

## INFLUENCE DE LA PORTÉE SUR L'HYPERSENSIBILITÉ DU PORCELET AUX PROTÉINES DE SOJA LORS DU SEVRAGE

D. DRÉAU (1,2), J.P. LALLÈS (2), C. LE JAN (1), R. TOULLEC (2), H. SALMON (1)

*Institut National de la Recherche Agronomique*

*(1) Laboratoire de Pathologie Infectieuse et Immunologie, 37380 Nouzilly*

*(2) Laboratoire du Jeune Ruminant, 65, rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes Cédex*

*Avec la collaboration technique de P. LECHOPIER (1) et P. BERNARDET (1)*

L'hypersensibilité aux protéines de soja chez le porcelet a été étudiée sur deux portées. Les animaux des lots témoin ( $n=4$  par portée) et traité ( $n=5$  par portée) ont reçu des aliments contenant soit un soja chauffé et dénaturé à l'alcool soit un mélange (1/9) de farine de soja cru et de tourteau de soja cuit.

Des différences variables suivant le traitement ont été observées entre les portées. Comparativement aux porcelets de la portée 1, ceux de la portée 2 ont eu un gain de poids vif inférieur au cours de la première semaine post-sevrage, mais uniquement dans le lot témoin (-150g vs 700,  $p=0,02$ ). Ils ont également davantage réagi à l'injection intradermique d'un extrait de soja chauffé et dénaturé à l'alcool: dans le lot témoin, ils ont développé un érythème plus étendu ( $63\text{mm}^2$  vs 12,  $p=0,05$ ) et dans le lot traité ils ont présenté une augmentation plus importante du pli cutané ( $110\ \mu\text{m}$  vs 0,  $p=0,07$ ). En revanche, ils ont eu des cryptes duodénales moins profondes dans le lot traité ( $330\ \mu\text{m}$  vs 393,  $p=0,03$ ).

Par ailleurs, dans le lot traité, les porcelets issus de la portée 1 ont développé des symptômes marqués de l'hypersensibilité aux protéines de soja. En effet, dans cette portée, l'ingestion d'un aliment contenant un mélange de soja cru et cuit s'est accompagnée d'une perte de poids au cours de la semaine post-sevrage (-100g vs 700,  $p=0,02$ ) et d'une réduction de la taille des villosités ( $344\ \mu\text{m}$  vs 482,  $p=0,01$ ). En outre, l'injection de l'extrait de soja chauffé et dénaturé à l'alcool a provoqué dans le groupe traité par rapport au lot témoin, une augmentation de l'aire de l'érythème cutané ( $48\text{mm}^2$  vs 12,  $p=0,05$ ).

### **Litter influence on hypersensitivity to soybean proteins in early weaned piglets**

Hypersensitivity to soybean protein in early weaned piglets were studied on two litters from two different sows. Animals from control ( $n=2\times 4$ ) and treated ( $n=2\times 5$ ) groups were given meals containing respectively, alcohol treated soybean protein concentrate or a mixture (1/9) of raw or heated soybean meals.

According to groups, various differences between the two litters were observed. During the first week post-weaning, a lower body weight in the piglets from litter 2 compared to those from litter 1 was recorded in the control group (-150 vs 700g,  $p=0,02$ ). The piglets from litter 2 also reacted more to intradermal injection of an extract of alcohol treated soybean proteins: in the control group, they developed a higher erythema area (63 vs  $12\text{mm}^2$ ,  $p=0,05$ ) and in the treated group they showed a more important increase of the skin-fold thickness ( $110\ \mu\text{m}$  vs 0,  $p=0,07$ ). But in the treated group, they had lower duodenal crypt depth (330 vs  $393\ \mu\text{m}$ ,  $p=0,03$ ).

However, in the treated group, piglets from litter 1 developed pronounced signs of the major characteristics of hypersensitivity to soybean proteins. Indeed, differences between the two groups were recorded either in body weight gain (700 vs -100g,  $p=0,02$ ) and in villus height (344 vs  $482\ \mu\text{m}$ ,  $p=0,01$ ). Moreover, injection of alcohol treated soybean extract produced a higher erythema area in treated than in control group (48 vs  $12\text{mm}^2$ ,  $p=0,05$ ).

## INTRODUCTION

Depuis de nombreuses années, les études épidémiologiques réalisées chez l'enfant font état d'une augmentation des intolérances alimentaires impliquant des composantes du système immunitaire (KJELLMANN, 1988). Ces hypersensibilités (MERCHANT et al., 1991) sont principalement dues aux protéines du lait, des oeufs, du poisson mais aussi à celles du blé, du maïs ou du soja (CHAPMAN, 1992). Parmi les animaux sujets à ces maladies (BARRATT et al., 1978 ; MERCHANT et al., 1988), le porc constitue un modèle intéressant (TUMBLESON, 1986) notamment, pour l'étude des mécanismes de l'hypersensibilité.

Chez le porcelet, l'hypersensibilité alimentaire aux protéines du soja est transitoire et limitée à la période du sevrage (BARRATT et al., 1978). Elle se traduit par une consommation alimentaire moindre, des diarrhées et une perte de poids (LI et al., 1991). Ces symptômes coïncident avec une atrophie villositaire importante et des titres élevés d'anticorps dirigé contre le soja (DUNSFORD et al., 1985 ; LI et al., 1990). Avec des aliments contenant un soja dénaturé à chaud en milieu éthanolique, ces manifestations ne sont pas observées (HANCOCK et al., 1989). Ce traitement supprime le pouvoir antigénique des protéines majeures du soja (KILSHAW et SISSONS, 1979).

Les variations de croissance entre les portées (SEVE, 1986) confirme la prépondérance du critère portée dont la composante majeure est l'influence maternelle (LEGAULT et AUMAITRE, 1966). En effet, au cours de la lactation, le colostrum puis le lait apportent au jeune outre les principaux nutriments, les anticorps maternels et les antigènes circulants (TELEMO et al., 1991 ; KLOBASA et al. 1981, 1986).

Dans notre essai, nous avons étudié l'influence de la portée sur l'hypersensibilité alimentaire aux protéines de soja chez le porcelet.

## 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1.1. Animaux et alimentations

Dix huit porcelets (Landrace x Meishan) issus de deux mères (portées 1 (n=9) et 2 (n=9)) ayant un poids de naissance de  $1,45 \pm 0,25$  kg ont été utilisés. Pour limiter le transfert passif via le colostrum des anticorps maternels anti-soja, les truies ont été nourries à partir du 109<sup>ème</sup> jour de gestation d'un aliment dépourvu de soja (Aliment truie, tableau 1). Les porcelets ont été allotés de façon aléatoire en deux groupes A (n=4 par portée) et B (n=5 par portée). Entre les jours 5 et 9, les porcelets ont été sensibilisés par l'ingestion quotidienne de 6g de la matière azotée des aliments respectifs (A et B, tableau 1).

Tableau 1 - Composition des aliments

Ingrédient, %	Aliment truie	Aliments porcelet	
		A	B
farine de soja cru(50,4% MAT)	-	-	2,80
tourteau de soja chauffé (49,5% MAT)	-	-	25,50
concentré de protéines de soja traité à l'alcool (67,9% MAT)	-	21,60	
maïs	-	34,57	35,90
blé	69,60	25,00	23,60
gluten de blé	10,00	-	-
farine de poisson	5,00	3,00	3,00
son de blé	12,00	-	-
huile de soja	0,63	1,00	3,60
amidon de maïs	-	9,00	-
oligo éléments+vitamines	1,00	1,00	1,00
chlorure de sodium	-	0,30	0,30
phosphate dicalcique	0,06	2,90	2,65
carbonate de calcium	1,70	1,27	1,37
méthionine	-	0,09	0,06
lysine	0,01	0,27	0,22
Matière Azotée Totale* (%)	14	22	22
Énergie Digestible* (kCal/kg)	3110	3462	3450

\*: valeurs calculées (INRA, 1989)

Le groupe témoin (A) a reçu un aliment réalisé à partir d'un concentrat de soja chauffé à l'alcool (aliment A, tableau 1). Ce traitement dénature les principales protéines du soja (glycine et  $\beta$ -conglycine) et rend cet aliment non-antigénique pour ces protéines (KILSHAW et SISSONS, 1979). La matière azotée de l'aliment du groupe traité (B) était composée d'un mélange (1/9) de farine crue et de tourteau de soja cuit (aliment B, tableau 1). Le sevrage a été réalisé au jour 21. Les animaux des deux groupes ont été nourris ad libitum. L'état général et

l'évolution pondérale hebdomadaire des porcelets ont été consignés. La consommation quotidienne d'aliment par groupe ainsi que les signes de diarrhées ont été notés du sevrage à l'abattage. Celui-ci a été réalisé entre les jours 28 et 32.

### 1.2. Histologie

Des échantillons de duodénum ont été prélevés à l'abattage des porcelets et fixés dans du formaldéhyde à 10%, pH=7.

Après inclusion dans la parafine, les échantillons ont été découpés en sections de 5 mm d'épaisseur puis colorés par l'hématoxiline-éosine. La morphométrie de la muqueuse intestinale a été étudiée à un grossissement 10x par le système analytique semi-automatique de mesure VIDS3 (Shirrehill Industrial State, Sassron, Walden, UK).

### 1.3. Tests cutanés

Les animaux anesthésiés ont reçu par voie intradermique 0,5mg d'extrait des différentes sources de soja utilisées dans la préparation des aliments. L'aire de l'érythème (HEPPELL et al, 1989) et l'épaisseur du pli (BLECHA et al, 1983) cutanés ont été mesurées, respectivement 30 min et 24 h après l'injection.

### 1.4 Analyse statistique

Après étude de la variance (SuperANOVA, Abacus Concepts, Inc., Berkeley CA), toutes les données ont été analysées par

le test U de Mann Whitney.

## 2. RÉSULTATS

L'analyse de la variance des résultats n'ayant pas fait apparaître d'interactions significatives entre le sexe ou le poids de naissance et les régimes alimentaires, l'analyse prend uniquement en compte les effets groupe et portée.

### 2.1. Performances

#### 2.1.1. Période pré-sevrage

Les animaux des deux portées ont un gain de poids similaire durant les 3 premières semaines de vie. Cependant, au cours de la 2<sup>ème</sup> semaine, dans le lot traité de la portée 1, une réduction sensible du gain de poids est observée (2110 vs 1992g,  $p=0,06$ , tableau 2). Du fait de plus fortes variations individuelles, cette réduction n'est pas significative dans la portée 2.

**Tableau 2** - Gain de poids hebdomadaire (moyenne±se (g))

Période	Lot	Portée 1	Portée 2	Différences inter-portées
J0-J7	A	1247±72	1225±199	$p>0,20$
	B	1294±60	1260±172	$p>0,20$
J7-J14	A	2110±27	2227±341	$p>0,20$
	B	1992 <sup>#</sup> ±52	1846±284	$p>0,20$
J14-J21	A	1570±349	2023±218	$p>0,20$
	B	1892±122	2026±63	$p>0,20$
J21-J28	A	700±41	-150±119	$p=0,02$
	B	-100 <sup>#</sup> ±138	-20±136	$p>0,20$

<sup>#</sup>:  $p<0,1$  entre les lots d'une même portée.

#### 2.1.2. 1<sup>ère</sup> semaine post-sevrage

Les premiers signes de diarrhées sont observés dans le lot traité, dès le troisième jour après le sevrage. Dans le lot témoin, les mêmes symptômes sont relevés chez les porcelets de la portée 2 à partir du 5<sup>ème</sup> jour post-sevrage. L'ensemble des porcelets des deux portées consommant l'aliment antigénique perdent du poids. Dans le lot témoin, les animaux gagnent ou perdent du poids selon leur portée d'origine (+700g vs -150,  $p=0,02$ , tableau 2). Dans la portée 1, si l'aliment témoin permet un gain pondéral, la consommation de l'aliment antigénique se

traduit par une perte de poids importante (+700g vs -100,  $p=0,02$ , tableau 2).

### 2.2. Histologie

La taille des villosités duodénales est réduite chez les animaux du lot traité quelle que soit la portée. Cette modification de la muqueuse intestinale est plus nette pour les porcelets issus de la portée 1 (29% vs 26, tableau 3). Par ailleurs, la profondeur des cryptes varie dans le lot traité entre les portées (393µm vs 330,  $p=0,03$ , tableau 3).

**Tableau 3** - Morphométrie de la muqueuse duodénale (moyenne±se(µm))

Mesure	Lot	Portée 1	Portée 2	Différences inter-portées
Hauteur des villosités	A	482±16	424±63	$p>0,20$
	B	344 <sup>#</sup> ±26	314 <sup>#</sup> ±16	$p>0,20$
Profondeur des cryptes	A	366±13	356±17	$p>0,20$
	B	393±11	330±18	$p=0,03$

<sup>#</sup>:  $p<0,1$  entre les lots, d'une même portée.

### 2.3. Tests cutanés

Après l'injection des extraits de soja cru ou de tourteau de soja cuit, l'aire de l'érythème et l'épaisseur du pli cutané ne varient

pas entre les portées.

Cependant, l'extrait de soja cru provoque un épaississement du pli cutané dans le lot témoin de la portée 2 (233 $\mu$ m vs 40,  $p=0,05$ , tableau 5).

**Tableau 4** - Aire de l'érythème (moyenne $\pm$ se(mm<sup>2</sup>)) 30 min après l'injection intradermique des extraits des différentes sources de soja

Extrait injecté (mg)	Lot	Portée 1	Portée 2 <sup>(a)</sup>	Différences inter-portées
soja cru (0,5)	A	19 $\pm$ 16	37 $\pm$ 14	$p>0,20$
	B	50 $\pm$ 27	56 $\pm$ 26	$p>0,20$
soja chauffé (0,5)	A	24 $\pm$ 11	43 $\pm$ 21	$p>0,20$
	B	43 $\pm$ 12	39 $\pm$ 11	$p>0,20$
soja traité à l'alcool (0,5)	A	12 $\pm$ 6	63 $\pm$ 20	$p=0,05$
	B	48 <sup>#</sup> $\pm$ 9	25 <sup>#</sup> $\pm$ 13	$p=0,14$

(a): dans le lot B, n=3.

#:  $p<0,1$  entre les lots A et B d'une même portée.

Des variations de l'aire de l'érythème et de l'épaississement du pli cutané entre les portées sont observées après l'injection de l'extrait de soja traité à l'alcool. Dans le lot témoin, la surface de l'érythème provoqué par l'administration de ce produit est

différente entre les deux portées (12mm<sup>2</sup> vs 63,  $p=0,05$ , tableau 4.). Dans le lot traité, l'injection d'un extrait de soja traité à l'alcool se traduit par des différences entre les deux portées dans l'épaississement du pli cutané (0 vs 110 $\mu$ m,  $p=0,07$ , tableau 5).

**Tableau 5** - Variations de l'épaisseur du pli cutané (moyenne $\pm$ se ( $\mu$ m)) 24h après l'injection intradermique des extraits des différentes sources de soja

Extrait (mg)	Lot	Portée 1	Portée 2 <sup>(a)</sup>	Différences inter-portées
soja cru (0,5)	A	100 $\pm$ 28	233 $\pm$ 101	$p>0,20$
	B	0 $\pm$ 0	40 <sup>#</sup> $\pm$ 40	$p>0,20$
soja chauffé (0,5)	A	165 $\pm$ 16	150 $\pm$ 104	$p>0,20$
	B	67 $\pm$ 66	200 $\pm$ 95	$p=0,18$
soja traité à l'alcool (0,5)	A	100 $\pm$ 76	167 $\pm$ 17	$p>0,20$
	B	0 $\pm$ 0	110 $\pm$ 40	$p=0,07$

(a): dans le lot B, n=3.

#:  $p<0,1$  entre les lots A et B d'une même portée.

### 3. DISCUSSION-CONCLUSION

Compte tenu de deux caractères majeurs, la perte de poids et de l'atrophie villositaire (BARRATT et al 1978; LI et al 1990), une réaction d'hypersensibilité aux protéines de soja est reproduite, au moins dans la portée 1. Dans le lot traité de cette portée, les résultats sont en accord avec ceux observés dans la mesure, tant de l'aire de l'érythème chez le veau (HEPPELL et al, 1989) que de l'épaisseur du pli cutané chez le porcelet (LI et al., 1991).

Les différences de réaction aux régimes témoin et traité des porcelets des deux portées résultent de nombreux facteurs notamment génétiques (SÈVE, 1986). Cependant comme l'ont souligné des travaux précédents (LEGAULT et AUMAITRE, 1966), la portée et principalement sa composante maternelle influe sur l'ensemble du développement du porcelet. Son rôle

dans les performances du jeune a déjà été établi (LEGAULT et AUMAITRE, 1966). Durant la phase d'allaitement, le jeune reçoit via le colostrum et le lait les anticorps maternels (BOURNE et CURTIS, 1973) ainsi que des antigènes (TÉLÉMO et al., 1991) en quantités variables. Dans l'immunité du porcelet, les anticorps maternels transmis ont un rôle de protection. Afin de limiter la transmission d'anticorps anti-soja circulants, les mères avaient été privées de soja 15 jours avant la mise bas et durant toute la lactation (LI et al., 1990). Cependant, l'analyse qualitatives des réactivités (immunoblots) des sérums des truies contre les antigènes du soja démontre a posteriori, l'existence d'anticorps dirigés contre la plupart des protéines du soja (DREAU, résultats non publiés). De plus, ces sérums diffèrent nettement par la spécificité de leurs anticorps vis à vis du soja. Le transfert au jeune (BOURNE et CURTIS, 1973) d'anticorps anti-soja de spécificité différente, pourrait en partie expliquer les variations observées entre les deux portées.

En conclusion, les résultats présentés ici montrent que l'effet portée est prépondérant au cours des premières semaines de la vie du jeune. Dans l'une des portées, un aliment contenant un mélange (1/9) de farine de soja cru et de tourteau de soja

cuit permet l'induction d'une hypersensibilité alimentaire. Les travaux en cours tentent d'explicitier la nature des protéines et des mécanismes impliqués dans le déclenchement de cette pathologie.

#### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARRATT M.E.J., STRACHAN P.J., PORTER P., 1978. Clin. Exp. Immunol. 31, 305-312.
- BLECHA F., POLLMANN D.S., NICHOLS D.A., 1983. J. Anim. Sci. 56, 396-402.
- BOURNE F.J., CURTIS J., 1973. Immunology 24, 157-162.
- CHAPMANN M.D., 1992. In «Encyclopedia of immunology». 50-56. I.M. Roitt, P.J. Delves éd., Accademic Press, Londre, UK.
- DUNSFORD B.R., KNABE D.A., HAENSLY W.E., 1989. J. Anim. Sci. 67, 1855-1863.
- HANCOCK J.D., PEO JR E.R., LEWIS A.J., MOXLEY R.A., 1990. J. Anim. Sci. 68, 3244-3251.
- HEPPELL L.M.J., SISSONS J.W., STOBO I.J.F., THURSTON S.M., DUVAUX C., 1987. In «Food Allergy». 109-115. R.K. Chandra éd., Nutrition Research Education Foundation, St John's, Newfoundland.
- INRA., 1989. L'alimentation des animaux monogastriques: porc, lapin, volailles. I.N.R.A. éd. Paris.
- KILSHAW P.J., SISSONS J.W., 1979. Res. Vet. Sci. 27, 361-365.
- KJELLMANN N.I.M., 1988. In «Food Allergy». 119-126. Nestlé Nutrition Workshop éd., Raven press, New York.
- KLOBASA F., BUTLER J.E. WERHAHN E., HABE F., 1986. Vet. Immunol. Immunopathol. 11, 149-159.
- KLOBASA F., HABE F., WERHAHN E., BUTLER J.E., 1981. Res. Vet. Sci. 31, 195-207.
- LEGAULT C., AUMAITRE A., 1966. Ann. Zootech. 15, 333-341.
- LI D.F., NELSEN J.L., REDDY P.G., BLECHA F., KLEMM R., GOODBAND R.D., 1991. J. Anim. Sci. 69, 4062-4069.
- LI D.F., REDDY J.L., BLECHA F., HANCOCK J.D., ALLEE G.L., GOODBAND R.D., KLEMM R.D., 1990. J. Anim. Sci. 68, 1790-1799.
- LI D.L., NELSEN J.L., REDDY P.G., BLECHA F., KLEMM R., GIESTING D.W., HANCOCK J.D., ALLEE G.L., GOODLAND D., 1991. J. Anim. Sci. 69, 3299-3307.
- MERCHANT S.R., TABOADA J., 1991. Seminars in Vet. Med. Surg. 6, 316-321.
- SÈVE B, 1986. In «Le porc et son élevage». 403-429. Maloine éd., Paris.
- TÉLÉMO E., BAILEY M. MILLER B.G., STOKES C.R., BOURNE F.J., 1991. Scand. J. Immunol. 34: 689-696.
- TUMBLESON M.E., 1986. Swine in medical research. 3 vol. Tumbleson M.E. éd., Plenum Press, New York. 1988p.