

A8502

ÉVALUATION DE LA DISPONIBILITÉ DES ACIDES AMINÉS : Choix raisonné d'une méthode

J.P. LAPLACE (1), Béatrice DARCY-VRILLON (1), M. PICARD (2)

Institut National de la Recherche Agronomique

(1) *Laboratoire de Physiologie de la Nutrition, 78350 Jouy-en-Josas*

(2) *Station de Recherches Avicoles, 37380 MONNAIE*

La formulation des aliments a pour objectif d'assurer au moindre coût l'ajustement des apports aux besoins nutritionnels. La diversification croissante et le coût des sources de protéines rendent cette adéquation critique sur les plans zootechnique et économique. En pratique, la question est de savoir sur quelle base doit, peut ou pourrait se faire la formulation pour que l'ajustement entre apports et besoins se fasse au moindre coût pour un niveau donné de performances. La substitution d'une source de protéines par une autre dépend de deux facteurs : d'une part la **composition en acides aminés** des protéines considérées, et d'autre part la **disponibilité de ces acides aminés**. Or, la formulation des aliments du porc est actuellement basée uniquement sur le premier de ces facteurs, c'est-à-dire la teneur en acides aminés totaux. Mais il s'avère de plus en plus nécessaire depuis quelques années, de prendre en compte le second facteur c'est-à-dire la teneur en acides aminés disponibles. Une telle démarche a été entreprise dans plusieurs pays tels que Pays-Bas, Danemark et Allemagne de l'Est. Enfin il est bien évident que, par le principe même de la formulation, cette nécessité s'adresse aux matières premières, sous réserve d'additivité des valeurs obtenues.

Le problème est donc aujourd'hui de savoir comment, dans un contexte pratique et avec l'objectif d'une amélioration des bases de la formulation des aliments du porc, on pourrait prendre en compte cette disponibilité des acides aminés. Il s'agit d'un sujet dont l'importance a justifié l'élaboration de plusieurs articles de synthèse récents (LOW, 1982; DARCY *et al.*, 1982; DARCY et RERAT, 1983; HENRY, 1983; DARCY, 1984; TANKSLEY et KNABE, 1984). Mais notre objectif, en développant ce thème, n'est pas de procéder à une revue détaillée de la littérature. Nous nous proposons seulement de guider le lecteur dans la démarche méthodologique actuelle, tant au plan des concepts que de la mise en œuvre expérimentale.

1. DE LA DISPONIBILITÉ A L'UTILISATION DIGESTIVE

Si l'on veut prendre en compte la disponibilité des acides aminés, encore faut-il s'entendre sur le sens des mots. Le vocable de disponibilité est utilisé sous des acceptions relativement variées. En fait, la **disponibilité sensu stricto** a été définie de façon très précise par MAURON (1961) comme la proportion d'un acide aminé d'origine alimentaire qui est effectivement utilisée pour les synthèses protéiques de l'organisme, lorsque cet acide aminé est le seul facteur limitant du régime. Cette définition est très restrictive dans la mesure où elle ne concerne que la mise à disposition de l'acide aminé facteur limitant. L'usage courant du terme **disponibilité** concerne la mise à disposition de l'ensemble des acides aminés pour les synthèses protéiques de l'organisme.

Dans la recherche d'une croissance optimale du porc (dépôt maximum de tissu maigre), il est évident que la quantité d'acides aminés disponibles est le critère le plus important dans la mesure où lui seul exprime le devenir final des acides aminés entrant dans la fabrication et le fonctionnement des tissus vivants. Ceci revient à dire qu'il tient compte de l'ensemble des pertes survenant au cours des étapes successives de digestion, d'absorption et de métabolisme, que ces pertes soient le fait de facteurs liés à l'aliment ou à l'animal (facteur génétique).

Diverses méthodes sont utilisables pour mesurer ou évaluer la disponibilité des acides aminés, tant *in vitro* qu' *in vivo*, de façon partielle ou globale :

- L'approche la plus globale, chez l'animal entier, repose sur des tests de croissance permettant d'évaluer l'aptitude d'une protéine donnée à fournir l'acide aminé facteur limitant. Cette méthode, si standardisées que soient les conditions expérimentales, n'échappe pas à de multiples influences telles que celles du taux azoté du régime, de l'équilibre des acides aminés, de la source d'énergie, du rapport azote-énergie et du niveau d'ingestion. Généralement utilisée chez des espèces de petite taille telles que le rat ou la volaille (LARBIER, 1982), cette méthode peut être appliquée au porc (BATTERHAM, 1979).

- Une autre solution consiste à mesurer l'aminoacidémie, dans la mesure où les acides aminés absorbés sont transportés par la circulation sanguine aux tissus utilisateurs. Mais, là encore, la valeur de l'aminoacidémie est soumise à des interférences : elle dépend certes de ce qui a été extrait des protéines ingérées; mais elle dépend aussi du métabolisme tissulaire puisqu'une synthèse protéique augmentée conduit à un prélèvement d'acides aminés libres dans le plasma, tandis qu'un catabolisme accru entraîne une élévation transitoire de leur concentration sanguine.

Il est donc difficile de mesurer avec certitude la disponibilité des acides aminés d'une source de protéines, par l'usage de telles techniques. La première, très lourde à mettre en œuvre, peut au mieux fournir de bons résultats pour un seul acide aminé à la fois. La seconde, qui est soumise à des variations incontrôlées, n'est pas réellement fiable à moins d'envisager une quantification de l'absorption des acides aminés. Ces deux techniques donnent parfois une fausse impression de précision. L'analyse statistique rigoureuse des résultats fait apparaître une variabilité résiduelle non négligeable. Dans le cadre d'une approche pratique de ces problèmes, il faut pour le moment renoncer à une évaluation globale, chez l'animal entier, de la disponibilité des acides aminés, et mesurer les composantes de la disponibilité qui sont techniquement accessibles. La composante métabolique de la disponibilité est difficile à atteindre et sa mesure est elle aussi affectée par de multiples facteurs de variation. En d'autres termes il n'est pas aisé, en pratique, de mesurer l'utilisation métabolique effective des acides aminés d'origine alimentaire présents dans le sang. Reste donc à envisager une évaluation aussi précise que possible de l'utilisation digestive, c'est-à-dire le rendement du transfert des acides aminés de l'aliment au sang.

2. DE L'UTILISATION DIGESTIVE A LA DIGESTIBILITÉ

Lorsqu'on envisage cette étude du rendement de la récupération des acides aminés alimentaires par le tube digestif, on a tendance à concevoir celui-ci comme un pourvoyeur des tissus nobles, c'est-à-dire du tissu musculaire qui fera la valeur de la carcasse. C'est en quelque sorte considérer qu'il y a d'un côté le tube digestif qui déverse dans le sang les acides aminés absorbés, et de l'autre l'organisme qui utilise ces mêmes acides aminés. Cette façon de présenter les choses pourra choquer, elle n'en reste pas moins implicitement courante. Vue de cette façon, l'utilisation digestive est exprimée par un **bilan quantitatif** de l'apparition des acides aminés dans le sang efférent de l'intestin; en d'autres termes, il s'agit d'une étude quantitative de l'absorption.

Nous nous arrêterons peu ici sur la technique développée par RERAT, et al. (1980) pour

cette étude quantitative de l'absorption chez le porc. Il s'agit à l'évidence d'une technique de physiologie, réservée à l'usage du laboratoire et à l'analyse des mécanismes de la digestion. Sa difficulté même l'exclut de toute hypothèse d'utilisation courante pour approcher de cette façon la disponibilité des acides aminés. Il faut en outre s'interroger sur la place réelle du tube digestif.

En réalité, cet organe « pourvoyeur » est, comme les autres tissus de l'organisme, utilisateur d'acides aminés, d'autant plus que l'épithélium intestinal est un tissu en renouvellement constant et rapide (SIMON, 1981). Comme les autres tissus encore, il puise dans le sang artériel les acides aminés libres qui lui sont nécessaires. Mais en plus le tissu intestinal a la faculté de prélever pour son propre usage une certaine quantité d'acides aminés, en même temps que d'autres nutriments, au cours du processus d'absorption. Ceci revient à dire qu'entre ce qui disparaît de la lumière digestive en entrant à la face muqueuse, et ce qui apparaît dans le sang en sortant à la face séreuse de la paroi intestinale, existe une différence. Celle-ci rend compte d'une métabolisation par la paroi sous deux formes : utilisation directe et transformation. Dès lors, il paraît plus logique pour notre propos de considérer l'intestin pour ce qu'il est, c'est-à-dire un des éléments de l'organisme, et en conséquence de fonder l'étude de l'utilisation digestive sur un **bilan des disparitions** d'acides aminés, communément appelé mesure de **digestibilité**.

Quoique la question du choix ne se pose pas, compte tenu de notre objectif, entre bilan des apparitions dans le sang et bilan des disparitions de la lumière intestinale, la différence, pour une même source de protéine, mérite d'être illustrée. Ainsi, les valeurs obtenues pour ces différents bilans chez des porcs consommant de l'orge ou du blé (tableau 1), montrent des écarts compris entre 10 et 20 p.cent des acides aminés totaux ingérés. De plus des différences considérables existent pour chacun des acides aminés comme le montre la figure 1 dans le cas d'une farine de poisson.

TABLEAU 1
UTILISATION DIGESTIVE DES ACIDES AMINÉS, SELON LA MÉTHODE DE MESURE

	Coefficient de digestibilité (somme des A.A.) SAUER et al., 1977 a		Coefficient d'absorption (N α -aminé) RERAT, 1982
	Fécal	Iléal	
Blé	90	83	71
Orge	85	78	62

3. DE LA DIGESTIBILITÉ FECALE A LA DIGESTIBILITÉ ILEALE

L'approche réductionniste de la mesure de la disponibilité des acides aminés débouche en définitive sur une mesure de digestibilité (1) c'est-à-dire des quantités d'acides aminés qui ont disparu au cours du franchissement du tube digestif. En d'autres termes, il s'agit de procéder au bilan : entrées-sorties. S'agissant de l'approvisionnement de l'organisme entier, il est **a priori** logique que ce bilan soit effectué entre quantités ingérées et quantités excrétées dans les fèces. Cette logique a ainsi conduit à l'utilisation de la digestibilité fécale (figure 2, p. 357), d'abord

(1) Ce qui précède constitue une justification **a posteriori** de l'utilisation systématique par les auteurs anglo-saxons du terme disponibilité (availability) pour parler de digestibilité.

appliquée aux protéines brutes puis aux acides aminés (KUIKEN et LYMAN, 1948). Cette méthode a été largement utilisée pour estimer la disponibilité des acides aminés chez le rat, la volaille et le porc. Il se pose cependant deux types de questions : 1) Faut-il prendre en compte la fraction endogène des matières azotées; 2) Quel est le site de mesure qui permet la meilleure estimation de la disponibilité des acides aminés.

FIGURE 1

COMPARAISON DES COEFFICIENTS DE DIGESTIBILITÉ APPARENTE ILÉALE
ET DES COEFFICIENTS D'ABSORPTION DES ACIDES AMINÉS
POUR UN RÉGIME À BASE DE FARINE DE POISSON
Les valeurs correspondantes pour l'azote (N) et la somme des acides aminés (Σ AA)
sont indiquées par les lignes horizontales. Digestibilité : 12 jours d'épreuve ;
Absorption : 22 épreuves de 8 h

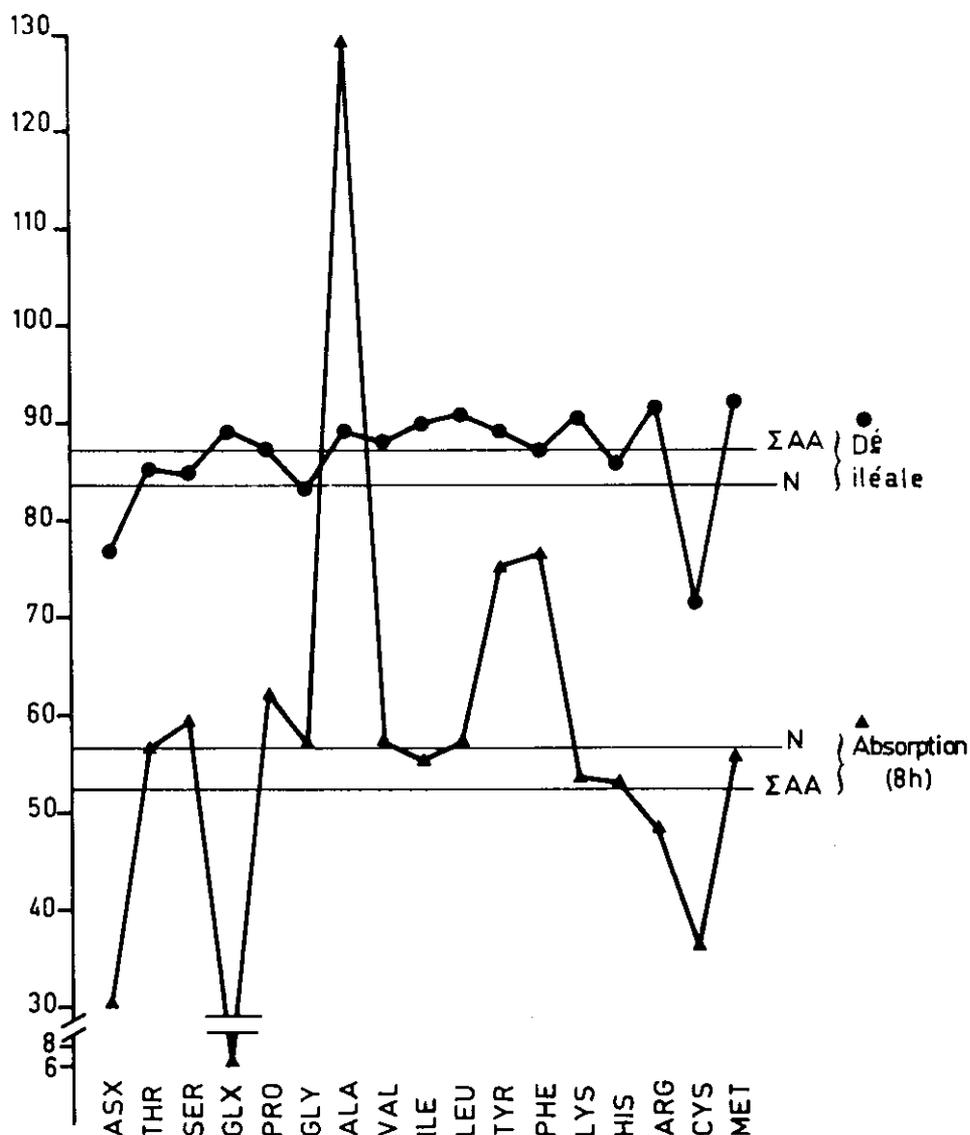
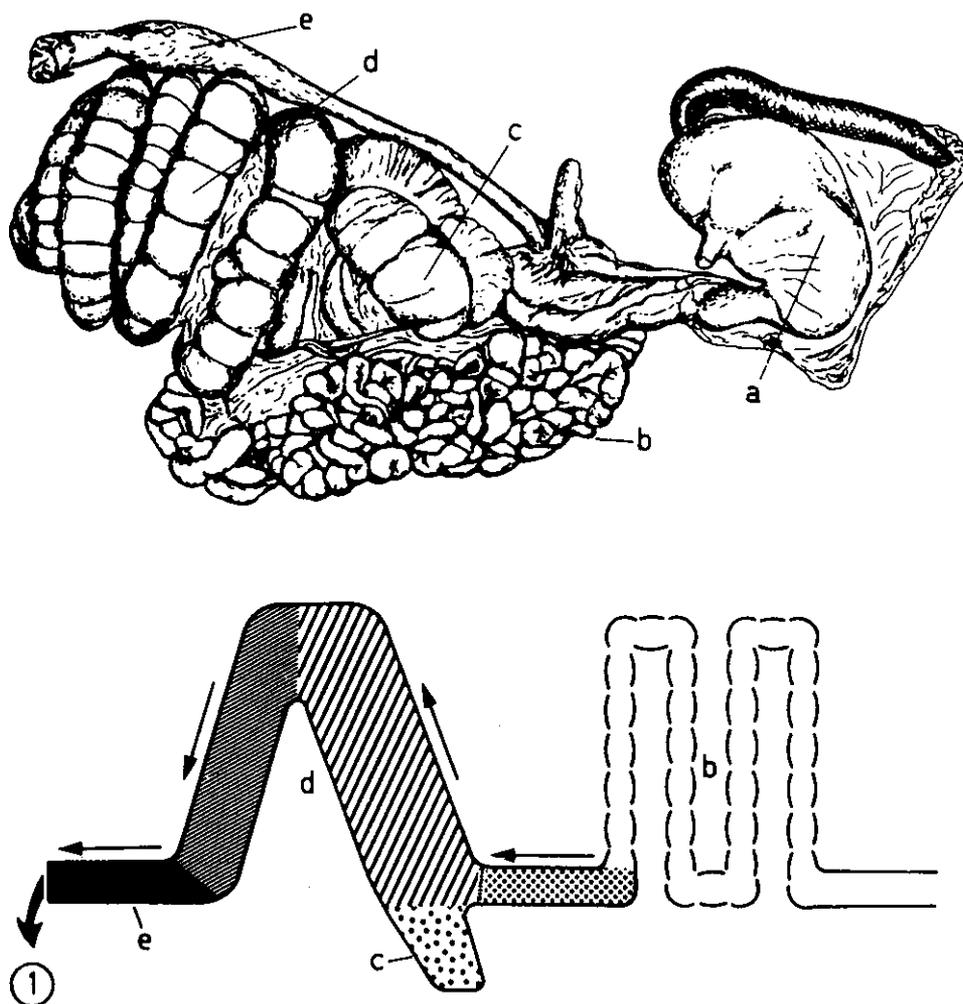


FIGURE 2

VISÈRES ABDOMINAUX DIGESTIFS DU PORC, ET TRANSCRIPTION SCHÉMATIQUE
DES DIVERS TERRITOIRES D'INTESTIN GRÊLE DISTAL ET DE GROS INTESTIN :
a, estomac. b, intestin grêle. c, caecum. d, côlon hélicoïdal ascendant puis descendant. e, côlon
terminal. La flèche symbolise la collecte des fèces qui permet de déterminer une digestibilité
« fécale » (1).



1) Digestibilités apparente et réelle

Un bilan complet des entrées-sorties devrait tenir compte de l'interférence, d'importance variable et encore imparfaitement connue, d'entrées additionnelles non alimentaires sources de matériaux azotés dits endogènes (tableau 2), et de sorties additionnelles provenant de la récupération incomplète de ces matériaux. L'existence d'apports endogènes, récupérés pour une large part par l'organisme, constitue un problème passionnant et difficile à résoudre pour le physiologiste. En principe, seule nous intéresse pour notre propos la digestibilité des acides aminés exogènes, que nous souhaitons mesurer, à titre d'estimation de leur disponibilité, pour formuler les rations en fonction des acides aminés digestibles et non des acides aminés présents au total dans une matière première. Mais lorsqu'on réalise en pratique un bilan de digestibilité, il y a une interférence inévitable dans la digestibilité apparente, de la fraction non réabsorbée des matériaux

endogènes. Celle-ci représente selon nos estimations environ 10 p.cent des apports endogènes totaux, mais la présence de cette fraction dans les fèces conduit à sous-estimer la digestibilité effective des acides aminés. On peut corriger de façon plus ou moins correcte le bilan apparent. Ainsi, la mesure des quantités excrétées lors d'ingestion d'un régime protéoprive fournit une estimation des quantités de matériaux endogènes non réabsorbés. En postulant la constance de cette fraction endogène excrétée, on peut donc corriger le terme « excréta » du bilan apparent pour calculer ce que l'on désigne communément sous le vocable de digestibilité réelle.

TABLEAU 2
APPORTS ENDOGÈNES PAR LES SÉCRÉTIONS DIGESTIVES CHEZ LE PORC
(D'APRÈS JUSTE, 1982)

	Volume (l/24h)	Azote	
		Total (g/24 h)	α -aminé (1) (g/24 h)
Sécrétion salivaire	0,4 - 0,5	0,400	?
Sécrétion gastrique	9,0 - 12,0	?	?
Sécrétion pancréatique	2,5 - 5,0	2,5 - 6,7	1,5 - 4,0
Sécrétion biliaire	2,0 - 2,5	1,8 - 3,0	0,54 - 0,9
Sécrétions intestinales	5,4 - 6,5	14,4	7,8
Total	19,0 - 26,0	> 19,0 - 24,5	> 10,0 - 13,0
N x 6,25		> 119 - 153	-

(1) Protéines solubles + acides aminés libres.

Toutefois ce postulat ne correspond que très imparfaitement à la réalité. Il est vrai que, en régime protéoprive, l'excrétion d'azote endogène par la sécrétion pancréatique est relativement stable dans le temps (6 jours) et qu'elle ne diffère pas de celle enregistrée auparavant avec un régime à 14 p.cent de protéines (CORRING *et al.*, 1984). Mais hors de ce cas particulier, aucun élément expérimental n'assure qu'il y a similitude des quantités résiduelles d'azote endogène mesurées en régime protéoprive et de celles qui existent réellement sous les conditions du régime étudié. On sait aussi que la nature et la quantité des constituants pariétaux affectent fortement le volume de la sécrétion pancréatique (PARTRIDGE *et al.*, 1982) et la prolifération cellulaire (donc la desquamation, source d'endogène) au niveau de l'intestin (JACOBS, 1983).

Les pertes endogènes peuvent être mesurées très précisément chez l'animal consommant un régime protéique, grâce aux techniques du marquage isotopique utilisant le ^{15}N stable (SOUFRANT *et al.*, 1982). Ce travail a mis en évidence une influence de la source de protéines du régime sur l'endogène résiduel. Mais de toute façon la mise en œuvre de cette technique isotopique est trop lourde pour un usage de routine. D'autres méthodes d'évaluation existent, fondées par exemple sur une estimation par régression de la quantité d'azote excrétée sur la quantité d'azote ingérée (extrapolation à un ingéré azoté nul). Mais elles sont également très lourdes d'utilisation. Par conséquent, malgré les incertitudes qui pèsent sur la valeur réelle de la correction à apporter au bilan apparent pour déterminer une digestibilité « réelle », la technique des épreuves en régime protéoprive reste actuellement la méthode la plus intéressante en pratique.

Au-delà de ces problèmes de méthodologie, il reste qu'il est nécessaire d'apporter une correction aux bilans apparents si l'on veut obtenir des données comparables pour les différentes matières premières testées. En effet la digestibilité apparente est directement affectée par le rapport des quantités d'azote exogène/endogène. Au total, il convient d'adopter pour la digestibilité des acides aminés la conclusion de McNAB et FISHER (1981) relative à l'énergie métabolisable,

et selon laquelle les pertes endogènes affectent les résultats à un point tel qu'il n'est plus raisonnablement possible de les ignorer. Ceci revient à dire :

- qu'il est nécessaire de mesurer le plus exactement possible les pertes d'azote endogène dans les conditions de réalisation des tests.
- qu'il est souhaitable de tendre vers un système d'évaluation fondé sur la digestibilité réelle qui permet en pratique de s'affranchir d'une partie des causes d'erreur liées aux conditions expérimentales.

2) Interférence de la flore

A côté des matériaux exogènes (aliments) et des matériaux endogènes, c'est-à-dire exportés par l'animal lui-même vers la lumière de son tube digestif, existe une troisième catégorie constituée par la flore microbienne. Indépendamment du fait que les éléments qui la constituent sont en eux-mêmes des matériaux azotés, c'est l'activité biologique de cette flore qui est en cause ici, et plus spécialement de celle du gros intestin. L'activité microbienne est en effet considérable dans le caecum et le côlon du porc où se trouvent réunies des conditions favorables à sa prolifération. Cette activité s'exerce de diverses façons à l'égard des substrats azotés, exogènes ou endogènes, qui peuvent être dégradés ou bien être utilisés pour la synthèse de protéines microbiennes.

Ainsi la dégradation microbienne des acides aminés conduit principalement à la formation d'ammoniaque qui, absorbé par l'intestin, est finalement excrété dans l'urine sous forme d'urée (ZEBROWSKA, 1973a). C'est autant qui, sans avoir été utilisé au bénéfice de l'animal, sera pourtant absent de l'excrété dans le bilan de digestibilité. A l'inverse, il peut y avoir, selon la quantité de substances glucidiques résiduelles dans l'intestin grêle, une synthèse plus ou moins importante de protéines microbiennes, ainsi qu'une synthèse nette pour certains acides aminés (méthionine). Mais l'intérêt nutritionnel de telles transformations est à peu près nul dans la mesure où il n'y a pratiquement pas d'absorption d'acides aminés au niveau du territoire caeco-colique.

Au total, l'intense activité microbienne exercée dans le gros intestin à l'égard des matières azotées, n'est d'aucun bénéfice pour le porc. Par contre, l'interférence de la flore constitue une importante source d'erreur dans l'estimation de la digestibilité fécale apparente des acides aminés qui s'en trouve nettement surestimée, hors le cas de la méthionine qui voit généralement sa digestibilité sous-estimée. Ce cas particulier mis à part, la surestimation globale introduite par le fait de la flore microbienne est considérable (de l'ordre de 5 à 6 points de digestibilité en moyenne sur l'ensemble des acides aminés). Selon l'acide aminé considéré, cette surestimation est comprise entre 2 et 15 points. L'ampleur de cette surestimation varie aussi, pour un même acide aminé, selon la nature des matières premières étudiées (tableau 3).

TABLEAU 3
DIGESTIBILITÉS APPARENTES ILÉALES ET FÉCALES DE QUELQUES ACIDES AMINÉS
ESSENTIELS (D'APRÈS SAUER ET AL., 1977b)

BLE BROYE :	Finement		Grossièrement	
	Iléon	Fèces	Iléon	Fèces
ARG	92,0a	94,4a	86,5c	93,9a
HIS	91,1b	94,4a	85,7c	93,9a
ILE	90,2a	91,2a	85,6b	89,9a
LEU	91,5a	92,9a	87,6b	92,1a
LYS	81,5a	85,3a	72,6b	83,8a
PHE	92,9a	93,5a	89,4b	92,9a
THR	83,7b	88,7a	78,0c	87,3a
VAL	88,6a	91,3a	83,1b	90,5a
Azote	88,4b	93,4a	84,7c	92,3a

TABEAU 4
DIGESTIBILITÉS APPARENTES ILÉALES VS FÉCALES (IL/FEC DE QUELQUES MATIÈRES
PREMIÈRES COURANTES. D'APRÈS LENIS (1983)

	AZOTE (il/fec)	LYS (il/fec)	MET (il/fec)	THR (il/fec)	TRP (il/fec)
ORGE	72/80	74/73	84/75	71/77	71/81
MAÏS	79/88	76/78	90/85	76/86	-
BLÉ	81/88	74/78	86/86	74/85	76/87
SON BLÉ	60/70	57/53	68/64	33/58	51/73
T. COLZA	68/80	81/88	92/81	74/82	-
T. SOJA	79/88	86/90	85/84	76/87	77/90
F. OS ET VIANDE	57/76	63/73	72/73	57/71	53/72
F. POISSON	82/80	93/89	-	90/88	-

A ce stade de l'analyse, deux attitudes sont possibles. L'une consisterait à admettre que la surestimation liée à l'activité microbienne dans le gros intestin compense plus ou moins la sous-estimation due à l'excrétion d'azote endogène qui entre dans un bilan apparent. Peut être est-ce là une raison du choix de certains défenseurs de la digestibilité fécale (LENIS, 1983) dont les résultats montrent pourtant des écarts considérables (tableau 4). Le fait est que les Pays-Bas produisent des tables de composition fondées sur ce critère de digestibilité apparente fécale (Centraal Veevoederbureau in Nederland). Mais c'est à notre sens accepter le jeu aléatoire de multiples sources de variations ; celles-ci sont pour notre objectif autant de sources d'erreurs susceptibles de s'annuler, mais souvent aussi de s'additionner, les écarts observés variant de + 10 à -10 p.cent selon le régime et l'acide aminé considéré. La seconde attitude, face à des sources d'erreur clairement identifiées, est de tenter de les éliminer une à une. S'il reste pour l'instant difficile de pratiquer systématiquement une digestibilité réelle dans des conditions de fiabilité totale, il est par contre tout à fait possible de s'affranchir de l'erreur due à la flore. Il suffit pour cela de mesurer la digestibilité avant l'entrée des contenus digestifs dans le gros intestin, c'est-à-dire de pratiquer une digestibilité dite iléale par opposition à la digestibilité fécale.

4. LA DIGESTIBILITÉ ILÉALE : ANALYSE MÉTHODOLOGIQUE

Compte tenu de ce qui précède, on est fondé à rechercher une technique adéquate pour procéder au bilan à l'extrémité distale de l'intestin grêle, segment digestif par lequel est en définitive assurée la quasi totalité de l'absorption des acides aminés.

1) Les techniques de fistulation

L'accès artificiel à la lumière du tube digestif, nécessaire pour collecter des contenus en un site précis, la jonction iléo-caeco-colique, est assuré par fistulation chirurgicale, la fistule ainsi créée étant généralement équipée d'une canule. Autour de cette définition élémentaire et de la technique chirurgicale de base (MARKOWITZ, ARCHIBALD et DOWNIE, 1964), de multiples variantes sont possibles. Une première distinction essentielle concerne le principe de la fistulation : celle-ci peut être simple, il s'agit alors de la création d'un accès latéral sans interruption de la continuité de l'intestin ; elle peut être dite réentrante, supposant l'interruption de la continuité de l'intestin, dont les abouts sectionnés sont équipés de canules susceptibles d'être raccordées entre elles hors de la cavité abdominale.