XXVIII. ÉTUDE DE L'ALIMENTATION ARTIFICIELLE CHEZ LE PIGEON ET DE LA DÉFICIENCE EN VITAMINES.

PAR J. HOET.

Travail du laboratoire de Chimie Physiologique de l'Université de Louvain.

Directeur: Mr le Professeur F. MALENGREAU.

(Received March 3rd, 1923.)

LES essais d'alimentation artificielle des pigeons que nous poursuivons depuis plus d'un an dans le but d'étudier les déficiences en vitamines, nous permettent de compléter aujourd'hui les données de notre premier mémoire sur ce sujet [Hoet, 1922].

Le régime de nos animaux, resté presque identique à celui dont nous avons décrit la préparation, est composé de: caséine 18, amidon de riz 60, mélange de sels de McCollum 4, papier filtre 3, margarine 10, beurre 5 parties.

Ce régime de fond est déficient en vitamine B. Pour le rendre complet et parer à cette déficience, on y ajoute de la levure ou toute autre substance riche en facteurs hydrosolubles.

Caséine et amidon. La caséine et l'amidon employés sont ceux livrés par le commerce. Ces produits, comme l'a constaté Osborne, comme nous l'avons vérifié nous-même par des expériences sur des rats, sont pratiquement dépourvus de vitamine B. Nous nous en sommes tenu à la proportion de 18 % de caséine, largement suffisante pour couvrir les besoins azotés de tous nos animaux, jeunes et adultes. Mais nous avons pu, chez ces derniers, abaisser la proportion à 12 %, pendant plus de trois mois, sans qu'il en résulte aucun trouble de nutrition. Nos résultats sur les pigeons cadrent ainsi avec ceux qu'Osborne a lui-même obtenus dans ses expériences sur les rats [Osborne, 1916].

Le beurre est soigneusement lavé plusieurs fois à l'eau tiède pour en écarter toutes les substances solubles. Le papier filtre est le papier ordinaire du laboratoire.

Levure. La levure qui a servi à combler la déficience en vitamine B, est la levure séchée du commerce, qui contient encore approximativement 10 % d'humidité.

On peut l'employer comme telle, délayée dans l'eau, mais il est préférable d'en faire l'extrait aqueux. On écarte par là les protéines coagulables et on facilite l'absorption des facteurs accessoires. Nous avons, en effet, observé

que la quantité de levure nécessaire pour maintenir l'équilibre du pigeon est plus grande avec la levure entière qu'avec le produit de sa décoction. Cela tient vraisemblablement à une digestion difficile et incomplète des cellules de levure dont une partie passe dans les fèces, comme Funk [1916] l'a observé chez l'homme.

L'extrait aqueux que nous avons couramment employé est préparé de manière à permettre des mesures comparatives de son activité: 200 g. de levure sèche délayés dans deux litres d'eau environ, sont chauffés rapidement et maintenus à une vive ébullition pendant cinq minutes. Après refroidissement, on porte la masse totale à deux litres et on la jette sur un ou plusieurs filtres. On obtient un filtrat limpide, plus ou moins coloré, dont chaque centimètre cube contient ainsi l'extrait de 0.1 g. de levure. Le filtrat est évaporé au bain marie jusqu'à une concentration cinq ou dix fois plus grande. Cette méthode, courante en chimie analytique, évite les lavages toujours ennuyeux et permet d'obtenir une solution d'activité constante; elle est applicable ici, le résidu insoluble n'ayant aucun pouvoir adsorbant vis-à-vis des facteurs accessoires. On peut concentrer l'extrait davantage encore et lui enlever une partie de ses sels en les précipitant par addition d'un volume égal d'alcool à 95° qu'on chasse, après filtration, par distillation sous pression réduite.

Au lieu d'incorporer l'extrait de levure à la pâte alimentaire comme on le fait généralement pour les rats, nous préférons le donner séparément à intervalles réguliers de un, deux ou trois jours. La quantité que reçoit le pigeon, est ainsi exactement mesurée et on évite les influences psychiques que peut avoir sur l'appétit de l'animal toute modification de saveur ou d'odeur de la nourriture.

Influence des vitamines B sur l'appétit des pigeons.

Nous avons montré dans notre premier mémoire comment le régime rendu déficient par suppression de la levure, détermine aussitôt chez le pigeon une diminution d'appétit avec perte progressive de poids aboutissant après un nombre variable de 8 à 20 jours aux manifestations convulsives de la polynévrite aviaire. Cette diminution d'appétit est de règle chez les rats où Funk l'avait signalée dès 1914 [Funk, 1915]. Mais à l'encontre de ce qui se passe chez ces derniers où l'anorexie est tardive et ne se répercute sur la courbe de poids qu'après deux à trois semaines de régime déficient, l'effet, chez le pigeon, est immédiat et peut prendre moyennant certaines précautions, une allure d'une grande régularité. De toutes ces précautions, la plus importante est d'avoir un pain toujours également frais, distribué à la même heure avec une eau journallement renouvelée. On peut mesurer l'appétit, soit par la quantité ingérée d'aliments, soit par les variations de la courbe pondérale. Dans les deux cas les chiffres obtenus présentent des variations comparables. Le tableau I indique les pesées de trois pigeons observés pendant une période de quinze jours. Tous les trois reçoivent du régime déficient *ad libitum*. On leur donne en plus tous les quatre jours le quadruple ou un peu moins de la dose

journalière minima de levure, ce qui a pour résultat de les faire manger, gloutonnement pendant la première journée, puis de moins en moins pendant les jours qui suivent; leur courbe de poids affecte ainsi l'aspect d'une ligne brisée presque régulière avec des hauts et bas coïncidant respectivement au jour le plus proche et le plus éloigné de l'ingestion de levure.

Tableau I.

Dates juillet	Poids des pigeons			Quantité donnée de levure (sous forme d'extrait)
	No. 19 g.	No. 31 g.	No. 36 g.	
6	400	343	388	2.4
7	370	323	365	—
8	360	312	350	—
9	348	310	336	—
10	370	317	364	2.4
11	377	312	380	—
12	358	308	349	—
13	351	304	349	—
14	382	312	350	3.0
15	365	334	372	—
16	360	320	361	—
17	362	314	355	—
18	373	318	366	3.0
19	354	315	358	—
20	359	320	355	—
21	348	313	346	—

Sans obtenir toujours une régularité aussi grande, il est incontestable qu'un des effets immédiats de la vitamine B est de stimuler fortement l'appétit, et cela, dans des conditions où l'on peut exclure toute influence psychique pouvant provenir de la saveur particulière des aliments.

Il serait inexact cependant, et plus personne n'y songe aujourd'hui, de considérer la vitamine B comme un simple apéritif et de confondre l'avitaminose avec l'inanition; la quantité de nourriture ingérée diminue mais ne tombe jamais à zéro. Les études de Terroine et Barthélemy [1922, 1, 2] sur les manifestations comparées de l'inanition et de la déficience sont d'ailleurs décisives à cet égard.

DOSE MINIMA DE LEVURE.

La mesure de la dose minima de levure nécessaire pour prévenir les manifestations de la déficience n'est pas toujours facile. On connaît la discordance entre les chiffres mis en avant par les divers auteurs à propos de la quantité requise pour la croissance des jeunes rats. Outre les différences individuelles qu'on relève d'un animal à l'autre, il faut tenir compte de ce que les levures ont une richesse en vitamine B variable d'après la nature du moût sur lequel elles se sont développées. Tout récemment encore Kennedy et Palmer [1922] mettaient en doute la valeur de la levure comme source de vitamine B, dans les expériences de nutrition sur les rats à cause de sa grande irrégularité. Nos résultats ne sont donc valables que pour les conditions où nous avons opéré.

Chez les pigeons, d'une façon générale, quels que soient l'âge et le sexe,

les différences individuelles nous ont paru moins grandes que chez les rats. L'extrait de 1 g. de notre levure sèche a toujours été suffisant, soit pour prévenir la polynévrite avec maintien du poids normal, soit pour la guérir avec retour rapide au poids initial. La dose minima oscille habituellement entre 0.80 et 0.90 g. pour des pigeons de 350 à 400 g.; elle semble fléchir quand diminue le poids de l'animal.

Chez les pigeons de 250 à 300 g., en pleine déficience, avec phénomènes convulsifs, une dose quotidienne d'extrait de 0.60 g. de levure suffit pour supprimer en quelques heures les manifestations nerveuses et provoquer une augmentation de poids, mais le relèvement de la courbe pondérale est lent et n'atteint jamais le niveau normal.

De l'ensemble de nos recherches sur l'alimentation artificielle des pigeons, nous sommes en mesure aujourd'hui de conclure que notre mélange d'aliments purifiés, quand il est complété par de l'extrait de levure comme source de vitamine B, répond à toutes les exigences d'une alimentation complète: il maintient sans altération aucune l'équilibre physiologique de nos animaux, assure, comme nous allons le voir, la fonction de reproduction et permet la croissance des petits. Au cours de 18 mois d'essais, une soixantaine de pigeons ont été nourris exclusivement avec ce mélange, *que tous mangent spontanément*, sans que nous ayons observé un seul cas de dégoût ou d'intolérance même passagère. Le tableau II donne quelques renseignements sur les pigeons actuellement en expérience et qui n'ont jamais cessé d'être au régime artificiel exclusif malgré des déficiences plusieurs fois provoquées.

Tableau II.

Numéros des pigeons	Régime artificiel		Poids des pigeons		Nombre de crises de déficience	Observations
	Date du début	Durée actuelle (mois)	Au début g.	Au 20. ii. 23 g.		
2	16. ix. 21	17	390	415	6	
3	14. x. 21	16	430	430	5	
10	10. xii. 21	14	450	420	5	
12	14. xii. 21	14	465	400	6	
22	12. xii. 21	14	520	435	4	
25	10. ii. 22	12	430	370	2	
26	10. ii. 22	12	455	465	1	
27	10. ii. 22	12	365	355	1	A pondu 6 œufs
39	16. iii. 22	11	390	392	2	
40	16. iii. 22	11	375	387	2	
50	1. iv. 22	10	290	370	1	Jeunes pigeons pris à l'âge de 4 à 5 semaines
51	1. iv. 22	10	252	410	1	
52	1. iv. 22	10	275	420	1	
53	1. iv. 22	10	280	383	1	
60	15. viii. 22	6	310	400	1	
63	15. viii. 22	6	284	430	1	

Le régime artificiel permet ainsi des études sur l'alimentation des pigeons superposables à celles qui se font sur les rats. Là comme ici, une alimentation

pour être complète, c'est-à-dire pour répondre à tous les besoins de l'organisme, devra assurer pendant une longue période l'équilibre physiologique de l'animal. La condition est formelle: une substance ne sera active comme vitamine B que si elle a une action à la fois préventive et curative autant sur la courbe de poids que sur les accidents nerveux de la polynévrite aviaire. Le poids des animaux, à la fin d'une expérience, devra donc s'être maintenu ou être revenu au niveau initial et, dans ce dernier cas, s'y maintenir encore pendant deux ou trois semaines au moins par la seule addition de la substance au régime déficient. Ces conditions ont toujours été exigées dans les recherches sur l'alimentation chez les rats, et il est étonnant qu'on en ait fait si peu de cas dans les expériences sur les pigeons.

Le fait d'empêcher la crise de se produire endéans les 50 jours, mais avec des pertes de poids allant de 20 à 30 % n'est pas un critère suffisant d'une action préventive. Autant considérer comme satisfaisante une alimentation qui, si elle était continuée plus longtemps, aboutirait finalement au dépérissement et à la mort.

Les erreurs commises dans l'étude de la vitamine B tiennent à deux causes: à l'absence de régime artificiel pour pigeons et à l'importance exagérée qu'on a trop longtemps attribuée aux phénomènes nerveux de la crise polynévritique. Ceux-ci ne sont nullement pathognomoniques de la déficience en vitamine B: ils relèvent de causes multiples et variées et cèdent à des substances qui n'ont entre elles aucun lien ni chimique ni biologique. Tout récemment, Koskowsky [1922] a montré que des injections d'histamine chez des pigeons en déficience préviennent la crise sans empêcher la baisse de poids ni la mort. La tyramine [Lipschitz, 1923] se comporte de même. Ces substances, il y a quelques années encore, auraient passé pour vitamines antinévritiques. En réalité leur pouvoir curatif sur les phénomènes convulsifs n'est pas à confondre avec l'action des facteurs accessoires.

Le régime artificiel permet l'étude comparative de l'alimentation chez le pigeon et chez le rat; c'est ainsi que du seul point de vue des facteurs hydrosolubles et en admettant l'hypothèse possible mais non encore démontrée, que la vitamine antinévritique est identique aux facteurs B de croissance, nous voyons le pigeon particulièrement sensible à cette sorte de déficience. Extrêmement tardive chez le rat adulte, n'arrêtant la croissance des petits qu'après deux ou trois semaines, la déficience a chez les pigeons au contraire un effet immédiat qui permet en quelques jours de la déceler. Aussi croyons-nous ces animaux appelés à rendre de grands services encore dans l'étude des vitamines.

REPRODUCTION ET CROISSANCE.

Une alimentation n'est réellement complète pour un animal que si elle assure la reproduction de l'espèce et permet la bonne croissance des petits. C'est à côté de beaucoup d'autres, une raison suffisante pour rejeter, en ce qui concerne les pigeons, le régime de riz poli additionné de levure [Seidell, 1922].

Nous devons nous demander si notre régime artificiel était à même de réaliser cette condition. Etant donné les résultats obtenus chez les rats avec une alimentation pareille à la nôtre, nous pouvions l'espérer. Nos essais qui se sont prolongés pendant une période de huit mois, depuis le printemps jusqu'au milieu de l'hiver 1922, ont confirmé nos prévisions. Pendant toute cette période la ponte a été régulière chez les quatre femelles soumises au régime artificiel depuis plus de quatre mois et qui, ensemble, ont pondu 27 œufs d'apparence normale avec des jaunes bien colorés.

Malheureusement les conditions expérimentales sont fort défavorables à la couvaison. De fait, nous n'avons obtenu que deux éclosions sur 20 œufs couvés. Les autres contenaient des embryons normaux morts à des périodes variables de leur développement, parfois très rapprochées du terme. Mais un seul résultat positif a ici une valeur démonstrative que n'ont pas les essais négatifs. Les deux jeunes pigeons, soumis à leur tour au régime artificiel se sont parfaitement développés (Graphique I, n° 29 et 70). Nous avons complété ces expériences en élevant, par gavage cette fois, deux autres pigeonceaux âgés de huit jours (Graphique I, H₁ et H₂), et six autres âgés de quatre à cinq semaines (Tableau II). Tous ont eu une croissance normale et sont aujourd'hui des animaux adultes de belle apparence.

Nous étions occupé à la rédaction de ces notes quand nous est parvenu le travail de Benedict et Sugiura [1923]. Ces auteurs qui n'ont pas eu connaissance de notre premier mémoire ainsi que de celui de Simonnet [1921], ont entrepris, simultanément avec nous, des essais identiques d'alimentation artificielle chez les pigeons. Leurs conclusions en ce qui concerne l'équilibre physiologique, la reproduction et la croissance de leurs animaux, sont pareilles aux nôtres et les confirment.

DÉFICIENCE EN VITAMINE A.

Nos expériences sur la déficience en vitamine A chez les pigeons nourris artificiellement, sont en cours depuis cinq mois. Nous aurions voulu les prolonger davantage, mais le travail de Benedict et Sugiura dont nous venons de parler et qui traite du même sujet, nous oblige à quelques remarques et à la publication, dès à présent, d'une partie de nos résultats.

L'étude des vitamines liposolubles se heurte à deux sortes de difficultés qui sont, l'une, la purification malaisée des aliments qui entrent dans la composition du régime, et l'autre, la lenteur que mettent les animaux à répondre aux déficiences en facteurs A, par opposition à ce qui se passe pour les facteurs B. Dans leur travail critique sur la question, Osborne et Mendel [1921] insistent sur ces difficultés: "... (the) removal of the fat-soluble vitamine from even purified proteins and carbohydrates is accomplished with far greater difficulty than has been hitherto suspected. An entirely convincing crucial experiment, in which nutritive failure immediately ensues upon the administration of diets fully adequate in every respect except for the presence of fat-soluble vitamine, remains to be made. It is significant that older rats thrive

for a longer time than the younger ones on the same diets, nearly, if not entirely, free from the fat-soluble vitamine. This is in contrast with the well established fact that at all periods the lack of water-soluble vitamine is speedily manifested." Ils disent également en parlant de la vitamine A: "...some, like ourselves, have described their animals as usually growing at a nearly, or quite, normal rate for periods of 60 to 80 days before showing signs of a nutritive deficiency in the diet."

Sans nier l'intérêt du travail de Benedict et Sugiura ni contredire leurs résultats, il faut reconnaître cependant que leurs essais ne sont pas à l'abri de

Graphique I. Croissance de jeunes pigeons mis au régime artificiel complet dès leur naissance. Le pigeon 29 est mort au cours d'une expérience de déficience en vitamine B.

toute critique. Une de leurs conclusions est la suivante: "Pigeons on a diet of sufficient caloric value, even though the diet lacks fat and fat-soluble vitamine, may maintain excellent condition, and may produce fertile eggs and rear healthy squabs. Hence fat-soluble vitamine is not essential in any stage of avian nutrition."

Nous voulons bien admettre que les aliments qui entrent dans la composition des régimes B et C de ces auteurs, soient totalement dépourvus de vitamine A, il n'en reste pas moins que leurs expériences ont une durée qui ne dépasse pas 70 jours pour la plus longue et qui, souvent même, ne va au

delà de 30 jours quand il s'agit de la croissance des jeunes pigeons. Cette durée est manifestement insuffisante et enlève aux expériences une bonne part de leur valeur de démonstration.

Nous avons employé pour unique matière grasse l'huile d'arachide durcie par hydrogénation (hardened fat)¹, exempte de vitamine A [Committee of the Royal Society, 1919; Drummond, 1922; Report on accessory food factors, No. 38, 1919].

Notre régime avait ainsi pour composition: caséine 18, amidon 60, huile d'arachide 15, sels 4 et papier filtre 3 parties; l'extrait de levure était donné séparément à la dose de 1 g. par jour et par pigeon. Nous avons tenu néanmoins à vérifier encore la déficience en vitamine A du mélange par un essai sur quatre jeunes rats: leur croissance s'est arrêtée après quelques semaines et leur poids a diminué progressivement. La xérophtalmie est apparue au troisième mois chez l'un d'eux, qui est mort peu après. Chez un second les manifestations oculaires se sont déclarées après trois mois et demi.

Depuis le 27 septembre 1922 ce régime est donné *ad libitum* à six pigeons (les n^{os} 51, 52, 53, 50, 26 et 27), tous les six au régime artificiel complet depuis plus d'une demie année. L'expérience dure maintenant depuis cinq mois et rien jusqu'à présent, ni dans l'aspect général, ni dans le plumage, ni dans la température, ni dans le poids de nos animaux ne traduit le moindre trouble. Bien mieux, une femelle vient de pondre deux œufs et les couve actuellement. Nous donnons ci-dessous la courbe pondérale de ces six pigeons (Graphique II). Ces courbes présentent vers la quatrième semaine du régime déficient en facteurs A un fléchissement prononcé suivi, 15 jours après, d'un relèvement rapide, dû à une insuffisance, involontaire et momentanée de levure². Cet accident que nous n'avions pas cherché, montre que les pigeons sans vitamine A se comportent vis-à-vis d'une déficience juxtaposée de vitamine B, comme des pigeons normaux.

Les expériences, bien qu'inachevées, confirment partiellement les conclusions de Benedict et Sugiura et montrent l'inutilité, au moins pour le pigeon adulte, des facteurs liposolubles.

Ces résultats peuvent paraître étranges si on les compare à ceux qu'on obtient avec des poussins dans des conditions presque identiques. Hart, Halpin et Steenbock [1922] dans leur étude du "leg-weakness," signalent en effet l'importance de l'huile de foie de morue pour ceux qu'on nourrit artificiellement. Emmett et Peacock [1922] décrivent de leur côté toute une symptomatologie de l'avitaminose à chez les jeunes poules: anémie, œdème, mauvais état des plumes, début de xérophtalmie, etc.... Plimmer et Rosedale

¹ Cette huile a été mise gracieusement à notre disposition par la firme "Jurgens" de Zwynndrecht. Nous sommes heureux de leur en exprimer ici notre vive reconnaissance.

² Cette insuffisance était due à ce que la dose quotidienne de un gramme de levure, au lieu d'être donnée sous forme d'extrait, l'avait été pendant les six premières semaines sous forme de levure entière délayée dans la pâte. Lorsque nous eûmes substitué l'extrait à la levure comme telle, les symptômes de déficience disparurent immédiatement. Tous les autres pigeons du laboratoire ont simultanément et pour la même raison, présenté les mêmes phénomènes (voir p. 221).

[1922] et d'autres [Nelson, Lamb and Heller, 1922] concluent, eux aussi, à la nécessité de la vitamine liposoluble dans leur alimentation.

De l'avis de tous, l'élevage des poussins est difficile et nous même l'avons tenté, sans succès, au moyen de notre régime artificiel. Aussi, sans nier la possibilité d'action sur eux de vitamines inutiles aux pigeons, nous croyons

Graphique II. Le trait plein ———— représente le régime complet.
 „ pointillé - - - - - „ „ sans vitamine B.
 „ en croix + + + + „ „ „ A.

Les pigeons Nos. 50, 51, 52, 53 étaient âgés d'un mois, quand ils ont été mis au régime artificiel. La première partie de leur courbe représente leur croissance à partir de ce moment. Après trois mois, ils ont été mis pendant 15 jours au régime sans vitamine B, après sept mois définitivement au régime sans vitamine A.

N° 1. Pigeon (n° 2) après 18 mois de régime artificiel (voir tableau II).

N° 2. Pigeon (n° 70) âgé de 5 mois au régime artificiel depuis sa naissance, les parents au moment de la ponte étaient, eux aussi, au régime artificiel depuis 4 mois.

Nos 3 et 4. Pigeons (nos 50 et 52) mis au régime artificiel complet à l'âge d'un mois, âgés actuellement de 11 mois, et au régime sans vitamine A depuis 5 mois.

nécessaire, avant d'admettre pareille conclusion, de s'assurer que les phénomènes nutritifs ne sont pas, en ce qui les concerne, conditionnés par des influences étrangères qui nous échappent encore.

CONCLUSIONS.

1. Une alimentation artificielle composée de caséine, d'hydrates de carbone, de graisses, de sels et de cellulose, complétée par de l'extrait de levure (0.8 à 0.9 g. minimum de levure sèche) est suffisante, en l'absence de facteur C pour maintenir l'équilibre physiologique du pigeon, assurer la reproduction et permettre la croissance des petits.

2. Le facteur A ne semble pas nécessaire au pigeon adulte.

BIBLIOGRAPHIE.

- Benedict and Sugiura (1923). *J. Biol. Chem.* **55**.
 Committee of the Royal Society (1919). *J. Physiol.* **52**, 328.
 Drummond (1922). *J. Soc. Chem. Ind.* **41**, 125.
 Emmett and Peacock (1922). *J. Biol. Chem.* **50**; *Proceed.* 41.
 Funk (1915). *J. Biol. Chem.* December.
 — (1916). *J. Biol. Chem.* **27**, 173.
 Hart, Halpin and Steenbock (1922). *J. Biol. Chem.* **52**, 379.
 Hoet (1922). *Arch. Internat. Physiol.* **19**, 115.
 Kennedy and Palmer (1922). *J. Biol. Chem.* **54**, 217.
 Koskowsky (1922). *Arch. Intern. Pharm. Ther.* **26**, 367.
 Lipschitz (1923). *Z. physiol. Chem.* **124**, 194.
 Medical Research Committee (1919). *Report on accessory food factors*, No. **38**, 50.
 Nelson, Lamb and Heller (1922). *Amer. J. Physiol.* **59**, 335.
 Osborne (1916). *J. Biol. Chem.* **26**, 5.
 — and Mendel (1921). *J. Biol. Chem.* **45**, 277.
 Plimmer and Rosedale (1922). *Biochem. J.* **16**, 11.
 Seidell (1922). *Public Health Reports* (U.S.), **37**, 25-1519.
 Simonnet (1921). *Bull. Soc. Chim. Biol.* **3**, 10.
 Terroine et Barthélemy (1922, 1). *Arch. Internat. Physiol.* **20**.
 — — (1922, 2). *Compt. Rend. Acad. Sci.* **175**, 721.