



THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Composition corporelle et régime alimentaire chez le mouton

Lecomte, Marie-France

Award date:
1975

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

F.M.B4
1977
5.



FACULTES UNIVERSITAIRES N.D. DE LA PAIX.

NAMUR

FACULTE DES SCIENCES

*Composition corporelle et
régime alimentaire chez le
mouton.*

Mémoire présenté pour l'obtention du grade
de Licencié en Sciences
biologiques
par

Marie-Claire LECOMTE.

PREMIERE PARTIE: RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES.

La connaissance de la composition corporelle (et plus encore de ses variations), présente un intérêt majeur dans de nombreux secteurs de la biologie: physiologie de la croissance et du développement, génétique, étude de tous les phénomènes de nutrition, qu'il s'agisse de carence (inanition hydrique, protéique, minérale, avitaminose) ou, au contraire, de formation de substances ou de tissus (croissance, mise en réserve par surcharge alimentaire d'azote, de matières minérales, formation de graisse...).

Elle permet, en effet, d'apprécier avec plus de finesse que la pesée seule, un ensemble aussi hétérogène que le corps d'un animal.

Cette connaissance peut également être fondamentale pour le pathologiste, notamment en clinique humaine, lors de l'étude des déséquilibres pathologiques.

De nombreux chercheurs se sont donc attachés à rechercher des méthodes permettant la détermination de la composition corporelle.

CHAPITRE I. Méthodes de détermination de la composition corporelle: aperçu général.

B.L. Dumont (1958), A.M. Pearson (1965) et Robelin (1973) ont publié à cet égard des revues intéressantes.

I. Méthodes directes ou indirectes post mortem.

En ce qui concerne le cas d'animaux domestiques, la méthode la plus directe pour évaluer la composition corporelle est l'abattage suivi de la dissection et de l'analyse du corps entier.

Pour des raisons de facilité, on limite souvent l'étude à la partie commercialisable, c'est-à-dire à la carcasse.

Cependant, ce procédé est long et coûteux; aussi, a-t-on tenté de le remplacer, dans le cas des bovins, par une estimation indirecte à partir de la composition anatomique ou chimique d'éléments supposés représentatifs de la carcasse (Ledger et Hutchinson. 1962) ou à partir de la densité de la carcasse elle-

même (Kraybill et al. 1952).

Ces méthodes directes ou indirectes d'estimation post mortem de la composition de la carcasse ou du corps entier, présentent l'inconvénient de rendre très difficiles les études cinétiques du développement puisque, dans ce cas, il est nécessaire d'analyser successivement, à des âges différents, des animaux supposés être comparables dans leur évolution corporelle.

Il ne faut pas négliger non plus le sacrifice financier énorme que cela nécessite, surtout lorsqu'il s'agit de ruminants. C'est pourquoi on tente d'évaluer la composition corporelle de l'animal vivant.

II. Méthodes indirectes in vivo.

La substitution des méthodes indirectes aux méthodes directes est justifiée si les premières apportent un avantage certain dans leur utilisation (facilité d'emploi, rapidité d'exécution, coût...) et surtout si leur précision est suffisante.

On devra donc, pour se prononcer sur leur valeur et sur leur intérêt, exposer et juger pour chacune d'elles son principe, les détails de sa technique et sa précision.

A. Méthodes biométriques.

Les caractères morphologiques des individus dépendent en partie de leur engraissement; pour une taille donnée, le poids et certaines mensurations corporelles peuvent traduire des différences d'adiposité.

Chez l'homme, le poids corporel est le caractère le plus largement utilisé pour apprécier l'état d'engraissement d'un sujet: on compare son poids au poids standard des individus de sa taille.

Il est évident que la comparaison du poids d'un sujet gras ou très maigre au poids standard pour sa taille confirme, dans les cas extrêmes, l'impression visuelle que laisse l'individu. Cependant, si l'on n'envisage plus les cas extrêmes, le rapport entre le poids relatif et l'état d'engraissement est beaucoup plus lâche.

Les réserves faites à propos du poids standard chez l'homme s'appliquent également aux mensurations chez les animaux où les variations morphologiques entre les races et les variations de composition corporelle sont beaucoup plus

importantes et dépendent étroitement des niveaux d'alimentation aux différents âges.

Dans ces conditions, les mensurations ne présentent donc guère d'intérêt pour l'évaluation de l'état d'engraissement général d'un individu, particulièrement chez les animaux.

B. Méthode utilisant la densité corporelle.

La densité du gras corporel est considérablement plus faible que celle des autres constituants du corps. Par suite, la densité totale sera d'autant plus faible que la masse de tissus adipeux sera plus élevée.

Détermination de la densité corporelle.

La détermination de la masse corporelle ne présente pas de difficultés; il convient toutefois de rappeler que le contenu alimentaire du tube digestif peut modifier le poids du corps. Il faudra donc procéder à la pesée des sujets dans des conditions de jeûne déterminées.

La détermination du volume corporel peut s'effectuer de plusieurs façons.

Chez l'homme, il peut être obtenu directement en mesurant le volume d'eau déplacé par l'immersion du corps dans un baquet d'eau. Cependant, le volume du corps est le plus souvent obtenu de façon indirecte par application du principe d'Archimède, en pesant le corps avant et pendant son immersion dans l'eau.

En fait, le volume ainsi déterminé représente le volume apparent du corps; le volume réel est inférieur au volume apparent puisqu'il exclut les volumes internes comptés dans le volume apparent, à savoir: le volume d'air compris dans les voies respiratoires, le volume des gaz du tractus digestif.

Pour déterminer avec précision le volume corporel réel, il y a donc lieu d'apporter une correction au volume corporel apparent précédemment déterminé.

La mesure de la densité corporelle par la seconde méthode apparaît plus répétable, mais la mesure du volume corporel par déplacement d'eau est très limitée dans ses possibilités d'emploi: elle suppose, en effet, une coopération active entre le sujet et l'opérateur. Pour cette raison, elle est inapplicable chez les animaux. Pour ceux-ci, on dispose d'autres méthodes de mesure du volume corporel: la méthode de mesure du volume corporel par déplacement d'air et la méthode de dilution de l'hélium.

Dans ces méthodes, il n'y a aucune correction à faire pour l'air résiduel;

cependant, elles nécessitent un appareillage coûteux et complexe.

En conclusion, la méthode d'estimation du gras corporel à partir de la densité corporelle apparaît intéressante chez l'homme, en raison de sa simplicité et de sa rapidité. Il conviendrait toutefois de procéder à des recherches pour préciser les rapports existant entre la densité corporelle de différents types humains et leur pourcentage de graisse. D'autre part, il faudrait rendre cette méthode utilisable chez les gros animaux, par la mise au point de l'appareillage nécessaire à la détermination de leur volume et par l'étude des liaisons qui existent entre la densité du corps et sa teneur en lipides.

C. Méthode utilisant les espaces de diffusion.

1. Estimation du gras corporel à partir de la teneur en eau du corps.

A partir d'un certain stade de développement, le pourcentage des divers constituants de la masse délipidée du corps (et notamment le pourcentage d'eau) est pratiquement constant. A ce stade de développement, variable avec les espèces, les individus atteignent ce que Moulton (1923- cité par Dumont) a appelé leur état de " maturité chimique".

En admettant ce principe, la connaissance de la quantité d'eau corporelle, E, permet d'estimer la quantité de lipides, L, de l'organisme:

$$L = P - \frac{E \times 100}{e} \quad \text{où } P = \text{ poids du corps;}$$

e = pourcentage d'eau de la masse corporelle dégraissée.

Dans ces conditions, (e étant supposé connu) la mesure de l'état d'engraissement, in vivo, se ramène donc: - à la pesée du sujet;

- à la détermination de l'eau corporelle.

a) Pesée du sujet.

En raison des variations du contenu du tractus digestif, il est indispensable d'opérer dans des conditions de jeûne bien déterminées, ceci particulièrement chez les ruminants.

b) Détermination de l'eau corporelle par la méthode des espaces de diffusion.

α.) Généralités.

D'après Hamburger et Mathe (1952), l'espace de diffusion d'une substance introduite dans l'organisme, est le volume apparent hydrique dans lequel cette substance s'est répandue de façon homogène lorsque sa diffusion est complète.

Si l'on injecte dans l'organisme une quantité q d'une substance et, si après avoir diffusé uniformément dans l'organisme, cette substance se trouve à une concentration C_0 , le volume de l'espace de diffusion est : $\frac{q}{C_0}$.

L'estimation de C_0 peut être obtenue en appliquant la méthode de l'extrapolation proposée par Cachera et Barbier (1941), C_0 étant la valeur de la concentration plasmatique de la substance, obtenue en prolongeant jusqu'au temps zéro la courbe d'élimination.

Cette méthode nécessite plusieurs prises de sang et plusieurs analyses; de plus, elle ne peut s'appliquer à des corps ayant une clearance assez élevée et variable avec la diurèse aqueuse; dans ce cas, on ne peut considérer la pente d'élimination comme constante.

La valeur de C_0 peut aussi être obtenue en appliquant la méthode du prélèvement unique, c'est-à-dire qu'on effectue le prélèvement sanguin après un délai suffisant pour que la période de diffusion soit terminée.

Lorsque la substance ne s'élimine pas par l'urine, on peut admettre que la concentration plasmatique C_0 reste constante pendant un certain temps et le volume de diffusion vaut alors $V = \frac{q}{C_0}$.

Si la substance est éliminée par l'urine, on doit tenir compte de la quantité excrétée entre le moment de l'injection de la substance et celui du prélèvement sanguin. Dans ce cas, le volume de diffusion vaut $V = \frac{q - E}{C_0}$ (où $E =$ quantité de substance éliminée par les urines).

Cette méthode est plus simple que la précédente, mais elle néglige des pertes extrarénales et elle base le calcul du volume de diffusion sur un seul dosage sanguin, ce qui offre moins de garanties.

β.) Etude des substances utilisées.

Les conditions qu'on doit exiger, selon Hamburger et Mathe, d'un indicateur d'espace de diffusion sont les suivantes:

- la substance doit diffuser uniformément et rapidement dans son espace de distribution;
- elle ne doit s'éliminer que lentement;
- elle ne doit subir aucune altération dans l'organisme;

- elle ne doit pas être nocive;
- elle doit se prêter à un dosage précis et facile.

L'urée présente dans les divers tissus une diffusion rapide et homogène; elle n'est pas métabolisée et peut se retrouver quantitativement dans les urines; elle est excrétée lentement et semble donc satisfaire aux exigences citées plus haut. Cette méthode, avantageuse par sa simplicité et son prix de revient peu élevé, ne peut malheureusement être appliquée à des sujets atteints d'insuffisance rénale ni aux ruminants qui métabolisent l'urée dans leur tractus digestif. La thio-urée fut utilisée chez le chien par Danowski (1944). Celui-ci souligne les changements enregistrés dans l'espace thio-urée qui peuvent être retenus comme un indice des changements de l'eau totale du corps.

Les espaces thio-urée mesurés chez le chien étant nettement supérieurs à la quantité plausible d'eau corporelle, on ne peut donc utiliser cette substance pour la mesure de l'eau corporelle; de plus, l'homogénéité de la distribution de cette substance dans la totalité de l'eau du corps a été mise en doute.

- La sulfanilamide répond aux conditions imposées, du moins chez le chien, à savoir: répartition homogène et rapide dans l'eau des différents tissus, non toxicité, dosage facile et précis. Chez l'homme et les autres animaux, elle est cependant inutilisable, car elle est conjuguée dans le foie sous forme d'acétylsulfanilamide et donne avec les protéines des composés à distribution irrégulière.

- L'antipyrine, selon Soberman et al (1949) cités par Dumont, satisfait aux conditions exigées d'un indicateur d'espace de diffusion: elle est non toxique aux doses utilisées, elle se dose de façon précise (par spectrophotométrie UV). On peut cependant mettre en doute l'homogénéité de sa distribution dans l'eau du corps; d'autre part, chez certaines espèces, sa vitesse d'élimination est très rapide. Elle se lie partiellement avec les protéines plasmatiques; elle est soluble dans les lipides et diffuse dans le tractus digestif (Reid et al. 1957; Panaretto et Reid. 1963).

- La 4 amino-antipyrine présente les avantages suivants par rapport à l'antipyrine: dosage plus simple, plus sensible et plus précis; elle n'est pas liée aux protéines plasmatiques; elle diffuse de façon uniforme dans l'eau des différents tissus; sa solubilité dans les lipides est sept fois plus faible que celle de l'antipyrine.

- La N.acétyl 4 aminoantipyrine présente également différents avantages par rapport à l'antipyrine: elle est faiblement liée aux protéines plasmatiques;

sa vitesse de métabolisation est faible chez les différentes espèces; elle se prête à un dosage facile (ne nécessitant pas un dispositif U.V.); les rapports de diffusion de la substance sont voisins de 1.

Les volumes hydriques déterminés par la NAAP sont inférieurs à ceux estimés par l'antipyrine; cela serait dû au fait que l'antipyrine a la possibilité de diffuser dans l'eau du tractus digestif alors que la NAAP ne le peut pas (Reid et al 1917; Panaretto et Reid 1963).

- La 4 iodo-antipyrine a été utilisée chez le mouton par Hansard et Like (1956); elle présente les mêmes inconvénients que l'antipyrine et n'a pour elle qu'un dosage aisé.

- L'eau lourde et l'eau tritiée sont considérées comme les meilleurs indicateurs, ceci en raison de l'identité de leurs propriétés chimiques et biologiques avec celles de l'eau ordinaire.

L'eau lourde n'est pas toxique aux doses utilisées; elle se mélange à toute l'eau du corps; elle satisfait aux conditions imposées à un indicateur d'espace de diffusion; mais les méthodes de dosage sont délicates et onéreuses.

L'emploi de l'eau tritiée, proposée par Pease et al (1947) présente de nombreux avantages: utilisation à des doses traceuses; faible coût; risques nuls pour le sujet; dosage facile.

Elle apparaît actuellement comme l'indicateur de choix dans la mesure de l'eau totale.

Une étude de sa technique d'emploi sera détaillée plus loin.

2. Les indicateurs de gras.

Ces indicateurs doivent avoir une répartition rapide et identique dans tout l'espace de diffusion, être non toxiques, avoir une élimination lente et un rapport élevé de solubilité relative.

La méthode utilisant l'azote présente de sérieuses difficultés de réalisation; d'autre part, le rapport de solubilité relative est faible (5/1), ce qui entraîne des erreurs importantes dans les valeurs obtenues pour le gras corporel.

Le cyclopropane possède sur l'azote l'avantage de présenter un rapport de solubilité relative élevé (26/1).

La précision obtenue par cette méthode est satisfaisante, mais elle présente aussi des difficultés de réalisation.

Certains anesthésiques tels que le thiopental ou le kénital, ont une grande affinité pour les tissus gras. Il en résulte que la durée de l'anesthésie

après injection d'une quantité donnée d'anesthésique à des animaux de même poids sera inversement proportionnelle à la quantité de matière grasse corporelle.

La détermination du contenu en K peut être réalisée également.

Le K^{40} est un isotope naturel qui représente une fraction constante du K du corps: son usage dans la détermination de la composition corporelle repose sur l'hypothèse que tout le K est localisé dans les cellules et que celle-ci sont localisées dans la fraction maigre du corps.

La connaissance du contenu du corps en cet isotope naturel permettrait donc de calculer le contenu total du corps en K et ainsi d'estimer la masse maigre. Cependant, une telle méthode n'offre guère de précision, suite à la variation du contenu en K du tissu non adipeux selon l'âge et le sexe. Le K total échangeable (déterminé par dilution du K^{42}) s'avère être corrélé à l'eau totale du corps. Le Na échangeable présente une relation semblable.

Boling et Lipkind (1963) trouvèrent que la somme du K et du Na échangeables était hautement corrélée avec l'eau totale ($r= 0,991$).

Chez l'homme, la méthode du K^{42} estime la masse des tissus adipeux à 5% (Morse et Soeldner).

D. Méthode d'appréciation des tissus adipeux sous-cutanés.

Les tissus adipeux sous-cutanés constituent une fraction importante de la totalité des tissus gras de l'organisme.

L'épaisseur des dépôts de graisse sous-cutanée mesurée à différents endroits du corps, peut être retenue comme mesure de l'importance pondérale de ces dépôts et, par suite, peut servir de critère d'évaluation de l'état d'engraissement.

La mesure directe in situ, après incision de la peau, est séduisante, car elle est applicable in vivo, sous anesthésie; mais elle est peu précise.

Les trois principaux tissus (osseux, adipeux et musculaire) du corps ayant des transparences différentes aux rayons X, une radiographie permet de distinguer et d'apprécier leur épaisseur relative dans les régions superficielles du corps.

La méthode utilisant les différences de conductivité électrique des tissus peut être utilisée pour mesurer l'épaisseur des tissus gras sous-cutanés, ceux-ci ayant une conductivité électrique plus faible que les tissus musculaires.

On peut aussi appliquer la méthode du sondage ultra-sonore.

La distance entre les faces du tissu adipeux est proportionnelle au temps écoulé

entre l'émission du signal incident et la réception de l'écho. Ce temps est mesuré sur oscilloscope.

Connaissant la vitesse de propagation des ultra-sons dans le milieu, on en déduit facilement l'épaisseur traversée: $e = \frac{v \cdot t}{2}$.

L'épaisseur du pli cutané obtenu en pinçant la peau à certains niveaux, peut être retenue comme critère de l'importance des dépôts de graisse à ces niveaux. Les travaux de Durnin et Womersley (1971) réalisés sur l'homme, montrent que le log. des mesures des plis cutanés varie linéairement avec la densité corporelle; des altérations des équations de régression se produisent cependant en fonction de l'âge et du sexe.

E. Technique des bilans azotés.

La constance du niveau de protéines d'un animal adulte peut être vérifiée par la méthode des bilans azotés; certains auteurs (Rattray et al 1974; Drew 1973) notent cependant une dérogation à cette loi, suite à différents régimes alimentaires.

III. Conclusion.

Après avoir passé en revue les diverses méthodes disponibles pour estimer la composition corporelle in vivo, il ressort que l'estimation de la composition corporelle à partir du volume hydrique, déterminé par la diffusion d'un marqueur de l'eau, présente de nombreux avantages par rapport aux autres méthodes, tant en précision qu'en facilité de mise en oeuvre. Il apparaît en outre que, parmi les différents marqueurs utilisés dans ce but, l'eau marquée (eau lourde, eau tritiée) permet d'obtenir les résultats les plus précis.

CHAPITRE II. Etude de l'emploi de l'eau tritiée dans l'estimation de la composition corporelle.

Cette méthode d'estimation de la composition corporelle, repose sur deux principes, à savoir: - 1°) à partir d'un certain stade de développement, la

composition corporelle est liée au volume hydrique de l'organisme;

- 2°) le volume hydrique de l'organisme est lié à l'espace de diffusion de l'eau marquée.

A. Liaison entre la composition corporelle et le volume hydrique.

Le premier principe s'appuie sur les observations de Murray (1922 - cité par Robelin) qui soutient que la composition chimique de la masse délipidée des animaux est particulièrement constante (73% d'eau, 22% de protéines et 5% de matières minérales).

Moulton (1923 - cité par Robelin) précise que ces résultats ne sont valables qu'à partir d'un certain stade physiologique: la " maturité chimique", qui est de cinq mois pour les bovins, par exemple.

Pace et Rathburn (1945) ont vérifié ces constatations sur différentes espèces (rat, cobaye, lapin, chat, chien, singe).

Ainsi, connaissant la teneur en eau de la masse délipidée, le poids vif et le volume hydrique d'un animal, on peut calculer sa teneur en lipides:

$$\text{lipides / poids vif (\%)} = 100 - \left(\frac{\text{eau / poids vif (\%)}}{\text{eau masse délipidée (\%)}} \right).$$

En fait, la composition chimique de la masse délipidée n'est pas rigoureusement constante avec l'âge, comme l'ont montré Reid et al (1955). Aussi, il est plus judicieux de rechercher une relation statistique directe entre la teneur en eau et la teneur en lipides.

Le coefficient de corrélation obtenu entre ces deux volumes est élevé (- 0,99) chez les différentes espèces étudiées.

On obtient ainsi une relation entre la teneur en eau et les lipides (cité par Robelin):

		Nbre d'animaux.	Teneur en lip.	Ryx.	Syx.
Reid et al 1955	bovins	256	1,8 à 44,6	-0,987	1,440
Carret et Hinman 1969	bovins	48	15 à 35	-0,99	0,82
Carret et al 1959	ovins	59		-0,989	
Paranetto et Till 1963	caprins	13	0,6 à 26,7	-0,982	1,5
Kodama 1971	hamsters	34	10 à 30	-0,98	0,81

y = lipides en % du poids vif;

x = eau en % du poids vif;

Ryx = coefficient de corrélation;

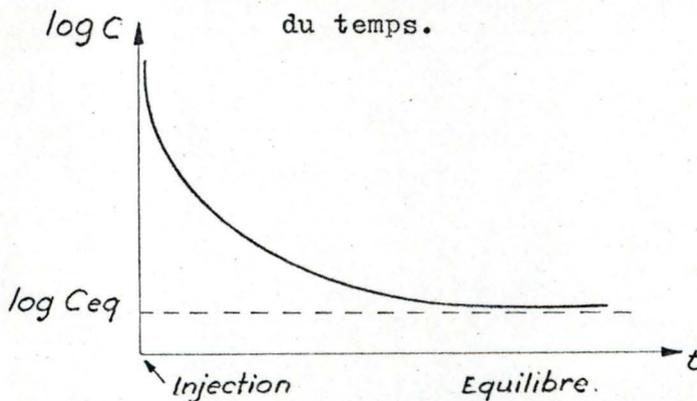
S_{yx} = écart résiduel de la régression linéaire de y sur x .

B. Liaison entre le volume hydrique et l'espace de diffusion de l'eau marquée.

Le deuxième principe suppose qu'on peut assimiler le volume hydrique corporel à l'espace de diffusion d'un marqueur d'eau.

Lorsqu'on suit l'évolution de la concentration du marqueur dans l'eau plasmatique après son injection par voie intraveineuse, on observe une diminution rapide correspondant à la diffusion du marqueur; cette phase conduit à un état d'équilibre. Ensuite, la décroissance devient plus lente et se traduit graphiquement en coordonnées semi-logarithmiques par une droite correspondant à l'élimination de la substance (fig. 1).

Figure 1. Evolution du log. de la concentration du marqueur en fonction du temps.



A tout instant, le volume occupé par le marqueur vaut $\frac{q(t)}{c(t)}$ où q = quantité de marqueur présente dans l'organisme et c = concentration plasmatique. Il sera donc estimé par $\frac{q_0}{c_0}$ (q_0 = quantité injectée; c_0 = concentration théorique initiale) ou par le rapport $\frac{q_{eq}}{c_{eq}}$ (q_{eq} = quantité présente à l'équilibre et c_{eq} = concentration à l'équilibre).

En pratique, on peut mesurer q_0 et c_{eq} , mais on ne connaît ni c_0 , ni q_{eq} . Le calcul du volume apparent ne peut donc se faire qu'à partir de l'estimation soit de q_{eq} , soit de c_0 .

On peut estimer q_{eq} en retranchant de q_0 les pertes de marqueur par l'urine, en supposant que l'élimination ne se fasse que par l'urine et qu'il n'y a pas de transformation du marqueur.

On peut estimer c_0 en extrapolant la droite d'élimination au temps correspondant à l'injection (Cachera et Barbier 1941).

C. Etude de la dilution de l'eau tritiée dans l'eau corporelle.

a) Evolution dans le temps.

La distribution du marqueur introduit par voie intraveineuse se fait en trois étapes (selon Hevesy et Jacobsen 1940, cités par Robelin). Les molécules diffusent dans l'eau plasmatique, traversent la paroi vasculaire pour occuper tout l'espace extracellulaire, puis occupent l'espace intracellulaire; cette diffusion peut être longue, par suite de la lenteur du flux sanguin dans les capillaires et de celle du passage des molécules marquées dans le milieu intracellulaire.

D'après les résultats cités par de nombreux auteurs, la durée totale de diffusion de TOH dans l'organisme varie de 30 à 180 minutes chez les petits animaux (rat, souris, chien, chat, lapin). Chez l'homme, le singe et le porc, elle nécessite de 120 à 480 minutes. Chez les ruminants, en raison du contenu élevé et variable en eau du rumen, celle-ci représente en moyenne 30% de l'eau totale du corps.

De nombreux chercheurs ont expérimenté l'effet du jeûne sur le contenu en eau du rumen ainsi que l'influence du mode d'injection sur la rapidité d'équilibration de TOH dans l'organisme.

Ainsi, Smith et Sykes (1974) estiment à 25% de l'eau totale du corps, le contenu en eau du rumen après avoir soumis des moutons à un jeûne de 16 à 24 heures. Ils injectent le marqueur de différentes manières et mesurent des temps d'équilibration variables:

- par voie combinée intra rumen (25%) - intra péritoine (75%); cinq heures plus tard, les activités spécifiques du TOH dans le plasma et le rumen se situent à 7% de l'équilibre réel;
- par voie intraveineuse, l'équilibre n'est atteint que huit heures après l'injection;
- par voie intra rumen ou intrapéritoine, le temps d'équilibration excède huit heures.

Keenan et Mac Manus (1968) soumettent leurs moutons à un jeûne de 15 heures; le contenu en eau du rumen représente ici 16% de l'eau totale du corps. Ils administrent le marqueur par voie intramusculaire et constatent que, 9 heures après l'injection, l'activité de l'eau du rumen est inférieure à celle du sang, mais la différence n'excède pas 25%.

Farrell et Reardon (1971) soumettent des moutons à un jeûne de 48 ou 64 heures; ils remarquent qu'une période de jeûne supplémentaire de 12 heures n'affecte pratiquement pas le contenu en eau du rumen qui passe de 11,6% dans le premier cas à 11,1% dans le second cas. Cependant, il y a une diminution sensible

des matières sèches du rumen: 13% après 48 heures de jeûne et 0,7% après 64 h.

Enfin, des expériences effectuées à la station de recherche de Grassland, Hurley, Angleterre (1963) ont montré que des variations dans le contenu initial du rumen entre différents moutons, peuvent être réduites après un jeûne de 24 heures alors que 12 heures supplémentaires de jeûne n'apporteraient que des modifications insignifiantes.

b) Caractéristiques de la distribution de l'eau tritiée dans l'eau corporelle.

L'analyse qualitative de la distribution de l'eau marquée dans l'organisme nous montre qu'elle est complète dans toute l'eau corporelle (espaces extracellulaires et intracellulaires) et qu'elle se produit assez rapidement chez les monogastriques.

La diffusion semble en outre très homogène dans les différents compartiments hydriques étudiés par plusieurs auteurs. Foot et Greenhalgh (1970), en particulier, ont mesuré la concentration du marqueur sur six brebis, dans dix compartiments hydriques différents: les différences moyennes observées étaient inférieures à 3% de la concentration du marqueur dans le plasma après équilibre. Cette homogénéité n'est pas surprenante étant donné que l'eau marquée se comporte pratiquement comme l'eau ordinaire dans les phénomènes de diffusion, tout au moins dans la gamme de concentration utilisée lors de l'application de cette méthode.

c) Distribution de l'eau tritiée au-delà de l'espace hydrique.

La distribution du marqueur dans l'organisme semble aller au-delà de l'espace hydrique; en effet, il se produit des échanges d'hydrogène marqué avec des H de molécules organiques, des protéines surtout. Il apparaît que les échanges sont trois à quatre fois plus importants dans la masse délipidée que dans les lipides.

Selon les travaux réalisés sur des agneaux par Levis et Philips (1972), le H^3 s'échange d'abord avec le H labile qui est souvent aqueux: la concentration en H^3 après cet équilibre peut donc être utilisée comme moyen de mesure de l'eau totale. Cet échange rapide initial de H inclut aussi le H non lié au carbone (groupements amino-sulphydril...). Ensuite, il se produit un échange beaucoup moins important et plus lent avec le H des composés organiques, avec l'eau des os, des dents et l'eau liée des muscles.

Cette incorporation dans les composés organiques, considérable en cas de croissance, serait négligeable chez les animaux adultes. Selon ces mêmes auteurs, l'incorporation de H^3 dans le pool de H lentement échangeable suivrait une expo-

nentielle. Ainsi, après 24 heures, 60% de l'échange maximum aurait eu lieu et 99% après 120 heures.

Schoenheimer (1946) (cité par Panaretto en 1967) estime que ce taux d'échange varie de 0,5 à 5% du poids du corps, mais Pinson (1952) (cité par Robelin) lui attribue une valeur de 0,1% du poids vif.

Panaretto et Till (1963) considèrent que la surestimation de l'espace TOH due à cet échange s'élève à 3%. Cependant, Smith et Sykes (1974) montrent qu'après injection intraveineuse et correction pour les pertes urinaires, la surestimation de l'eau du corps n'est que de 0,8%, ce qui suggère que cet échange de H est de faible importance par rapport aux pertes urinaires.

Cette conclusion est également renforcée par les expériences de Farrell et Reardon (1972) selon lesquelles seulement 0,2% de la dose de TOH injectée s'échange avec le H du corps.

d) Conclusion.

On peut résumer la distribution de l'eau marquée dans l'organisme par un schéma simplifié (fig. 2). L'eau injectée diffuse en quelques minutes dans le sang et l'espace extracellulaire, tandis qu'elle pénètre plus lentement dans l'espace intracellulaire. La distribution est homogène dans les différents compartiments hydriques de l'organisme, mais une partie de l'hydrogène marqué peut être incorporé dans les molécules organiques.

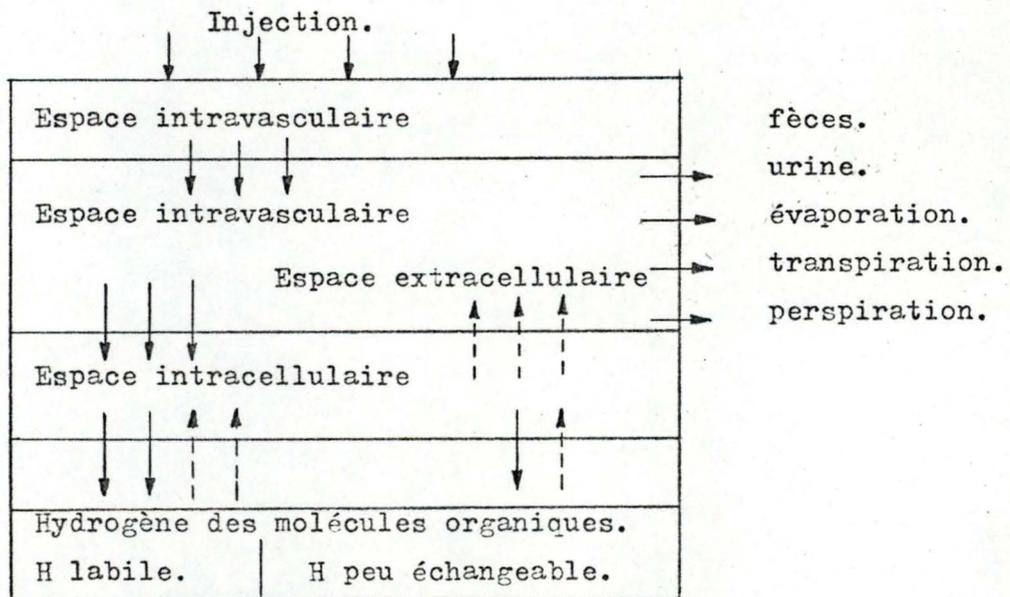


Figure 2: mouvements de l'eau marquée dans l'organisme.

Le nombre de flèches indique la rapidité des échanges. Les flèches en trait plein correspondent à la phase de dilution du marqueur et les flèches en traits

pointillés correspondent à la phase d'élimination du marqueur.

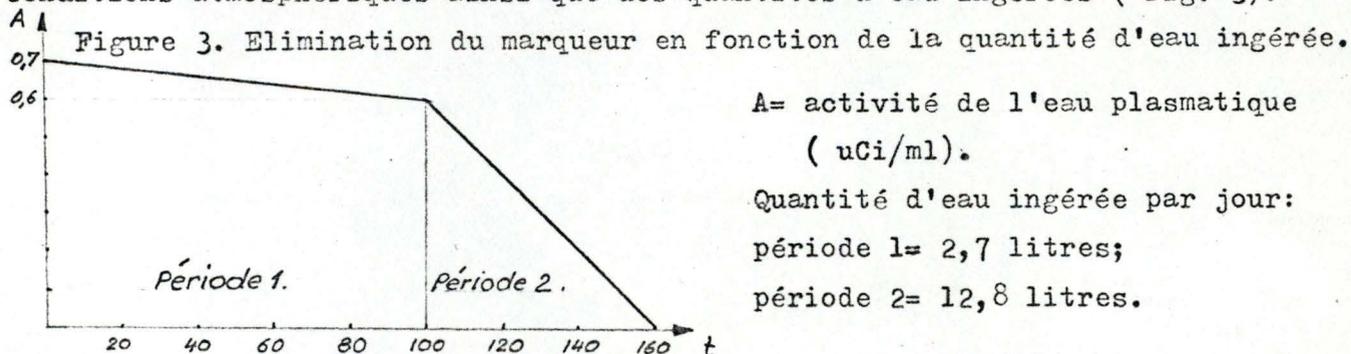
D. L'élimination du marqueur par l'organisme.

Bien que l'élimination commence dès l'introduction de l'eau marquée, il n'est pas possible de l'étudier avant l'équilibre du marqueur dans l'eau corporelle car, avant ce stade, ses effets sont masqués par ceux de la dilution.

Nous avons vu que la concentration du marqueur est la même dans les produits d'excrétion que dans l'eau plasmatique. Par conséquent, l'organisme diminue la quantité de molécules d'eau marquée à la même vitesse que les molécules d'eau normale.

a) Liaison avec la quantité d'eau ingérée.

Il apparaît, d'après les travaux de Langhurst et al (1930) sur le mouton et le daim, de Springell (1968) sur le bétail (montrant l'influence de la saison sur le contenu en eau et le turnover de l'eau), de Tripathi et al (1968) sur le bétail (mettant en évidence les changements du contenu en eau des différents compartiments hydriques corporels avec la température et l'humidité), de Mac Farlane et Howard (1965) sur le bétail, de Pinson et Langham (1967) (cité par Robelin) sur l'homme (qui démontrent tous deux l'influence de la quantité d'eau ingérée sur la vitesse d'élimination du H^3 par l'organisme) que l'élimination dépend en premier lieu du turnover de l'eau et par conséquent des conditions atmosphériques ainsi que des quantités d'eau ingérées (fig. 3).



b) Voies d'élimination de l'eau tritiée et leur importance relative.

Le tritium est éliminé par: - l'urine;

- les matières fécales;

- l'évaporation;

- les échanges avec la vapeur d'eau atmosphé-

rique dans la respiration.

Les expériences suivantes ont été faites sur des moutons:

Till et Downes, après avoir fait des injections intraveineuses ou intrarumen d'eau tritiée, effectuent des prélèvements après six heures d'équilibration et ils constatent que les pertes par voie urinaire et par voie fécale sont inférieures à 1% de la dose injectée.

- 0,5% de la dose de TOH est éliminé par l'urine; 0,13% par les selles (injection intraveineuse);
- 0,5% de la dose de TOH est éliminé par l'urine; 0,19% par les selles (injection intrarumen).

L'apparition du TOH est très lente dans les matières fécales (plusieurs heures) tandis qu'il apparaît rapidement dans les urines (quelques minutes suffisent). Comparée aux pertes par les urines, la perte par les matières fécales est considérée comme négligeable.

Pendant la période de 6 heures qui suit l'injection, les pertes par évaporation et respiration sont de 2,5 à 3,6% par jour du TOH présent à la température de 36° C. et seulement de 1,1 à 1,2% à la température de 10°C.

Les pertes totales pendant la période d'équilibration (soit 6 heures) sont donc de 2% de la dose.

Till et Downes estiment la durée de la demi-vie de 3,5 à 16,3 jours.

Pour une demi-vie de 3,5 jours, 5% de l'eau totale seraient perdus pour une durée de 6 heures. Ils trouvent aussi que la demi-vie n'est pas corrélée au poids du corps.

Smith et Sykes (1974) décèlent des pertes urinaires variant suivant le mode d'injection; 4 à 5% de la dose seraient excrétés par l'urine après des injections intraveineuse, intrapéritoine ou intrapéritoine-intrarumen, tandis que l'injection intrarumen donnerait des pertes moindres.

Malgré le jeûne de 16 ou de 24 heures imposé, le volume d'urine atteint 100 à 1300 ml et les pertes de marqueur 0,6 à 0,7% de la dose.

Les valeurs moyennes étant respectivement de 482 ml et 1,94%, elles se situent nettement au-dessus des valeurs trouvées par Till et Downes (1962) chez des moutons soumis à un jeûne de 48 heures.

Dans les conditions de température qu'ils utilisent, les pertes par évaporation et respiration sont négligeables (inférieures à 1%); ils ne tiennent non plus compte des pertes par les matières fécales.

Smith et Lykes (1974) déclarent que la demi-vie va de 4,7 jours à 12,4 jours pour les sept moutons observés; cependant elle reste constante de période en pé-

riode chez chaque individu.

Foot et Greéhalg (1970) ne soumettent pas leurs animaux au jeûne, mais les pertes de TOH par voie urinaire et par voie fécale sont plus importantes; ils constatent que les pertes par évaporation et par respiration croissent considérablement avec l'élévation de température.

Keenan et Mac Manus (1968) utilisent un jeûne de 24 heures pour réduire les pertes urinaires et fécales.

La demi-vie est variable suivant les espèces: 2 à 5 jours chez le porc, 3 à 5 jours chez le rat, le boeuf et le poulet, 6 à 10 jours chez l'homme. Ces valeurs correspondent à un pourcentage de disposition horaire respectif de 1,15, 0,73 et 0,36; ce qui est donc très faible.

c) Correction à apporter pour l'échange H^3 - H organique.

En première approximation, la concentration plasmatique du marqueur ne dépend que de l'élimination et de la dose injectée, si l'on suppose que les apports ultérieurs du marqueur sont nuls. En fait, ceci est partiellement faux, compte tenu de l'hydrogène marqué lié aux molécules organiques.

En fait, cet hydrogène est restitué dans l'espace hydrique. Thompson (1953- cité par Robelin) a étudié ce phénomène sur un rat pendant une durée de 300 jours après l'injection de l'eau tritiée; il ressort de ses résultats que les différents tissus libèrent le tritium lié à des molécules organiques à des vitesses différentes et que pour un tissu donné, il existe au moins deux compartiments correspondant à des vitesses d'élimination différentes: le compartiment à élimination rapide correspond à l'hydrogène labile et l'autre, à élimination plus lente et beaucoup plus étalée dans le temps, correspond à l'hydrogène plus fortement lié.

Le premier compartiment libère la majorité de l'hydrogène dans les premiers jours qui suivent l'équilibre et ces quantités libérées ne sont pas négligeables devant les quantités d'hydrogène marqué éliminées de l'organisme par l'eau.

En conclusion, la concentration du marqueur dans l'eau corporelle est supérieure à ce qu'elle serait sans cette restitution d'hydrogène marqué par les tissus.

Les caractéristiques de la dilution de l'eau marquée dans l'organisme semblent montrer que son espace de diffusion doit être un bon estimateur du volume hydrique corporel moyennant peut-être quelques corrections tenant compte de l'hydrogène marqué lié aux molécules organiques et des pertes par les différentes voies selon les conditions expérimentales; l'élimination par voie urinaire étant la plus importante.

E. Estimation, par l'espace de diffusion de l'eau marquée, du volume hydrique corporel chez l'animal vivant.

A condition de respecter certaines règles: - mise à jeun suffisante pour réduire les pertes pendant l'équilibration et minimiser les effets de l'eau du rumen;

- observation d'un délai suffisant entre le moment de l'injection et celui du prélèvement pour que l'équilibre soit atteint, l'espace de diffusion de TOH donne une bonne estimation de l'eau totale.

L'estimation du volume hydrique a presque toujours été faite à partir de la concentration du marqueur après équilibre (Ceq), en admettant que celle-ci était voisine de la concentration initiale (Co).

La répétabilité sur un même animal de l'estimation du volume hydrique à l'aide de l'eau tritiée est bonne.

- Till et Downes (1962) avec des ovins, observent des différences toujours dans le même sens et inférieures à 5% du poids vif entre les résultats obtenus à sept heures d'intervalle; les animaux restant au jeûne complet pendant cette période, le contenu en eau atteignait 48 à 78% du poids corporel.

On peut estimer que la répétabilité est meilleure car la diminution du volume hydrique peut s'expliquer par le turnover de l'eau.

- Sheng et Huggins (1971) confirment ces résultats avec 43 chiens: ils trouvent une différence moyenne de 2,5% du poids vif sur deux mesures faites à un jour d'intervalle.

La précision de la méthode peut être mesurée en comparant l'espace de diffusion du marqueur à la quantité d'eau corporelle mesurée par dessiccation, cette méthode étant prise comme référence.

L'équation générale, utilisée par les différents auteurs, reliant l'espace TOH à l'eau corporelle est de la forme $V = aE + b$, où V est l'eau totale et E l'espace TOH.

D'après les résultats du tableau (Robelin) de la fig. 4, l'espace de diffusion de l'eau marquée surestime de 1 à 15% la quantité d'eau corporelle mesurée par dessiccation, la moyenne étant de 4%.

Bien que l'espace de diffusion de l'eau tritiée soit supérieur au volume hydrique corporel, le coefficient de corrélation entre ces deux valeurs est élevé:

0,96 à 0,99.

-Panaretto (1969) trouve chez des moutons soumis à un jeûne de 18 ou 21 heures une surestimation de l'eau corporelle par l'espace TOH de 4%; ce fait est attribué aux pertes pendant l'équilibration et à l'échange H^3-H des composés organiques.

Il fait remarquer qu'une diminution de la période de jeûne conduit à une meilleure correspondance entre l'espace TOH et l'eau corporelle.

Ceci est d'ailleurs confirmé par les travaux de Farrell et Reardon (1972), qui amènent à une surestimation de l'eau totale par l'espace TOH de 11% chez les moutons soumis à un jeûne de 48 et 64 heures.

Smith et Sykes (1974) corrigent les espaces moyens de TOH pour les pertes urinaires chez des moutons soumis à un jeûne de 16 ou de 24 heures.

En estimant l'espace TOH à partir de la concentration du marqueur après équilibre (huit heures après l'injection), ils constatent que le mode d'injection a un effet significatif sur l'estimation de l'espace TOH, la voie intrapéritoneale donnant la meilleure précision, bien que l'équilibre ne soit pas atteint en 8 h. Par contre, en estimant l'espace TOH par la méthode d'extrapolation, ils remarquent que le mode d'injection n'a pas d'effet significatif; la surestimation de l'eau corporelle serait de 3%.

Ces auteurs apportent en outre une correction de 7% pour les matières sèches du plasma.

De plus, selon Sykes (1974), la même équation de liaison serait applicable aussi bien à des moutons sous-nourris que bien nourris.

Les sources de variation de ces résultats, à savoir: les pertes de marqueur pendant l'équilibration (urine, respiration, échange H^3-H) entraînant une surestimation de l'eau corporelle en défaut d'équilibre avec l'eau du tractus digestif donnant lieu à une sous-estimation de l'eau corporelle totale, peuvent nous permettre d'envisager des améliorations éventuelles de la méthode.

En ce qui concerne la surestimation du volume hydrique par l'espace de diffusion, elle est inévitable, compte tenu du passage d'une certaine quantité d'hydrogène marqué dans des molécules organiques. On peut cependant la réduire en estimant l'espace de diffusion à partir de la concentration initiale théorique (C_0) du marqueur.

En effet, lorsqu'on calcule E à partir de la concentration à l'équilibre (C_{eq}), on néglige les pertes d'eau qui peuvent se produire pendant la diffusion du marqueur, c'est-à-dire pendant une durée voisine de 6 à 7 heures dans le cas des ruminants (Till et Downes-1962), (Foot et Greenhalgh- 1970).

Cette erreur représente chez les ovins, selon les travaux de Till et Downes (1962) 4 à 5% du poids du volume hydrique. Elle ne serait chez les bovins que de 1 à 2% selon les résultats de Carnegie et Tulloh (1968). Cette surestimation paraît plus importante chez les ruminants que chez les monogastriques. En fait, elle est fonction du turnover de l'eau de l'animal; elle est donc variable avec les conditions de jeûne précédant la mesure comme le montrent les travaux de Panaretto (1963 et 1968) et de Searle (1970).

Ainsi, afin de réduire cette erreur et surtout de la rendre plus reproductible, il semble préférable de calculer l'espace de diffusion du marqueur à partir de sa concentration initiale théorique dans le plasma (Rico et al-1967) (Kodama-1970).

Cependant, quelle que soit la précision avec laquelle on peut estimer la quantité d'eau contenue dans un animal, il se pose le problème de la signification de cette mesure. En effet, l'eau du contenu du tube digestif représente une part importante de l'eau totale chez les monogastriques: 7% chez le rat, 15% chez le lapin, 20% chez le cobaye. Ce pourcentage est plus élevé encore chez les ruminants: 17% chez les ovins, 20% chez les caprins, 25% chez les bovins après une durée de jeûne variable de 1 à 48 heures (Panaretto-1963 et 1968). Les variations sont relativement importantes d'un animal à un autre (3% du volume hydrique total); elles sont beaucoup plus faibles dans le temps sur un même animal alimenté avec la même quantité du même aliment. Enfin, la part de l'eau du contenu digestif dans l'eau totale semble diminuer légèrement avec le jeûne total (Panaretto-1968).

En conclusion, il existe une liaison forte (r supérieur à 0,96) entre le volume hydrique corporel et l'espace de diffusion de l'eau marquée.

L'erreur résiduelle de la régression varie de 2 à 7% du poids vif de l'animal, quelle que soit l'espèce considérée.

On pourrait peut-être améliorer la précision de cette mesure en calculant la volume apparent de diffusion du marqueur à partir de la concentration théorique initiale obtenue par extrapolation de la droite d'élimination.

Malgré sa précision, cette méthode d'estimation de l'eau corporelle se heurte à un écueil au niveau de la signification de cette mesure, compte tenu de l'importance relative et des variations de la quantité d'eau contenue dans le tube digestif. Il s'agit donc d'opérer certaines corrections pour les pertes urinaires, de minimiser l'influence du tube digestif en imposant une période de jeûne et d'attendre suffisamment longtemps avant d'effectuer le prélèvement, afin que l'équilibre soit atteint dans tous les compartiments hydriques corporels.

F. Estimation de la teneur en lipides d'un animal, à partir de la mesure de l'espace de diffusion de l'eau marquée.

Comme il a été exposé précédemment, il existe une liaison entre les teneurs en eau et en lipides du corps vide d'un animal, la lipogénèse entraînant une diminution de la teneur en eau; il est donc normal que la teneur en lipides soit statistiquement liée à l'espace de diffusion d'un marqueur de l'eau, estimateur de l'eau corporelle totale.

D'après les résultats obtenus par plusieurs auteurs, cette liaison est en effet relativement forte ($r = -0,93$ à $-0,99$) dans le cas de l'eau tritiée.

Auteurs	Animaux	Marqueur Lipides	r	SD	CV
		% poids vif des animaux			
Panaretto et Till (1963)	11 chèvres	TOH 0,5-21,1	-0,9269	2,9	19,87
Panaretto (1963)	10 chèvres	" 2,0-19,9	-0,9408	2,6	22,30
Panaretto (1963)	9 moutons	" 5,8-52,4	-0,9962	1,4	6,72
Panaretto (1968)	15 moutons	" 9,3-40,2	-0,9899	1,8	7,78
Searle (1970)	61 moutons	" 3,0-35	-0,9500	2,6	13,0
Searle (1970)	76 moutons	" 3,0-40,2	-0,9960	2,0	10,0

r= coefficient de corrélation entre E et L.

SD= écart type résiduel de la régression de L sur E.

CV= coefficient de variation de L sur E.

On peut certainement améliorer cette précision en mesurant de façon plus précise le volume hydrique de l'animal mais surtout en essayant d'amoindrir l'influence du contenu digestif chez les ruminants. En effet, la relation existant entre la teneur en eau et la teneur en lipides est surtout valable au niveau du corps vide. Cette relation reste d'autant plus étroite au niveau du corps entier que le volume hydrique contenu dans le tractus digestif est comparable entre deux mesures.

a) Modèle linéaire.

Sykes (1974) considère l'espace TOH, le volume des globules rouges et le poids du corps comme des variables indépendantes dans les équations de prédiction de l'eau du corps, de la graisse et du contenu en protéines des moutons lors de l'accouplement (N) et à la mi-lactation (J). Il recherche dans quelle mesure les équations applicables à des moutons en bonne condition physique le sont pour des moutons moins bien portants.

La relation entre l'espace TOH et l'eau du corps est linéaire; les équations appliquées aux moutons N et J ne sont pas significativement différentes. L'inclusion du volume des globules rouges dans les équations de prédiction de la graisse et des protéines, à partir du poids du corps, n'apporte aucune précision alors que la prédiction du contenu en graisse est meilleure si on introduit l'espace TOH dans cette équation; ceci n'est cependant pas valable pour l'estimation des protéines.

L'inclusion de l'eau du tube digestif n'a pas d'effet sur la prédiction du contenu en graisse.

L'utilisation de deux équations différentes pour estimer la graisse chez les moutons des groupes N et J n'apporte que de faibles avantages. Aussi, Sykes propose-t-il d'utiliser dans les deux cas la formule générale

$$y = (0,83 \pm 0,045) x_1 - (0,96 \pm 0,083) x_2 - 4,08 \quad (r = 0,96).$$

y = poids de graisse (kg);

x_1 = poids du corps (kg);

x_2 = espace TOH (l).

Cette équation fut vérifiée par Smith et Sykes (1974) chez des moutons d'âge et de composition corporelle variés; le coefficient de corrélation reliant la graisse du corps au poids vide et à son contenu en eau était dans ce cas 0,99. Ces auteurs ont corrigé les espaces TOH pour compenser les pertes urinaires. Cette correction ne semble pas améliorer la prédiction de l'eau et de la graisse. Le poids du corps vide et son contenu d'eau rendent compte de 99% de la variation du contenu en graisse, ce qui concorde avec les valeurs de 99,6% et 96,7% calculées sur des moutons gras et maigres par Farrell et Reardon (1972) et de 96% calculés à partir des valeurs de Keenan (1969). Cependant, lorsque l'eau du tractus digestif est incluse, même après un jeûne de 24 heures, seulement 88% de la variation du contenu en graisse est attribuable à la variation du corps total et de son contenu en eau. Cette estimation est moins bonne que celles de Farrell-Reardon et de Keenan qui ne trouvent aucune réduction de la prédiction de la graisse quand l'eau du tractus digestif est incluse.

b) Modèles plus élaborés.

Donnelly et Freer (1974) ont pour leur part testé des modèles allométriques et linéaires en utilisant le poids vif après jeûne, l'espace TOH et la maturité comme prédicteurs. L'inclusion de la maturité dans toutes les équations réduit

la déviation standard résiduelle de l'estimation de tous les composants. Ils préconisent la formule du type: $Y = a(w - T)^b M^d$ où Y est le contenu en graisse (kg), w le poids du corps (kg), T l'espace TOH (l) et M la maturité. Ceci confirme la suggestion de Seebeck (1968) selon laquelle le poids et l'espace TOH sont insuffisants pour déterminer la composition corporelle.

Un indice du développement du squelette, tel l'âge, mérite une inclusion parce qu'il distingue un jeune gras d'un adulte maigre de même poids. Cependant, Searle (1970) considère que l'amélioration des estimations apportée par l'inclusion de l'âge comme paramètre additionnel était trop petite (sauf dans le cas des minéraux) pour justifier son emploi. Celui-ci propose la formule suivante: $Y = 0,16 - 1,14x + 0,95y$ où Y = poids de graisse (kg), x = espace TOH (l), y = poids corporel (kg).

Trigg et al (1973) présentent une équation quelque peu différente:

$Y = 0,592y = 0,78x + 0,889$ où Y = poids de graisse (kg), x = espace TOH (l), y = poids corporel (kg).

c) Conclusion.

L'étude de la diffusion de l'eau marquée permet de penser qu'elle est un bon marqueur de l'eau. Sa diffusion est rapide, de 1 à 7 heures suivant les espèces, elle est très homogène dans les différents compartiments hydriques de l'organisme. L'hydrogène marqué peut être incorporé de façon plus ou moins stable dans les molécules organiques, mais on peut corriger cette erreur en diminuant le volume apparent occupé par le marqueur de 2% du poids vif. L'élimination du marqueur est lente, de 0,1 à 0,3% par heure de la quantité contenue dans l'organisme, ce qui permet de mesurer avec précision sa concentration dans l'eau corporelle après équilibre.

Dans la pratique, si l'on tient compte de la quantité de marqueur perdue par les urines, l'espace de diffusion de l'eau marquée reflète bien le volume hydrique total de l'animal: le coefficient de corrélation entre ces deux volumes est supérieur à 0,96 tandis que l'erreur résiduelle de la régression est inférieure à 2,5% du poids vif.

L'estimation de la teneur en lipides de l'organisme à partir de cette mesure est un peu moins précise: le coefficient de corrélation varie de -0,92 à -0,99 et l'erreur résiduelle peut atteindre 2,9% du poids vif.

Cette méthode paraît d'autant plus prometteuse qu'on peut envisager deux possibilités d'améliorer sa précision: d'une part, en tentant de minimiser l'effet du système digestif par une période de jeûne adéquate et d'autre part, en

effectuant les prélèvements après un temps tel que l'équilibre entre l'eau corporelle et l'eau tritiée soit atteint dans tous les compartiments hydriques du corps, ce délai devant cependant être le plus bref possible afin de réduire les effets de la métabolisation.

CHAPITRE III. Effet du régime alimentaire sur le poids et la composition corporelle.

A. Effet de la quantité d'énergie.

Selon Price (1975), la ration alimentaire a une influence très nette sur le poids corporel; un régime peu énergétique donne un gain de poids spécifiquement plus bas.

a) Chez la mouton adulte.

α) Effet d'une ration pauvre.

Pour Farrell et Reardon (1972), la sous-alimentation chez les moutons entraînerait une plus grande quantité d'eau dans la masse des tissus maigres et dans le réseau ainsi qu'un contenu plus faible en protéines. Si le contenu minéral n'est pas affecté, celui en graisse est fortement réduit. (Fig. 5).

Holmes (1965) (étudiant l'effet de la malnutrition chez les moutons), constate une augmentation de l'eau du muscle, de l'eau extracellulaire, des tissus collagènes et de l'eau intracellulaire; par contre, il note une diminution de l'azote total et de l'azote non constitutif du collagène.

La quantité globale des lipides et des lipides non saponifiables est aussi réduite chez les animaux mal nourris. Comparant des animaux normaux à des sous-alimentés, cet auteur constate un contenu plus faible en eau des muscles délipidés et un taux d'azote constitutif du collagène inférieur chez les premiers tandis que les seconds accusent un taux d'azote non constitutif supérieur du collagène.

Keenan et Mac Manus (1969) étudient la variation de la composition corporelle du mouton durant des pertes et de regains de poids induits par différents

régimes alimentaires.

Pour cette étude, les auteurs utilisent deux traitements:

- 1) l'animal reçoit 600 g par jour de nourriture, le coefficient de digestibilité étant de 79,2%;
- 2) ration de 200 g par jour pendant quatre semaines (période 1); le coefficient de digestibilité est de 73,8%. L'animal reçoit ensuite 400 g de nourriture par jour pendant une semaine, puis 300 g par jour pendant sept semaines (période 2), le coefficient de digestibilité étant de 74,2%.

La nourriture est ensuite donnée à volonté (période 3), le coefficient de digestibilité est de 70,5%; la nourriture contient 15% de protéines.

Une restriction de 2/3 de la ration alimentaire pendant quatre semaines entraîne une perte de poids de 16% et d'énergie de 30%. Cette perte de poids consiste en 45% d'eau, 39% de graisse et 13% de protéines.

Lorsque les moutons reçoivent de la nourriture à volonté, ils conservent un déficit en poids de onze kg pendant huit semaines pour ensuite retrouver leur poids initial en cinq semaines. Cependant, 75% du déficit en énergie seulement sont comblés par suite du haut contenu en graisse (23%) des tissus reformés.

Ces auteurs concluent ainsi que la ration alimentaire influence le poids de tous les composants corporels sauf celui des minéraux, et que le contenu en graisse varie plus que celui en protéines et en eau. Il a aussi été constaté une réduction du pourcentage des matières sèches du tube digestif lorsqu'il y a réduction de la ration alimentaire (fig. 6).

β) La croissance compensatoire.

La croissance compensatoire, effet d'une réalimentation après une période de sous-nutrition, se caractérise par un gain de poids rapide consistant surtout en protéines et en eau, ainsi que l'ont montré les travaux de K.R. Drew et J.T. Reid (1975).

Ils ont comparé un groupe de brebis adultes sous-nourries progressivement, puis réalimentées, à un groupe de référence (nourri de manière continue).

La sous-nutrition produit des changements dans les composés organiques chimiques opposés à ceux observés lors d'une croissance normale. Cependant, la quantité de graisse présente une tendance à la stabilité durant les deux premières semaines de sous-nutrition ou de réalimentation. Ainsi, les cinq premiers kg regagnés pendant la réalimentation sont surtout constitués d'eau et de protéines et les moutons réalimentés présentent une quantité plus grande d'eau et de protéines, moindre de graisse et d'énergie que ceux nourris continuellement.

b) Chez le mouton en croissance.

Rattray et al (1974) étudient les effets du niveau de la ration alimentaire sur la composition corporelle de jeunes moutons. Ceux qui mangent à satiété présentent une plus haute concentration en graisse et en énergie et une concentration moindre en eau, en protéines et en sels minéraux que ceux qui n'ont reçu qu'une ration d'entretien. Ces derniers ont d'autre part, sur base du poids maigre, des concentrations plus basses en protéines et plus élevées en sels minéraux. Ces auteurs suggèrent aussi qu'une ration d'entretien entraînerait plutôt une mobilisation des protéines que des graisses.

Ceci est d'ailleurs confirmé par Drew (1972) qui constate que des agneaux recevant une ration inférieure à la ration d'entretien supportent une perte de poids de 10% sans mobilisation des graisses et que pendant la période de réalimentation subséquente, le taux de graisse continue à diminuer pendant le regain des cinq premiers kg; ceux-ci seraient donc surtout constitués de protéines et d'eau.

c) Chez d'autres animaux.

Selon Folman et al (1974), la croissance compensatoire chez les bovins est aussi caractérisée par un gain de poids plus rapide. Ils notent également un coefficient d'utilisation de la nourriture plus élevé durant les périodes de restriction.

Cabak et al (1963) constatent une augmentation de l'azote protéique extracellulaire dans les muscles des rats sous-nourris: qu'ils aient reçu soit un régime bas en calories-haut en protéines, soit un régime haut en calories-bas en protéines.

Selon Pothoven (1975), l'importance des dépôts de graisse est fonction du poids corporel et du régime alimentaire. Ainsi, lorsqu'il étudie l'effet de la restriction ou d'une alimentation normale chez de jeunes boeufs, il constate que la capacité de synthèse des acides gras ainsi que la lipolyse diminuent lorsqu'il y a restriction.

Il a noté aussi que le taux de synthèse des acides gras diminue avec l'engraissement du sujet (ce qui confirme les résultats de Ingle et al (1972) alors que le taux de lipolyse augmente dans ces conditions (ceci fut également constaté chez le mouton par Sidhu et al (1973).

L'influence du régime alimentaire sur la lipogénèse fut aussi mise en évidence par Askew et al (1975) qui constatent, chez le rat, qu'une nourriture ri-

che en graisses et en hydrates de carbone affecte le poids des acides gras et leur estérification.

Dinius et al (1974) notent aussi une relation entre la composition des acides gras à longue chaîne des tissus et celle de la nourriture des bovins.

Chez des lignées de souris normales ou obèses, Robinson (1974) souligne que si une restriction de la ration entraîne une réduction de la graisse corporelle, elle détermine peu de changement dans le contenu en protéines. Par contre, le jeûne induit le catabolisme des protéines (pour faciliter la glucoogénèse à partir des acides aminés).

Si le jeûne est suivi d'une période de restriction, le catabolisme des protéines est arrêté mais la lipolyse persiste. La restriction alimentaire et le jeûne auraient donc des effets différents.

d) Conclusion.

Une ration alimentaire pauvre en énergie détermine une perte globale de poids; celle-ci consiste surtout en une perte d'eau et de graisse et aussi de protéines mais en quantité plus faible.

Alors que les contenus en eau et en graisse sont fort affectés par la restriction alimentaire, les minéraux sont peu touchés et les protéines ne subissent une restriction significative que dans les cas de sévères restrictions ou de jeûne car elles sont alors utilisées comme source énergétique. D'autre part, le régime alimentaire intervient quantitativement pour modifier la composition corporelle de l'animal; sa qualité joue aussi un rôle important.

B. Effet de la quantité de protéines.

a) Chez le mouton adulte.

La dose d'entretien, comme le rapporte Therriez (1973) est faible chez des brebis de 60 à 70 kg: 65 g de matières azotées digestibles par jour.

Pour Broster (1973), à prise d'énergie constante, un supplément de protéines alimentaires augmente le contenu en protéines du corps et diminue le contenu en graisse alors qu'à prise de protéines constante, une prise d'énergie croissante augmente les dépôts graisseux. Le même auteur suggère qu'une addition de protéines à la ration alimentaire accroîtrait la digestibilité apparente des protéines de la ration alors qu'un supplément d'énergie la diminuerait.

Orskov et al (1971) constatent un gain de poids quotidien plus faible chez

des agneaux soumis à un régime pauvre en calories. La croissance en protéines, selon eux, affecterait aussi la composition corporelle, mais les différences induites par des niveaux en protéines alimentaires variés, s'estomperaient avec l'augmentation du poids vif.

b) Chez le mouton en croissance et en gestation.

Les besoins azotés deviennent plus élevés au cours de la gestation; un supplément quotidien de 60 à 100 g de matières azotées digestibles s'avère indispensable au cours des quatrième et cinquième mois.

Les besoins azotés augmentent également pendant la lactation (le lait de la brebis étant très riche en matières azotées); un supplément de 90 g de MAD doit être prévu par kg de lait fourni (Therriez - 1973).

Sykes et Field (1972) nous livrent différents résultats qui soulignent l'influence du niveau alimentaire en protéines sur la composition corporelle des brebis en gestation: la perte de poids serait respectivement de 18% pour un régime contenant 11,8% de protéines et de 20% dans le cas d'un régime pauvre (6%); la perte en protéines serait respectivement de 40 et 42%.

Dans les deux cas, le volume extra-cellulaire augmente de 36% et la graisse diminue de 50%. Le régime pauvre en protéines entraîne une réduction du poids du muscle par suite d'une perte en matières sèches et en eau; on y enregistre aussi une perte d'azote et de potassium.

Ces mêmes auteurs (1972) constatent qu'une addition de protéines à un régime à basse énergie détermine une diminution de la perte de poids chez la brebis gestante et un accroissement du gain de poids chez de jeunes agneaux.

Les besoins de l'agneau sont également plus élevés car ses muscles doivent se former. Toujours selon Therriez, une augmentation de la ration alimentaire en matières azotées favoriserait l'ingestion de plus de nourriture et un gain de poids vif alors que la quantité de lipides déposés se réduirait. Les besoins en protéines diminueraient avec l'âge, passant pour un gain de poids quotidien de 300 g, de 18% pour des animaux de 14 à 20 kg à 15% lorsque le poids est compris entre 20 et 25 kg et à 12% pour des poids supérieurs (Therriez, 1973).

Morton et Walker (1970) constatent une croissance rapide chez de jeunes agneaux recevant un régime riche en protéines. Morgan et Oven (1973) mettent en évidence qu'un régime riche en protéines détermine chez les agneaux une plus faible quantité d'eau et de minéraux, mais plus de protéines que chez ceux soumis à un régime carencé.

c) Chez d'autres animaux.

Antony et Edozien (1975) font des constatations analogues à celles rencontrées ci-dessus, chez le rat; ils soulignent de plus que le taux d'acides aminés essentiels dans le plasma (excepté la lysine) est faible lorsque le régime est pauvre en protéines.

Robinson (1974) note qu'une diminution du niveau des protéines alimentaires amoindrit la prise volontaire de nourriture chez de jeunes porcs ainsi que l'efficacité de conversion de l'énergie alimentaire en poids vif et la rétention d'eau dans les tissus. Un faible niveau de protéines alimentaires entraîne encore une réduction des protéines du corps et une augmentation du contenu en graisse.

d) Conclusion.

Le niveau alimentaire en protéines a peu d'influence sur la composition corporelle des animaux adultes, à condition qu'ils reçoivent leur ration d'entretien en protéines. Celle-ci est d'ailleurs faible. Il n'en va pas de même pour les animaux jeunes et pour les animaux en gestation ou en lactation: dans ces cas, le niveau alimentaire en protéines est nettement plus élevé. Un niveau alimentaire carencé en protéines déterminerait alors une modification de la composition corporelle.

Les protéines influent aussi sur la quantité de nourriture que l'animal absorbe volontairement et sur l'efficacité de la conversion de l'énergie alimentaire en poids vif.

C. Réserves azotées corporelles.

On appelle réserves protéiques l'ensemble des protéines corporelles qui peuvent être gagnées ou perdues lors de changements alimentaires.

D'après les études d'Allison sur les rats, citées par Paquay (1967), celles-ci comprennent d'une part, les protéines labiles qui disparaissent rapidement lorsqu'il se produit une réduction dans l'alimentation et, d'autre part, les protéines de réserve proprement dites qui jouent un rôle dans la couverture des besoins azotés, lorsque le déficit alimentaire se poursuit. Ces réserves représentent environ 20 à 25% des protéines totales et c'est seulement lorsque cette fraction est perdue que l'azote urinaire atteint son minimum constant: en effet,

Composant	Pourcentage de	Groupe A	Groupe B	Groupe C	Significa- tion des différences
Protéines	Poids du corps	15,12 \pm 0,84	16,54 \pm 0,68	16,11 \pm 1,36	non sign.
	Poids du corps vide dégraissé.	22,59 \pm 0,06	21,30 \pm 0,77	20,46 \pm 0,30	A B et C
Matières minérales	Poids du corps	3,89 \pm 0,52	4,31 \pm 0,32	4,76 \pm 0,65	A B, A C
	Poids du corps vide dégraissé	5,96 \pm 0,48	5,55 \pm 0,13	6,02 \pm 0,26	non sign.
Eau	Poids du corps	54,10 \pm 3,23	69,90 \pm 1,96	73,30 \pm 1,02	A B et C B C
	Poids du corps vide dégraissé	71,96 \pm 0,29	73,41 \pm 0,26	73,48 \pm 0,47	A B et C
Graisse	Poids du corps	27,62 \pm 5,49	9,10 \pm 3,01	5,26 \pm 1,65	A B et C B C

P 0,05 P 0,01

(groupe A : pas de restriction alimentaire; B et C: sous nutrition pendant quatre mois, ensuite ration de maintien pendant neuf mois).

Figure 5. Quantités moyennes de protéines, de matières minérales, d'eau et de graisse chez les moutons bien nourris (A) et sous-alimentés (B et C) exprimées en pourcentage du poids du corps vide (mis à jeûn) et en poids du corps vide dégraissé (Farrell-Reardon, 1972).

la perte des protéines conduit à une réduction du pool des acides aminés et de ce fait à une diminution des pertes uréiques.

Lors de la période d'absorption, l'azote digéré est déposé sous forme labile et cela, indépendamment de l'apport énergétique alimentaire; cette mise en réserve se fait dans le foie, les viscères, les muscles.

L'absorption terminée, l'azote labile est remis en circulation. Si les apports énergétiques sont suffisants, il est déposé dans la masse musculaire. En cas de carence, il n'est pas mis en dépôt et va dans les urines.

Les travaux de Paquay et al (1967, 1971, 1972) menés sur des bovins, confirment ces résultats. Une ration correspondant à 1,3 fois les besoins énergétiques d'entretien, de contenu protéique moyen de 10,5% succédant à une période de disette, conduit à la mise en réserve, étalée sur cinq mois, d'une quantité de protéines correspondant à 20% des protéines corporelles totales. Le passage d'un régime riche en énergie à un régime pauvre, 0,65 fois les besoins énergétiques

d'entretien, cause une élimination azotée importante pendant les premiers jours correspondant à 1% des protéines totales: cela constituerait les protéines labiles. Il remarque en outre que ces protéines labiles sont perdues plus rapidement pendant le jeûne que pendant un régime bas en protéines.

Des moutons maturés soumis pendant quatre semaines à un régime couvrant 1/30 de leurs besoins perdent, selon Keenan et Mac Manus (1969), 16% de leur poids, ce qui est principalement attribuable à une perte de protéines. Ces pertes sont rapidement comblées lors d'une réalimentation abondante.

Traitement.

	a		b				
	Au début	Durant traitement	Début	Durant période			Durant traitement complet
				1	2	3	
Temps (jours)	-	118	-	28	56	34	118
Energie (kcal/j)	-	1706	-	573	891	3497	1566
Eau	20,93	-0,33	20,00	-2,45	-0,25	4,83	2,13
E.standard	-	±0,15	-	±0,32	±0,51	±0,71	±0,66
Signif.	-	N.S.	-	***	N.S.	***	*
Protéines (kg)	5,18	-0,04	5,05	-0,68	-0,10	0,99	0,21
E.standard	-	±0,01	-	±0,03	±0,04	±0,15	±0,15
Signif.	-	N.S.	-	***	***	***	N.S.
Graisse	5,18	0,46	5,51	-2,12	-0,71	1,87	-0,96
E.standard	-	±0,18	-	±0,12	±0,12	±0,09	±0,06
Signif.	-	*	-	***	**	***	***
Energie (Mcal)	79,55	4,79	81,96	-24,25	-7,62	23,90	-7,97
E.standard	-	±1,39	-	±0,98	±1,00	±1,29	±1,02
Signif.	-	*	-	***	***	***	***
Poids vif	33,6	0,24	32,9	-5,4	-1,00	8,1	1,7
E.standard	-	±0,40	-	±0,23	±0,19	±0,90	±0,86
Signif.	-	N.S.	-	***	**	***	N.S.

*** = significatif à 0,1%;

** = significatif à 1%;

* = significatif à 5%;

N.S.= non significatif.

Figure 6. Poids moyens du corps et des composants corporels au début de chaque traitement; changements enregistrés au cours de l'expérience et ingestion quotidienne moyenne d'énergie. (Keenan- Mac Manus-1969).

Conclusion.

Les réserves protéiques constituent environ 25% des protéines corporelles totales; elles comprennent une partie de protéines labiles (5% des protéines totales), qui sont rapidement perdues lors d'une restriction alimentaire, le reste des réserves n'étant utilisé que pour la couverture des besoins azotés lorsque le déficit alimentaire se poursuit.

CHAPITRE IV. Effets du régime alimentaire sur l'utilisation des substances nutritives.

A. Digestibilité des matières sèches et de l'énergie.

D'après les études de Paquay et al (1972,a) sur des vaches tarées et en lactation, il ressort que la digestibilité de la matière sèche (ou de l'énergie) est une fonction linéaire décroissante du niveau d'ingestion de matière sèche (ou d'énergie) et du contenu en fibres brutes.

La relation est de la forme $Y = a - bx_1 - cx_2$ où Y= digestibilité (en %);

x_1 = quantité ingérée;

x_2 = contenu en fibres brutes
(en %).

Le coefficient de digestibilité des matières sèches est aussi influencé par la forme physique de la nourriture: du fourrage haché a une digestibilité plus faible suite à un passage plus rapide dans le tractus digestif.

Selon Mac Donald et al, une augmentation du contenu en fibres brutes de la

nourriture de 1% entraîne une réduction du coefficient de digestibilité de 0,7 à 1% chez les ruminants; lorsque le niveau d'ingestion s'élève de une unité (c'est-à-dire une ration valant deux fois les besoins d'entretien), la diminution du coefficient de digestibilité atteint 2%.

Blaxter et Mac Graham (1955) confirment la réduction de la digestibilité de l'énergie lors d'un accroissement du niveau d'ingestion d'énergie chez le mouton.

Lors d'une étude sur la croissance compensatoire chez de jeunes moutons, Drew et Reid (1975) ne constatent pas de différence de digestibilité ou de métabolisation de l'énergie entre des moutons nourris régulièrement et des moutons réalimentés après une période de restriction, excepté pour le pourcentage d'énergie digestible qui diminue immédiatement après la réalimentation. Au début de la phase de perte de poids par les moutons sous-alimentés, les pourcentages d'énergie digestible et métabolisable augmentent; après une sous-nutrition prolongée, le pourcentage d'énergie digestible s'accroît encore alors que le pourcentage d'énergie métabolisable diminue fortement jusqu'à atteindre une valeur semblable à celle observée chez les moutons nourris régulièrement.

Selon Paquay et al (1973), la digestibilité des principes énergétiques est aussi liée à la concentration en protéines brutes de la ration: la digestion des substances énergétiques dans le rumen est en effet liée à celle des sources azotées. Une trop forte teneur en protéines cause une augmentation de la concentration en ammoniacque dans le rumen et altère donc l'utilisation des principes énergétiques; une trop faible teneur cause une réduction de la digestibilité de la cellulose.

B. Digestibilité de l'azote.

D'après les études de Paquay et al (1972,b) sur les bovins, il y aurait une relation hyperbolique entre la digestibilité de l'azote et la concentration en protéines brutes de la ration; cette relation est de la forme $Y = a - b/x$ (où $Y =$ digestibilité en % et $x =$ concentration en protéines); la digestibilité reste constante quel que soit le niveau d'ingestion, sauf la concentration en protéines supérieure à 20% qui se traduit par une réduction de la digestibilité de l'azote avec une augmentation du niveau d'ingestion.

Mac Donald et al constatent aussi que la digestibilité des protéines brutes dépend de la concentration des protéines alimentaires parce que l'azote fécal représente une taxe constante de l'azote alimentaire chez les ruminants.

Pour Broster (1973), un supplément d'énergie réduit la digestibilité apparente des protéines chez le mouton.

C. Remarque.

Les coefficients de digestibilité, calculés en soustrayant la partie excrétée dans les fèces de la partie ingérée, sont en fait des coefficients de digestibilité apparente: selon Mac Donald et Edwards, ceux-ci sont valables pour les composés organiques mais sont non significatifs pour les matières minérales, vu les pertes endogènes importantes de minéraux dans les fèces.

D. Bilan azoté.

Selon Paquay et al (1973), l'utilisation de l'azote alimentaire est influencée autant sinon plus par la quantité et la nature des principes énergétiques ingérés que par la quantité d'azote alimentaire; si les quantités d'azote sont suffisantes, un enrichissement en principes énergétiques cause une augmentation du bilan azoté: en effet, en cas de déficience alimentaire en énergie, l'animal se sert des protéines corporelles comme source d'énergie; l'addition de principes énergétiques ralentit l'activité des enzymes responsables du catabolisme azoté hépatique; de plus, la synthèse des protéines et leur mise en dépôt sont des opérations énergétiquement coûteuses.

Ces mêmes auteurs (1972,b) notent que chez les bovins, l'excrétion urinaire d'azote et le bilan azoté sont influencés par le niveau d'ingestion d'azote digestible, d'énergie métabolisable et de potassium digestible: l'azote urinaire et le bilan augmentent si l'ingestion d'azote s'accroît.

Toujours dans leurs études sur les bovins (1967), ces auteurs rapportent que des animaux recevant une ration correspondant à 1,3 fois les besoins énergétiques d'entretien et d'un contenu moyen en protéines, après une période préalable de disette, présentent un bilan azoté positif au début, qui se réduit ensuite graduellement (grâce à une augmentation régulière des pertes azotées urinaires) pour atteindre l'équilibre après cinq mois. Si les animaux reçoivent ensuite une ration pauvre, le métabolisme suit une évolution inverse: il se produit une réduction graduelle des pertes azotées urinaires, de sorte que le bilan azoté, négatif au début, tend peu à peu vers l'équilibre.

Lors du passage de la ration riche à la ration pauvre, on enregistre une chute

rapide des pertes azotées fécales; après cinq jours on obtient la valeur qui se maintient durant toute la période; par contre, l'élimination d'azote par les urines augmente au cours des premiers jours (perte des protéines labiles) puis diminue, d'abord rapidement, ensuite graduellement pour atteindre le rythme lent qui se maintient pendant toute la période.

La restriction de la nourriture et le jeûne ont des effets opposés à un régime bas en protéines sur le destin de l'azote: les pertes totales d'azotes sont plus élevées durant le jeûne que lors d'un régime bas en protéines. Les travaux de Paquay et al sur les bovins (1972,c), montrent que lors de la mise à jeûn, l'excrétion fécale d'azote diminue rapidement alors que les pertes azotées urinaires restent fortes et augmentent même pendant plusieurs jours: plus grandes sont les ingestions d'azote et d'énergie avant le jeûne (et donc plus importantes sont les réserves protéiques), et plus grandes sont les pertes azotées urinaires durant les premiers jours de jeûne.

L'administration d'un régime bas en protéines par contre, provoque une réduction rapide des pertes azotées urinaires mais la diminution des pertes fécales est plus lente que lors du jeûne parce que les matières sèches ingérées induisent des pertes endogènes d'azote dans les fèces.

Des conclusions analogues ont été tirées par Robinson (1971) après des expériences réalisées sur des scuris.

DEUXIEME PARTIE: RECHERCHES PERSONNELLES.

Nous nous sommes proposé d'appliquer chez le mouton, la technique de diffusion de l'eau tritiée dans l'eau corporelle, d'apprécier sa facilité d'exécution et de tester sa validité dans l'estimation du volume hydrique total de l'organisme et par là, du volume de graisse.

On vérifiera si l'hypothèse sur laquelle repose la technique de dosage de la graisse par l'eau tritiée, à savoir la constance du taux de protéines dans l'organisme est adéquate au moyen de la méthode des bilans azotés.

En se basant sur ces méthodes pour déterminer la composition corporelle, on recherchera ensuite l'effet du niveau en énergie et en protéines du régime alimentaire sur la composition corporelle de brebis adultes.

CHAPITRE I. Techniques. Plan expérimental.

I. Animaux.

On dispose de quatre brebis: deux (moutons 1 et 3) sont des Suffolk bâtard âgées de trois ans ou plus; les deux autres (moutons 13 et 14) sont des Texel nées respectivement le 12/3/74 et le 8/3/74.

II. Technique TOH.

a) moutons.

Les moutons mis à jeûn depuis la veille, sont pesés le matin de l'injection; les sondes vésicales sont placées 24 heures plus tôt pour récolter l'urine; et du sang est prélevé dans un tube hépariné. Immédiatement après, on injecte dans la veine jugulaire environ 240 μ ci d'eau tritiée (1 cc de la solution stock) dans 5 cc d'eau physiologique. On nettoie la vessie au moyen de petites quantités d'eau distillée.

Huit heures exactement après l'injection, on effectue un nouveau prélèvement sanguin et on recueille l'urine par rinçage de la vessie; on retire les sondes et on pèse les moutons.

b) échantillons.

Le sang est centrifugé pendant vingt minutes à 3000 tr/min; des échantillons doubles de 1 cc de plasma sont recueillis et placés dans des tubes à centrifuger.

On précipite les protéines par addition de 2 cc d'acide trichloroacétique à 10% et on centrifuge à nouveau pendant vingt minutes à 3000 tr/min.

On recueille des échantillons doubles de 0,5 cc de surnageant et on les place dans une fiole contenant 10 ml de la solution de scintillation.

On procède de la même manière pour les urines; on se limite cependant à prélever des échantillons simples.

c) comptage.

-On utilise un compteur à scintillation liquide (Nuclear Chicago Isocap 300).

-Les échantillons ainsi que les deux blancs composés, l'un de 0,5 cc d'eau distillée, l'autre de 0,5 cc de TCA à 6,6% dans 10 ml de solution de scintillation sont comptés trois fois pendant dix minutes. On veille à laisser les échantillons pendant une nuit dans l'obscurité avant d'effectuer le comptage, afin de laisser s'estomper les effets de la photoluminescence.

-On ajoute alors à chaque échantillon 10 μ l d'une solution standard (standard interne) et on les compte à nouveau trois fois pendant deux minutes.

L'utilisation du standard interne permet ainsi d'évaluer le quenching dû au plasma lequel est variable suivant le type de plasma. Le nombre de coups par minute obtenu pour chaque échantillon sera donc corrigé d'un facteur adéquat.

Les blancs sont adjoints à chaque série: celui à l'eau distillée servira à déterminer le background de l'appareil. Le rendement pourra se déduire à partir du blanc " eau distillée" ou du blanc " TCA 6,6% ". Dans ce dernier cas, le nombre de coups par minute obtenu est plus faible, étant donné le fort quenching, environ 50%, qu'entraîne le TCA; la valeur du background est alors soustraite du nombre de coups obtenu pour chaque échantillon.

Composition du standard interne.

- 200 μ l de solution stock d'eau tritiée sont dilués dans 40 ml d'eau distillée
- 100 μ l de cette solution sont ajoutés à chaque échantillon.

Composition du liquide de scintillation.

- 7 g dyphénil-oxazol (P.P.O) pour scintillation (Merck 2946);
- 50 g naphthalène pour scintillation (Merck 6200);
- 50 mg de phényl bisméthyl 4 phényl 5 oxazole (PoPoP) pour scintillation (Merck 7248).

On porte au litre avec du 8 dioxanne (Merck 3118).

Calculs.

- a= nombre de cpm du plasma matin;
 b= " " plasma soir;
 c= " " des urines;
 d= " " du blanc;
 e= " " du blanc + standard;
 a'= " " du plasma + standard matin;
 b'= " " du plasma + standard soir;
 c'= " " des urines + standard.

- Le nombre de cpm correspond à la dose injectée (1 ml de solution stock) et vaut: $I = (e - d) \times 2000$.
- Le rendement vaut: $R = (c' - c) / e - d$ pour les urines et $(b' - b) / e - d$ pour les plasmas.
- Le nombre de cpm par ml d'eau de plasma ou d'eau corporelle vaudra: $P = (b - a) \times 6$.
- Le nombre de cpm par ml d'urine sera: $U = c \times 6$.
- Les valeurs réelles par ml de plasma et d'urine sont ensuite calculées $P' = P / R$ et $U' = U / R$ respectivement.
- Le nombre de cpm corporels vaudra $C' = I - (U' \text{ fois volume d'urine émise en huit heures })$.
- Le contenu hydrique de l'organisme sera ainsi $H = C' / P'$.

d) estimation du contenu en graisse.

On applique dans ce but la formule de Sykes (1974):

$$y = 0,83x_1 - 0,96x_2 - 4,08 \quad \text{où } y = \text{ poids de graisse (kgf);}$$

$$x_1 = \text{ poids du corps (kgf);}$$

$$x_2 = \text{ espace TOH (l).}$$

On a également retenu la formule allométrique de Donnelly et Freer (1974):

$$y = 0,117 (w - T)^{1,592} \cdot M^{-0,225} \quad \text{où } y = \text{ contenu en graisse (kgf);}$$

$$w = \text{ poids vif (kgf);}$$

$$T = \text{ espace TOH (l);}$$

$$M = \text{ maturité.}$$

III. Mesure des bilans.

a) cages métaboliques.

Les animaux sont placés dans des cages métaboliques qui permettent de récolter séparément les matières fécales et les urines.

b) mode expérimental.

- Deux bilans s'étalant sur une période de sept jours sont effectués lors de chaque période expérimentale; celle-ci dure sept semaines. Le premier bilan débute dix jours après le commencement du traitement afin d'éliminer les effets du traitement antérieur; le deuxième est effectué pendant la dernière semaine de la période expérimentale.

- Des quantités proportionnelles d'urine et de matières fécales sont prélevées en temps voulu au cours du bilan et mélangées intimement.

- Les moutons sont pesés chaque jour à 8h 30 pendant trois jours au début du premier bilan et à la fin du second.

c) échantillonnage des aliments.

Les aliments consistent en herbe déshydratée en pellets, orge aplatie, aliments composés en bouchons et foin de prairie en ballots.

Des prélèvements sont effectués au hasard dans les sacs ou les ballots, le tout est mélangé et moulu; une partie est alors prélevée pour les analyses subséquentes

d) techniques de dosage.α) Détermination des matières sèches.

Les échantillons (au nombre de quatre pour les matières fécales et de six pour les aliments) placés dans des creusets, sont pesés avec précision et placés à l'étuve pendant 24 heures à 80°C. Ils sont ensuite pesés à nouveau.

β) Détermination des matières minérales.

Les creusets ayant servi à la détermination de la matière sèche sont placés au four pendant 24 heures à 600°C et pesés après refroidissement.

γ) Dosage de l'azote.

Ce dosage est réalisé par la méthode de Kjeldahl modifiée. Les échantillons sont minéralisés par l'acide sulfurique à 66°Be auquel on ajoute de l'acide salicylique comme agent anti-mousse, de l'hyposulfite de Na et du sélénium comme catalyseur.

δ) Dosage de l'énergie.

Il s'effectue à la bombe calorimétrique.

IV. Plan expérimental.

La distribution des périodes expérimentales est représentée dans le tableau 1.

Tableau 1: distribution des périodes expérimentales.

	Rations.			
	A	B	C	D
Préparatoire (05/08/1975-03/09/1975)	Ration expérimentale pour les 4 moutons.			
I (04/09/1975-23/10/1975)	Mouton 1	Mouton 13	Mouton 14	Mouton 3
II (23/10/75-11/12/75)	Mouton 3	Mouton 14	Mouton 13	Mouton 1.
III (11/12/75-28/01/1976)	Mouton13	Mouton 1	Mouton 3	Mouton 14
IV (28/01/1976-18/03/1976)	Mouton14	Mouton 3	Mouton 1	Mouton 13

- Les injections d'eau tritiée ont lieu le dernier jour de chaque période, les animaux étant mis au jeûne complet depuis vingt-quatre heures.
- Quatre moutons différents furent utilisés ultérieurement pour contrôler la mise au point de la technique de dilution de l'eau tritiée.
- Composition journalière théorique des rations:
 ration expérimentale: 500g de foin, 150g d'herbe, 150g d'aliments composés, 150g d'orge.
 A: 150g de foin, 150g d'herbe, 150g d'aliments composés.
 B: 225g de foin, 225g d'orge.
 C: 600g de foin, 600g d'herbe, 600g d'aliments composés.
 D: 900g de foin, 900g d'orge.

CHAPITRE II. Résultats.

I. Composition réelle des rations.

- Les rations théoriques prévues n'ont pas toujours été consommées en totalité; la composition moyenne des rations réellement ingérées est représentée dans le tableau 2.
- En utilisant la méthode du carré latin, nous nous proposons d'étudier l'effet de l'ingestion de deux niveaux d'énergie et de deux niveaux de protéines différents sur la composition corporelle.
- La composition des rations est sensiblement la même pour les deux bilans.

- La teneur en fibres brutes des différentes rations est très proche l'une de l'autre, mais la teneur en protéines des rations A et C est supérieure (environ 4%) à celle des rations B et D.
- Les rations A et B assurent un apport quotidien en énergie beaucoup plus faible que les rations C et D; mais contrairement aux rations A et B, les rations C et D ne sont pas comparables au point de vue niveau d'énergie suite à la consommation incomplète de la ration D.

Tableau 2: composition journalière des rations réelles (en g ou kcal/jour).

Rations.	A	B	C	D
<u>Premier bilan.</u>				
Matière sèche	412,62	408,58	1632,32	1315,75
Matières minérales totales	43,98	25,96	174,10	81,17
Azote total	10,66	7,37	42,32	23,82
Fibres brutes	51,84	60,25	203,03	187,91
Energie	1757	1719	6952	5540
Teneur en protéines	14,81%	10,24%	14,86%	10,26%
Teneur en fibres brutes	11,52%	13,39%	11,40%	12,95%
<u>Deuxième bilan.</u>				
Matière sèche	412,62	388,24	1645,36	1387,37
Matières minérales totales	43,98	25,46	175,41	92,72
Azote total	10,66	6,97	42,54	24,85
Fibres brutes	51,84	59,23	206,15	216,01
Energie	1757	1632	7006	5831
Teneur en protéines	14,81%	10,20%	14,82%	10,19%
Teneur en fibres brutes	11,52%	14,11%	11,49%	14,17%

II. Evolution du poids vif.

- Lors de la période préexpérimentale, le poids vif moyen des moutons s'élevait à 51,22kg.
- L'évolution du poids en fonction des rations ingérées est consignée dans le tableau 3.

Tableau 3: évolution du poids vif.

Ration.	Poids vif (kg).		Evolution pondérale (g/jour).
	Début de période	Fin de période	
A	48,66	46,50	-64,0
B	49,94	46,47	-102,8
C	52,99	57,95	+147,0
D	52,37	56,90	+138,3

Ces résultats correspondent bien à nos prévisions, à savoir que les rations pauvres en énergie (A et B) entraînent une perte de poids, alors que les rations riches en énergie (C et D) permettent un gain de poids.

III. Digestibilités et bilans azotés.

Le coefficient de digestibilité de la matière sèche, des matières minérales, de l'énergie, de l'azote contenus dans les différentes rations ainsi que le bilan azoté sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4: digestibilités et bilans azotés.

Rations.	A	B	C	D
Digestibilité matières sèches				
Premier bilan	67,39%	76,13%	59,68%	72,57%
Second bilan	65,38%	74,62%	56,47%	68,37%
Digestibilité de l'énergie				
Premier bilan	70,17%	76,93%	62,29%	72,08%
Second bilan	67,16%	74,94%	57,45%	68,02%
Digestibilité des matières minérales				
Premier bilan	33,10%	23,14%	27,01%	34,38%
Second bilan	31,68%	26,24%	23,41%	23,85%
Digestibilité de l'azote				
Premier bilan	56,69%	51,80%	41,39%	48,40%
Second bilan	55,55%	57,10%	42,50%	44,41%
Bilan azoté (gN/jour)				
Premier bilan	-2,14	-3,31	+3,13	+4,39
Second bilan	-2,07	-2,99	+0,93	+0,65

- Les coefficients de digestibilité de la matière sèche et de l'énergie sont comparables: la ration A présente une digestibilité beaucoup plus élevée que la ration C, de même teneur en FB mais d'un niveau supérieur en matières sèches; une telle constatation peut également être faite en ce qui concerne la ration B par rapport à la ration D, bien que dans ce cas l'écart observé soit plus faible. Les coefficients de digestibilité élevés obtenus avec les rations C et D suggèrent que l'orge est un aliment mieux digéré par le mouton que le mélange herbe-aliments composés et qu'il facilite en outre la digestion du foin.
- La digestibilité de l'azote diminue si le niveau de matière sèche augmente; elle s'améliore avec un accroissement de la teneur en protéines si nous comparons les rations A et B, mais les résultats obtenus pour les rations C et D dérogent à cette règle: les valeurs fournies par la ration C semblent anormalement basses; elles devraient, en effet, être supérieures à celles fournies par la ration D, de moindre teneur en protéines.
- les bilans azotés sont négatifs avec les rations A et B lors du premier bilan et le restent encore lors du second bilan; ils sont positifs lors du premier bilan avec les rations C et D et tendent nettement vers l'équilibre lors du second bilan.

Les résultats des bilans azotés nous permettent de calculer la teneur en protéines du poids gagné ou perdu sous l'influence de chaque régime; celle-ci vaut 20,21% et 19,15% du poids perdu en ce qui concerne les rations A et B et 8,63% et 11,39% du poids gagné en ce qui concerne les rations C et D.

IV. Teneur en eau et en graisse corporelle.

Ces résultats sont consignés dans les tableaux 5 et 6.

Tableau 5: résultats de la teneur en eau et en graisse corporelle (par période).

Moutons		1	3	13	14
Période expérimentale	eau corps (1)	41,093	45,109	29,270	31,431
	% eau/P vif	81,53%	93,98%	59,98%	75,74%
	graisse (kg) (1)	-1,70	-7,54	+8,32	+0,19
	(2)	+4,08	+0,63	+13,27	+4,62
Fin période I	eau corps (1)	29,068	23,852	28,918	35,837
	% eau/P vif	66,06%	41,77%	73,40%	75,60%
	graisse (kg) (1)	+4,53	+20,41	+0,86	+0,85
	(2)	+8,66	+30,96	+4,93	+5,76

Fin période II.	eau corps (1)	42,144	36,385	21,341	16,029
	% eau/P vif	73,94%	73,80%	42,60%	40,38%
	graisse (kg) (1)	+2,77	+1,91	+17,02	+13,48
	(2)	+8,59	+6,87	+24,58	+18,03
Fin période III.	eau corps (1)	50,068	49,868	45,698	63,373
	% eau/P vif	108,14%	84,38%	102,46%	139,59%
	graisse (kg) (1)	-13,72	-2,90	-10,93	-27,24
	(2)	-	-	-	-
Fin période IV.	eau corps (1)	55,128	36,169	35,498	28,753
	% eau/P vif	105,21%	69,96%	66,48%	70,99%
	graisse (kg) (1)	-13,51	+4,11	+6,16	+1,93
	(2)	-	+9,22	+11,55	+5,91

N.B. Graisse (1): calculée selon la formule de Sykes; graisse (2): calculée selon la formule de Donnelly.

Résultats obtenus avec les quatre moutons différents utilisés pour le contrôle de la mise au point de la technique

	mouton a	mouton b	mouton c	mouton d
eau corporelle (1)	23,091	19,282	87,978	33,225
% eau/poids vif	63,30%	62,40%	123,05%	61,55%

- Nous observons des valeurs très élevées pour l'eau corporelle lors de la période préexpérimentale et de ce fait des valeurs très faibles pour la teneur en graisse.

Les résultats de la période I, tels qu'ils sont présentés dans le tableau 5, ont été obtenus après une correction destinée à éliminer du nombre de cpm donnés par nos échantillons, ceux imputables à un effet de photoluminescence (voir discussion). Les résultats aberrants de la période III indiquent une sérieuse faille dans notre technique et ils nous ont conduits à vérifier certaines hypothèses susceptibles de justifier de tels résultats et à modifier notre mode opératoire en conséquence; les résultats que nous avons ainsi obtenus lors de la période IV semblent acceptables pour trois moutons; par contre, le quatrième présente encore un espace TOH supérieur à 100%. Nous avons retrouvé une situation analogue lors de l'expérience de "contrôle": une imprécision lors de l'injection pourrait être responsable de ces valeurs anormales que nous trouvons parfois pour l'espace TOH. Nous n'entrevoions actuellement aucune autre explication à ce phénomène.

- L'espace TOH obtenu par la méthode de dilution de l'eau tritiée est assez élevé et semble surestimer l'eau corporelle totale réelle.
- Le nombre de cpm donné par les plasma du matin est faible et de l'ordre de grandeur du " blanc " lors des périodes I et II; cependant, il augmente considérablement, ainsi que le montre le tableau 5' ci-après, au cours des périodes suivantes.

Tableau 5': nombre de cpm dans le plasma du matin (par périodes).

Périodes	préexp.	I	II	III	IV
Blanc	118	65,44	80	74,5	81,25
Blanc + plasma	86,5	127	118	348	303
Différence	32,5	61,56	38	273,5	221,75

Le tableau 5" ci-après montre que les pertes d' H_3O par voie urinaire au cours de la période d'équilibration sont faibles: elles représentent en moyenne 1% de la dose injectée.

Tableau 5": quantité d' H_3O éliminée par voie urinaire au cours de la période d'équilibration (8 h).

Périodes	préexp.	I	II	III	IV
Coups injectés	1.47.253.800	242.447.860	298.335.560	172.245.000	1.69.186.700
Coups urines totaux	1.761.121	3.792.895	4.340.509	1.289.286	1.681.746
% de dose injectée	1,2%	1,56%	1,45%	0,75%	0,99%

Tableau 6: résultats de la teneur en eau et en graisse corporelle (par rations).

Rations	eau		graisse	
	volume (l)	% eau/P.V	kg (1)	%/P.V (1)
A	35,129	78,33	-0,639	-1,392
B	32,796	72,97	+1,183	+3,620
C	40,544	76,95	+0,367	+1,272
D	41,217	80,44	+0,526	-1,965

Ces valeurs sont aberrantes et nous ne pouvons pas tirer de conclusions en ce qui concerne l'influence du régime alimentaire sur la teneur en graisse, vu les résultats variables et incorrects obtenus pour l'espace TOH au cours des trois premières périodes expérimentales.

CHAPITRE IV. Discussion.

I. Technique TOH.

a) Mode expérimental.

- L'eau tritiée a été administrée par voie intraveineuse; de cette façon, l'état d'équilibre est supposé atteint après 8 heures (Smith et Sykes 1974). Au cours de cette période, il ressort de la littérature que seules les pertes d'eau tritiée par voie urinaire méritent notre attention. Nous avons donc recueilli les urines émises pendant la période d'équilibration et déterminé la quantité d'eau tritiée présente: nos résultats confirment les données de la littérature.
 - Afin de réduire l'influence du tractus digestif dans l'estimation de l'eau corporelle totale, nous avons soumis nos moutons à un jeûne complet 24 heures avant l'injection; une période de jeûne supplémentaire n'aurait apporté, selon les différents auteurs, que de faibles améliorations.
 - L'eau corporelle totale est estimée à partir de l'espace TOH. Selon la littérature, cet espace surestimerait l'eau corporelle d'environ 4% suite aux pertes d'eau tritiée extrarénales et à l'échange $H^3 - H$ des composés organiques pendant la période d'équilibration.
- Les valeurs de l'espace TOH que nous avons obtenues lors de la période IV (après amélioration de notre technique) semblent également surestimer de plusieurs pourcents la teneur en eau corporelle réelle.
- La demi-vie de l'eau tritiée dans l'organisme serait, d'après la littérature, d'environ dix jours; cependant, avant chaque injection, nous avons quand même effectué un prélèvement sanguin afin de déterminer la concentration résiduelle d' H_3O dans le plasma. Cette valeur est soustraite de celle trouvée dans le plasma prélevé huit heures après l'injection.

Le nombre de cpm donné par les plasma du matin augmente au cours des périodes expérimentales. Comme nos injections étaient espacées de 40 jours, nous ne nous attendions plus à trouver encore des quantités importantes de H_3O dans le plasma du matin.

Nos moutons étant soumis au jeûne depuis la veille, il se pourrait que le H_3 fixé dans les tissus, en réserve, soit remis en circulation. Mais cette hypothèse, si elle était vérifiée, conduirait à admettre une accumulation massive (et préférentielle de H_3 par rapport à H) dans les tissus. Des prises de sang effectuées ultérieurement sur des moutons n'ayant jamais subi d'injection d'eau tritiée ainsi que sur d'autres ayant déjà été traités sept semaines auparavant, nous ont permis de mettre en évidence une persistance de l'eau tritiée chez les moutons traités. La littérature ne nous apporte aucun éclaircissement à ce sujet, car les auteurs ayant eu recours à cette technique, n'ont jamais réalisé plusieurs injections sur les mêmes animaux.

- Pour la préparation des échantillons et le procédé de comptage, nous nous sommes inspirés des travaux d'Udekuvu et al (1963) ainsi que de ceux de Kumar et Berger (1968): les échantillons de plasma sont réalisés en double exemplaire; deux blancs, l'un à l'eau, l'autre au TLA 6,6% sont adjoints à chaque série. Le quenching différent manifesté par chaque plasma nous contraint à ajouter, après plusieurs comptages des échantillons pendant dix minutes, une quantité déterminée de solution standard; de cette façon, le rendement de chaque plasma et de chaque urine est aisément calculé.

- Nous avons retenu, pour calculer la teneur en graisse à partir de l'espace TOH, la formule de Sykes qui estime que la même formule peut être appliquée indifféremment à des moutons en condition corporelle riche ou pauvre et la formule allométrique de Donnelly et Freer qui tient compte d'un paramètre supplémentaire: la maturité. Dans notre cas cependant, ce paramètre n'intervient pas car il vaut l'unité, tous nos moutons ayant atteint le stade de maturité.

b) Résultats et modifications apportées à notre technique au cours des différentes périodes.

- Lors de la période préexpérimentale, nous avons injecté uniquement 1 cc d' H_3O : les résultats obtenus étaient peu vraisemblables, le pourcentage d'eau corporelle allant de 60 à 90% pour des moutons de même poids.

Ces discordances pouvaient être attribuées à des imprécisions sur la dose injectée; aussi, afin de les réduire, avons-nous dilué la dose d' H_3O dans 5 cc de liquide physiologique lors des injections ultérieures.

- Les espaces TOH obtenus lors de la période I se rapprochent de ceux livrés par la littérature (Till et Downes 1962): ceux-ci varient de 42% (pour le mouton du poids le plus élevé) à 75% (pour le mouton du poids le plus faible).

N'ayant pas envisagé d'éventuels problèmes de photoluminescence, nous avons préparé nos échantillons à la lumière naturelle, les avons comptés immédiatement et ajouté le standard interne avant d'examiner les résultats attentivement. Le nombre de cpm obtenu au cours des différents comptages semblant suivre une décroissance exponentielle, nous avons supposé que ce phénomène était dû à un effet de photoluminescence; nous avons alors ajusté une exponentielle de la forme $A \cdot Be^{-\lambda t}$ à travers nos résultats afin d'obtenir le nombre de cpm imputable au plasma (A). Lors des expériences suivantes, nous avons donc veillé, soit à préparer des échantillons à l'abri de la lumière naturelle, soit à les laisser dans le compteur pendant vingt-quatre heures avant de commencer le comptage.

- Les résultats de la période II et surtout ceux de la période III ont attiré notre attention sur l'écart (240%) qui était parfois obtenu entre les deux échantillons du même plasma.

Nous avons envisagé toute une série d'hypothèses susceptibles de justifier les résultats aberrants et non reproductibles de la période III en particulier.

- Lors de cette période, certains flacons utilisés pour le comptage étaient neufs, d'autres avaient déjà été utilisés plusieurs fois et avaient subi un traitement de décontamination. Après leur avoir fait subir ce traitement que nous avons employé avant la période III, nous avons fait compter ces flacons (remplis seulement de 10 ml de liquide de scintillation): il s'est ainsi avéré que notre traitement de décontamination était inefficace (certains flacons donnaient jusqu'à 400 cpm). Cette constatation pourrait donc justifier en partie les valeurs aberrantes obtenues.

- Face aux écarts importants observés entre les échantillons du même plasma, nous avons également pensé à un défaut d'homogénéité des plasma et des surnageants TCA.

Dans ce but, nous avons prélevé plusieurs tubes de sang à un mouton, y avons ajouté 1 cc de standard H_3O (9°/oo de NaCl) et nous avons effectué différents tests:

- (1) prélèvement du plasma à différentes hauteurs, homogénéisation du surnageant TCA; quatre échantillons.
- (2) homogénéisation du plasma, homogénéisation du surnageant TCA; quatre échantillons.
- (3) homogénéisation du plasma, prélèvement du surnageant TCA à différentes hauteurs; quatre échantillons.
- (4) technique habituelle.
- (5) homogénéisation du plasma - (a) TCA ajouté après plasma; trois échantillons;
(b) TCA ajouté avant plasma et agitation au vortex; trois échantillons.

Ces tests ont été réalisés plusieurs fois et il s'est avéré que l'homogénéité du plasma ainsi que celle du surnageant TCA ne sont pas en cause. Cependant, une mauvaise précipitation des protéines (5-a) entraîne des erreurs importantes (7% d'écart entre les différents échantillons). Or, c'est précisément cette méthode que nous utilisions auparavant!

- Une autre cause d'erreur à prendre en considération est un manque de précision dans les pipettages. Nous avons donc ajouté 100 μ l de standard, soit avec une pipette Eppendorf (que nous utilisons pour tous nos pipettages), soit avec une micro-pipette. La précision des pipettes Eppendorf est mauvaise (7% d'erreur, ce qui résulte peut-être d'une mauvaise utilisation de ce genre de pipette) tandis que la précision donnée par les micro-pipettes est bien meilleure.

Afin de réduire l'importance des erreurs de pipettage, il convient donc, puisqu'il nous est matériellement impossible d'utiliser des micro-pipettes, de travailler sur de gros échantillons, c'est-à-dire de prélever le maximum de plasma au lieu de 1 cc.

- La technique de préparation des échantillons utilisée lors de la période IV avait donc été modifiée en conséquence:- nous utilisons des flacons et des tubes à centrifuger neufs, afin d'écarter toute contamination résiduelle.

- nous recueillons 3 cc de plasma, l'homogénéisons et précipitons les protéines par 6 cc de TCA 10% disposés dans un tube avant l'addition de plasma; nous agitons au vortex afin d'assurer une bonne précipitation des protéines et une réduction des erreurs de pipettage.

- nous recueillons le maximum de surnageant TCA et l'homogénéisons (facultatif); nous en prélevons un demi cc que nous plaçons dans 10 ml de liquide de scintillation (échantillons doubles).

- le standard interne est ajouté avec une micro-pipette et non plus avec une pipette Eppendorf.

- le prélèvement sanguin est effectué dans la veine jugulaire opposée à celle où s'est faite l'injection (une rétention de H_2O au niveau du traumatisme causé par l'injection étant peut-être possible).

- Les résultats obtenus lors de la période IV sont bien plus satisfaisants; les comptages des deux échantillons du même plasma concordent (les différences enregistrées sont de l'ordre de l'imprécision du compteur: 5%). Le pourcentage d'eau corporelle varie de 66 à 71%, valeurs normales si l'on admet une surestimation de 5% imputable à la méthode de dilution de H_2O . Le mouton numéro 1 donne cependant encore une valeur aberrante de l'espace TOH (105%): cela est dû à un nombre de cpm dans le plasma du soir trop faible. Nous ne trouvons aucune explication à ce résultat, si ce n'est une erreur lors de l'injection.

- Les poids de graisse obtenus pour nos moutons étant fonction de l'espace TOH, sont bien souvent invraisemblables et les résultats donnés par les deux formules utilisées sont très différents. La formule de Donnelly conduit en moyenne à une estimation de la graisse de 5 kg supérieure à celle estimée par la formule de Sykes.

Quoi qu'il en soit, on ne peut rien déduire sur la validité de ces formules, la seule méthode susceptible de nous renseigner étant l'analyse corporelle après abattage.

c) Suggestions.

- A ce stade de notre travail, il conviendrait d'étudier le problème de l'accumulation de H_2O dans l'organisme, c'est-à-dire d'effectuer des prises de sang sur nos moutons au cours des prochaines semaines, après et avant période de jeûne et de déterminer la quantité de H_2O présente dans le plasma.

- Il serait essentiel de tester la reproductibilité de la méthode. Dans ce but, il s'agirait de maintenir les animaux dans une condition corporelle le plus stable possible (ration d'entretien) et d'appliquer la méthode TOH à plusieurs reprises afin de voir si les résultats obtenus concordent. Il serait évidemment souhaitable d'utiliser un plus grand nombre d'animaux et de faire une étude statistique des résultats.

A présent, nous ne pouvons rien conclure sur la validité de cette méthode, car bien que notre technique semblât au point lors de la période IV, un mouton sur quatre fournissait encore des valeurs aberrantes.

II. Influence du régime alimentaire.

- Les rations riches en énergie (C et D) initialement prévues étaient à la limite de l'ingestion possible pour nos moutons; aussi, la ration D n'a-t-elle jamais été consommée en totalité.

Il faut aussi signaler le net dédain manifesté par les animaux à l'égard de l'orge, même pour des rations faibles (B): cet aliment serait donc à déconseiller dans le cadre d'études sur les ingestions volontaires.

- Nos résultats concernant l'évolution du poids vif en fonction du régime alimentaire, confirment bien ceux de la littérature: les rations faibles en énergie entraînent une perte de poids, alors que les rations riches assurent un gain de poids. Ces constatations sont normales, vu que la teneur en protéines des rations " pauvres en protéines " était quand même supérieure à 10%.

- En rassemblant les résultats des bilans azotés et de l'évolution pondérale, nous remarquons que la teneur en protéines du poids perdu est différente de celle du poids gagné: les kg gagnés lors d'un régime riche en énergie apparaissent beaucoup plus pauvres en protéines. Ces résultats sont cependant sujets à caution, suite à la courte durée de la période d'adaptation prévue lors de chaque changement de régime.

- Les digestibilités de MS et de l'énergie sont comparables, ce qui confirme les données de la littérature.

Les résultats de Paquay et al (1972-a) concernant la digestibilité de la matière sèche et de l'énergie chez les bovins ont été retrouvés chez nos moutons, à savoir que la digestibilité de la MS (ou de l'énergie) est une fonction décroissante du niveau d'ingestion de matière sèche (ou d'énergie) et du contenu en fibres brutes.

Les rations B composées d'orge et de foin, présentent en outre des digestibilités meilleures que les rations composées d'herbe, d'aliments composés et de foin. Cette constatation semblerait résulter de la meilleure digestibilité de l'orge.

La digestibilité devrait rester constante entre les deux bilans de chaque période. Or, ce n'est pas le cas, bien que les différences relevées ne soient pas très importantes (3%). Cette discordance pourrait être due entre autres à une interférence des régimes, la période d'adaptation de dix jours ménagée entre chaque période paraissant trop courte.

- La digestibilité des matières minérales totales n'offre aucun intérêt, les bilans de MMT (dosage des MMT dans l'urine) ont été abandonnés après la période II. Nous devrions, comme le suggère la littérature, recourir à une autre méthode pour calculer la digestibilité des MMT.

- La digestibilité de l'azote augmente avec concentration en protéines de la ration (de tels résultats avaient été obtenus par Paquay et al (1973 chez les bovins). Mais contrairement aux bovins, des niveaux d'ingestion élevés réduisent considérablement la digestibilité de l'azote.

- Lors des premiers bilans, les bilans azotés des rations pauvres en énergie (A et B) sont négatifs; ceux des rations C et D sont positifs. Normalement, ces bilans devraient tendre vers zéro lors des deuxièmes bilans; or, ce n'est pas le cas en ce qui concerne les rations A et B. Ceci serait imputable à la brièveté de la période d'adaptation et donc à l'interférence du régime antérieur; d'autre part, il semble que pour des rations aussi pauvres, la période expérimentale de sept semaines est également courte pour permettre une équilibration du bilan azoté.

Les résultats de la période I confirment ces hypothèses: les quatre moutons avaient été soumis à un même régime avant cette période et présentaient alors une condition corporelle à peu près semblable. Nous avons constaté qu'au cours de cette période, les digestibilités étaient restées constantes, les bilans azotés s'équilibrant à la fin de la période pour les rations riches, mais restant encore légèrement négatifs pour les rations pauvres

d) Suggestions.

- Lors d'expériences futures sur l'influence de différents régimes alimentaires, il conviendrait de ménager une période d'adaptation plus longue entre les différents régimes, afin d'éviter toute interférence.
- Il serait intéressant d'étudier le problème des réserves protéiques (protéines labiles et protéines de réserve), c'est-à-dire de suivre l'évolution de l'élimination de l'azote dans les urines et les matières fécales au cours des premiers jours lors du changement de régime.

CHAPITRE V. Conclusions.

- Notre travail avait pour but la mise au point de la technique de dilution de l'eau tritiée en vue d'estimer la teneur corporelle en eau (et par là en graisse) chez les moutons, ainsi que la détermination de l'influence du régime alimentaire sur la composition corporelle.
 - Au terme de notre étude et après diverses tentatives d'amélioration de la technique initiale, nous avons retenu le mode opératoire suivant:
 - l'eau tritiée (1 cc de solution stock dans 5 cc de liquide physiologique) est administrée par voie intraveineuse aux animaux soumis à un jeûne complet depuis vingt-quatre heures; un prélèvement sanguin est effectué juste avant l'injection afin de déterminer la concentration résiduelle en H_3O dans le plasma.
- Huit heures après l'injection, on prélève à nouveau du sang dans la veine opposée à celle où s'est faite l'injection et on détermine la concentration en H_3O .

- La quantité d' H_3O éliminée par les urines au cours de la période d'équilibration est également recherchée.
- Les échantillons (sang et urine) sont centrifugés; le maximum de surnageant est recueilli et homogénéisé; les protéines y sont précipitées par addition d'une quantité double de TCA 10%. Il est essentiel d'obtenir une bonne précipitation des protéines; dans ce but, il semble préférable de placer le TCA dans le tube avant l'addition du plasma (ou de l'urine) et de mélanger le tout au vortex.

Cette étape est suivie d'une nouvelle centrifugation; le maximum de surnageant est recueilli et homogénéisé.

Des aliquots de 0,5 cc sont alors placés dans des flacons contenant 10ml de liquide de scintillation.

- les échantillons sont comptés plusieurs fois pendant dix minutes, après un séjour dans l'obscurité .
- pour estimer le quenching variable selon chaque plasma, on ajoute 100 μ l de solution standard (solution stock diluée 200 fois); les échantillons sont alors comptés pendant deux minutes.

Cette technique nous donne des résultats meilleurs, mais des problèmes se posent encore car nous obtenons des espaces TOH bien trop élevés dans certains cas au sujet desquels il nous est impossible de trouver actuellement une explication.

- En ce qui concerne l'influence du niveau d'injection d'énergie et de protéines sur la composition corporelle, il ne nous est malheureusement pas possible de tirer des conclusions, vu les problèmes techniques rencontrés.

BIBLIOGRAPHIE.

- Anthony L.E. & Edozien J.C. (1975). Br.J.Nutr. 105, 631.
- Askew E.W., Dohm G.L., Doub W.H., Huston R.L. & Van Natta P.A. (1975). J. Nutr. 105, 190.
- Blaxter K.L., Mc Graham N (1955). Proc. Nutr. Soc. 14, XV.
- Broster W.H. (1973). Nutr. Soc. Symp. Rep. 32, 115.
- Burton J.H., Anderson M. & Reid J.T. (1974). Br.J. Nutr. 32, 515.
- Cabak V., Dickerson J.W.T. & Widdowson E.M. (1963). Br.J.Nutr. 17, 601.
- Cachera R. & Barbier P. (1941). C.R. Séances Soc. Biol. 135, 1175.
- Carnegie A.B. & Tulloh N.M. (1968). Proc. Aust. Soc. Anim. Prod. 7, 308.
- Danowsky T.S. (1944). J. Biol. Chem. 152, 207.
- Dinius D.A., Oltjean R.R & Satter L.D. (1974). J. Anim. Sci. 38, 887.
- Drew K.R. & Reid J.T. (1975). J. Agric. Sci. Camb. 85, 193.
- Drew K.R. (1973). Anim. Prod. 33, 184.
- Dumont B.L. (1958). Cahiers techniques du centre de coordination des études et recherches sur la nutrition et l'alimentation. Cahier II. Centre National de la Recherche Scientifique. Paris.
- Farrell D.J. & Reardon T.F. (1972). Aust. J. Agric. Res. 23, 511.
- Folman I., Drori D., Holzer Z. & Levy D. (1974). J. Anim. Sci. 39, 788.
- Foot J.Z. & Greenhalgh J.F.D. (1970). Br. J. Nutr. 24, 815.
- Hamburger J. & Mathe G. (1952). Physiologie normale et pathologique du métabolisme de l'eau. Paris.
- Hansard S.L. & Lyke W.A. (1956). Proc. Soc. Exp. Biol. Méd. 93, 263.
- Holmes E.G. (1965). J. Exp. Physiol. 50, 204.
- Ingle D.L., Bauman D.E. & Garrigus U.S. (1972). J. Nutr. 102, 609.
- Keenan D.M. & Mc Manus W.R. (1969). J. Agric. Sci. Camb. 72, 139.
- Kodama A.M. (1970). J. Appl. Physiol. 29, 260.
- Kraybill H.F., Bitter H.L. & Hankins O.G. (1952). J. Appl. Physiol. 4, 575.
- Kumar I. & Berger E.Y. (1968). Int. J. Appl. Radiation Isotopes. 19, 805.
- Ledger H.P. & Hutchison H.F. (1962). J. Agric. Sci. 58, 81.
- Lewis L.D. & Phillips R.W. (1972). Am. J. Physiol. 223, 74.
- Longhurst W.M., Baker N.F., Connolly G.E. & Fisk R.A. (1970). Am. J. Vet. Res. 31, 673.
- Mac Farlane W.V. & Howard B. (1966). J. Agric. Sci. 66, 297.
- Mc Donald P., Edwards R.A.S. & Greenhalgh J.F.D. (1966). Animal nutrition. 2nd edition. Oliver & Boyd. Edimburgh.
- Morgan J.A. & Owen J.B. (1973). Anim. Prod. 16, 49.
- Norton B.W. & Walker D.M. (1970). Aust. J. Agric. Res. 21, 641.
- Orskov E.R., Mc Donald I., Fraser C. & Corse E. (1971). J. Agric. Sci. Camb. 77, 351.

- Pace N., Kline L., Schackman H.K & Harfenist M. (1947). *J. Biol. Chem.* 168, 459.
- Pace N. & Rathbun E.N. (1945). *J. Biol. Chem.* 158, 685.
- Panaretto B.A. (1963). *Aust. J. Agric. Res.* 14, 944. & (1968). 19, 267.
- Panaretto B.A. & Reid J.T. (1964). *Aust. J. Agric. Res.* 15, 180.
- Panaretto B.A. & Till A.R. (1963). *Aust. J. Agric. Res.* 14, 926.
- Paquay R., Debaere P. & Lousse A. (1967). *Ann. Méd. Vét.* II. 84.
- a) (1972). *J. Agric. Sci. Camb.* 78, 135-141.
- b) (1972). *J. Agric. Sci. Camb.* 79, 323.
- c) (1972). *Br. J. Nutr.* 27, 27.
- Pearson A.M. (1965). *Newer methods of Nutritional Biochemistry*. Vol. II. p.2. Academic Press. A.A. Albanese, ed.
- Price M.A. (1975). *J. Agric. Sci. Camb.* 84, 201.
- Pothoven M.A. (1975). *J. Anim. Sci.* 40, 957.
- Rattray P.V., Garrett W.N., Hinman N., & East N.E. (1974). *J. Anim. Sci.* 39, 687.
- Reid J.J., Wellington G.A. & Dunn H.O. (1955). *J. Dairy. Sci.* 38, 1344.
- Rico A.G. & Lorgue G. (1968). *Rev. Med. Vet.* 119, 667.
- Robelin J. (1973). *Ann. Biol. Anim. Bioch. - Biophys.* 13, 285.
- Robinson D.W. (1974). *Br. Vet. J.* 130, 424.
- (1975). *J. Anim. Sci.* 40, 1058.
- Searle T.W. (1970). *J. Agric. Sci.* 74, 357.
- Seebeck R.M. (1968). *Anim. Breed. Aust.* 36, 167.
- Sheng H.P. & Huggins R.A. (1971). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 137, 1093.
- Sidhu K.S., Emery R.S., Parr A.F. & Merkel R.A. (1973). *J. Anim. Sci.* 36, 658.
- Smith B.S.W. & Sykes A.R. (1969). *J. Agric. Sci. Camb.* 72, 139.
- Springell P.H. (1968). *Aust. J. Agric. Res.* 19, 129.
- Sykes A.R. & Field A.C. (a) (1972). *J. Agric. Sci. Camb.* 78, 109.
- (b) (1972). *J. Agric. Sci. Camb.* 78, 127.
- Till A.R. & Downes A.M. (1962). *Aust. J. Agric. Res.* 13, 335.
- Trigg T.E., Domingo E.A. & Topps J.H. (1973). *Proc. Nutr. Soc.* 32, 21-22A.
- Tripathi S.S., Rao M.V.N., & Sadhu D.P. (1968). *Ind. Vet. J.* 45, 403.
- Udekwu A.O., Kozall D. & Meyer K. (1963). *J. Nuclear. Med.* 4, 60.