

L'EXTRAIT SEC DE RAISIN STANDARDISE, UN ALLIE POUR RENFORCER LA SANTE OSSEUSE CHEZ LA POULETTE

Engler Paul¹, Chavatte Dominique², Benarbia Mohamed el Amine¹

¹NOR-FEED - 3 rue Amedeo Avogadro - 49070 BEAUCOUZE,

²DLJConsultant - 22000 SAINT BRIEUC

paul.engler@norfeed.net

RÉSUMÉ

La minéralisation osseuse chez la poulette est une des clés des performances de ponte et de bien-être de la future pondeuse. De récentes études ont en revanche démontré que le stress oxydatif est néfaste pour la minéralisation. La présente étude visait à évaluer l'effet d'une supplémentation en extrait sec de raisin standardisé (NG, Nor-Grape®, Nor-Feed) sur la santé osseuse de la poulette. 36300 poulettes d'un jour étaient divisées aléatoirement entre 2 bâtiments adjacents sur la même exploitation. L'aliment contrôle (CTL, n=18150) était distribué de J1 à S17. Le groupe supplémenté (NGR, n= 18150), recevait le même programme alimentaire que CTL, additionné de 30ppm NG. Les deux groupes suivaient le même protocole de prophylaxie et de vaccination. A S17, 50 poulettes par groupe étaient prélevées, euthanasiées et autopsiées pour mesurer le niveau de déformation de la quille du bréchet. Une patte de chaque poulette était également prélevée pour mesurer la matière sèche et minérale du tibia, la teneur en Ca et P ainsi que la solidité de l'os. Les taux de matière sèche et minérale étaient significativement plus élevés dans les os des poulettes NGR (+1.1% et +0.9% de la masse du tibia (MT) respectivement, $p<0.01$). Cela se traduisait par des niveaux plus hauts de Ca (10.7% vs. 10.4% MT pour NGR et CTL respectivement, $p<0.10$) et P dans les os (5.0% vs. 4.8% MT pour NGR et CTL respectivement, $p<0.05$). La résistance des os était également numériquement plus importante (+17%). De plus, la proportion de poulettes avec une déformation du bréchet tendait à être réduite dans le groupe NGR (18% vs. 32%, $p=0.10$). Ces résultats indiquent un effet positif de la supplémentation en NG sur la minéralisation des poulettes pendant leur phase d'élevage. Cela se traduit par une diminution des problèmes de bréchet. Une telle amélioration, avant la période de forte demande pour le squelette que représente la phase de ponte, indique une meilleure préparation des poulettes et une amélioration de leur bien-être lié à une meilleure santé osseuse.

ABSTRACT

Standardized dry grape extract, an ally to strengthen pullets' bone health

Bone mineralization in pullets is one of the keys to laying performance and well-being of the future layer. However, recent studies have demonstrated that oxidative stress is harmful to mineralization. The present study aimed to evaluate the effect of a supplementation with a standardized grape dry extract (NG, Nor-Grape®, Nor-Feed) on pullet bone health. 36300 day-old pullets were randomly divided between 2 adjacent buildings on the same farm. The control diet (CTL, n=18150) was distributed from D1 to W17. The supplemented group (NGR, n= 18150), received the same dietary program as CTL, supplemented with 30ppm of NG. Both groups followed the same prophylaxis and vaccination protocol. At W17, 50 pullets per group were collected, euthanized and necropsied to measure the level of deformation of the keel bone. A leg from each pullet was also sampled to measure the dry and mineral matter of the tibia, Ca and P content as well as the strength of the bone. Dry matter and mineral levels were significantly higher in the bones of NGR pullets (+1.1% and +0.9% of tibia mass (TM) respectively, $p<0.01$). This translated into higher levels of Ca (10.7% vs. 10.4% TM for NGR and CTL respectively, $p<0.10$) and P in bone (5.0% vs. 4.8% TM for NGR and CTL respectively, $p<0.05$). Bone strength was also numerically greater (+17%). In addition, the proportion of pullets with keel bone deformity tended to be reduced in the NGR group (18% vs. 32%, $p=0.10$). These results indicate a positive effect of NG supplementation on the mineralization of pullets during their rearing phase. This results in a reduction in keel bone problems. Such an improvement, before the period of high demand for the skeleton represented by the laying phase, indicates better preparation of the pullets and an improvement in their welfare linked to better bone health.

INTRODUCTION

La minéralisation osseuse chez la poulette est une des clés des performances de ponte et de bien-être de la future pondeuse. En effet, alors que le développement maximal du squelette se déroule pendant la croissance de la poulette, celui-ci est principalement axé autour de la construction de l'os structural. Lorsque la maturité sexuelle parvient, la jeune poule se met alors à sécréter des doses nettement plus importantes d'œstrogène qui orientent l'activité des ostéoblastes en priorité vers la production d'os médullaire pour la mise en réserve tampon de calcium. Les ostéoclastes de différencient en revanche pas entre les différents types d'os, ce qui peut poser des problèmes d'ostéoporose précoce pendant la phase de ponte chez des poules dont les os présentent une faible minéralisation à l'arrivée de la maturité sexuelle. (Whitehead and Fleming, 2000, Casey-Trott *et al.* 2017, Hanlon *et al.* 2021). De nombreux facteurs influencent les ostéoblastes, ostéoclastes et ostéocytes, ensemble de cellules responsables de la construction osseuse et son remodelage. Ces cellules, comme pour le reste de l'organisme, sont soumises à un contexte de signalisation cellulaire, orientable par différents facteurs environnementaux. Particulièrement étudié depuis maintenant plusieurs décennies, l'équilibre rédox des cellules constitue l'un des leviers d'orientation de la signalisation cellulaire les plus conséquents. De récentes études ont ainsi mis en évidence le rôle potentiel de déséquilibres de la balance redox sur une altération du bon fonctionnement de la construction osseuse (Wauquier *et al.* 2009, Domazetovic *et al.* 2017). Les événements de vaccination, du fait de la réaction immunitaire modérée déclenchée, semblent par exemple pouvoir perturber l'équilibre de la balance rédox et impacter le développement osseux chez la poulette (Song *et al.* 2020).

Du fait de leur capacité antioxydante très élevée, les polyphénols de raisin représentent un levier potentiel de correction de la balance oxydative dans le but de réguler la minéralisation chez la future pondeuse. La présente étude visait ainsi à évaluer l'effet d'une supplémentation en extrait sec de raisin standardisé (NG, Nor-Grape®, Nor-Feed, 80% de polyphénols totaux) pendant la phase d'élevage sur la santé osseuse de la poulette ainsi que sa réponse immunitaire.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Elevage

36300 poulettes d'un jour était divisées aléatoirement entre 2 bâtiments adjacents de configuration identique sur la même exploitation. Le programme alimentaire contrôle (CTL, n=18150) était distribué de S1 à S17. Le groupe supplémenté (NGR, n= 18150), recevait les mêmes aliments démarrage, croissance, pré-ponte que

le contrôle, avec 30ppm additionnels de NG pendant toute la période d'élevage. Les deux groupes suivaient le même protocole de vaccination.

1.2. Prélèvements biologiques

Des prélèvements sanguins étaient réalisés à S5, S10 et S17 sur 20 poulettes par groupe pour le suivi de l'efficacité vaccinale des vaccins contre la maladie de Newcastle (ND) et contre la bronchite infectieuse (IB). Les prélèvements sanguins étaient envoyés à un laboratoire indépendant où la mesure des titres sériques spécifique était réalisée par analyse ELISA.

A S17, 50 poulettes par groupe étaient prélevées, pesées, euthanasiées et autopsiées pour mesurer le niveau de déformation de la quille du bréchet. La patte gauche de chaque poulette était également envoyée à un laboratoire indépendant pour mesurer le taux de matière sèche (exprimé en pourcentage de la masse fraîche initiale) et minérale du tibia (mesurée post-calcination, et exprimée par rapport à la masse fraîche initiale), leur teneur en Ca et P (exprimés par rapport à la masse fraîche initiale) ainsi que la solidité de l'os face à une contrainte mécanique.

Les comparaisons statistiques sur les titres sériques, la composition et la résistance des os entre les groupes étaient réalisées à l'aide du t-test de Student, et la proportion de déformation du bréchet à l'aide du χ^2 . L'homogénéité des titres sériques était également évaluée à l'aide du test F de variance.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Résultats sériques

Les deux groupes présentaient des résultats sériques similaires pour leurs titres en anticorps ND-spécifiques, mais à S17, le groupe NGR présentait un titre moyen numériquement plus élevé (+1222, ns., Figure 1a).

De la même manière, aucune différence n'était observée à S5 pour les titres sériques relatifs à la vaccination BI. En revanche, une augmentation significative du titre moyen était constaté aux prélèvements suivants dans le groupe NGR (Figure 1b, $p < 0.01$). De plus, les observations ont montré une réduction significative de la variance des titres NGR ($p < 0.05$). Enfin, la proportion de poulettes BI-séronégative à S17 était divisée par 2 (10% vs. 5% de la population pour CTL vs. NGR, respectivement).

2.2. Analyses de la sphère osseuse

Alors qu'aucune différence de poids corporelle n'était observée entre les poulettes des deux groupes à S17, les analyses des tibias ont montré que les taux de matière sèche et minérale étaient significativement plus élevés dans les os des poulettes supplémentées (+1.1% et +0.9% de la masse du tibia (MT) respectivement, Tableau 1, $p < 0.01$).

En conséquence, cela se traduisait par des niveaux plus hauts de Ca (10.7% vs. 10.4% MT pour NGR et CTL

respectivement, Tableau 1, $p < 0.10$) et P dans les os (5.0% vs. 4.8% MT pour NGR et CTL respectivement, Tableau 1, $p < 0.05$), mais sans différence de composition de la matière minérale en terme de proportion de Ca ou P (Tableau 1).

La résistance des os était également numériquement plus importante (+17%, Tableau 1). De plus, les autopsies réalisées sur les poulettes ont permis de mettre en avant que la proportion de poulettes avec une déformation du bréchet tendait à être réduite dans le groupe NG (18% vs. 32%, Tableau 1, $p = 0.10$).

2.3. Discussion générale

Une exposition chronique à un déséquilibre oxydatif peut avoir des conséquences sur le bon fonctionnement immunitaire des animaux d'élevage (Amadori *et al.* 2016). Les infections virales sont connues pour entraîner une augmentation de la production de radicaux libres et une sur-sollicitation des défenses antioxydantes de l'organisme (Rehman *et al.* 2018). Les vaccins utilisés en élevage ne sont cependant pas aussi impactant pour le système immunitaire (Cao *et al.* 2012), mais des travaux récents ont tout de même montré que l'étape de vaccination menée lors d'une période de stress oxydatif intense peut conduire à un impact négatif sur les performances de croissance chez le porcelet vacciné lors du sevrage (Royer *et al.* 2016). Lemmi *et al.* (2023) indiquent également une augmentation de la production de radicaux libres au moment de la vaccination de volailles, corrélée à une augmentation des dommages oxydatifs, et qu'une corrélation entre titres anticorps et niveau antioxydant semblait se dessiner. Cela semble donc indiquer qu'une sensibilité oxydative présente lors de l'étape de vaccination pourrait avoir des conséquences négatives sur la bonne séroconversion de l'animal. En outre, plusieurs études précédentes ont montré qu'une supplémentation en NG conduit à une augmentation des titres d'anticorps spécifiques (Engler *et al.* 2022) et du succès de vaccination en conditions suboptimales (Engler *et al.* 2019). Les résultats de la présente étude semblent donc s'inscrire dans la même direction et montrer qu'une amélioration du statut antioxydant des animaux à l'aide d'une supplémentation en NG est susceptible de participer à la bonne réalisation de la protection vaccinale.

La construction osseuse, liée à une stimulation de l'activité des ostéoblastes au détriment de celle des ostéoclastes semble être impactée par l'équilibre de la balance oxydative (Wauquier *et al.* 2009, Domazetovic *et al.* 2017). Ainsi, Song *et al.* (2020) rapporte que l'augmentation du nombre de rappels vaccinaux chez la poulette conduirait à un stress immunitaire impactant le développement osseux à travers l'augmentation de la production de cytokines dans les tibias, lié à une activation de la voie OPG/RANKL, en charge de la régulation de l'équilibre entre ostéoclastes et ostéoblastes. Cela se traduirait par une activité

ostéoclastique plus élevée et une réduction de la masse osseuse.

Les résultats obtenus lors de la présente étude ont montré une augmentation significative de la minéralisation des os chez les poulettes supplémentées malgré une absence d'effet sur le poids vif des animaux. De manière intéressante, elle ne semble pas entraîner un dépôt plus important de Ca (+0.3% de la MT, $p < 0.10$) ou de P (+0.2% de la MT, $p < 0.05$), mais semble avoir un impact global sur la minéralisation (+0.9% de matière minérale, $p < 0.01$). Le fait qu'il n'y ait pas de différence de composition de la matière minérale en Ca ou P, mais qu'il y ait une augmentation de ces nutriments par rapport à l'os frais total, semble donc indiquer une meilleure minéralisation des os, sans orientation particulière de flux de Ca ou P. Ces résultats vont dans le même sens que ceux observés chez le rat par plusieurs études où les polyphénols issus d'extraits de raisin ont montré une amélioration de la qualité des os et de leur minéralisation (Ishikawa *et al.* 2005, Hohman *et al.* 2015, Tenkumo *et al.* 2020). D'autre part, Torre *et al.* (2020) rapporte également que les polyphénols de raisin sont susceptibles d'entraîner une différenciation cellulaire des ostéoblastes chez l'humain. Ce phénomène pourrait donc également expliquer les résultats obtenus dans l'essai présenté ici.

Cette meilleure minéralisation des os expliquerait ainsi la meilleure solidité des os face à la déformation et la réduction de la proportion de poulette présentant des déformations du bréchet. Il est intéressant de noter que Riber *et al.* (2018) rapportent qu'alors que la croissance du squelette de la poulette s'arrête vers 16 à 18 semaines, l'ossification du bréchet continue jusqu'à environ 40 semaines. Ainsi, la minéralisation plus avancée, observée chez les poulettes NGR, pourrait potentiellement expliquer la plus faible proportion de déformations du bréchet (18% vs. 32% pour des poulettes NGR et CTL, respectivement, $p < 0.10$), liée à une moins grande sensibilité à la déformation. Cela voudrait dire que le squelette des poulettes NGR, de par leur minéralisation plus élevée, serait davantage prêt au défi de la phase de ponte à venir. En outre, le taux plus faible de déformation du bréchet indiquerait un meilleur bien-être des futures pondeuses.

De manière générale, la supplémentation en NG pendant la phase d'élevage des poulettes, de part sa richesse en polyphénols à forte activité antioxydante, semble donc impacter positivement l'activité humorale des oiseaux. Cela pourrait s'expliquer par une réduction de l'effet immunosuppresseur d'une accumulation de facteurs de stress, tel que décrit par Amadori (2016) et ainsi favoriser la prolifération et la différenciation cellulaire. Ces actifs naturels pourraient ainsi influencer le développement osseux chez la pondeuse, en réduisant l'impact de différents facteurs de stress oxydatif, telle que la sollicitation du système immunitaire, tout en influençant également des voies

de différenciation cellulaires de cellules osseuses impliquées dans la minéralisation.

CONCLUSION

Ces résultats indiquent un effet positif de la supplémentation en NG sur l'activité humorale des poulettes pendant leur phase d'élevage et la minéralisation de leurs os. Cela se traduit par une

diminution des problèmes de bréchet. Une telle amélioration, avant la période de forte demande pour le squelette que représente la phase de ponte, indique une meilleure préparation des poulettes et une amélioration de leur bien-être lié à une meilleure santé osseuse. En outre, ces travaux montrent l'importance de la prise en compte de la gestion du stress oxydatif dans la stratégie vaccinale et de gestion du développement osseux des futures pondeuses.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Amadori M., 2016, Vet Immunol. Immun., 181, 2-9
Cao Z. 2012, Prot. Sci, 10, 24
Casey-Trott T.M., 2017, Poult. Sci., 96, 2509-2517
Domazetovic V, 2017 Clin Cases Miner Bone Metab;14(2):209-216..
Engler P. 2019, JRA, Tours
Engler P. 2022, Vet. Anim. Sci. 15, 100232
Hanlon C., 2021, Poult Sci., 101 (3), 101672
Hohman et Weaver, 2015, J Nutr, 145 (2), 253-259
Ienni T., 2023, Poult Sci, 102 (2), 102400
Ishikawa, M., 2005, Eur. J. Oral Sci, 113: 47-52
Rehman Z.U., 2018, Ox. Med. Cell. Longev., 2018, 5123147
Riber A., 2018, Front. Vet. Sci., 5, 6
Royer E, 2016, J. Anim. Sci., 94, 48-53
Song M.. 2020, Poult. Sci, 99, 734-743
Tenkumo T. , 2020, Sci Rep, 10 (1), 8812
Torre E., 2020, Int. J Mol. Med. 45, 1721-1734
Wauquier F, 2009, J. Mol. Med., 15 (10), 468-477,
Whitehead and Fleming, 2000, Poult. Sci. , 79 (7), 1033-1041

Figure 1. Titres sériques des poulettes à S5, S10 et S17 contre ND (a, gauche) et BI. (b, droite, ** : p<0.01)

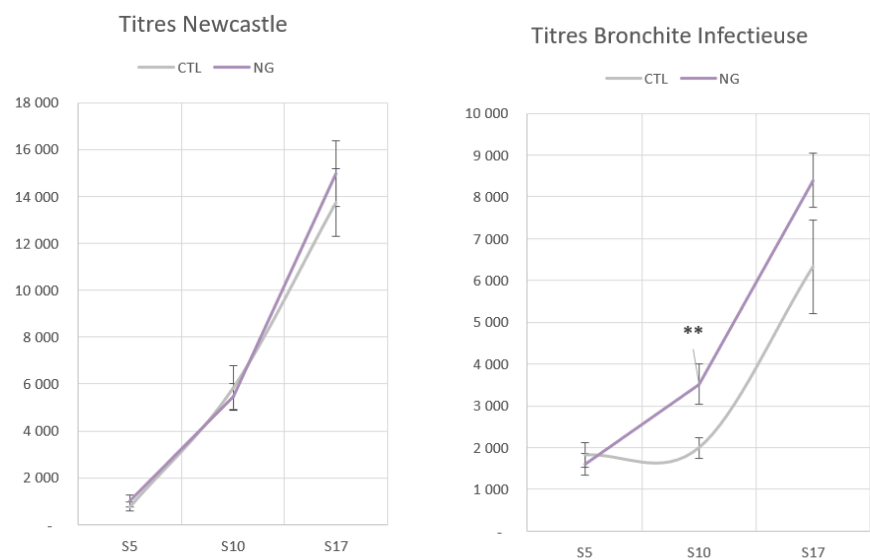


Tableau 1. Paramètres constitutifs des os des poulettes CTL et NGR à S17.

	CTL	NGR	p-value
Poids poulette à S17	1283	1267	ns
Matière sèche (% masse fraîche tibia, MFT)	72.6	73.7	P<0.01
Matière minérale (% MFT)	28.5	29.3	P<0.05
Ca (% MFT)	10.4	10.7	P<0.10
Ca (% masse minérale, MM)	36.5	36.5	ns
P (%MFT)	4.8	5.0	P<0.05
P (% MM)	17.0	17.0	ns
Force de fracture (N)	50.8	59.2	ns
Proportion des poulettes présentant une déformation du bréchet (%)	32	18	P=0.10