

INRA Prod. Anim.,
2000, 13 (5), 315-324

L. MONTAGNE
J.P. LALLÈS

INRA/ENSAR, Unité Mixte de Recherches
sur le Veau et le Porc, 65 rue de Saint-
Brieuc, 35042 Rennes Cedex

courriel : montagne@roazhon.inra.fr

Digestion des matières azotées végétales chez le veau préruminant. Quantification des matières azotées endogènes et importance des mucines

La diversification des sources de matières azotées dans les aliments d'allaitement pour veau passe par l'emploi de produits végétaux enrichis en azote, tels que les concentrats ou les isolats de soja, le gluten de blé ou encore les concentrats de pomme de terre. Cependant, ces produits sont en général moins bien digérés que les produits laitiers car ils sont intrinsèquement plus résistants à la digestion et aussi parce qu'ils accroissent les pertes de matières azotées endogènes et donc d'acides aminés indispensables à la fin de l'intestin grêle. Ces pertes accrues correspondent essentiellement aux mucines et aux bactéries intestinales. Ces deux composants participent activement au maintien de la santé du tube digestif et de l'animal ; il est donc possible d'influencer celle-ci par voie alimentaire, dans le nouveau contexte d'interdiction d'emploi des antibiotiques et de restriction d'utilisation de certains métaux (Cu et Zn notamment) dans les aliments.

Résumé

Améliorer l'utilisation des matières azotées de remplacement par le veau nécessite de mieux comprendre leurs interactions avec le tube digestif. A cet égard, les nouveaux concepts de digestibilité distinguent les pertes azotées endogènes basales des pertes spécifiques, dépendantes de l'aliment. L'objectif de cet article est de caractériser quantitativement et qualitativement les matières azotées basales et celles spécifiques de sources végétales, et de préciser l'importance, dans ces matières azotées endogènes, des mucines, glycoprotéines du mucus qui protège l'épithélium digestif. Le flux des matières azotées endogènes non spécifiques, mesuré avec un aliment dépourvu de protéines, augmente entre le duodénum et le jéjunum. Les matières azotées sont ensuite apparemment réabsorbées à environ 70 % avant l'iléon où le flux est de 20 g/kg de matière sèche ingérée. Les mucines contribuent à 20, 40 et 25 % des pertes iléales d'azote basal, de lysine et de thréonine, respectivement. La digestibilité apparente iléale de l'azote des aliments contenant des matières azotées végétales est inférieure à celle du lait (0,85, 0,73 et 0,81 vs 0,91, respectivement pour un concentrat et un isolat de soja, et un concentrat de protéines de pomme de terre). Les digestibilités réelles des matières azotées de ces aliments sont similaires mais inférieures à celle du lait (0,95 vs 0,99). Ces différences s'expliquent par l'augmentation des flux de matières azotées endogènes spécifiques, et en particulier des mucines. Par ailleurs, la fraction d'azote provenant des bactéries hébergées par l'animal est plus susceptible aux modifications de la nature des protéines alimentaires que la fraction endogène réellement sécrétée. En conclusion, les différences de digestibilité apparente entre les sources de matières azotées végétales étudiées sont principalement déterminées par les pertes iléales de matières azotées spécifiques qu'elles génèrent le long du tube digestif.

L'instauration des quotas laitiers au sein de l'Union Européenne, en 1984, a conduit à la résorption des stocks de poudre de lait écrémé (PLE) et à l'augmentation de son prix, rendant nécessaire la diversification des matières azotées dans les aliments d'allaitement. Les sources les plus employées actuellement sont les dérivés du soja, disponibles sous des formes enrichies en protéines telles que les concentrats et isolats, et traités selon divers procédés. D'autres, comme le blé, la pomme de terre, le pois et le lupin sont parfois utilisées dans les aliments d'allaitement pour veaux.

Cependant, le remplacement, dans la ration, d'une partie de la PLE par des protéines d'origine végétale a souvent des conséquences négatives sur la physiologie digestive et le métabolisme des animaux : les protéines végétales sont en général moins bien digérées que les protéines laitières. A titre d'exemple, la digestibilité apparente des protéines de la PLE est en moyenne de 0,93, alors que celle

des protéines du soja est comprise entre 0,61 et 0,90, suivant la nature du produit, le traitement qu'il a subi et son taux d'incorporation dans les aliments (Lallès 1993). De plus, l'ingestion de protéines végétales insuffisamment traitées peut induire, chez les individus prédisposés, des réactions d'hypersensibilité digestive caractérisées notamment par des diarrhées abondantes (Lallès 1993). Par ailleurs, on observe parfois des problèmes de transit intestinal, en fin d'engraissement, chez des veaux recevant des aliments contenant des protéines végétales.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer pourquoi la valeur nutritionnelle des protéines végétales est inférieure à celle des protéines laitières. Tout d'abord, une fraction des protéines végétales échappe à la digestion dans l'intestin grêle, contrairement aux protéines laitières qui sont entièrement digérées avant la fin de l'intestin grêle. C'est le cas, par exemple, des globulines du soja et notamment de la glycinine native, dont environ 10 % des quantités ingérées parviennent à la fin de l'intestin grêle (Tukur *et al* 1993). Cette résistance à l'hydrolyse peut s'expliquer, dans le cas des légumineuses, par le fait que la structure tertiaire des protéines de réserve est compacte, ce qui les rend moins accessibles aux protéases digestives que les protéines laitières. Ensuite, les sources azotées végétales contiennent souvent des facteurs antinutritionnels (inhibiteurs d'enzymes protéolytiques, lectines, tannins...) qui, lorsqu'ils ne sont pas inactivés par des traitements technologiques, sont nocifs pour les animaux (Huisman et Jansman 1991). Enfin, certaines matières azotées végétales seraient capables de stimuler, par des mécanismes inconnus, la sécrétion des matières azotées endogènes par le tube digestif. Ceci a été montré chez des rats recevant un repas d'épreuve contenant de la phaséoline (protéine du haricot), puis laissés à jeun pendant trois jours (Santoro *et al* 1999). Ces auteurs observent que la quantité de matières azotées endogènes excrétées dans les fèces, lors des deuxième et troisième jours de jeûne, est égale à environ 90 % de la quantité d'azote ingérée le premier jour.

Les matières azotées endogènes proviennent des différentes sécrétions digestives (salive, sucs gastrique, pancréatique et intestinal et bile) et des cellules desquamées. Elles sont constituées d'enzymes digestives, de mucines, de protéines tissulaires et d'azote non protéique (ammoniac, urée, hexosamines). Ces composants représentent la fraction endogène de l'hôte et sont mélangés avec des protéines bactériennes, notamment dans les parties distales de l'intestin grêle. La quantification de ces flux de matières azotées endogènes présentes dans les digesta iléaux permet de calculer les digestibilités vraie et réelle de l'azote et des acides aminés alimentaires qui sont utilisés pour estimer la valeur nutritionnelle d'une source azotée (voir encadré).

Parmi les différentes sources de matières azotées endogènes, les mucines sont des molécules particulièrement intéressantes, du fait de leur structure, de leur localisation et

de leur fonction. Ces glycoprotéines polymériques de masse moléculaire élevée (250 à 1000 kDa) constituent le mucus, gel blanchâtre situé à l'interface entre la lumière digestive et l'épithélium (figure 1, revue de Strous et Dekker 1992). La principale fonction du mucus est de protéger l'épithélium des agents agresseurs présents dans la lumière digestive et notamment des enzymes, des bactéries et de l'acidité du milieu. De plus, le mucus a un rôle de barrière de diffusion sélective : il laisse passer les ions et les solutés de faible masse moléculaire, mais il empêche le passage des macromolécules. Pour jouer ce rôle d'interface, un équilibre doit s'établir entre la synthèse et la sécrétion des mucines par les cellules à mucus, d'une part, et la dégradation du gel du côté luminal, d'autre part. Celle-ci conduit à la libération de monomères de mucines dans la lumière digestive. Les mucines sont peu digérées dans l'intestin grêle car elles sont partiellement protégées de la protéolyse par la présence de chaînes glycaniques qui recouvrent jusqu'à 80 % du polypeptide. Il est donc probable que les mucines contribuent de façon importante aux pertes azotées endogènes iléales, mais ceci n'a jamais été mesuré.

La plupart des études sont consacrées aux mucines humaines, du fait que de nombreuses pathologies digestives sont associées à des modifications quantitatives et/ou qualitatives des mucines (revue de Amerongen *et al* 1998). Elles ont été peu étudiées et jamais quantifiées chez les animaux d'intérêt zootechnique. Cependant, les flux d'hexosamines, considérées comme marqueur des mucines, sont fortement influencés par les caractéristiques de l'aliment : nature des matières azotées ingérées (Fuller et Cadenhead 1991), présence de fibres (Satchithanandam *et al* 1990, Lien *et al* 1996) ou de facteurs antinutritionnels (Sell *et al* 1985), tant chez le porc que chez le rat.

L'objectif de cet article est d'informer sur les caractéristiques et le dosage des mucines intestinales du veau et de montrer leur importance dans les pertes azotées endogènes basales du veau et dans les pertes azotées endogènes spécifiques générées par l'introduction de matières azotées végétales dans les aliments d'allaitement.

1 / Les mucines intestinales du veau

1.1 / Composition des mucines iléales

La composition en acides aminés et en oligosides des mucines du veau, que nous avons purifiées par ultracentrifugations successives, est présentée dans le tableau 1 (Montagne *et al* 2000). La fraction protéique représente 53 % en masse de la molécule ; elle est riche en acide glutamique, en acide aspar-

Les protéines végétales sont moins bien utilisées par le veau que les protéines laitières : moindre hydrolyse, présence de facteurs anti-nutritionnels et augmentation des protéines endogènes.

Définitions des concepts de digestibilité

La digestion des protéines alimentaires regroupe un ensemble de processus mécaniques, chimiques et enzymatiques qui transforment ces protéines exogènes en protéines de plus petite taille, en peptides et en acides aminés libres. Les acides aminés, les di- et les tri-peptides sont absorbés à travers l'épithélium intestinal par différents systèmes de transport (Rérat et Corring 1991). Les composés alimentaires non absorbés à la fin de l'intestin grêle constituent la fraction alimentaire indigérée. Cette fraction conduit au calcul de la digestibilité réelle de l'azote alimentaire. Ces composés transitent vers le caecum puis le côlon où ils sont fermentés par la flore endogène. Ces remaniements microbiens ne fournissent pas d'acides aminés à l'animal, dans la mesure où la muqueuse colique ne possède pas de système de transport des acides aminés, mais peuvent avoir un rôle pour sa santé (Gaskins 1999).

Ces processus sont étroitement liés à l'apparition de matières azotées dites endogènes dans la lumière digestive. Elles proviennent des différentes sécrétions digestives, des cellules épithéliales desquamées, et des bactéries qui colonisent le tube digestif. Ces matières azotées endogènes ne sont que partiellement digérées par l'animal, par les mêmes processus que ceux mis en œuvre pour les protéines alimentaires. La fraction non réabsorbée avant la fin de l'iléon est perdue pour l'animal. Elle représente les pertes azotées endogènes qui se subdivisent en deux fractions : basale (ou non spécifique) et spécifique de l'aliment (Sève et Henry 1996). Les pertes non spécifiques proviennent du fonctionnement intrinsèque du tube digestif. Elles sont liées à des paramètres génétiques et environnementaux de l'animal, sont irréductibles et peuvent être considérées comme indépendantes de la composition du régime (Sève et Hess 2000). Les pertes spécifiques de l'aliment résultent de l'interaction entre l'aliment et le tube digestif ; elles dépendent donc des caractéristiques de l'aliment.

La valeur nutritive d'une source protéique ne dépend pas uniquement de sa composition en acides aminés et de sa susceptibilité à la protéolyse. Elle est aussi inversement liée à sa capacité à accroître les flux de matières azotées endogènes par rapport au flux basal. La prévision de cette valeur passe par la mesure de la digestibilité apparente iléale des acides aminés. Cependant cette mesure ne fait pas de distinction entre les fractions d'origine alimentaire et endogène, ce qui ne permet pas de rendre compte des valeurs digestive et métabolique réelles des matières azotées alimentaires. Un moyen de pallier en partie cet inconvénient est de corriger les flux totaux indigérés par les pertes endogènes non spécifiques. Cette approche permet de calculer la digestibilité vraie (Low 1982) qui fournit des valeurs additives pour les apports d'azote et d'acides aminés provenant de diverses sources de protéines introduites en mélange dans un aliment (Sève et Henry 1996). Toutefois, elle ne prend pas en compte l'ensemble des interactions entre l'aliment et le tube digestif et sous-estime la digestibilité réelle des matières azotées alimentaires. Celle-ci est obtenue après correction du flux iléal par les pertes endogènes totales. Elle permet de rendre compte de l'apport réel d'acides aminés par la source protéique ingérée.

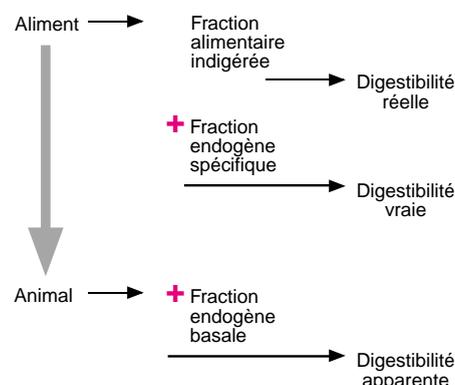
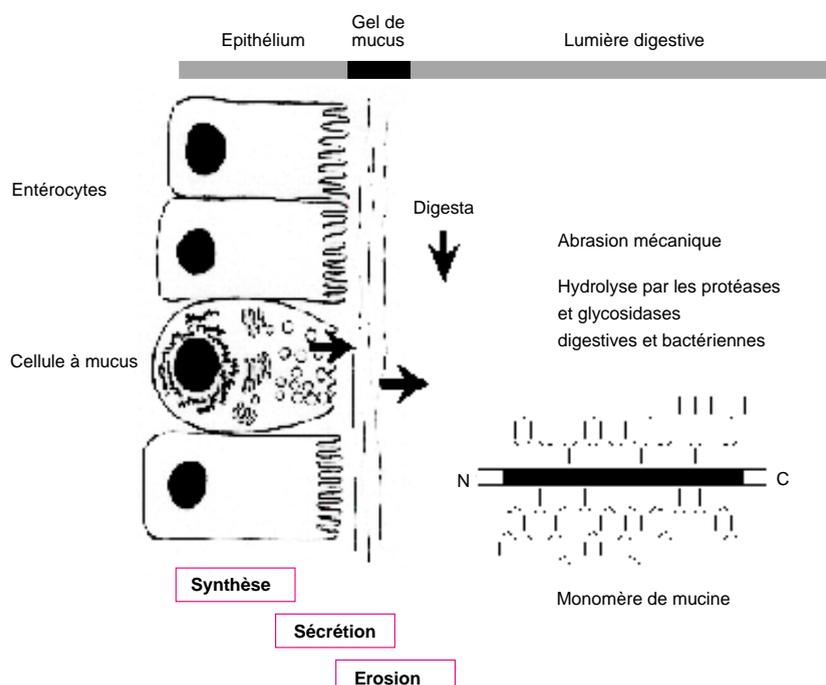


Figure 1. Représentation schématique de l'équilibre entre la synthèse, la sécrétion et l'érosion du gel de mucus. Le mucus est le gel blanchâtre qui recouvre et protège l'épithélium. Cette protection repose sur l'existence d'un équilibre entre la synthèse et la sécrétion des mucines par les cellules à mucus, et la dégradation du gel du côté luminal. Dans la lumière digestive, les extrémités N et C terminales des monomères de mucines (en blanc) sont dégradées, alors que la majeure partie de la protéine (en noir), est protégée par les chaînes glycaniques et contribue ainsi aux matières azotées endogènes.



tique, en thréonine et en sérine, qui représentent 13,2, 11,2, 9,6 et 9,2 % de l'ensemble des acides aminés dosés. Les sucres (47 % de la molécule) renferment du galactose, (42 %), de la glucosamine (24,1 %), de la galactosamine (23,6 %), et des acides sialiques (2,4 %).

Les mucines de veau sont plus riches en protéines que celles de l'Homme (16 %) et du Porc (18 %) (tableau 1). Elles sont plus pauvres en thréonine et en proline que les mucines de l'Homme et du Porc, mais plus riches en lysine, acide glutamique et acide aspartique. Les caractéristiques des mucines du veau seraient proches des mucines foetales humaines et de celles exprimées lors des cancers intestinaux (J.C. Michalski, communication personnelle).

1.2 / Mise au point d'un dosage ELISA des mucines

Des lapins sont immunisés avec les mucines iléales purifiées. Les plasmas hyper-immuns obtenus sont utilisés pour la mise au point d'un dosage ELISA direct des mucines dans les digesta (Montagne et al 2000). Le seuil de détection est de 4 mg de protéines de

mucines par g de matières azotées totales dans les digesta. Les variabilités intra- et inter-essai sont respectivement de 4 et 10 %.

Les anticorps développés contre les mucines iléales reconnaissent aussi les autres mucines digestives de veau, de la caillette au côlon, ce qui suggère que le dosage mis au point prend en compte les diverses mucines digestives ayant résisté à la digestion. Les épitopes reconnus n'ont pas été caractérisés. Les anticorps reconnaissent faiblement les mucines de rat et de quelques porcs (un animal sur trois). Ils ne présentent pas de réactions croisées avec les mucines de la truite, du poulet ou du lapin. Le dosage ELISA mis au point est donc spécifique des mucines de veau et ne peut pas être utilisé chez les autres espèces animales considérées.

1.3 / Utilisation des hexosamines comme marqueur des mucines

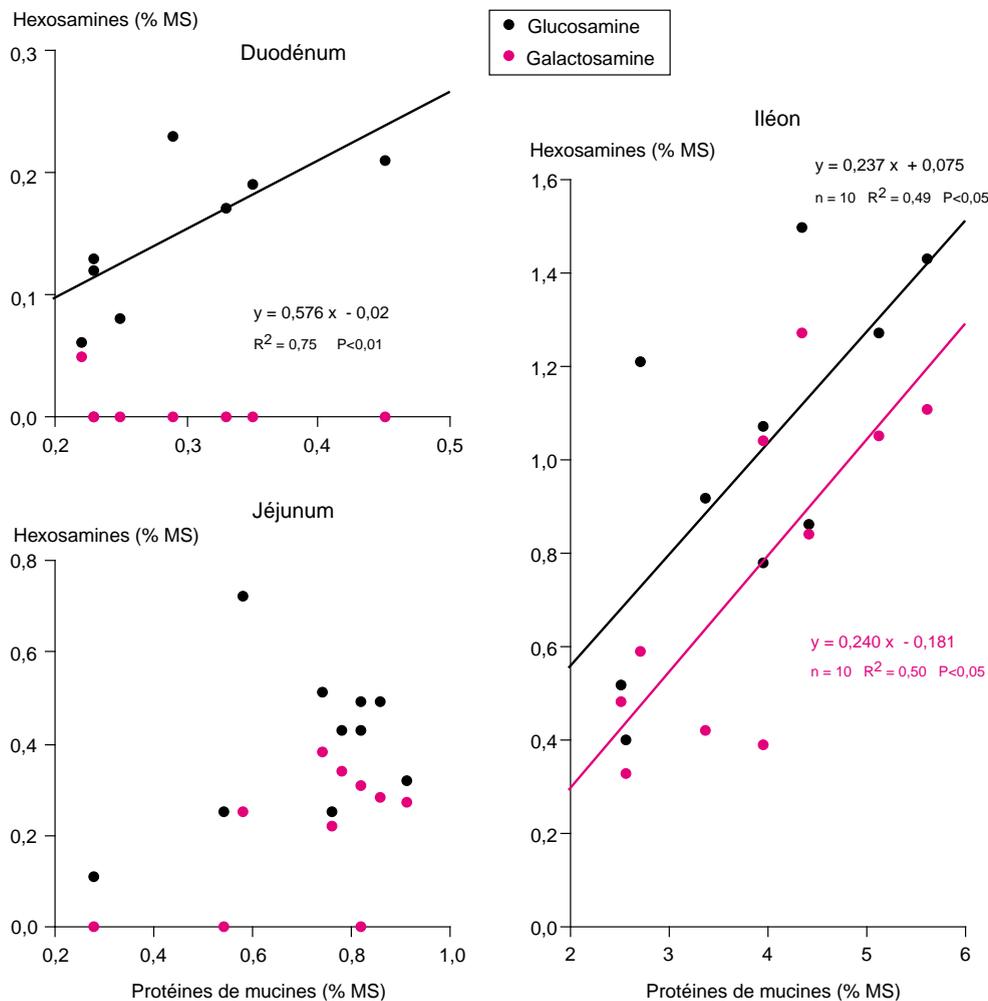
Les hexosamines (galactosamine et glucosamine) sont souvent considérées comme marqueurs des mucines. Nous les avons dosées par la méthode de Combe *et al* (1980)

Tableau 1. Comparaison des compositions en acides aminés et en oligosaccharides des mucines de l'intestin grêle du veau, du Porc et de l'Homme.

Espèce Référence	Veau Montagne <i>et al</i> (2000)	Porc Mantle et Allen (1981)	Homme Forstner et Forstner (1986)
Protéines (% en masse de la molécule)	53	18	16
Oligosides (% en masse de la molécule)	47	82	84
<i>Acides aminés (mol %)</i>			
Thr	9,6	28,1	28,0
Val	5,9	7,6	5,4
Ile	3,1	3,3	4,5
Leu	7,7	4,5	5,3
Phe	3,2	2,1	3,4
Lys	7,8	2,4	2,4
His	1,5	1,5	1,6
Arg	3,3	2,4	2,3
Asx	11,2	4,9	5,8
Ser	9,2	11,0	8,2
Glx	13,2	4,5	6,4
Pro	6,8	16,3	14,1
Gly	8,2	5,9	6,2
Ala	8,2	4,0	4,5
Tyr	1,2	1,6	2,0
<i>Oligosides</i> ⁽¹⁾			
Fucose	0,20	0,26	0,91
Galactose	1,78	0,64	0,82
N-acétylgalactosamine	1,00	1,00	1,00
N-acétylglucosamine	1,02	0,55	0,74
Acides sialiques	0,10	0,56	0,47
Mannose	0,13	0,04	0

⁽¹⁾ Ratio molaire par rapport à une mole de N-acétylgalactosamine

Figure 2. Relations entre les concentrations des hexosamines (glucosamine et galactosamine) et des protéines de mucines dans les digesta.



dans des digesta prélevés le long de l'intestin grêle de veaux ayant consommé des aliments à base de PLE ou de protéines végétales. Notre objectif était d'établir des relations entre mucines et hexosamines (figure 2).

Dans l'iléon, les concentrations des hexosamines et des mucines sont corrélées linéairement et positivement, avec toutefois des relations peu étroites (R^2 voisin de 0,50). Ceci peut s'expliquer par des différences de composition entre les mucines purifiées à partir du mucus iléal et les mucines présentes dans la lumière digestive, d'une part, et par la présence, dans les digesta, de bactéries et/ou de glycoprotéines tissulaires qui contiennent des hexosamines, d'autre part.

Concernant le duodénum, il existe une relation linéaire plus étroite entre la concentration des mucines et de glucosamine ($R^2 = 0,75$). La glucosamine semble donc être un meilleur marqueur des mucines dans les digesta duodénaux que dans les digesta iléaux. Ceci peut s'expliquer par des différences de composition des mucines. Ainsi, la glucosamine est plus abondante au niveau duodénal qu'au niveau iléal, chez le Porc (Lien *et al* 1997). La concentration de galactosamine dans les digesta duodénaux de veau est très faible ; elle ne peut donc pas être utilisée comme marqueur des mucines duodénales.

Enfin, dans les digesta jéjunaux, il n'existe pas de relations entre hexosamines et mucines. Ceci suggère que ces digesta sont un mélange complexe de mucines gastriques et intestinales partiellement hydrolysées, et probablement de glycoprotéines tissulaires.

En conclusion, les hexosamines ne sont pas représentatives des mucines à tous les sites de l'intestin grêle et il faut être prudent lors de leur utilisation comme marqueur des mucines. En revanche, le dosage ELISA que nous avons développé permet de doser spécifiquement les mucines dans les digesta prélevés à différents sites de l'intestin grêle chez le veau préruminant.

2 / Les matières azotées endogènes basales du veau préruminant

Différentes méthodes ont été élaborées pour quantifier les matières azotées endogènes basales (revue de Fuller et Reeds 1998). L'une de ces méthodes consiste à alimenter les animaux avec un aliment ne contenant pas de protéine, de façon à ce que tous les composés azotés présents dans les digesta soient d'origine endogène, c'est-à-dire produits par l'animal ou par les bactéries qu'il héberge.

Une seconde méthode, dite de régression / extrapolation, utilise des régimes variant par la teneur en matières azotées. Elle suppose qu'il existe une relation linéaire entre les teneurs en azote et acides aminés digestibles avant la fin de l'iléon et celles ingérées. L'extrapolation, à ingéré protéique nul, de la droite obtenue permet d'estimer les flux d'azote et d'acides aminés endogènes. Ces méthodes, développées chez le Porc, sont ici transposées chez le veau.

2.1 / Principales caractéristiques des matières azotées endogènes basales

a / Flux

Le flux de matières azotées endogènes basales, mesuré chez les veaux recevant l'aliment sans protéines augmente entre le duodénum et le jéjunum médian (tableau 2). Puis les matières azotées sont réabsorbées à plus de 70 % avant la fin de l'iléon.

Les protéines de la PLE sont entièrement digérées dans l'intestin grêle (digestibilité réelle voisine de 1). Ainsi, les matières azotées présentes dans les digesta iléaux des veaux recevant ces aliments sont uniquement d'origine endogène. La moyenne des flux iléaux de matière azotées mesurés avec les aliments contenant uniquement de la PLE est $23,5 \pm 1,5$ g/kg de MSI. Cette valeur est intermédiaire entre le flux mesuré avec l'aliment sans protéines et celui calculé par régression et extrapolation à ingéré protéique nul. Dans la pratique, pour estimer les pertes iléales de matières azotées endogènes basales, il semble préférable d'utiliser un aliment à base de PLE, entièrement digestible dans l'intestin grêle, plutôt qu'un aliment dépourvu de protéines, qui n'est pas physiologique et contri-

buerait à sous-estimer les flux de matières azotées endogènes basales. Nous avons d'ailleurs observé, chez les veaux recevant l'aliment sans protéine, une atrophie partielle des villosités et des cryptes de la muqueuse intestinale (10 à 30 % par comparaison avec les animaux recevant les régimes normaux).

Le flux iléal de matières azotées endogènes basales du veau est du même ordre de grandeur que celui mesuré chez des veaux par la méthode de dilution isotopique (22 g/kg de MSI, Tolman et Beelen 1996). Il est intermédiaire entre les estimations faites en alimentation sans protéines chez le Porc (moyenne de 13 g/kg MSI, Mariscal-Landin *et al* 1995, Lechevestrier 1996) et chez l'Homme (27 g/kg MSI, Rowan *et al* 1993). Ceci indique que l'intestin du veau a un comportement voisin de celui des autres mammifères, mais que des variations inter-spécifiques importantes semblent exister.

b / Composition des matières azotées endogènes basales

Les matières azotées endogènes présentes dans le duodénum sont riches en acide glutamique (15,8 %), acide aspartique (11,2 %), leucine (9,1 %) et, dans une moindre mesure, en valine, lysine, sérine et proline (7,7, 7,6, 6,9 et 6,8 %, respectivement). L'origine des composants endogènes est estimée par comparaison des profils d'acides aminés par régression linéaire multiple (Duvaux *et al* 1990). Par cette méthode, on estime, avec un bon ajustement, que les matières azotées endogènes basales correspondent à un mélange théorique de protéines salivaires (14 %), de suc gastrique (27 %) et de suc pancréatique (59 %).

Les matières azotées endogènes présentes dans le jéjunum sont plus riches en thréonine, sérine, acide aspartique, cystéine et glycine, et plus pauvres en leucine et lysine que celles

Chez le veau, la perte de protéines endogènes basales, qui correspond au fonctionnement du tube digestif, est de l'ordre de 22 g/kg MS ingérée. Les mucines représentent 20% de l'azote total perdu.

Tableau 2. Comparaison des flux de matières azotées endogènes basales (Flux, en g/kg MSI) estimées par différentes méthodes chez le veau, le Porc et l'Homme.

Espèce	Méthode	Site	Flux	Référence
Veau	Protéoprive	Duodénum	19,5	Montagne (2000)
		Jéjunum	33,2	
		Iléon	20,0	
	Régression / extrapolation à ingéré azoté nul	Iléon	28,6	
Régimes à base de poudre de lait écrémé	Iléon	23,5		
	Dilution isotopique ¹⁵ N	Iléon	22,0	Tolman et Beelen (1996)
Porc	Protéoprive	Iléon	13,0 (8 à 25)	Lechevestrier (1996) Mariscal-Landin <i>et al</i> (1995)
Homme	Protéoprive	Iléon	27,0	Rowan <i>et al</i> (1993)

trouvées dans le duodénum. Elles ne ressemblent à aucun mélange théorique simple de sources de protéines endogènes connues (protéines salivaires, suc gastrique ou pancréatique, méconium, mucines, ou encore bactéries). Ceci suggère que les matières azotées endogènes sont fortement remaniées entre le duodénum et le jéjunum. Une partie des protéines salivaires, gastriques et pancréatiques sont probablement hydrolysées puis réabsorbées ; d'autres composants, et notamment des mucines et des protéines des cellules desquamées, apparaissent certainement entre le duodénum et le jéjunum.

Les pertes azotées iléales sont riches en acides glutamique et aspartique (13,0 et 11,5 %), ainsi qu'en leucine (8,9 %), thréonine (8,7 %) et cystéine (3,5 %). On estime qu'elles sont constituées pour moitié par des protéines endogènes produites par l'hôte et pour moitié par des protéines bactériennes. Cette composition est relativement proche de celle observée chez le mouton, ou le Chat, mais elle est plus éloignée de celle observée chez l'Homme, le Rat, ou le Porc. Malgré ces différences entre espèces, les acides aminés prédominants sont les mêmes.

2.2 / Mucines et matières azotées endogènes basales

Les mucines sont dosées par la méthode ELISA décrite précédemment dans les contenus digestifs des veaux recevant l'aliment dépourvu de protéines. Les flux de protéines de mucines sont de 1,1, 1,8 et 4,0 g/kg de MSI, dans le duodénum, le jéjunum et l'iléon, respectivement. Le flux iléal de mucines correspondant, calculé en considérant que la fraction protéique représente 53 % en masse de la molécule, est égal à 7,5 g/kg de MSI. Cette valeur est similaire à celle estimée chez le Porc en utilisant les hexosamines comme marqueur des mucines (7,6 g/kg de MSI, Lien *et al* 1997).

La fraction protéique des mucines représente 19 % des pertes iléales de matières azotées endogènes basales chez le veau, ce qui est plus important que celle estimée chez le Porc (11 %, Lien *et al* 1997). Cette différence peut être expliquée par le fait que la teneur en protéines des mucines de veau est plus élevée

que chez le Porc (53 vs 18 %). Par ailleurs, nous avons estimé que les mucines contribuent pour 40 % aux pertes endogènes basales de lysine, pour 29 % à celles de l'acide glutamique, et à 25 % des pertes de chacun des trois acides aminés suivants : thréonine, sérine et acide aspartique.

En conclusion, les mucines sont une composante importante des pertes azotées endogènes basales, ce qui suggère que leur synthèse représente une part importante des besoins d'entretien en acides aminés essentiels (notamment lysine et thréonine) et en énergie. D'un point de vue expérimental, il est préférable d'utiliser un aliment à base de PLE, plutôt qu'un aliment dépourvu de protéines, pour estimer les pertes iléales de matières azotées basales, en vue de calculer la digestibilité vraie de différentes sources de matières azotées alimentaires.

3 / Les matières azotées endogènes spécifiques des matières azotées végétales

L'introduction de matières azotées d'origine végétale dans les aliments d'allaitement conduit à une augmentation des flux de matières azotées endogènes dans l'iléon (Lallès 1993). Nous avons quantifié les matières azotées endogènes présentes le long de l'intestin grêle de veau préruminant recevant quatre aliments isoazotés, différant par la nature de la source de matières azotées. L'aliment témoin contient uniquement de la PLE. Dans les trois autres aliments, la moitié des matières azotées est apportée par de la PLE, l'autre moitié par des sources végétales. Dans l'aliment CS (n = 5), il s'agit d'un concentrat de soja ayant subi un chauffage en milieu hydro-éthanolique. Ce traitement permet d'extraire les oligosides, mais aussi de dénaturer les protéines, ce qui diminue fortement leur antigénicité et augmente leur accessibilité aux enzymes digestives. L'aliment ISPH (n = 3) contient un isolat de protéines de soja partiellement hydrolysées. Enfin, l'aliment CP (n = 8) contient un concentrat de pomme de terre obtenu par thermocoagulation. L'utilisation de ces ali-

Tableau 3. Digestibilités iléales apparente et réelle de l'azote, et flux iléaux de protéines d'origine alimentaire (FA), endogène de l'hôte (FE) et bactérienne (FB) en g/kg de matière sèche ingérée (moyenne \pm SEM).

Les flux FA, FE et FB sont calculés à partir des proportions de protéines alimentaires, endogènes et bactériennes estimées par régression linéaire multiple (Duvaux *et al* 1990) et les flux totaux d'acides aminés.

	Digestibilité iléale		FA	Flux	
	apparente	réelle		FE	FB
Témoin (poudre de lait écrémé)	0,91 \pm 0,01	0,99 \pm 0,01	2,1 \pm 0,2	6,3 \pm 0,4	5,9 \pm 0,2
Concentrat de soja	0,85 \pm 0,01	0,95 \pm 0,03 [†]	7,6 \pm 1,7*	9,3 \pm 2,0	9,4 \pm 2,1*
Isolat de soja partiellement hydrolysé	0,73 \pm 0,02 [†]	0,94 \pm 0,05*	3,8 \pm 0,6*	10,7 \pm 1,6	24,3 \pm 3,6*
Concentrat de protéines de pomme de terre	0,81 \pm 0,01***	0,96 \pm 0,02*	4,2 \pm 0,4***	9,6 \pm 1,0**	11,4 \pm 1,1****

Probabilité de l'effet régime : [†] P < 0,10 ; * P < 0,05 ; ** P < 0,01 ; *** P < 0,001 ; **** P < 0,0001

ments ne possédant apparemment pas d'activité antinutritionnelle détectable (inhibiteurs antitrypsiques, lectines, antigènes) permet de mettre en évidence l'effet intrinsèque des matières azotées végétales sur les matières azotées endogènes et les mucines.

3.1 / Digestibilités et flux de matières azotées endogènes spécifiques

Les digestibilités iléales apparente et réelle des matières azotées des aliments sont présentées dans le tableau 3. Les valeurs obtenues avec les protéines laitières sont très élevées et confirment que ces dernières sont quasi-totalement digérées avant la fin de l'intestin grêle. La digestibilité apparente de l'azote des aliments contenant des protéines végétales est inférieure à celle de l'aliment témoin. La digestibilité réelle des aliments contenant les sources végétales est relativement constante, mais elle est toujours inférieure à celle du témoin, mettant ainsi en évidence la présence de matières azotées endogènes spécifiques des différentes sources végétales.

Les flux de matières azotées endogènes totales sont de 52, 47 et 43 g/kg de MSI, avec les régimes CS, ISPH et CP, et de 25 g/kg de MSI avec le témoin. Ces valeurs montrent que les matières azotées végétales stimulent la production de matières azotées endogènes (qualifiées alors de spécifiques de l'aliment). Les facteurs et mécanismes impliqués sont mal connus. Plusieurs constituants tels que les protéines et peptides alimentaires, les facteurs antinutritionnels et les glucides peuvent être mis en cause.

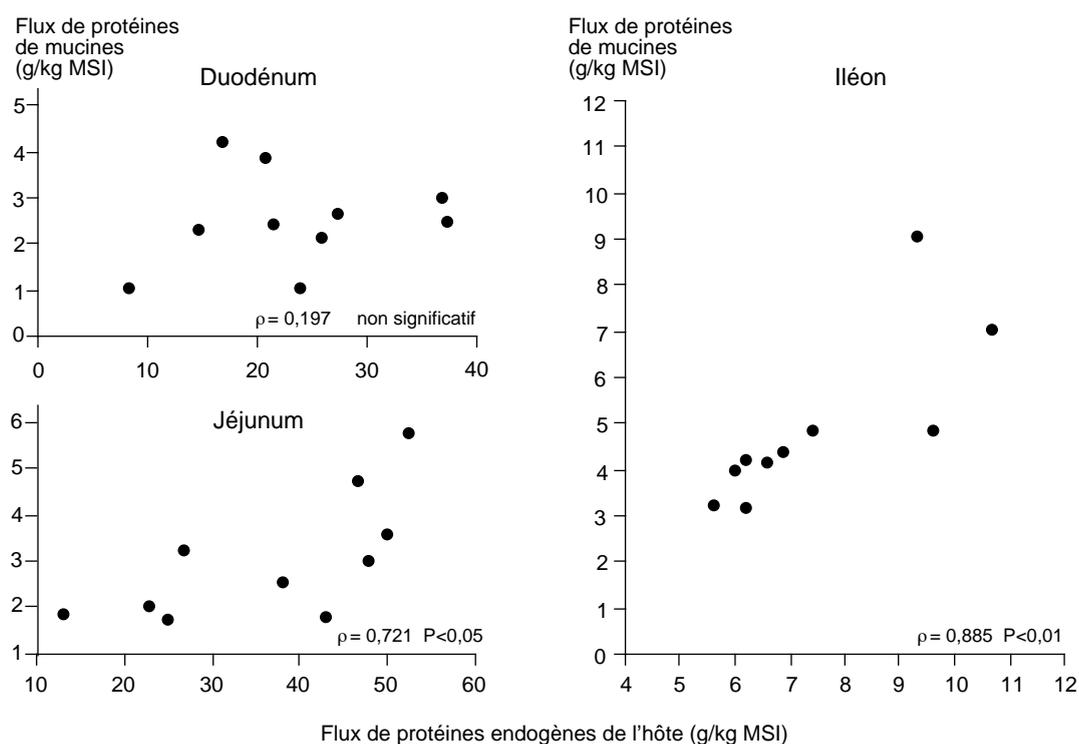
L'introduction de protéines végétales dans les aliments augmente le flux de protéines bactériennes à la fin de l'iléon (tableau 3). Ceci indique que le développement bactérien et probablement l'activité fermentaire sont accrues. Or la flore bactérienne présente dans l'intestin grêle, bien que moins abondante que dans le côlon, a un rôle important et positif sur la santé de l'animal : effet barrière vis-à-vis des microorganismes pathogènes, effet trophique des métabolites bactériens sur la muqueuse... Aussi, on peut se demander dans quelle mesure des changements de la nature des protéines alimentaires, peuvent modifier la susceptibilité de l'animal vis-à-vis des infections digestives.

3.2 / Mucines et matières azotées endogènes spécifiques

Les flux de mucines augmentent dans des proportions importantes (20 à 130 % suivant le site et le régime) quand des matières azotées végétales sont introduites dans l'aliment, ce qui illustre les interactions entre ces dernières et la muqueuse intestinale. La nature de ces interactions n'est actuellement pas connue. On peut envisager des interactions spécifiques entre les protéines végétales et/ou des peptides issus de leur hydrolyse et des récepteurs situés sur la face apicale des cellules à mucus. Cette hypothèse est renforcée par les observations de Santoro *et al* (1999), selon lesquelles, chez des rats recevant un repas d'épreuve contenant de la phaséoline de haricot purifiée, des peptides dérivés de cette protéine sont fortement fixés à la muqueuse intestinale.

L'apport alimentaire de protéines végétales stimule la production de protéines endogènes et augmente notamment la perte de mucines.

Figure 3. Relations entre les flux de protéines de mucines et de protéines endogènes de l'hôte (tests non paramétriques).



La figure 3 présente les relations entre les flux de protéines de mucines, et ceux des protéines endogènes de l'hôte, c'est-à-dire corrigés par la fraction bactérienne, à chacun des sites de l'intestin grêle. Des relations linéaires et positives existent pour le duodénum et l'iléon.

Conclusions et perspectives

Le flux de matières azotées endogènes basales est plus élevé dans le jéjunum médian que dans le duodénum. Les matières azotées endogènes sont ensuite réabsorbées avant la fin de l'iléon. Les matières azotées végétales testées sont relativement bien digérées par les veaux. Cependant, elles stimulent la production de matières azotées endogènes, ce qui explique principalement leur moindre digestibilité apparente. Dans la mesure où la production de matières azotées endogènes a un coût en acides aminés essentiels et en énergie, il est plus profitable d'utiliser des matières azotées alternatives présentant, certes, une digestibilité réelle élevée, mais surtout interagissant peu avec le tube digestif.

Les mucines sont une composante importante des matières azotées endogènes basales, et leur flux augmente lorsque des matières azotées végétales sont introduites dans l'aliment. Ces résultats suggèrent qu'une part importante des besoins d'entretien servirait à la synthèse des mucines.

Au sein de la fraction azotée endogène, la composante bactérienne est plus sensible aux changements de nature des matières azotées alimentaires que la fraction endogène produi-

te par l'hôte. Dans la mesure où ces deux fractions n'ont pas le même coût métabolique, nos résultats mettent en évidence l'intérêt de les évaluer et de les prendre en compte de façon indépendante lors de la formulation des aliments d'allaitement.

La muqueuse étant une interface entre le milieu extérieur et l'animal, elle contribue activement au maintien de sa santé, en le protégeant des agresseurs présents dans la lumière digestive. Cette protection résulte des interactions entre le mucus, la microflore résidente et le système immunitaire muqueux. Nos résultats montrent qu'il est possible de moduler les flux de mucines et de bactéries en faisant varier la nature des matières azotées végétales. Une augmentation des pertes endogènes a un impact négatif sur la valeur nutritionnelle de l'aliment. Cependant, qu'en est-il du point de vue de la santé de l'animal ? Dans le contexte actuel de suppression des antibiotiques et de réduction de l'utilisation de certains éléments (Cu, Zn) dans les aliments, il est indispensable de favoriser la santé du tube digestif et de l'animal en agissant sur son alimentation. Finalement, ces travaux suggèrent l'importance de prendre en compte, en plus de la valeur nutritionnelle, la valeur santé des aliments.

Remerciements

Les travaux ayant servi à l'élaboration de ce texte ont bénéficié du soutien financier de l'INRA et de la région Bretagne, du Département d'Ille-et-Vilaine et du District de Rennes. Les auteurs remercient toutes les personnes qui ont participé à ce travail et plus particulièrement R. Toullec.

Références

- Amerongen A.V.N., Bolscher J.G.M., Bloemena E., Veerman E.C.I., 1998. Sulfomucins in the human body. *Biol. Chem.*, 379, 1-18.
- Combe E., Patureau-Mirand P., Bayle G., Pion R., 1980. Influence de l'aliment et de la microflore sur la teneur en sucres aminés des contenus digestifs et des fèces chez le rat, l'agneau et le veau préruminant. *Reprod. Nutr. Dev.*, 20, 1707-1715.
- Duvaux C., Guilloteau P., Toullec R., Sissons J.W., 1990. A new method of estimating the proportions of different proteins in a mixture using amino acid profiles : application to undigested proteins in the preruminant calf. *Ann. Zootech.*, 39, 9-18.
- Forstner G.G., Forstner J.F., 1986. Structure and function of gastrointestinal mucus. In : P. Desnuelle, H. Sjöström, O. Noren (eds), *Molecular and Cellular Basis of Digestion*, 125-143. Elsevier Publishers.
- Fuller M.F., Cadenhead A., 1991. Effect of the amount and composition of the diet on galactosamine flow from the small intestine. In : M.W.A. Verstegen, J. Huisman, L.A. Den Hartog (eds), *Proceedings of the Vth International Symposium on Digestive physiology in pigs*, 330-333. EAAP Publication n°54, Pudoc, Wageningen, The Netherlands.
- Fuller M.F., Reeds P.J., 1998. Nitrogen cycling in the gut. *Annu. Rev. Nutr.*, 18, 385-411.
- Huisman J., Jansman A.J.M., 1991. Dietary effects and some analytical aspects of antinutritional factors in peas (*Pisum sativum*), common beans (*Phaseolus vulgaris*) and soybeans (*Glycine max L.*) in monogastric farm animals. A literature review. *Nutr. Rev.*, 61, 901-921.
- Lallès J.P., 1993. Nutritional and antinutritional aspects of soybean and field pea proteins used in veal calf production. A review. *Livest. Prod. Sci.*, 34, 181-202.
- Lechevestrier Y., 1996. Digestion et absorption des acides aminés dans l'intestin grêle du porc. Effets de la composition des protéines alimentaires, de leur propriétés physiques et des facteurs antinutritionnels. Thèse, Institut National Agronomique Paris-Grignon, France.

- Lien K.A., MacBurney M.I., Beyde B.I., Thomson A.B., Sauer W.C., 1996. Ileal recovery of nutrients and mucin in humans fed total enteral formulas supplemented with soy fiber. *Am. J. Clin. Nutr.*, 63, 584-595.
- Lien K.A., Sauer W.C., Fenton M., 1997. Mucin output in ileal digesta of pigs fed a protein-free diet. *Z. Ernährungswiss.*, 36, 182-190.
- Low A.G., 1982. Digestibility and availability of amino acids from feedstuffs for pigs : a review. *Livest. Prod. Sci.*, 9, 511-520.
- Mantle M., Allen A., 1981. Isolation and characterization of the native glycoprotein from pig small-intestinal mucus. *Biochem. J.*, 195, 267-75.
- Mariscal-Landin G., Sève B., Colléaux Y., Lebreton Y., 1995. Endogenous amino nitrogen collected from pigs with end-to-end ileorectal anastomosis is affected by the method of estimation and altered by dietary fiber. *J. Nutr.*, 125, 136-146.
- Montagne L., 2000. Effets des matières azotées alimentaires sur les matières azotées endogènes, les mucines et la muqueuse de l'intestin grêle du veau préruminant. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, France.
- Montagne L., Toullec R., Lallès J.P., 2000. Calf intestinal mucin : isolation, partial characterization and measurement in ileal digesta using an enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Dairy Sci.*, 83, 507-517.
- Rérat A., Corring T., 1991. Animal factors affecting protein digestion and absorption. In : M.W.A. Verstegen, J. Huisman, L.A. Den Hartog (eds), *Proceedings of the Vth International Symposium on Digestive physiology in pigs*, 5-34. EAAP Publication n°54, Pudoc, Wageningen, The Netherlands.
- Rowan A.M., Moughan P.J., Wilson M.N., 1993. Endogenous amino acid flow at the terminal ileum of adult humans determined following the ingestion of a single protein-free meal. *J. Sci. Food Agric.*, 61, 439-442.
- Santoro L.G., Grant G., Pusztai A., 1999. In vivo degradation and stimulating effect of phaseolin on nitrogen secretion in rats. *Plant Food for Human Nutrition*, 53, 223-236.
- Satchithanandam S., Cassidy M.M., Kharroubi A.T., Calvert R.J., Leeds A.R., Vahouny G.V., 1990. Alterations in rat intestinal mucin patterns following luminal infusion of acetylsalicylic acid and prostaglandin derivatives. *Dig. Dis. Sci.*, 35, 1518-1527.
- Sell D.R., Reed W.M., Chrisman C.L., Rogler J.C., 1985. Mucin excretion and morphology of the intestinal tract as influenced by sorghum tannins. *Nutr. Rep. Int.*, 31, 1369-1374.
- Sève B., Henry Y., 1996. Protein utilization in non ruminants. In : A.F. Nunes, A.V. Portugal, J.P. Costa, J.R. Ribeiro (eds), *Proceedings of the VIIth Symposium on Protein metabolism and nutrition*, 59-82. EAAP Publication n°81, Vale de Santarém, Portugal.
- Sève B., Hess V., 2000. Amino acid digestibility in formulation of diets for pigs: Present interest and limitations, future prospects. In : *Proceedings of the 34th University of Nottingham Feed Manufacturers Conference*, Nottingham, UK, sous presse.
- Strous G.J., Dekker J., 1992. Mucin-type glycoproteins. *Crit. Rev. Biochem. Mol.*, 27, 57-92.
- Tolman G.H., Beelen G.M., 1996. Endogenous nitrogen and amino acid flow in the terminal ileum of veal calves and the true ileal digestibility of skim milk, soluble wheat and soya isolate proteins. In *Fédération de la Vitellerie Française* (ed), *Veal perspectives to the year 2000*, Le Mans, France, 191-207.
- Tukur H.M., Lallès J.P., Mathis C., Caugant I., Toullec R., 1993. Digestion of soybean globulins, glycinin, alpha-conglycinin and beta-conglycinin in the preruminant and the preruminant calf. *Can. J. Anim. Sci.*, 73, 891-905.

Abstract

Digestion of plant protein sources in the preruminant calf. Quantitation of endogenous protein and importance of mucin.

Improving the digestive utilisation of alternative protein sources by the calf demands a better understanding of their interactions with the gut. The recent concepts of digestibility differentiate between the basal losses and the specific losses that depend on the diet. The aim of this work was to characterise the basal losses and those specific to plant proteins, and to specify the contribution of mucin. The flow of basal endogenous protein measured with a protein-free diet increased between the duodenum and the mid-jejunum. Endogenous protein was then reabsorbed at 70 % before the ileum where its flow was 20 g/kg dry matter intake. Mucin contributed to 20, 40 and 25 % of basal losses of nitrogen, lysine and threonine, respectively. Proteins from plant sources (a soya concentrate, a

soya isolate, and a potato concentrate) were apparently less well-digested than milk protein at the ileum (0.85, 0.73 and 0.81 vs 0.91). However, plant protein sources had a similar real digestibility that was still lower than that of milk protein (0.95 vs 0.99 for milk). This was accounted for by differences in the amount of specific endogenous protein, and that of mucin in particular. Interestingly, the contribution of bacterial protein to the protein losses was more sensitive to dietary changes than the contribution of the host. To conclude, differences in apparent digestibility between the plant proteins studied were determined mainly by specific protein losses at the ileum they generated along the gut.

MONTAGNE L., LALLÈS J.P., 2000. Digestion des matières azotées végétales chez le veau préruminant. Quantification des matières azotées endogènes et importance des mucines. *INRA Prod. Anim.*, 13, 315-324.