

La vitamine B₆ (pyridoxine) et la vitamine B₂ (riboflavine): doit-on réviser les recommandations pour le porcelet en sevrage hâtif ?

J. J. MATTE, Christiane GIRARD, B. SÈVE

(1) Agriculture et Agro-Alimentaire Canada, Centre de Recherche et de Développement sur le bovin laitier et le porc
Lennoxville, Québec, J1M 1Z3, Canada

(2) I.N.R.A., Station de Recherches Porcines - 35590, Saint-Gilles

avec la collaboration technique de M. Guillette, S. Provencher, M. Morissette et F. Phaneuf

La vitamine B₆ (pyridoxine) et la vitamine B₂ (riboflavine) : doit-on réviser les recommandations pour le porcelet en sevrage hâtif ?

Cette expérience visait à déterminer l'effet de suppléments parentéraux de pyridoxine et du niveau d'alimentation sur le statut en pyridoxine et en riboflavine de même que sur la réponse glycémique et insulinémique au glucose entéral chez des porcelets sevrés à l'âge de deux semaines. Quarante deux porcelets ont été distribués en sept blocs de 6 animaux chacun. À l'intérieur de chaque bloc, les animaux ont reçu les traitements factoriels suivants: deux niveaux d'alimentation contrôlés par gavage gastrique, 28 et 56 g/kg^{0.75} par jour, et trois niveaux de vitamine B₆ parentérale soit, saline, 15 et 30 mg par jour. Chez les porcelets recevant la saline (pyridoxine alimentaire de base de 2,7 ppm), une baisse de 20 et 60 % du pyridoxal-5-P plasmatique et érythrocytaire, respectivement, a été observée pendant les deux semaines suivant le sevrage. Les mesures du statut en pyridoxine de même que celles de la glycémie et de l'insulinémie stimulées par un bolus entéral de glucose suggèrent qu'un niveau optimal ait été atteint avec 15 mg par jour de pyridoxine parentérale. L'utilisation métabolique du pyridoxal-5-P s'est accrue lorsque l'apport d'aliment au porcelet (et sa croissance) était élevé. De plus, la baisse du statut en riboflavine, plus prononcée chez les porcelets à niveaux élevés d'alimentation et de pyridoxine, suggère l'existence d'un ratio optimum entre l'apport de riboflavine et de pyridoxine en période post-sevrage. D'autres études sont nécessaires afin de déterminer la concentration optimale de pyridoxine alimentaire qui permettra de reproduire sur les différents indicateurs métaboliques les effets des apports parentéraux et ce, tout en tenant compte du statut en riboflavine du porcelet.

Vitamin B₆ (pyridoxine) and vitamin B₂ (riboflavin): should we revise the requirements for early-weaned piglets ?

The present experiment aimed to determine the effects of parenteral supplements of pyridoxine and level of feed intake on pyridoxine and riboflavin status as well as on glycemia and insulinemia stimulated by enteric glucose in piglets weaned at 2 weeks of age. Forty two piglets were distributed in 6 blocks of 7 animals each. Within each block, piglets received the following factorial treatments: two levels of feeding controlled by a permanent gastric tube, 28 and 56 g/kg^{0.75} daily, and three levels of daily parenteral vitamin B₆, saline, 15 and 30 mg. In piglets receiving saline (basic dietary pyridoxine of 2.7 ppm) a drop of 20 and 60 % in plasma and red blood cells pyridoxal-5-P, respectively, was observed. The data on pyridoxine status as well as those on glycemia and insulinemia stimulated by enteric glucose suggest that an optimal daily parenteral pyridoxine was reached at 15 mg. The metabolic use of pyridoxal-5-P increased in high-fed (fast-growing) piglets. Moreover, the decrease in riboflavin status, which was more pronounced in piglets with the highest feeding and pyridoxine supplies suggest the existence of an optimal ratio between riboflavin and pyridoxine supply after early weaning. Further studies are necessary to determine the optimal dietary level of pyridoxine which will reproduce on metabolic indexes the effects of parenteral supplements, taking into account the riboflavin status of the piglets.

INTRODUCTION

Le sevrage précoce est une pratique qui se répand rapidement en Amérique du nord compte tenu de son impact économique important sur la productivité annuelle de la truie; en France, l'objectif vise plutôt à sauver les porcelets excédentaires des portées trop nombreuses. Théoriquement, la croissance du porcelet pourrait être favorisée car, dans des conditions usuelles d'élevage (lactation de 4 semaines), la production laitière de la truie ne permet pas aux porcelets d'exprimer leur pleine capacité de croissance (BOYD et al., 1995). Cependant, le succès à long terme de cette pratique d'élevage est dépendant de l'aptitude du porcelet à s'adapter à un sevrage aussi précoce qu'à l'âge de deux semaines. Les besoins en vitamines, particulièrement celles du complexe B, du jeune porcelet n'ont pas encore été déterminés dans de telles conditions. Les recommandations actuelles sont, en fait, fondées sur des bases plus empiriques (souvent à partir des recommandations pour le porc en croissance et la truie) que scientifiques.

La période de sevrage chez le porcelet entraîne des changements drastiques au niveau de l'apport et de la biodisponibilité des vitamines hydrosolubles. En l'occurrence, le statut des porcelets en folates (MATTE et al., 1990; LETENDRE et al., 1991), en vitamine B12 (BILODEAU et al., 1989) et en vitamine C (YEN et POND, 1988) chute entre l'âge de 21 et 28 jours (sevrage) pour atteindre un minimum entre l'âge de 5 à 8 semaines. En ce qui a trait à la pyridoxine, les informations sont beaucoup plus limitées et anciennes. On sait que le lait de truie est pauvre en vitamine B6; il en contient environ 0,40 µg/ml (KIRCHGESSNER et al., 1988; BENEDIKT, 1996). Un calcul factoriel indique que le porcelet sous la mère ne peut retrouver dans le lait maternel qu'environ la moitié du besoin quotidien qu'exige sa croissance rapide (COBURN, 1990). Il est donc plausible que le statut en pyridoxine, comme c'est le cas pour d'autres vitamines hydrosolubles, soit très bas au moment du sevrage. De plus, l'oxydation *in vivo* des acides aminés nécessitant le pyridoxal-5-P (un des métabolites actifs de la pyridoxine) comme cofacteur enzymatique augmente fortement au sevrage car les protéines de l'aliment de sevrage sont plus abondantes et moins bien équilibrées que celle du lait de truie. Le besoin en pyridoxine chez le porcelet sevré est donc probablement très élevé. Des données récentes semblent confirmer cette hypothèse car l'utilisation métabolique du pyridoxal-5-P est considérablement diminuée lorsque la croissance de l'animal est ralentie ou inhibée (MATTE et al., 1997). De plus, la réponse de l'insuline (une hormone clé pour le métabolisme aminé et protéique) après une infusion duodénale de glucose a augmenté suite à l'administration parentérale journalière de 15 mg de pyridoxine (MATTE et al., 1997).

Le besoin en pyridoxine est relié à celui d'autres vitamines notamment la riboflavine (vitamine B2). Les métabolites actifs de la riboflavine, comme le FMN (flavine mononucléotide) et le FAD (flavine adénine dinucléotide) interviennent dans les réactions de la chaîne respiratoire menant à la production d'ATP. Ils agissent également comme coenzymes dans les réactions menant au catabolisme des acides gras et à une utilisation optimale (catabolisme et transamination) des

acides aminés (Le GRUSSE et WATIER, 1993). De plus, ils interviennent dans la conversion de la pyridoxine en ses coenzymes actifs phosphorylés et en sa forme excrétoire, l'acide 4-pyridoxique (LeGRUSSE et WATIER, 1993).

Nous avons donc tenté de déterminer l'effet de suppléments parentéraux de pyridoxine chez des porcelets sevrés à l'âge de deux semaines et soumis à deux niveaux d'alimentation sur le statut en pyridoxine et en riboflavine de même que sur la réponse insulinémique au glucose entéral.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES.

1.1. Les animaux et les traitements.

Quarante deux porcelets (mâles castrés et/ou femelles) ont été utilisés dans cette expérience sur une période de trois semaines suivant le sevrage (âge moyen de 16 jours). Ils ont été distribués en six blocs de 7 animaux chacun. Le niveau d'alimentation a été contrôlé par le gavage gastrique (CORTAMIRA et al., 1991). Un aliment commercial (à base de blé, maïs, poudre de lactosérum, tourteau de soya et protéine de plasma) a été servi sous forme liquide, soit 1 part d'aliment sec dans 2 parts d'eau. Il contenait 2,7 ppm de pyridoxine et 8,9 ppm de riboflavine. Deux niveaux d'alimentation, 28 (A28) et 56 (A56) g/kg^{0.75} (poids corporel) par jour, ont été utilisés afin de simuler un sevrage difficile et réussi, respectivement. Trois niveaux de vitamine B6, soit 0 (B0), 15 (B15) et 30 mg (B30) ont été ajoutés à une solution saline physiologique administrée chaque jour par voie parentérale. Des prélèvements sanguins ont été effectués au moyen de tubes Vacutainer® dans la veine jugulaire avant l'attribution des traitements puis une fois par semaine jusqu'à l'âge de 4 semaines afin de mesurer l'évolution du statut en pyridoxine et riboflavine circulant; ces prélèvements ont été faits tout juste avant l'injection de pyridoxine. Selon les blocs, les animaux ont été pesés deux ou trois fois la semaine afin d'ajuster leur consommation alimentaire en fonction de leur gain de poids. Un cathéter jugulaire a été installé, quatre jours avant la fin de l'expérience, selon une technique non-chirurgicale récemment mise au point (MATTE, 1997). Le lendemain, un test de tolérance au glucose a été réalisé par administration d'un bolus intragastrique de glucose (5,4 g /kg de poids corporel) chez l'animal à jeun, suivie de prélèvements sanguins répétés (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 et 240 min) en vue du dosage de l'insuline et du glucose. À la fin de l'expérience, les porcelets ont été abattus et les carcasses ont été congelées pour mesurer leur concentration et éventuellement leur contenu total de pyridoxine.

1.2. Les mesures

La mesure des concentrations plasmatique et érythrocytaire de pyridoxal-5-phosphate a été faite selon une méthode fluorométrique adapté (MATTE et al., 1997) de SRIVASTAVA et BEUTLER (1973). Dans la carcasse, la pyridoxine, la pyridoxamine, le pyridoxal (incluant le pyridoxal-5-P) et l'acide pyridoxique (la forme excrétoire de la pyridoxine)

ont été mesurés par HPLC après hydrolyse acide avec 0,044 M HCl. Le volume injecté était de 20 μ L. La chromatographie a été réalisée à l'aide d'un système Beckman (pompe # 126, autoéchantillonneur # 506A, convertisseur digital # 406, pré-colonne de 4,6 mm x 4,5 cm et colonne de 4,6 mm x 25 cm Ultrasphere ODS 5 μ) en utilisant, en conditions isocratiques, une phase mobile de 0,04 M H₂SO₄ à 1 mL/min pour une période de 15 min. La détection a été effectuée par fluorométrie (Perkin Elmer LC240 ajusté à une émission et excitation de 290 et 395 nm, respectivement). La réponse des standards était linéaire ($R^2 = 0,99$) entre 0 et 1000 nM pour la pyridoxamine, le pyridoxal et la pyridoxine et entre 0 et 10 μ M pour l'acide 4-pyridoxique. Le statut en riboflavine a été estimé à l'aide de l'activité glutathione réductase des érythrocytes (GRE) selon une méthode adaptée de NICHOLDS (1974).

Le glucose plasmatique a été mesuré par la méthode de GOD/PAP # 166 391 (Boehringer Mannheim) et l'insuline à l'aide de kits radioisotopiques (#KTSP 11001, Immunocorp, Montréal, Canada) dont l'utilisation a été validée (parallélisme et recouvrement) dans nos laboratoires. Les coefficients de variation intra- et inter-essais étaient de 2,7% et 3,7%, respectivement.

1.3. Les analyses statistiques

Les données ont été analysées en utilisant la procédure du modèle général linéaire (GLM) de SAS (1990) avec les trai-

tements factoriels 2 (A28 et A56) x 3 (B0, B15 et B30) distribués selon un dispositif en blocs complets. Pour les données en mesures répétées, l'effet de l'âge (statut en pyridoxine et riboflavine) ou du temps suivant la surcharge de glucose (glycémie et insulinémie) ainsi que les interactions avec les traitements ont été décomposés en contrastes polynomiaux indépendants (effets linéaire, quadratique etc); les termes d'erreurs utilisés, dans ce cas, ont été calculés selon ROWELL et WALTERS (1976).

2. LES RÉSULTATS ET LA DISCUSSION

2.1. Le statut en pyridoxine

La concentration de pyridoxal-5-P dans les érythrocytes a diminué (de 2,8 à 1,8 μ mol/L) pendant les deux semaines suivant le sevrage chez les porcelets B0 alors qu'elle triplait chez les animaux B15; aucun accroissement supplémentaire n'a été observé chez les porcelets B30 (figure 1; interaction pyridoxine quadratique x âge quadratique, $P < 0,01$). Un tel effet indique que le niveau de pyridoxine de l'aliment (2,7 ppm), qui correspond au niveau généralement recommandé (NRC, 1988; ARC, 1981), n'a pas suffi à maximiser le stockage du pyridoxal-5-P dans les érythrocytes. Il semble que le niveau optimal pour cette variable ait été atteint avec 15 mg par jour de pyridoxine assimilable.

Figure 1 - Évolution de la concentration en pyridoxal-5-P érythrocytaire selon le niveau d'alimentation et le supplément parentéral de pyridoxine.

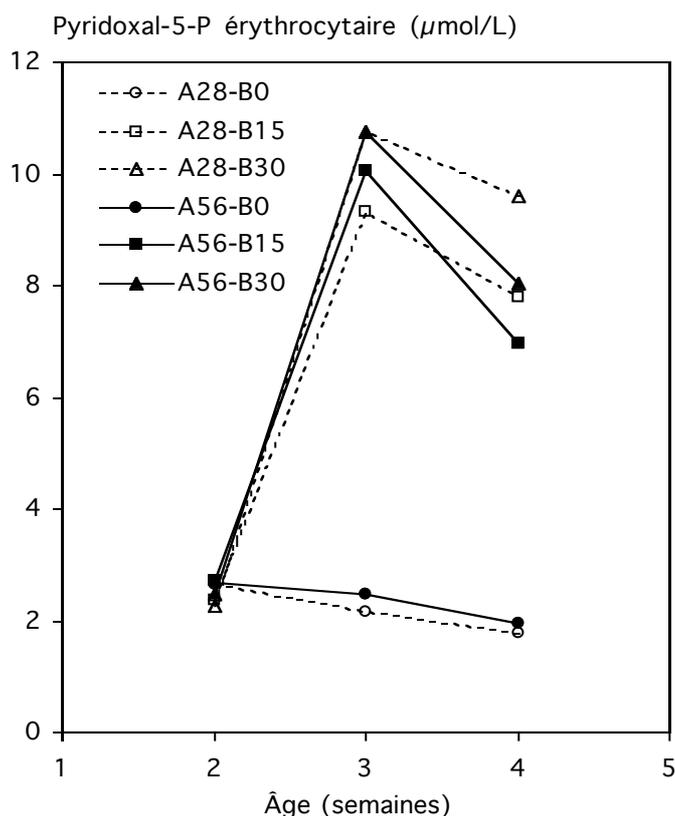
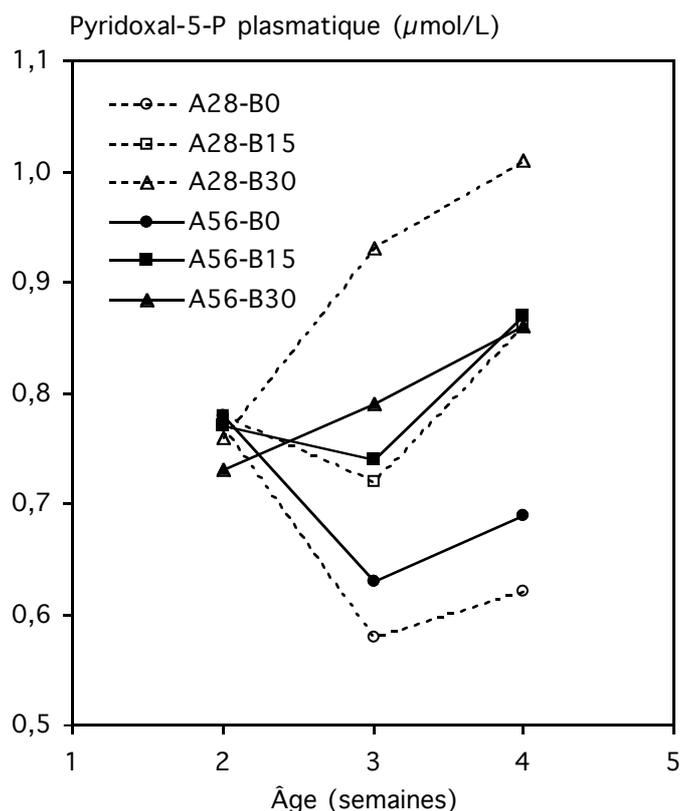


Figure 2 - Évolution de la concentration en pyridoxal-5-P plasmatique selon le niveau d'alimentation et le supplément parentéral de pyridoxine.



La réponse du pyridoxal-5-P plasmatique aux suppléments de pyridoxine a été modifiée par le niveau d'alimentation (interaction alimentation x pyridoxine linéaire x âge linéaire; $P < 0,02$)(figure 2, p 255). Chez les porcelets A56, la réponse du pyridoxal-5-P a été similaire à celle des érythrocytes mais la différence entre traitements était beaucoup moins prononcée (environ 40 % plus élevée chez B15 et B30 que chez B0). Cependant, chez les porcelets A28, la réponse du pyridoxal-5-P plasmatique n'a pas plafonné avec un supplément parentéral de 15 mg; en fait, elle était 20 % plus élevée chez les porcelets B30 comparativement aux B15. Ces résultats confirment que le niveau de pyridoxine de l'aliment (2,7 ppm) (B0) n'a pas suffi à maintenir ou à augmenter le statut en pyridoxal-5-P circulant. De plus, ils mettent en évidence la relation qui avait été avancée précédemment (MATTE et al., 1997) entre le taux de croissance et l'utilisation métabolique de la pyridoxine. La concentration en pyridoxal-5-P plasmatique semble refléter l'utilisation métabolique de cette vitamine. Lorsque que les besoins métaboliques sont faibles comme cela est probablement le cas chez les porcelets A28 ayant un GMQ d'environ 25 g par jour, le pyridoxal-5-P plasmatique augmente avec l'apport exogène de pyridoxine. Par contre, lorsque les besoins métaboliques sont grands, comme cela est probablement le cas chez les porcelets A56 ayant un GMQ d'environ 100 g par jour, il n'y a pas d'accumulation de pyridoxal-5-P dans le plasma.

Les quantités totales des différents métabolites de la pyridoxine retrouvées dans la carcasse différaient selon le niveau d'alimentation

et le supplément parentéral de pyridoxine (figure 3); cela est dû à la différence des poids total des carcasses à l'abattage plus élevé chez les porcelets A56. Le contenu total en métabolites de la pyridoxine augmentait linéairement ($P < 0,048$) avec l'apport parentéral de B6, cet effet étant causé principalement par les quantités de pyridoxine ($P < 0,041$) et d'acide 4-pyridoxique ($P < 0,069$), les formes non-métabolisée et excrétoire de cette vitamine, respectivement. Les pools corporels de pyridoxamine et de pyridoxal, formes métaboliquement actives de la pyridoxine, semble être relativement indépendant de l'apport exogène de B6, probablement parce que ces deux métabolites se retrouvent principalement dans le muscle sous forme liées à des complexes enzymatiques (RUSSELL et al., 1985; McDOWELL, 1989; COBURN, 1990).

2.2 La glycémie et l'insulinémie stimulées par le glucose entéral

La glycémie était plus basse chez les porcelets A28 (interaction aliment x temps post-bolus cubique; $P < 0,001$) alors que l'insulinémie (interaction pyridoxine quadratique x temps post-bolus quadratique; $P < 0,024$) et la glycémie (interaction pyridoxine quadratique x temps post-bolus cubique; $P < 0,018$) étaient plus basses chez les porcelets B15 à 30 et 60 minutes post-bolus. Cet effet de la pyridoxine contraste avec les résultats d'une expérience précédente (MATTE et al., 1997) qui montrait l'absence d'effet de la pyridoxine sur la glycémie mais un effet stimulateur sur l'insulinémie en réponse à une infusion duodénale de glucose.

Figure 3 - Distribution des différents métabolites de la pyridoxine dans les carcasses selon le niveau d'alimentation et le supplément parentéral de pyridoxine.

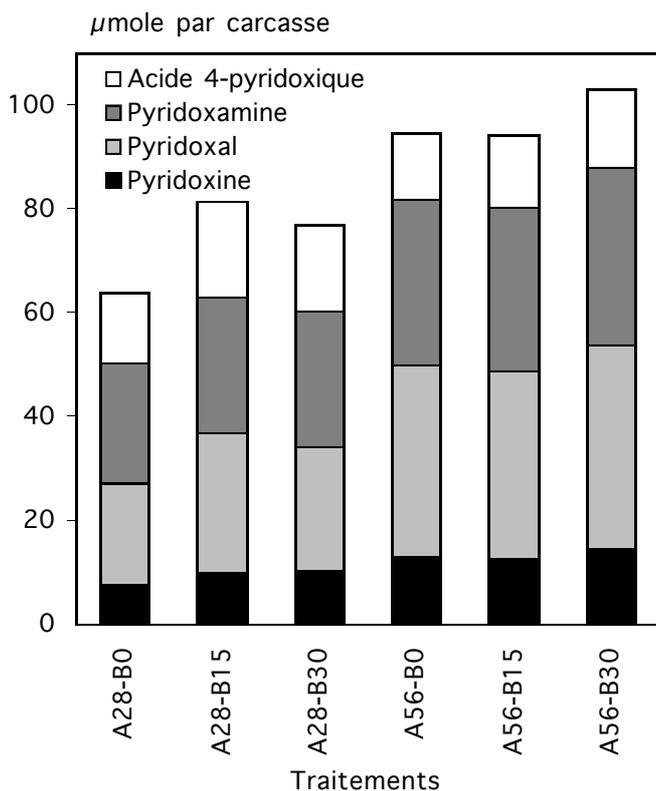
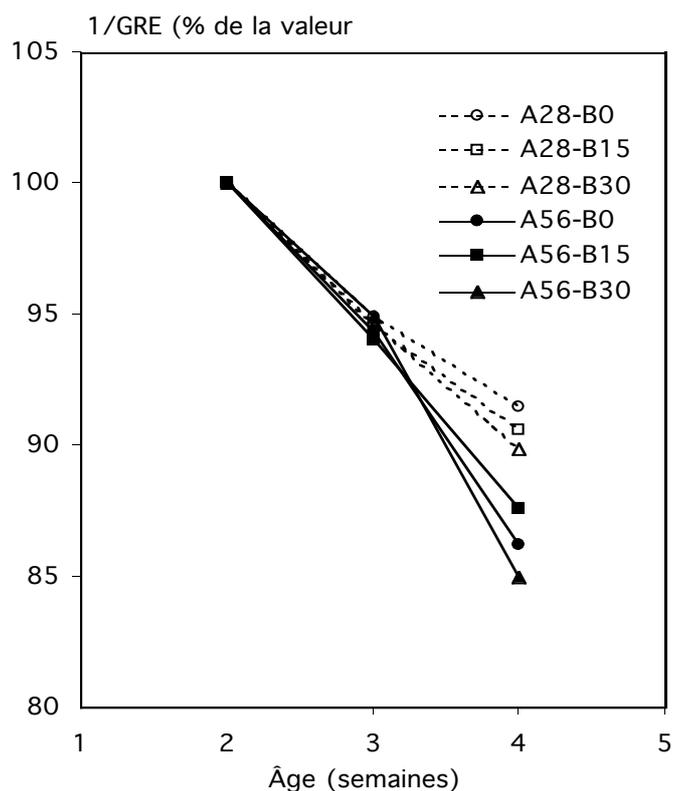


Figure 4 - Évolution de l'activité de la glutathion réductase érythrocytaire selon le niveau d'alimentation et le supplément parentéral de pyridoxine.



Cependant, les résultats de glycémie sont en accord avec l'effet de suppléments de pyridoxine sur la baisse du glucose à la suite d'un test de tolérance au glucose chez le rat (SAFAYA et BAMJI, 1981). L'absence d'effet chez les porcelets B30 suggère que le niveau optimum de pyridoxine pour cette variable ait été dépassé, un effet quasi-toxique ayant ramené la glycémie et l'insulinémie à celles du niveau de pyridoxine inadéquat (B0). Des travaux additionnels utilisant des techniques de mesure plus complètes et précises des réponses glycémique et insulinémique au glucose sont nécessaires afin de confirmer cette hypothèse.

2.3 Le statut en riboflavine

L'évolution du statut en riboflavine, estimé par l'activité de la glutathione réductase des érythrocytes, est présentée à la figure 4; les valeurs présentées (1/GRE) varient dans le même sens que le statut en riboflavine. Il y avait une interaction (alimentation x pyridoxine quadratique, $P < 0.035$) sur l'activité de la GRE. De tels résultats, bien que préliminaires, suggèrent une utilisation accrue du FAD, l'un des métabolites actifs de la riboflavine, chez les porcelets à croissance rapide ainsi que chez ceux recevant le supplément le plus élevé de pyridoxine. En fait, le statut en riboflavine des porcelets A56-B30 diminue de près de 15 % malgré une incorporation dans l'aliment de 8,9 ppm de vitamine B2. Les métabolites de la riboflavine interviennent dans la conversion de la

pyridoxine en ses coenzymes actifs et en sa forme excrétoire, l'acide 4-pyridoxique (LeGRUSSE et WATIER, 1993). Même si des mesures supplémentaires directes des différents métabolites de la riboflavine sont nécessaires pour confirmer ces résultats, ils suggèrent néanmoins l'existence d'un ratio optimum entre l'apport de riboflavine et de pyridoxine chez le porcelet en période post-sevrage.

CONCLUSION

Les indicateurs métaboliques mesurés dans la présente expérience suggèrent que le porcelet sevré précocement a probablement des besoins beaucoup plus élevés que ceux habituellement recommandés. Une telle suggestion avait déjà été émise dans certains travaux ayant rapportés les performances de croissance de porcelets sevrés à 4 semaines (ADAMS et al., 1967; BRETZINGER, 1991). D'autres études sont nécessaires afin de déterminer la concentration optimale de pyridoxine alimentaire qui permettra de reproduire sur les différents indicateurs métaboliques les effets des apports parentéraux étudiés dans la présente expérience. On sera alors en mesure de vérifier les effets d'un tel niveau d'incorporation alimentaire de pyridoxine sur les performances zootechniques en conditions classiques d'élevage et ce tout en tenant compte du statut en riboflavine du porcelet. De tels travaux sont présentement en cours dans nos laboratoires.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARC., 1981. Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough, U. K.
- ADAMS, C. R., RICHARDSON, C. E., CUNHA, T. J., 1967. *J. Anim. Sci.*, 26, 903.
- BENEDIKT, J. D., ROTH-MAIER, A., KIRCHGESSNER, M., 1996. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, 66,146-153.
- BILODEAU, R., MATTE, J. J., DE PASSILLÉ, A.-M. B, GIRARD, C.L., BRISSON, G. J., 1989. *Can. J. Anim. Sci.*, 69, 779.
- BOYD, R. D., KENSINGER, R. S., HARRELL, R. J. BAUMAN, D. E. 1995. *J. Anim. Sci.*, 73(Suppl. 2), 36-56.
- BRETZINGER J., 1991. Pyridoxine supply of early weaned piglets. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire. Ludwig-Maximilians Université de Munich.
- COBURN, S. P., 1990. In: Vitamin B6, *Annals of the New-York Academy of Sciences*, Vol. 585, 76-85.
- CORTAMIRA, N. O., SÈVE, B., LE BRETON, Y., GANIER, P., 1991. *Br. J. Nutr.*, 66, 423-435.
- KIRCHGESSNER, M., ROTH-MAIER, D. A, PAULICKS, B. R., 1988. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 59, 255-262.
- LE GRUSSE, J., WATIER, B., 1993. Les vitamines. Données biochimiques, nutritionnelles et cliniques. CEIV, Paris, France.
- LETENDRE, M. GIRARD, C. L, MATTE, J. J., BERNIER, J., 1991. *Can. J. Anim. Sci.*, 71, 1223-1231.
- MATTE, J. J., 1997. Journées Rech. Porcines en France, 29, 67-72.
- MATTE, J. J., GIRARD, C. L., BILODEAU, R., ROBERT, S., 1990. *Reprod. Nutr. Develop.*, 30, 103-114.
- MATTE, J. J., PONTER, A. A., SÈVE, B., 1997. *Can. J. Anim. Sci.*, 77, (sous presse).
- McDOWELL, L. R., 1989. *Vitamins in Animal Nutrition*. Academic Press, San Diego, CA.
- NRC (National research Council)., 1988. *Nutrient requirements of swine (9th ed.)* National Academy Press, Washington, DC.
- NICHOLS, G. E., 1974. *Clin. Chem.*, 20, 624-628.
- ROWELL, J. G., WALTERS, D. E., 1976. *J. Agric. Sci.*, 87,423-432.
- RUSSELL, L. E., BETCHEL, P. J., EASTER, R. A., 1985. *J. Nutr.*, 115, 1124-1135.
- SAFAYA, S., BAMJI, M. S., 1981. *Indian J. Med. Res.*, 74,236-243.
- SAS., 1990. *SAS/Stat User's Guide. Statistics (Version 6, 4th Ed.)*. Vol. 2. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- SRIVASTAVA, S. K., BEUTLER, E., 1973. *Biochem. Biophys. Acta.*, 304, 765-773.
- YEN, T. G., POND, W. G., 1988. *Nutr. Rep. Intern.*, 38,1103-1107.