Le veau de boucherie à l'horizon de l'an 2000*. Paris, France. 199-216.
- TOULLEC R., GUILLOTEAU P., PATUREAU-MIRAND P., SISSONS J.W., 1983. In ARNAL M., PION R., BONIN D. (Editors), *IVth E.A.A.P. Symposium on Protein Metabolism and Nutrition*, INRA, PARIS. 245-261.
- TOULLEC R., LALLES J.P., 1995. In : JARRIGE R., RUCKEBUSH Y., DEMARQUILLY C., FARCE M.H., JOURNET M. (Editors), *Nutrition des ruminants domestiques*. INRA, Paris, France. 527-581.
- TUKUR H.M., LALLES J.P., MATHIS C., CAUGANT I., TOULLEC R., 1993. *Can. J. Anim. Sci.*, 73, 891-905.
- TUKUR H.M., 1995. Thèse de Docteur de l'ENSA de Rennes, N° 95/2, série B/60, 1-170.
- TUKUR H.M., BRANCO PARDAL P., FORMAL M., TOULLEC R., LALLES J.P., GUILLOTEAU P., 1995. *Reprod. Nutr. Dev.*, 35, 27-44.
- TUKUR H.M., LALLES J.P., PLUMB G.W., MILLS E.N.C., MORGAN M.R.A., TOULLEC R., 1996. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 2155-2161.
- VAN DIJK J.E., FLEDDERUS A., MOUWEN J.M.V.M., HOLZHAMER C., 1988. *Vet. Res. Com.*, 12, 47-59.
- WILLIAMS V.J., ROY J.H.B., GILLIES C.M., 1976. *Br. J. Nutr.*, 36, 317-335.