

IMPACT DES NIVEAUX PLASMATIQUES DE 25-OH-D3 VIA DES CURES DANS L'EAU SUR LES TROUBLES LOCOMOTEURS DES POULETS.

Guillot Chloé¹, Dronneau Anouk¹, Boulard Christophe², Thoby Jean-Marc², Ethève Stéphane³, Fauqueux Zoé¹, Langlois Aude¹, Gigaud Vérane²

¹*Chêne Vert Conseil Vétérinaire -ZA de Bronut – 56500 Moréac,*

²*DSM - Nutritional Products France, Tour Nova, 71 boulevard National, 92 250 La Garenne-Colombes*

³*DSM Nutritional Products Ltd., DNP R&D Solution Center, Wurmisweg 576, CH-4303 Kaiseraugst, Suisse*

Verane.gigaud@dsm.com

RÉSUMÉ

Les troubles locomoteurs sont des pathologies récurrentes en élevage de poulets de chair qui conduisent à des baisses de performances mais également à un moindre bien-être animal. Une mauvaise absorption et fixation du calcium (Ca) est souvent à l'origine de l'apparition de ces troubles. Le métabolisme osseux est régulé par l'homéostasie du Ca, lui-même sous le contrôle de la vitamine D3. Or, les niveaux de vitamine D3 dans l'aliment peuvent être limités ou mal assimilés et ne pas permettre une minéralisation optimale. Afin de réduire ces troubles, il est possible de renforcer les apports en vitamine D3 via un complément nutritionnel dans l'eau contenant de la 25-OH-D3, forme biodisponible de la vitamine D3. L'objectif de cette étude était de mettre en relation les niveaux plasmatiques de 25-OH-D3 et les troubles locomoteurs chez le poulet de chair avec ou sans cure de la forme biodisponible diluée dans l'eau. 11 bâtiments d'élevage ont été suivis en région Bretagne, 6 sans cure et 5 avec 3 cures, la première de 3 à 6 j, la seconde de 10 à 13j et la dernière de 20 à 22j.

Lors de la période à risque pour les boiteries (35-40j), la mesure du Gait score a été réalisée pour évaluer le pourcentage de troubles locomoteurs, ainsi que le poids vif. Des prélèvements sanguins ont été réalisés afin de quantifier les niveaux de 25-OH-D3. Sur ces mêmes poulets, les tibias gauches et droits ont été prélevés pour analyses de la résistance à la rupture, la dureté et l'évaluation des cartilages de croissance. Cette étude a permis de mettre en évidence, lorsque les animaux recevaient les 3 cures, une augmentation significative des niveaux circulants de 25-OH-D3 associée à une réduction significative du Gait score. Des niveaux circulants augmentés de 25-OH-D3 au sein d'un lot s'accompagnent d'une amélioration significative du poids vif, de la résistance à la rupture et de la dureté des tibias, mais également de modifications de la composition des cartilages. Enfin, il est constaté une baisse significative des lésions avec l'application des 3 cures.

ABSTRACT

Impact of 25-OH-D3 via a nutritional supplement in water on leg disorders

Broiler's leg disorders are recurrent pathologies which reduced performance and decreased animal welfare. Poor absorption and uptake of calcium (Ca) is often the source of these disorders. Bone metabolism is regulated by Ca homeostasis, itself under the control of vitamin D3. However, the levels of vitamin D3 in feed can be limited or poorly assimilated and may not allow an optimal mineralization. To reduce these disorders, it is possible to increase the intake of vitamin D3 via a nutritional supplement in water containing 25-OH-D3, the bioavailable form of vitamin D3. The objective of this study was to relate the plasma levels of 25-OH-D3 to locomotor disorders in broilers with or without the bioavailable form diluted in water. 11 farms were monitored in the Brittany region, 6 without treatment and 5 with 3 treatments, the first at 3-6 days, the second at 10-13 days and the last at 20-22 days. During the sensitive period for lameness (35-40 days), the Gait score was measured to assess the percentage of locomotor disorders in 100 chickens per flock, as well as the live weight. Blood samples were taken from 45 chickens per batch divided into 3 levels of lameness: non-lame, light lame, and heavy lame to quantify the 25-OH-D3 levels. Left and right tibiae were also removed to analyze bone strength, stiffness, and assessment of growth cartilage. This study demonstrates, when the animals received the 3 cures, a significant increase in the circulating levels of 25-OH-D3 associated with a significant reduction in the Gait score. Increased circulating levels of 25-OH-D3 within a batch are accompanied by significant improvement in live weight, bone strength and stiffness, as well as changes in cartilage composition. Finally, a significant decrease in lesions is observed with the application of the 3 cures.

INTRODUCTION

Les troubles locomoteurs sont des pathologies récurrentes en élevage de poulets de chair qui conduisent à des baisses de performances mais également à un moindre bien-être animal (Rath et al. 2000; Danbury et al. 2000; McGeown et al. 1999). L'origine des boiteries peut être non infectieuse : nutritionnelle, intestinale (malabsorption) ou encore mécanique (Angel 2007). La croissance rapide des poulets est le principal facteur de risque lorsque l'origine est non infectieuse (Julian 2005). Une mauvaise absorption et fixation du calcium (Ca) est souvent à l'origine de l'apparition de ces troubles. Le métabolisme osseux est régulé par l'homéostasie du Ca, lui-même sous le contrôle de la vitamine D3. Or, les niveaux de vitamine D3 dans l'aliment peuvent être limités ou mal assimilés et ne pas permettre une minéralisation optimale notamment les premières semaines d'élevage (Whitehead et al. 2004), favorisant la colonisation de l'os par des bactéries opportunistes et engendrant des troubles plus sévères (Matthieu PINSON, Xavier CHATENET, Xavier MALHER 2015).

Afin de réduire ces troubles, il est possible de renforcer les apports en vitamine D3 via un complément nutritionnel dans l'eau de boisson contenant de la 25-OH-D3, forme biodisponible de la vitamine D3.

Le statut en vitamine D3, mesuré par les niveaux circulants de 25-OH-D3, a fait l'objet de nombreuses études qui ont démontré ses multiples bénéfices chez l'homme comme chez l'animal (Goodgame et al. 2011 ; Carlberg 2014; Ceglia 2008; DeLuca 2014).

L'objectif de cette étude était de mettre en relation les niveaux plasmatiques de 25-OH-D3 et les troubles locomoteurs chez le poulet de chair avec ou sans cure de la forme biodisponible diluée dans l'eau.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et traitements expérimentaux

Onze bâtiments d'élevage de poulets de chair non sexés de souche Ross 308, provenant de la même organisation de production et alimentés par la même usine d'aliment, ont été suivis en région Bretagne.

Les surfaces des bâtiments étaient comprises entre 931 et 1620 m² avec une densité variant de 18,5 à 21,5 poulets/m².

Six bâtiments représentaient le groupe témoin et n'ont reçu dans l'eau aucune supplémentation contenant de la vitamine D3. Les 5 bâtiments essais ont réalisé 3 cures de Provitos® (vitamine D3, 25-OH-D3, vit C, vitamine B6 et dextrose monohydrate). Les cures ont été administrées pour la première de 3 à 6j, puis de 10 à 13j, et enfin de 20 à 22j pour la dernière. Ces périodes ont été choisies en fonction du développement osseux

des animaux (Sanchez-Rodriguez et al. 2019; Williams et al. 2000), mais également de l'absorption de la vitamine D3 et de la demi-vie de la 25-OH-D3 plasmatique qui est comprise entre 15 et 20 jours (Jones et al. 2014; Leeson, Summers 2001).

1.2. Gait Score

A 40j, la mesure du Gait score a été réalisée pour évaluer le pourcentage de troubles locomoteurs selon les traitements.

La méthode choisie consiste à prélever 25 poulets au hasard en évitant les coins, 4 fois à chaque extrémité du bâtiment, puis relâcher les poulets hors du cercle afin qu'ils rejoignent librement leurs congénères (Kestin et al. 1992; Knowles et al. 2008). L'évaluation du score de boiterie a ainsi été réalisée individuellement sur 100 poulets par lot selon la grille suivante :

- 0 : pas de trouble observable,
- 1 : Léger défaut de déplacement, légère claudication en ne sachant pas déterminer le côté atteint,
- 2 : Léger défaut, le côté concerné est identifiable et la foulée est raccourcie
- 3 : Poulet qui se couche facilement si pas de stimulation (Debout environ 15 secondes)
- 4 : Poulet qui ne bouge que s'il est stimulé (Debout environ 5 secondes)
- 5 : Poulet qui ne bouge pas, malgré des stimulations

1.3. Prélèvements et mesures

Dans chaque bâtiment, 45 poulets mâles de 40j répartis en 3 niveaux de boiterie, [non boiteux, boiteux légers (score de boiterie entre 2 et 4) et boiteux sévères (score de boiterie de 5)], ont été transportés jusqu'au laboratoire afin de réaliser les différents prélèvements. Des prélèvements sanguins au niveau de la veine alaire à l'aide d'une aiguille 18G ont immédiatement été réalisés dans des tubes héparinés de 5mL, centrifugés dans l'heure, puis le plasma a été déposé dans des tubes et congelé afin de quantifier les niveaux de 25-hydroxycholecalciférol (25-OH-D3) plasmatique. Cette dernière a été déterminée en utilisant une méthode analytique validée basée sur UHPLC-MSMS (DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland).

Pour évaluer les performances de la méthode, des échantillons standard et de contrôle qualité dédiés ont été analysés avec les échantillons inconnus pour garantir l'exactitude et la précision de la méthode.

Les poulets ont été étourdis par électronarcose, euthanasiés par dislocation cervicale puis pesés.

Pour chaque poulet, les différentes lésions macroscopiques ont été relevées (péricardite, périhépatite, pododermatites...), les foies ont été pesés et le degré de stéatose hépatique enregistré. Le degré de nécrose des têtes fémorales a également été noté.

Des analyses bactériologiques ont été effectuées sur 5 poulets par groupe et par bâtiment pour les groupes boiteux légers et boiteux sévères.

L'ensemble de ces mesures, observations et prélèvements ont permis de classer chaque animal en 3 catégories : sans lésions, lésions infectieuses et lésions non infectieuses.

1.4. Prélèvements et mesures sur les tibias

Sur ces mêmes poulets, les tibias gauches et droits ont été prélevés.

Les mesures de l'épaisseur du cartilage de conjugaison, de la zone de prolifération et de la zone de minéralisation ont été effectuées sur les tibio-tarses droits découpés par un scalpel et mesurés avec un pied à coulisse digital (modèle Fischer Darex).

La prévalence et le degré de dyschondroplasie tibiale ont été notés.

Les tibias gauches ont quant à eux été envoyés au laboratoire de Zootest (22 440 Ploufragan) afin de mesurer leur poids, la résistance à la rupture et la dureté à l'aide d'un MTS Synergie 200, vitesse de compression 30 mm/mn.

1.5. Analyses statistiques

Les résultats ont été analysés avec le logiciel XLSAT (version 2021 2.1). Les analyses de variances ont été réalisées par des tests non-paramétriques de Kruskal Wallis afin de tester l'effet du nombre de cures et l'effet « groupe de boiteries ». Des ANOVA ont été réalisées pour tester les interactions de ces deux variables explicatives. Des tests de Khi2 suivis de tests de Fisher ont été réalisés pour les comparaisons de classes et des corrélations de Pearson pour étudier les effets entre les niveaux circulants de 25-OH-D3 et les différentes variables.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La supplémentation administrée aux lots « Essai » a permis d'augmenter significativement les niveaux circulants de 25-OH-D3 et ce indépendamment du groupe de boiterie (Tableau 1). Ces résultats sont cohérents avec de nombreux travaux indiquant qu'un apport de 25-OH-D3 dans l'alimentation animale augmente les niveaux plasmatiques (Yarger et al. 1995; Lauridsen et al. 2010; Vignale et al. 2015). Cette élévation s'accompagne d'une réduction des troubles locomoteurs mesurés avec le Gait Score. En effet, les lots « Essai » ont obtenu un Gait score significativement plus faible (Figure 1), l'analyse par classe indiquant que cette amélioration de prévalence de troubles locomoteurs est liée à une réduction significative du score 5, numérique du score 4 et une augmentation du score 3 (Tableau 2). Sakkas et al., (2019) ont également démontré la relation entre les niveaux circulants de 25-OH-D3 et une amélioration du Gait score (Sakkas et al. 2019). Plus récemment, Zhang et al., (2021) démontrent également une amélioration du Gait Score chez des poulets supplémentés en 25-OH-D3 (Zhang et al. 2021). En humaine, il est aussi largement admis et reconnu que des niveaux plus

importants de 25-OH-D3 circulant permettent de réduire le risque relatif de fractures mais également d'autres pathologies (Bischoff-Ferrari, 2008).

Aucune différence significative n'a été observée sur la force à la rupture ou encore la dureté en fonction du nombre de cures (Tableau 1). Néanmoins il existe une différence numérique de 5 N/mm entre les deux traitements et en faveur des lots « Essai ». Cette différence est confirmée par des coefficients de corrélations hautement significatifs entre les niveaux circulants de 25-OH-D3 et la force à la rupture ($R=0.348$, $P<0.0001$) ou la dureté ($R=0.453$, $P<0.0001$). Ces résultats sont cohérents avec les travaux de Sakkas et al. (2019), Zhang et al. (2021) ou encore Saunders-Blades (2008) et Wittehead et al. (2004) qui indiquent tous une amélioration de la force à la rupture ou de la dureté des os.

L'analyse des différentes zones de l'épiphyse des tibias montre que, quel que soit le traitement, l'épaisseur du cartilage de croissance et de la zone de prolifération sont identiques. Au contraire, l'épaisseur de la zone de minéralisation (ou zone hypertrophique) diminue chez les animaux ayant reçu trois cures de 25-OH-D3 ($P<0.0001$), ce qui entraîne une diminution de l'épaisseur totale de la zone mesurée chez les lots « Essai » ($P<0.0001$). La zone hypertrophique ou de minéralisation est la région où siège la différenciation des chondrocytes aviaires (Farquharson, Jefferies 2000). D'après Farquharson et al., (1993) cette différenciation est sous l'influence de la vitamine D3. Ainsi la diminution de l'épaisseur de cette zone liée à la complémentation en 25-OH-D3 pourrait s'expliquer par une maturation plus avancée des chondrocytes.

L'apparition des lésions est également significativement moins fréquente pour les lots de poulets ayant reçu 3 cures (Tableau 1). L'analyse par classe indique que ce sont les lésions de type 2, infectieuses, qui sont significativement ($P<0.05$) diminuées. Cette observation conforte l'hypothèse qu'une bonne minéralisation limite dans le tissu osseux l'accès aux pathogènes et leurs conséquences délétères (Pinson et al., 2015).

Enfin, ces résultats sont accompagnés par des corrélations positives et significatives entre les niveaux circulants de 25-OH-D3 et le poids vif des poulets [Figure 2 ($R=0.61$, $P<0.0001$)], ce qui était déjà confirmé dans les travaux de Zhang et al (2021), ainsi que Goodgame et al (2011), avec un effet dose réponse (Goodgame et al. 2011; Zhang et al. 2021).

CONCLUSION

Cette étude a tout d'abord permis de mettre à nouveau en évidence les corrélations entre la qualité osseuse et les troubles locomoteurs. Une supplémentation de la forme biodisponible de vitamine D3, la 25-OH-D3, via

des cures administrées la première semaine d'élevage de 3 à 6 j, puis de 10 à 13j et enfin de 20 à 22 j a permis d'augmenter les niveaux circulants de 25-OH-D3 à 40j, ce qui s'est accompagné d'une réduction des troubles locomoteurs.

Dans cette étude, de nombreuses corrélations positives et hautement significatives entre les niveaux circulants

de 25-OH-D3 et les paramètres osseux ont été mises en évidence, indiquant le bénéfice d'assurer des niveaux circulants plus importants pour la filière poulet de chair, les souches actuelles à croissance rapide ayant une sensibilité accrue au niveau locomoteur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Angel, R., 2007. J. Appl. Poult. Res. Vol. 16, n 1, pp. 138-149.
- Bischoff-Ferrari HA, 2008. Adv Exp Med Biol. 624:55-71.
- Carlberg, C., 2014. Front. Phys. Vol. 5, pp. 335.
- Ceglia, L., 2008. Mol. Asp. Med. Vol. 29, n° 6, pp. 407-414.
- Danbury, T. C., Weeks, C. A., Waterman-Pearson, A. E., Kestin, S. C. et Chambers, J. P., 2000. Vet. Rec. Vol. 146, n° 11, pp. 307-311.
- Deluca, H. F., 2014. J. Anim. Sci. Vol. 92, n° 3, pp. 917-929.
- Farquharson, C. et Jefferies, D., 2000. Poult. Sci. Vol. 79, n°7, pp. 994-1004.
- Farquharson, C., Whitehead, C.C., Rennie, J.S. et Loveridge, N., 1993. J. Bone Min. Res. Vol. 8, n 9, p. 1081-1088.
- Goodgame, S.D., Mussini, F.J., Lu, C., Bradley, C.D., Watkins, S.E. et Waldroup, P.W., 2011. Int. J. Poult. Sci. Vol. 10, n° 4, pp. 295-299.
- Jones, K. S., Assar, S., Harnpanich, D., Bouillon, R., Lambrechts, D., Prentice, A. et Schoenmakers, I., 2014. J. Clin. Endo. Met. Vol. 99, n 9, pp. 3373-3381.
- Julian, R. J., 2005 – A review. Vet Journal. Vol. 169, n° 3, pp. 350-369.
- Kember, N. F., Kirkwood, J. K., Duignan, P. J., Godfrey, D. et Spratt, D. J., 1990. Res. Vet. Sci. Vol. 49, n° 3, pp. 283-288.
- Kestin, S. C., Knowles, T. G., Tinch, A. E. et Gregory, N. G., 1992. Vet. Rec. Vol. 131, n° 9, pp. 190-194.
- Knowles, T. G., Kestin, S. C., Haslam, S. M., Brown, S. N., Green, L. E., Butterworth, A, Pope, S. J., Pfeiffer, D et Nicol, C J., 2008. PLOS ONE. Vol. 3, n 2, pp. e1545.
- Lauridsen, C., Halekoh, U., Larsen, T. et Jensen, S. K., 2010. J. Anim. Sci. Vol. 88, n° 1, pp. 202-213.
- Leeson, S., et Summers, J. D., 2001. University Books. ISBN 978-0-9695600-4-3.
- Pinson M., Chatenet X., et Malher X., 2015. 11e Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras. Tours. 26 mars 2015.
- McGeown, D., Danbury, T. C., Waterman-Pearson, A. E. et Kestin, S. C., 1999. Vet. Rec. 1999. Vol. 144, n 24, pp. 668-671.
- Rath, N. C., Huff, G. R., Huff, W. E. et Balog, J. M., 2000. Poult. Sci. Vol. 79, n° 7, pp. 1024-1032.
- Sakkas, P., Oikeh, I., Blake, D. P., Smith, S. et Kyriazakis, I. 2019. Brit. J. Nut. 2019. Vol. 122, n 6, pp. 676-688.
- Sanchez-Rodriguez, E., Benavides-Reyes, C., Torres, C., Dominguez-Gasca, N., Garcia-Ruiz, A. I, Gonzalez-Lopez, S et Rodriguez-Navarro, A. B. 2019. Poult. Sci. 2019. Vol. 98, n° 11, pp. 5215-5225.
- Vignale, K., Greene, E. S, Caldas, J. V, England, J. A, Boonsinchai, N., Sodsee, P., Pollock, E. D, Dridi, S. et Coon, C. N, 2015. J. Nut. 2015. Vol. 145, n° 5, pp. 855-863.
- Whitehead, C. C., McCormack, H. A., Mctair, L. et Fleming, R. H., 2004. Brit. Poult. Sci. 2004. Vol. 45, n 3, pp. 425-436.
- Williams, B., Solomon, S., Waddington, D., Thorp, B. et Farquharson, C., 2000. Brit. Poult. Sci. Vol. 41, n 2, pp. 141-149.
- Yarger, J. G., Saunders, C. A., Mcnaughton, J. L., Quarles, C. L., Hollis, B. W. et Gray, R. W., 1995. Poult. Sci. Vol. 74, n 7, pp. 1159-1167.
- Zhang, H., Majdeddin, M., Gaubomme, D., Taminiau, B., Boone, M., Elewaut, D., Daube, G., Josipovic, I., Zhang, K., et Michiels, J. 2021. J. Anim. Sci. Biot. Vol. 12, n 1, pp. 104.

Tableau 1 – Analyse des caractéristiques du tibia en fonction du nombre de cures et du niveau de boiteries.

Paramètres testés	Nombre de cures			Niveau de boiterie				Cure*boiterie
	0 N=264	3 N=223	P-value	Non boiteux N=161	Léger N=164	Sévère N=162	P-value	
25-OH-D3 plasm. (ng/mL)	16.04±6.05	18.47±6.12	<0.0001	20.20±0.38 ^a	19.70±0.37 ^a	11.85±0.38 ^b	<0.0001	NS
Poids Tibia (g)	12.60±1.1	12.25±1.1	0.034	13.52 ^a	13.44 ^a	10.30 ^b	<0.0001	NS
Force Fracture (N)	288.5±6.4	292.90±7	NS	336.6±8.2a	323.5±8.2a	211.9±8.3b	<0.0001	NS
Dureté (N/mm)	171.2±2.3	176.5±2.5	NS	197.4±2.9a	185.7±2.9b	138.6±2.9c	<0.0001	NS
Taille globale des zones (mm)	7.6±0.09	7.05±0.09	<0.0001	7.90±0.1a	7.78±0.1a	6.28±0.1b	<0.0001	NS
Cartilage de conjugaison (mm)	3.02±0.6	3.00±0.6	NS	3.08±0.5a	3.12±0.5a	2.82±0.6b	<0.0001	NS
Zone de prolifération (mm)	1.59±0.8	1.58±0.6	NS	1.80±0.5a	1.85±0.7a	1.09±0.6b	<0.0001	NS
Zone de min.(mm)	2.99±0.9	2.49±0.8	<0.0001	3.04±0.7a	2.85±0.7a	2.340±1.0b	<0.0001	NS
Lésions	1.00±0.05	0.81±0.06	0.017	NM*	0.67±0.6	1.15±0.56	<0.0001	NS

NM* : non mesuré, les non-boiteux n'étaient pas concernés par cette mesure

Tableau 2. Analyse par classe du Gait score selon le nombre de cures

Gait score	Nombre de cure		P-value Test exact Fisher
	0	3	
0	28,33%	30,80%	NS
1	28,00%	26,80%	NS
2	22,50%	19,40%	NS
3	11,17%	15,80%	0.026
4	7,33%	6,40%	NS
5	2,67%	0,80%	0.023
P value Khi2	0.036		

Figure 1. Moyenne du Gait score selon le nombre de cures

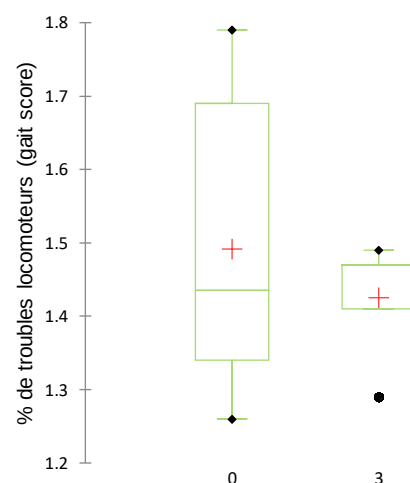


Figure 2 : Corrélation entre le poids corporel et le taux plasmatique de 25-OH-D3 (ng/mL)

