

## EFFET D'UNE SUPPLEMENTATION EN OLIGO-ELEMENTS CHELATES SUR LA REPONSE IMMUNITAIRE, LA QUALITE DE LA COUILLE ET LA RESISTANCE OSSEUSE DES POULES PONDEUSES

<sup>1</sup>M. K. Manangi, <sup>1</sup>J. Richards, <sup>1</sup>B. Wuelling, <sup>1</sup>C. Atwell, <sup>1</sup>P. Fisher, <sup>1</sup>C.D. Knight, et <sup>2</sup>M. Decoux, <sup>2</sup>P. Buttin <sup>1</sup>, M. Vazquez-Anon, <sup>1</sup>S. Carter,

<sup>1</sup>Novus International, Inc., 20 Research Park Drive, St. Charles, MO 63304, États-Unis

<sup>2</sup>Novus Europe, Woluwe Atrium, 5th floor, Neerveld 101-103, 1200, Bruxelles, Belgique

[pierre.buttin@novusint.com](mailto:pierre.buttin@novusint.com)

### RÉSUMÉ

Une étude avec des poules pondeuses âgées de 24 à 80 semaines est menée sur les bénéfices d'une supplémentation en Zinc, Cuivre et Manganèse sous forme de chélate de l'hydroxy-analogue de méthionine ou CHM (MINTREX®, Novus International Inc) comparée à des sources inorganiques. L'effet est observé sur les performances de ponte, la qualité de la coquille de l'œuf, la résistance des tibias à la rupture et la réponse immunitaire. Au total, 216 poules pondeuses Hy-Line W-36 reçoivent 6 traitements avec 36 cages individuelles par traitement, réparties en blocs aléatoires complets. Les traitements sont supplémentés en Zn, Cu et Mn respectivement de la façon suivante : 0-0-0 ppm, T1 ; 20-5-20 ppm (sf. Sulfates), T2 ; 20-5-20 ppm (sf. CHM), T3 ; 40-10-40 ppm (sf. Sulfates), T4 ; 40-10-40 ppm (sf. CHM), T5 ; 80-10-80 ppm (sf. Sulfates), T6. Les données sont analysées selon une procédure ANOVA et un modèle factoriel 2 x 2 (source d'oligo éléments x niveaux supplémentation). L'analyse globale indique un effet significatif du traitement ( $P < 0,05$ ) sur l'épaisseur de la coquille à 74 semaines. L'analyse factorielle indique une amélioration significative temporaire chez les poules supplémentées en CHM de la résistance de la coquille à la rupture (effet source,  $P < 0,05$  en semaine 68), de son épaisseur (effet source,  $P = 0,08$  en sem. 68 ;  $P = 0,03$  en sem. 74), et de la réponse des titres d'anticorps dirigés contre les érythrocytes de mouton (effet source,  $P < 0,05$  en sem. 63). L'augmentation des suppléments (effet niveau,  $P = 0,07$  en sem. 80) se traduit par une tendance à une plus grande résistance des tibias à la rupture. En résumé, supplémenter des poules pondeuses à l'aide d'oligo-éléments chélatés CHM plutôt que sous forme inorganique améliore la qualité de la coquille de l'œuf et la réponse immunitaire.

### ABSTRACT

**Feeding laying hens the diets with supplemental chelated trace minerals improves immune response, shell quality and tibia breaking strength.**

A 56 wk study was conducted in layers hens from 24 to 80 wk of age to determine the effects of feeding Zinc, Copper and Manganese supplied as metal methionine hydroxy analogue chelates (MINTREX®, Novus International Inc) vs. ITMs (inorganic trace minerals) on performance, egg shell quality, tibia breaking strength, and immune response. A total of 216 Hy-Line W-36 laying hens were assigned to 6 treatments with 36 pens/treatment and 1 hen/cage. The study was carried out under randomized complete block design. The data were analyzed using both 1-way ANOVA (6 treatments) and 2x2 factorial design with 2 sources (chelated vs. ITMs) and 2 levels (20-5-20 vs. 40-10-40ppm of Zn-Cu-Mn) of supplemental minerals. The treatments were supplemented respectively with Zn, Cu and Mn at the following dosages : 0-0-0ppm, T1; 20-5-20ppm as sulphates, T2; 20-5-20ppm as chelates, T3; 40-10-40ppm as sulphates, T4, 40-10-40ppm as chelates, T5; 80-10-80ppm as sulphates, T6. Overall results (1-way ANOVA) indicate a significant and temporary treatment effect ( $P < 0.05$ ) for shell thickness at wk 74. Factorial analysis indicates a significant improvement in shell breaking strength (Source effect,  $P < 0.05$  at wk 68), shell thickness (Source effect,  $P = 0.08$  at wk 68;  $P = 0.03$  at wk 74), and Antibody titers (Source effect,  $P < 0.05$  at wk 63) to SRBCs (sheep red blood cells) for hens fed chelated trace minerals compared to ITMs. Supplementing increased levels (Level effect,  $P = 0.07$  at wk 80) of dietary minerals or chelates (Source effect,  $P = 0.19$  at wk 80) tended to increase tibia breaking strength. In summary, feeding laying hens with supplemental chelated trace minerals compared to ITMs improved egg shell strength and thickness, tibia breaking strength, and immune response.

## INTRODUCTION

Les oligo-éléments tels que le zinc, le cuivre et le manganèse sont nécessaires à la santé et à la productivité de l'animal. Ils constituent à la fois des cofacteurs d'enzyme et des constituants de métalloenzymes. Ces oligo-éléments pourraient en partie protéger les cellules des effets toxiques de radicaux libres tels que les superoxydes, en raison du rôle qu'ils jouent dans les enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase à Cu et à Zn, ainsi que la superoxyde dismutase à Mn (McDowell, 2003). Le zinc, le cuivre et le manganèse jouent un rôle déterminant dans le maintien de l'intégrité de la coquille de l'œuf, en étant les précurseur ou catalyseurs des enzymes clés telles que l'anhydrase carbonique, la lysyl oxydase et la glycosyltransférase (Nys *et al.*, 1999 ; Chowdury, 1990 ; Baumgartner *et al.*, 1978 ; Leach, 1976 ; Arias *et al.*, 1993 ; Nys *et al.*, 2001). Une altération de l'activité de ces enzymes donnerait lieu à un poids inférieur de la coquille et à une distribution anormale des fibres membranaires conduisant à une déformation de l'œuf, de la structure de sa coquille et de ses propriétés mécaniques (Nys *et al.*, 1999 ; Chowdury, 1990 ; Baumgartner *et al.*, 1978 ; Leach, 1976 ; Arias *et al.*, 1993 ; Nys *et al.*, 2001). Toutefois, les besoins en oligo-éléments sont mal définis pour la plupart des espèces, et les connaissances des relations entre une source minérale et sa capacité à répondre à des besoins spécifiques ne sont pas suffisamment élaborées. Par conséquent, les oligo-éléments inorganiques (**OEI**) sont inclus dans le régime des volailles à des niveaux plusieurs fois supérieurs aux recommandations du NRC (1994). Une faible absorption combinée à une inclusion élevée conduit à des niveaux élevés d'oligo-éléments dans les litières. Lorsque le contenu de ces litières est utilisé comme engrais, ces minéraux participent à la saturation des sols et peuvent potentiellement nuire à l'environnement (Nicholson *et al.*, 2008). La biodisponibilité minérale varie considérablement en fonction des sources (oxydes contre sulfates). Wedekind et Baker (1990) ont démontré que la biodisponibilité du Zn à partir du ZnO était seulement de 0,44 fois celle des sulfates en poulet de chair. L'intérêt s'est focalisé plus récemment sur des sources de minéraux liés à un ligand organique, souvent sous forme de chélates. Une telle structure moléculaire pourrait permettre d'obtenir des oligo-éléments bénéficiant d'une meilleure biodisponibilité. Richards *et al.*, (2010) ont démontré que la biodisponibilité du zinc chélaté à des molécules d'hydroxy analogues de méthionine correspondait de 1,6 à 2,5 fois celle du zinc inorganique sous forme de sulfate. L'augmentation de la biodisponibilité des oligo-éléments chélatés pourrait être due à la réduction des antagonismes avec d'autres constituants alimentaires dans le tube digestif. Cette augmentation de la biodisponibilité des oligo-éléments pourrait se

traduire par une amélioration du développement et de l'intégrité des tissus. Ainsi, elle se traduirait par un renforcement de la résistance de la coquille à la rupture, par une plus grande épaisseur de la coquille, ainsi que par l'amélioration des fonctions immunitaires, en particulier à la suite de vaccinations. L'utilisation de ces sources d'oligo éléments chélatées permettrait aux nutritionnistes de réduire la teneur en oligo-éléments des aliments pour animaux tout en répondant mieux aux besoins de l'animal.

## 1. MATERIELS ET METHODES

Au total, 216 poules ont été placées dans des cages individuelles, réparties de façon homogène selon leur poids vif au premier jour de l'expérience (effet traitement sur poids vif à j0 non significatif,  $P=0.54$ ). Les volailles ont été élevées dans une pièce à l'environnement contrôlé de 23 jusqu'à 80 semaines d'âge. Le modèle expérimental (tableau 1) était constitué de 6 traitements comprenant 36 cages identiques par traitement.

**Tableau 1.** Plan d'expérience

| Traitement (T) | Supplémentation<br>Zn-Cu-Mn (ppm) |
|----------------|-----------------------------------|
| T1             | 0 - 0 - 0                         |
| T2             | 20-5-20 (OEI)                     |
| T3             | 20-5-20 (CHM)                     |
| T4             | 40-10-40 (OEI)                    |
| T5             | 40-10-40 (CHM)                    |
| T6             | 80-20-80 (OEI)                    |

**OEI**, oligo-éléments inorganiques sous forme de sulfates ; **CHM**, oligo-éléments Chélates d'Hydroxy-analogues de Méthionine (MINTREX®, Novus International Inc. ; chélates de Zn, Cu et Mn ).

Les données ont été analysées en suivant une procédure de modèle linéaire généralisé, selon un dispositif en mesures répétées. Chaque période était considérée indépendamment, sans tenir compte des corrélations entre périodes. Les données des 6 groupes de traitement ont été soumises à une ANOVA à un facteur, et les données des traitements T2 à T5 ont été soumises à une analyse factorielle 2 x 2 (2 sources de minéraux sur 2 niveaux). Les volailles ont été alimentées avec les régimes expérimentaux de 24 à 80 semaines d'âge, après une première semaine d'adaptation. Le poids des poules avant et après l'ingestion des aliments expérimentaux, ainsi que celui des œufs ont été mesurés pendant 3 jours au début de l'expérience puis toutes les 4 semaines sur toute la durée de l'expérience. Les données ont été utilisées pour calculer la consommation d'aliments, le poids moyen des œufs et l'indice de consommation (IC) d'après le nombre et la masse d'œufs par période et de

manière cumulée. L'épaisseur des coquilles d'œuf et leur résistance ont été mesurées aux semaines 44, 56, 68, 74, 76 et 79 ou 80. Les mesures étaient plus rapprochées après 74 semaines afin d'augmenter la fréquence d'observation en fin de ponte. Le tibia droit était prélevé sur 15 poules par traitement à 80 semaine d'âge afin d'en mesurer la résistance à la rupture. Les anticorps dirigés contre les érythrocytes de mouton ont été mesurés aux semaines 60, 61, 63, 65, 70 et 80 de la manière suivante. Dix volailles par traitement ont reçu chacune une injection de 0,5 ml contenant 5 % d'érythrocytes de mouton par voie intraveineuse (IV) au cours de la 60<sup>e</sup> semaine. La 2<sup>e</sup> dose d'érythrocytes de mouton a été injectée par voie intramusculaire (IM) aux mêmes volailles au cours de la 62<sup>e</sup> semaine, soit 2 semaines après la première injection. 1 ml (0,5 ml sur la cuisse gauche + 0,5 ml sur la droite) d'une solution contenant 50 % d'érythrocytes de mouton était utilisée pour la 2<sup>e</sup> dose.

La conduite de l'élevage a suivi les bonnes pratiques habituelles du site expérimental. Toutes les rations ont été formulées sur une base de maïs et de tourteau de soja, afin de répondre aux recommandations alimentaires pour la race W-36 (Hy-line® guide 2009) selon les caractéristiques présentées dans le tableau 2. Les différents régimes expérimentaux ont été analysés à partir d'un échantillon représentatif pour leurs caractéristiques proximales et les teneurs en oligoéléments.

**Tableau 2.** Caractéristiques calculées<sup>1</sup> des régimes alimentaires de base

| Régime                                                                            | Phase 1       | Phase 2    | Phase 3    | Phase 4  |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------|------------|------------|----------|
| Période                                                                           | Ponte-32 sem. | 33-44 sem. | 45-58 sem. | ≥59 sem. |
| EM <sub>n</sub> MJ/kg                                                             | 12.22         | 12.12      | 12.03      | 11.79    |
| Protéines br., %                                                                  | 17.3          | 16.0       | 14.6       | 13.0     |
| Lysine, %                                                                         | 0.95          | 0.86       | 0.77       | 0.76     |
| Méthionine, %                                                                     | 0.45          | 0.42       | 0.36       | 0.36     |
| AA soufrés, %                                                                     | 0.76          | 0.69       | 0.62       | 0.61     |
| Calcium, %                                                                        | 4.25          | 4.20       | 4.20       | 4.50     |
| Phos. disp. %                                                                     | 0.50          | 0.46       | 0.44       | 0.44     |
| Valeur calculée <sup>1</sup> / analysée <sup>2</sup> des teneurs en oligoéléments |               |            |            |          |
| Zinc, ppm                                                                         | 24 / 55       | 24 / 28    | 22 / 27    | 22 / 19  |
| Cuivre, ppm                                                                       | 8 / 13        | 7 / 7      | 7 / 10     | 7 / 3    |
| Manganèse, ppm                                                                    | 29 / 65       | 27 / 44    | 26 / 39    | 23 / 35  |

<sup>1</sup> Basé sur les tables de composition NRC (1994). Expression sur le brut.

<sup>2</sup> Analyse réalisée sur les aliments du traitement T1 par méthode ICP

## 2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats d'analyse étaient conformes aux caractéristiques attendues des aliments, en particulier pour les écarts de teneurs en oligoéléments entre régimes. Considéré dans leur ensemble, les traitements n'ont pas eu d'effet au niveau du gain de poids corporel cumulé, de la consommation d'aliments, de l'IC, du nombre et poids cumulé des

œufs produits, de la proportion d'œufs fissurés ou sans coquille, du pourcentage pondéral de la coquille dans l'œuf, et des unités Haugh (données non présentées ici).

Toutefois, une augmentation du poids corporel de 50 g ( $P < 0,05$ , effet « source ») est observée dans les traitements CHM T3, T5 comparé aux traitements OEI T2, T4. L'augmentation des niveaux de minéraux d'oligo éléments de 20-5-20 à 40-10-40 mg/kg de Zn, Cu et Mn respectivement s'accompagne d'une augmentation de la consommation d'aliments de 2 g/jour ( $P < 0,05$ , effet « niveau »).

### Effets sur la qualité des coquilles

Les résultats de la résistance de la coquille à la rupture, de son épaisseur, de la résistance des tibias à la rupture et de la réponse des titres d'anticorps aux érythrocytes de mouton sont présentés dans les figures 1 à 4. Ils correspondent aux traitements T2 à T5, et permettent d'évaluer indépendamment l'effet des facteurs source et niveaux d'oligo éléments.

Pour les œufs collectés à la 68<sup>e</sup> semaine, Les poules nourries à l'aide de CHM bénéficient d'une résistance significativement accrue de la coquille à la rupture par rapport aux poules supplémentées avec des sources inorganiques d'oligo éléments (figure 1, effet « source » ;  $P < 0,05$ ). Aucune différence significative n'est observée pour les autres périodes.

Considéré dans leur ensemble, les traitements n'influent pas sur l'épaisseur de la coquille à l'exception de la semaine 74 pour laquelle le traitement T3 (CHM, 20-10-20) fait état de coquilles significativement plus épaisses ( $P < 0,05$ ) en comparaison du traitement T2 (OEI, 20-10-20). Les groupes CHM T3 (20-10-20) et T5(40-20-40) ont des résultats comparables.

L'analyse des principaux effets suggère également que l'épaisseur de coquilles d'œuf de poules supplémentées en CHM est supérieure à celle des œufs de poules supplémentées en OEI vers la fin de ponte (Figure 2). Les valeurs ont tendance à être plus élevées à la semaine 68 ( $P=0,08$ ) et son significativement supérieure pour la semaine 74 ( $P<0,05$ ). Aucune différence significative n'est observée sur les autres périodes.

### Autres observations

L'augmentation des niveaux d'oligo éléments tend à augmenter la résistance des tibias à la rupture ( $P = 0,07$  ; figure 3).

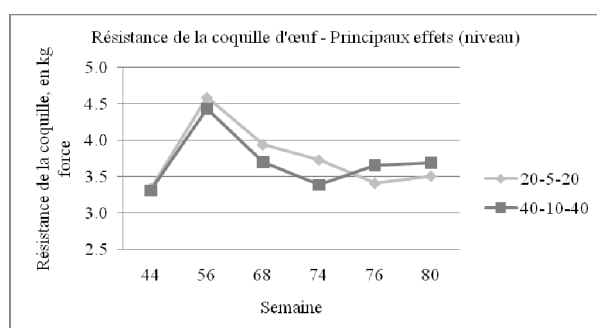
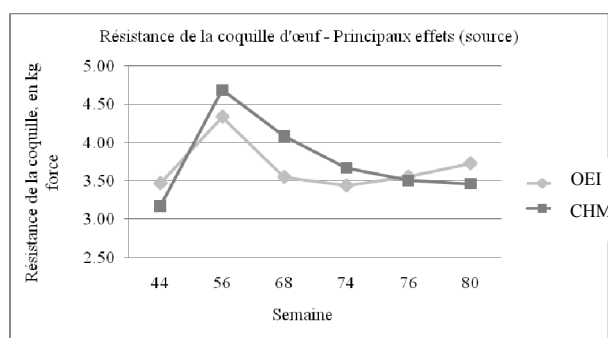
L'ensemble des traitements n'a pas eu d'effet sur les titres d'anticorps. Toutefois, les données analysées à certains intervalles indiquent que les principaux effets de source sont significatifs deux semaines après la seconde injection d'érythrocytes de mouton ( $P = 0,04$ ). Les poules supplémentées avec des CHM bénéficient de meilleures valeurs de titres que les poules supplémentées avec des OEI (figure 4) à la 63<sup>e</sup> semaine, ce qui suggère que les CHM induisent

des bénéfices au niveau immunitaire par rapport aux OEI.

### 3. CONCLUSION

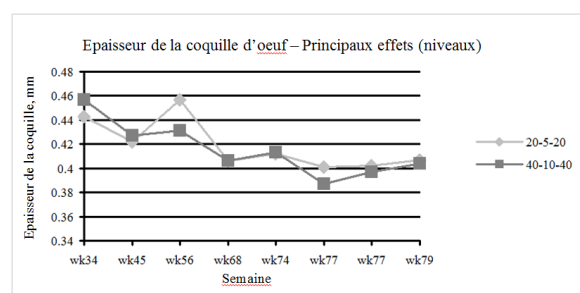
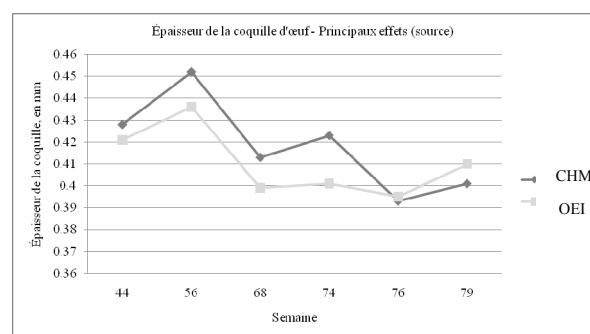
La supplémentation de poules pondeuses en oligo éléments chélatés à des hydroxy analogues de méthionine conduit à une amélioration de la résistance de la coquille à la rupture en semaine 68, à une amélioration de l'épaisseur de la coquille en semaine 74 et à une amélioration de la réponse immunitaire en semaine 63, en comparaison avec des oligo éléments apportés sous forme de sulfates. Les effets constatés sont plus dépendants de la forme d'apport des oligo éléments que de leur dose.

**Figure 1 :** Effets des traitements sur la résistance de la coquille d'œuf.



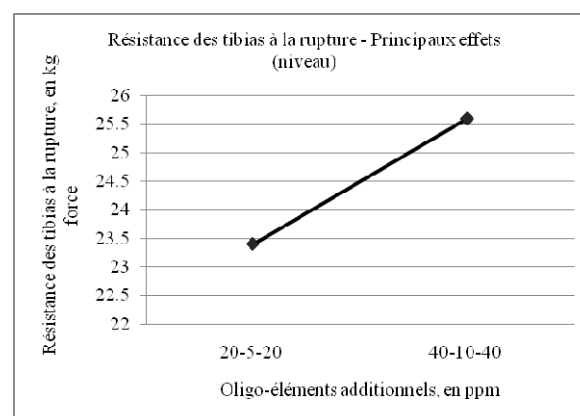
| Valeurs P       | sem. 44 | sem. 56 | sem. 68 | sem. 74 | sem. 76 | sem. 80 |
|-----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Source          | 0,06    | 0,18    | 0,05    | 0,22    | 0,81    | 0,27    |
| Niveau          | 0,91    | 0,55    | 0,37    | 0,07    | 0,28    | 0,44    |
| Source x niveau | 0,33    | 0,29    | 0,66    | 0,21    | 0,47    | 0,87    |

**Figure 2 :** Effets des traitements sur l'épaisseur de la coquille d'œuf.



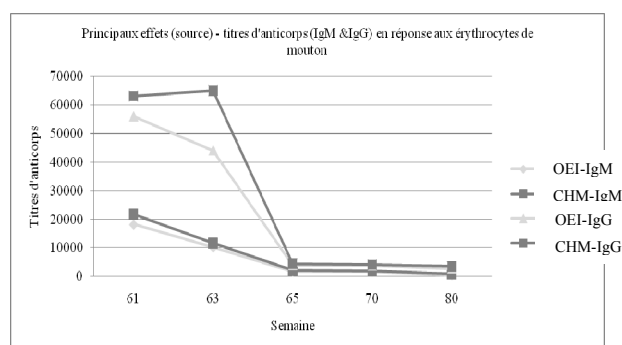
| Valeurs P       | sem. 44 | sem. 56 | sem. 68 | sem. 74 | sem. 76 | sem. 79 |
|-----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Source          | 0,37    | 0,3     | 0,08    | 0,02    | 0,8     | 0,53    |
| Niveau          | 0,53    | 0,08    | 1       | 0,92    | 0,11    | 0,86    |
| Source x niveau | 0,06    | 0,23    | 0,58    | 0,41    | 0,57    | 0,51    |

**Figure 3 :** Effets des traitements sur la résistance des tibias à la rupture.



| Valeurs P       |      |
|-----------------|------|
| Source          | 0,19 |
| Niveau          | 0,07 |
| Source x niveau | 0,10 |

**Figure 4 :** Effets des traitements sur la réponse des anticorps aux érythrocytes de mouton.



| Valeurs         | sem. 61 | sem. 63 | sem. 65 | sem. 70 | sem. 80 |
|-----------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| P               | IgG     | IgG     | IgG     | IgG     | IgG     |
| Source          | 0,72    | 0,04    | 0,71    | 0,73    | 0,40    |
| Niveau          | 0,63    | 0,84    | 0,85    | 0,37    | 0,47    |
| Source x niveau | 0,42    | 0,49    | 0,10    | 0,66    | 0,97    |

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Arias, J. L., D. J. Fink, S. Xiao, A. H. Heuer et A. I. Caplan. 1993. *Int. Rev. Cytol.*, (145), 217–250.
- Baumgartner, S., D. J. Brown, E. Salevsky, Jr. et R. M. Leach. 1978. *J. Nutr.*, (108), 804-811.
- Chowdhury, S. D. 1990. *World's Poultry Sci. J.* (46), 153–169.
- Leach, R. M., Jr. 1976. In Pages 235 à 247 de *Trace Elements in Human Health and Disease*. Vol. II, A. S. Prasad, ed., Academic Pr, New York.
- McDowell, L. R. 2003. In *Minerals in Animal and Human Nutrition*. Elsevier Science B.V., Amsterdam, Pays-Bas.
- Nicholson, F. A. et B. J. Chambers. 2008. In. Pages 55 à 62 de *Trace Elements in Animal Production Systems*. P. Schlegel, S. Durosoy et A. W. Jongbloed, ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Pays-Bas.
- NRC. 1994. In *Nutrient Requirements of Poultry*. 9<sup>th</sup> rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Nys, Y., M. T. Hincke, J. L. Arias, J. M. Garcia-Ruiz et S. E. Solomon. 1999. *Poult. Avian Biol. Rev.* (10), 143–166.
- Nys, Y., J. Gautron, M. D. McKee, J. M. Garcia-Ruiz et M. Hincke. 2001. *World's Poultry Sci. J.*, ( 57), 401-403.
- Richards, J. D., P. Fisher, T. D. Wineman, C. A. Atwell et K. J. Wedekind. 2010. In. Pages 2 et 3 du *Int. Poultry Sci. Forum*, Atlanta, GA. Southern Poultry Sci. Soc.
- Wedekind, K. J. et D. H. Baker. 1990. *J. Anim. Sci.*, (68), 684–689.