



**HAL**  
open science

## Existe -t-il des marqueurs métaboliques de la qualité de la coquille chez la poule pondeuse ?

Eva Pampouille, Joël Gautron, Nathalie Meme, Léonie Dusart, Michel Duclos, Gaele Benzoni, Vérane Gigaud, Elisa Folegatti, Jean Marc Thoby, Maxime Quentin, et al.

### ► To cite this version:

Eva Pampouille, Joël Gautron, Nathalie Meme, Léonie Dusart, Michel Duclos, et al.. Existe -t-il des marqueurs métaboliques de la qualité de la coquille chez la poule pondeuse?. 14. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Mar 2022, Tours, France. hal-04217186

**HAL Id: hal-04217186**

**<https://hal.inrae.fr/hal-04217186>**

Submitted on 25 Sep 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## EXISTE-T-IL DES MARQUEURS METABOLIQUES DE LA QUALITE DE COUILLE CHEZ LA POULE PONDEUSE ?

Eva Pampouille<sup>1</sup>, Joël Gautron<sup>2</sup>, Nathalie Mème<sup>2</sup>, Léonie Dusart<sup>1</sup>, Michel J, Duclos<sup>2</sup>, Gaëlle Benzoni<sup>3</sup>, Vérane Gigaud<sup>4</sup>, Elisa Folegatti<sup>4</sup>, Jean-Marc Thoby<sup>4</sup>, Maxime Quentin<sup>5</sup>, Eric Lespessailles<sup>6,7</sup>, Thomas Janvier<sup>6</sup>, Hechmi Toumi<sup>6,7</sup>, Agnès Narcy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ITAVI - 37380 NOUZILLY

<sup>2</sup>INRAE, Université de Tours, BOA - 37380 NOUZILLY

<sup>3</sup>ADM – Talhouët - 56250 SAINT NOLFF

<sup>4</sup>DSM Nutritional Products France - 92250 LA GARENNE COLOMBES

<sup>5</sup>ITAVI- Chambre d'Agriculture de Rennes 35042 RENNES

<sup>6</sup>PRIMMO Plateforme Recherche Innovation Médicale Mutualisée d'Orléans, Centre Hospitalier d'Orleans – 45000 ORLEANS

<sup>7</sup>DEPARTEMENT DE RHUMATOLOGIE - Centre Hospitalier d'Orleans – 45000 ORLEANS

pampouille@itavi.asso.fr

### RÉSUMÉ (15 lignes)

Chez la poule pondeuse, la formation journalière de la coquille nécessite une exportation massive de calcium (Ca) vers l'utérus en provenance de l'alimentation et du squelette. Avec l'âge, les os ont tendance à se fragiliser, la qualité de la coquille se détériore et le bilan phosphocalcique est souvent perturbé. La recherche de marqueurs précoces, prédicteurs d'une dégradation du squelette et/ou de la qualité de la coquille, permettrait d'anticiper les carences et adapter suffisamment tôt l'alimentation. Pour ce faire, deux lots de poules sélectionnées sur une bonne ou une mauvaise qualité de coquille ont été suivis longitudinalement entre 26 et 96 semaines (S) d'âge. Des prélèvements sanguins ont été réalisés à l'âge de 26, 46, 84 et 96S afin d'étudier les activités d'accrétion (Ostéocalcine) et de résorption (CTX) osseuses, le statut circulant en 25-OH-vitamine D<sub>3</sub> ainsi que le métabolome sanguin. La teneur plasmatique en 1,25-OH<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> a été déterminée à 96S. A 96S, les analyses du métabolome ne présentaient aucune différence significative entre les deux groupes. Cependant, chez les poules sélectionnées sur une bonne qualité de coquille, les niveaux plasmatiques de 1,25-OH<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> et CTX étaient plus élevés par rapport aux poules présentant une qualité de coquille plus faible. Le suivi longitudinal a mis en évidence une hausse précoce (dès 26S d'âge) de la 25-OH-D<sub>3</sub> et du CTX chez les poules présentant la meilleure qualité de coquille. Le statut en 25-OH-D<sub>3</sub> ainsi que le CTX pourraient être des marqueurs précoces de la qualité de coquille.

### ABSTRACT

#### Early markers of eggshell quality in laying hens

In laying hens, the daily eggshell formation requires a massive export of calcium (Ca) to the uterus from the feed and the skeleton. With age, bones tend to become fragile, eggshell quality deteriorates and the phosphorus: calcium balance is often disturbed. The search for sensitive markers, predictors of skeletal degradation and/or eggshell quality, would make it possible to monitor feed intake and prevent osteoporosis. To do this, two batches of hens selected for good or poor eggshell quality were followed longitudinally between 26 and 96 weeks (W) of age. Blood samples were taken from the same hens at 26, 46, 84 and 96 W of age to study bone accretion (Osteocalcin) and resorption (CTX) activities, circulating 25-OH-vitamin D<sub>3</sub> status and blood metabolome. Plasma 1,25-OH<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> content was determined at 96W and bone microarchitecture was studied by microtomography. At 96W, metabolome analyses presented no significant difference between the two groups. Yet, only the good eggshell quality group showed a higher plasma levels of 1,25-OH<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> and CTX compared to poor shell quality group. Longitudinal follow-up showed an early increase (from 26W of age) in 25-OH-D<sub>3</sub> and CTX in hens with the best eggshell quality. Controlling 25-OH-D<sub>3</sub> status and CTX could be an option to monitoring eggshell quality.

## INTRODUCTION

Chez la poule pondeuse, la formation journalière de la coquille nécessite une exportation massive de calcium (Ca) vers l'utérus (Nys et al., 2018). L'organisme, sous l'influence de régulations nutri-hormonales, contrôle la quantité de calcium dans les cellules et le sang. Le calcium provient de l'alimentation mais aussi du squelette. Il se déplace des os vers le sang lorsque cela est nécessaire afin de maintenir un taux constant. Avec l'âge, les os ont tendance à se fragiliser, la qualité de la coquille se détériore et le bilan phosphocalcique est souvent perturbé. Des modifications physiologiques ont été observées avec notamment une baisse de l'expression des transporteurs impliqués dans l'absorption de calcium au niveau intestinal et une baisse du niveau plasmatique de 1,25-OH<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> chez les poules âgées (Gloux et al, 2020). Même si aucun lien évident n'a pu être établi entre qualité d'os et qualité de coquille, la recherche de marqueurs précoces, prédicteurs d'une dégradation du squelette ou de la qualité de la coquille, permettrait d'anticiper les risques et adapter suffisamment tôt l'alimentation. Cette question est d'autant plus importante aujourd'hui que le cycle de production des poules pondeuses tend à s'allonger. Pour ce faire, une étude longitudinale a été réalisée afin de suivre l'évolution de la qualité de coquille et du métabolisme de deux lots de poules de 26 à 96 semaines d'âge sélectionnées sur une bonne ou une mauvaise qualité de coquille.

## 1. MATERIELS ET METHODES

### 1.1. Design expérimental

450 poules issues d'un lot de sélection (Novogen, souche Brown) et choisies de manière aléatoire ont été suivies durant leur cycle de production, de 26 à 96 semaines d'âge. Parmi elles, deux lots ont été constitués à 84 semaines d'âge : bonne qualité (QC+, n=35) et mauvaise qualité de coquille (QC-, n=35), divergents en termes de force à la fracture (respectivement 3891g ± 493 et 3051g ± 464) et déformation de la coquille (respectivement 1978 ± 182 et 1545 ± 184).

### 1.2. Mesures

Des prises de sang ont été réalisées sur toutes les poules à 26, 46, 84 et 96 semaines d'âge. Le jour de l'abattage à 96S, l'heure de ponte a été enregistrée individuellement pour ordonner l'heure d'abattage. Au moment de l'abattage, la coquille des œufs a été prélevée *in utero* afin de déterminer précisément le stade de ponte. Un total de 27 poules (14 QC- et 13 QC+), estimées entre 5h et 9h30 post-oviposition (phase de repos), ont été sélectionnées.

Le plasma de ces poules à 26, 46, 84 et 96S a été analysé pour étudier le niveau plasmatique en 25-OH-

D<sub>3</sub> (RIA), les activités d'accrétion (Ostéocalcine, OC ; ELISA) et de résorption (CTX, ELISA) osseuses et le métabolome sanguin (25 métabolites, RMN 1H 1D). À l'âge de 96S, des analyses du niveau plasmatique de la 1,25-OH<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> (RIA) ont également été effectuées.

Une analyse du foie a été effectuée sur les 27 poules à l'âge de 96S afin d'étudier le statut métabolique en termes de métabolisme de la vitamine D en utilisant les marqueurs suivants : CYP27A1 et CYP3A4 (qPCR).

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

À l'âge de 96 semaines, un niveau plus élevé de 1,25-OH<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> et de CTX dans le sang a été observé ainsi qu'un rapport OC:CTX plus faible chez les poules ayant une meilleure qualité de coquille d'œuf, ce qui illustre une stimulation du métabolisme de la vitamine D et de la résorption osseuse (Tableau 1). Renforçant ces résultats, une corrélation négative a été observée entre le niveau plasmatique de 1,25-OH<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> et le ratio OC:CTX ( $r=-0,61$ ,  $P=0,001$ ). On peut émettre l'hypothèse que les oiseaux présentant des niveaux circulants plus faibles de 1,25-OH<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> ne mobilisent pas suffisamment de calcium osseux pour répondre pleinement aux besoins de la formation de la coquille. Le niveau de 25-OH-D<sub>3</sub> et l'expression des CYP27A1 et CYP3A4 hépatiques (impliqués dans la 25-hydroxylation de la vitamine D) sont similaires dans les deux groupes, excluant ainsi une régulation à ce niveau. On peut émettre l'hypothèse que la 1 alpha-hydroxylation qui a lieu dans le rein est stimulée ou que la dégradation du 1,25-OH<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> est réduite mais ces mécanismes doivent être confirmés.

D'après la bibliographie, il n'existe pas de consensus formel entre la qualité de l'os et de la coquille. Bien que les marqueurs plasmatiques du turn-over osseux ne reflètent pas directement la qualité osseuse, ils présentent plutôt un intérêt dans la prédiction du risque de fracture. Nos résultats sont cohérents avec l'étude de Bishop et al, (2000) qui a montré que les oiseaux plus résistants à l'ostéoporose déposent moins de calcium dans les coquilles d'œufs. Il semble que les différences de qualité osseuse entre les lignées ne dépendent pas de facteurs liés à la reproduction des femelles, comme la fonction des glandes coquillières. Le fait que le calcium particulaire améliore à la fois la qualité de la coquille et celle de l'os par rapport à une forme en poudre renforce ce point de vue (Guinotte et Nys, 1991 ; Fleming et al., 1998 ; Whitehead, 2004). Plus récemment, Eusemann et al., (2018) ont constaté une incidence réduite des fractures dans une lignée ponte brune peu productive par rapport à une lignée brune fortement productive (Toscano et al., 2020). De façon surprenante, les fractures les plus graves étaient retrouvées dans une lignée blanche peu productive. De même, en comparant une lignée peu productive (Barred Plymouth Rock) avec des lignées commerciales très productives (Hy-Line Brown, Hy-Line Silver), les taux de fractures étaient accrus chez

ces dernières malgré une densité osseuse comparativement plus importante (Regmi et al., 2016).

Différents mécanismes sont affectés chez les poules âgées et pourraient potentiellement être contrôlés de manière différentielle parmi les groupes de qualité de coquille élevée ou faible (Gloux et al., 2020). En effet, l'expression génétique des transporteurs de Ca, du récepteur de la vitamine D (VDR) dans le jéjunum, et celle du canal calcique, TRPV5, dans le rein diminuent. Cela pourrait exacerber la résorption osseuse et nuire à l'accrétion osseuse, comme l'atteste une expression plus élevée du gène de l'anhydrase carbonique 2 (CA2) et une expression plus faible de la chaîne alpha 1 du collagène de type I (COL1A1) dans l'os. L'expression accrue du facteur de croissance 23 des fibroblastes (FGF23) dans l'os pourrait contribuer à la diminution des taux plasmatiques de 1,25-OH<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> et à la modification de l'expression des gènes cibles qu'il régule.

Un niveau plus élevé de 25-OH-D<sub>3</sub> circulante a été observé chez les poules ayant la meilleure qualité de coquille d'œuf à partir de 26 semaines d'âge et tout au long de l'étude ainsi qu'une plus grande activité de résorption osseuse reflétée par une augmentation du CTX plasmatique (Figure 1). Cette augmentation de la 25-OH-D<sub>3</sub> peut être due à une stimulation de son absorption intestinale sous contrôle génétique. Des concentrations sériques adéquates de 25-hydroxyvitamine D<sub>3</sub>, [25-OH-D<sub>3</sub>], sont nécessaires pour une santé osseuse optimale. Chez l'homme, ce paramètre peut varier en fonction des polymorphismes des gènes liés au métabolisme de la vitamine D, par exemple la vitamine D 25-hydroxylase (CYP2R1), 24-hydroxylase (CYP24A1), 1-hydroxylase (CYP27B1) et les gènes du récepteur de la vitamine D (VDR) (Barry et al., 2014 ; Hu et al, 2019). Le nombre élevé d'oiseaux à 26, 46 (n=400) et 84 (n=130) semaines n'a pas permis de synchroniser tous les oiseaux et de disposer d'échantillons au même stade physiologique. Ainsi, seule la 25-OH-D<sub>3</sub> a été

analysée, considérant qu'elle représente le paramètre le plus adéquat et le plus stable pour évaluer le statut en vitamine D.

Un statut plus élevé en 25-OH-D<sub>3</sub> pourrait donc représenter avec le CTX un biomarqueur utile pour prédire la qualité de la coquille d'œuf. Cependant, il semble qu'il existe un compromis entre les besoins du squelette et ceux de la coquille,

Des échantillons de plasma ont également été analysés pour leur profil métabolomique. Les résultats ont montré une grande variance inter- et intra-groupes (données non présentées). Il est à noter que les échantillons de poules âgées de 24 semaines étaient plus hétérogènes. Aucun cluster n'a été trouvé et l'analyse PLS-DA supervisée n'a pas permis de différencier l'un ou l'autre des groupes.

## CONCLUSION

Cette étude suggère que la qualité de coquille chez les poules pondeuses pourrait être corrélée à des modifications du métabolisme phospho-calcique et osseux. Chez les animaux présentant une qualité de coquille plus importante, le métabolisme de la vitamine D et le turn-over osseux sont stimulés. Certains paramètres pourraient être des marqueurs précoces de la qualité ultérieure de la coquille, comme la 25-OH-D<sub>3</sub> et le CTX. Cependant, une étude longitudinale est nécessaire pour confirmer la fiabilité et la robustesse de ces marqueurs. En parallèle, une approche globale pour étudier la régulation de la vitamine D dans les différents tissus régulateurs et effecteurs pourrait être utile pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents. Ces informations seront particulièrement utiles pour définir des stratégies alimentaires adaptées à l'âge des poules et permettant d'optimiser la qualité de la coquille et du squelette tout au long de leur carrière.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barry E.L., 2004. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 99(10):E2133–E2137.  
Bishop S., 2000. *Br. Poult. Sci.*, 41:33–40.  
Eusemann B. K., 2008. *PLoS One.*, 13: e0194974.  
Fleming R. H., 1998. *Br. Poult. Sci.*, 39:434–440.  
Gloux A., 2020. *Sci. report.* 10(1):21124.  
Guinotte F., 1991. *Poult. Sci.*, 70(3), 583-592.  
Hu Z, 2019. *J Diabetes Res.*, 8 pages.  
Nys Y., 2018. In : *Vitamin D* (Elsevier Inc.) David Feldman, J. Wesley Pike, Roger Bouillon, Edward Giovannucci, David Goltzman and Martin Hewison, pp361.  
Regmi P., 2016. *Poult. Sci.*, 95:2225–2234.  
Toscano M. J., 2020, *Poult. Sci.*, 99: 4183–4194.  
Whitehead C. C., 2004. *Poult. Sci.*, 83:193–199.

**Tableau 1.** Analyses plasmatiques et hépatiques chez les poules présentant une bonne (QC+) ou une mauvaise (QC-) qualité de coquille à 96 semaines d'âge

	QC-	QC+	P-value*
25-OH-D <sub>3</sub> , nmol/L	172,2 ± 26,6	176,2 ± 23,7	NS
1,25-OH-D <sub>3</sub> , µmol/L	1050 ± 257 b	1248 ± 274 a	0,087
OC, ng/mL†	13,73 ± 6,47	10,89 ± 4,34	NS
CTX, ng/mL†	0,093 ± 0,07	0,149 ± 0,10	0,031
OC : CTX†	183 ± 160	105 ± 64	0,053
Ca	238,3 ± 33,5	248,7 ± 40,4	NS
P	115,8 ± 28,1	115,7 ± 21,8	NS
RQ_CYP27A1	1,37 ± 0,40	1,42 ± 0,26	NS
RQ_CYP3A4†	1,46 ± 0,32	1,81 ± 0,71	NS

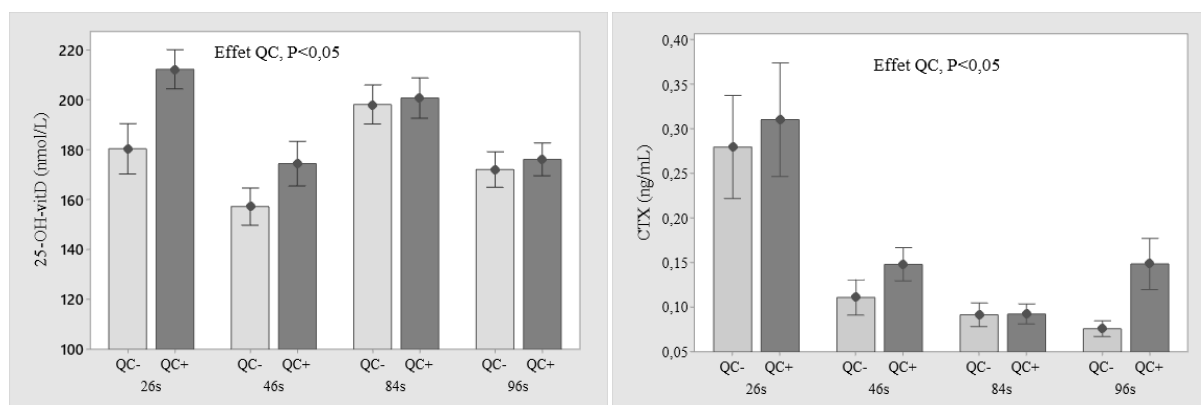
OC : ostéocalcine ; CTX : C-terminal crosslinks; Ca: calcium; P: phosphore; RQ: relative quantification=  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .

Poules au même stade physiologique (entre 5 et 9h30 post-ovulation). QC-, n=14; QC+, n=13.

\*ANOVA, poids de coquille en covariable.

†Transformation Log.

**Figure 1.** Evolution des teneurs plasmatiques en 25-hydroxy-vitamine D3 et télopeptide C-terminal du collagène de type II en fonction de l'âge des poules.



Poules au même stade physiologique (entre 5 et 9h30 post-ovulation). QC-, n=14; QC+, n=13.

Mesures répétées.