

EFFICACITE D'UN COMPLEXE ARGILE-ALGUES SUR LA REDUCTION DES PERFORMANCES ET DE LA TOXICITE HEPATIQUE DES MYCOTOXINES CHEZ LE POULET DE CHAIR

Maria Angeles Rodriguez, Julia Laurain, Maria Garcia Suarez, Sylvain David

Olmix group, ZA du haut du bois 56580 Bréhan

animalcare.ts@olmix.com

RESUME

L'objectif de cette étude était de mesurer l'efficacité, chez le poulet, d'un complexe argiles-algues sur la toxicité individuelle des toxines T-2/HT-2 (2ppm), des fumonisines (100ppm) et des aflatoxines (2,8ppm) sur le foie. L'étude a été réalisée par Samitec Institute au Brésil. Neuf-cent poulets mâles (Cobb 500) étaient répartis en 11 traitements de 6 (essais) à 12 (contrôle) répétitions de 10 animaux par groupe, de 1 à 21 jours d'âge. Les traitements différaient selon la présence ou non de mycotoxines et le niveau d'incorporation du complexe argiles-algues (0,25% ou 0,50%). L'incorporation de 0,50% du complexe argiles-algues dans les rations contenant des mycotoxines a systématiquement et significativement amélioré la consommation alimentaire et le poids vifs des animaux par rapport aux animaux supplémentés avec les mycotoxines seules ($P \leq 0,05$). Dans chaque essai, le poids relatif du foie des animaux nourris avec 0,50% du complexe argiles-algues, était significativement amélioré par rapport aux groupes avec mycotoxines seules mais encore significativement différent du groupe contrôle ($P \leq 0,05$). L'incorporation de 0,50% du complexe argiles-algues dans la ration contenant 2,8ppm d'aflatoxines a significativement amélioré l'indice Lamic/Samitec par rapport au groupe avec aflatoxines seules ($P \leq 0,05$). L'incorporation de 0,25% et 0,50% du complexe argiles-algues dans les rations contenant 100ppm de fumonisines a significativement diminué le ratio Sa:So par rapport au groupe avec fumonisines seules ($P \leq 0,05$). L'incorporation de 0,25% et 0,50% du complexe argiles-algues dans les rations contenant 2,8ppm d'aflatoxines ou 100ppm de fumonisines a significativement amélioré le taux de protéines plasmatiques ($P \leq 0,05$). Les paramètres mesurés montrent que le complexe argiles-algues diminue significativement ($P \leq 0,05$) les effets délétères de très fortes doses de mycotoxines sur le foie et les performances du poulet de chair, sans complètement rétablir les performances et paramètres hépatiques du fait des très fortes contaminations testées.

ABSTRACT

Efficacy of an algo-clay complex on decreasing mycotoxin liver toxicity on broiler

The aim of this study was to measure the efficacy, on broiler, of an algo-clay complex on T-2/HT-2 toxins (2ppm), fumonisins (100ppm) and aflatoxins (2.8ppm) individual toxicity on the liver. The study was conducted by Samitec Institute in Brazil. Nine hundred male broiler chickens (Cobb 500) were allocated to 11 treatments with 6 (test) or 12 (control) replicates and 10 animals in each group, from day 1 to day 21. Treatments differed by the presence in mycotoxin and inclusion of the algo-clay complex (0.25 or 0.50%). The inclusion of 0.50% of algo-clay complex in the diets containing mycotoxins always significantly improved the birds feed consumption and body weight compared with those fed with mycotoxins only ($P \leq 0.05$). In each study, the relative weight of the liver (RWL) of the animals that were fed with 0.50% of the algo-clay complex, was significantly improved but different from the control group. The inclusion of 0.50% of algo-clay complex in the diets containing 2.8 ppm of aflatoxins significantly improved the Lamic/Samitec Index compared with those from birds fed with aflatoxins only ($P \leq 0.05$). The inclusion of 0.25% and 0.50% of algo-clay complex in the diets containing 100 ppm of fumonisins diminished significantly the Sa:So compared with those from the birds fed with fumonisins only ($P \leq 0.05$). The inclusion of 0.25% and 0.50% of algo-clay complex in the diets containing aflatoxins and fumonisins significantly improved the level of total plasma proteins ($P \leq 0.05$), also indicating a reduction in liver damage thanks to the algo-clay complex. According to the evaluated parameters, the algo-clay complex significantly decreased ($P \leq 0.05$) the deleterious hepatic effects and performance losses caused by very high levels of 3 types of mycotoxins on broiler, without completely re-establishing performance and hepatic parameters because of the very high level of contamination.

INTRODUCTION

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires principalement produites par des moisissures du genre *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. En 2003, la FAO estime que 25% des céréales produites au niveau mondial contiennent des mycotoxines. Les mycotoxines sont des composés très stables durant le stockage mais également au cours des traitements de transformation. Elles sont thermostables et ne sont pas détruites par les procédés technologiques. Les mycotoxines restent donc présentes dans l'aliment « fini », même après la disparition des moisissures (CAST, 2003). La toxicité des mycotoxines est variable en fonction des toxines et des animaux concernés. La sensibilité des volailles aux mycotoxines est désormais bien documentée (AFSSA 2009 ; Andretta *et al.*, 2012). La mise en place de mesures de prévention n'est pas toujours suffisante. Différentes procédures de décontamination ont été explorées (physiques, chimiques et biologiques) avec plus ou moins d'efficacité. L'objectif de cette étude est de tester l'efficacité d'un complexe argile-algues, utilisé dans un pré-mélange d'additif (PMA), à deux doses, sur la réduction des effets des mycotoxines en poulets de chair. Les trois familles de mycotoxines testées individuellement sont les aflatoxines, les fumonisines et les toxines T-2/HT-2 distribuées à très fortes doses.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1 Schéma expérimental

L'étude a été conduite par l'Institut des Solutions Analytiques, Microbiologiques et Technologiques Samitec (Brésil) en mai 2016. Neuf cent poulets de chair mâles (Cobb 500) de 46,96 grammes ont été répartis de façon aléatoire dans 11 traitements (Tableau 1) avec 6 répétitions pour les groupes aflatoxine et toxine T-2/HT-2 ; et 12 répétitions pour les traitements fumonisines. Chaque répétition était composée de 10 animaux. Les poulets étaient repartis en batteries de 4 cages séparées en 2 parties de 0,5 x 0,5 m (0.25 m²) et 0,33 m de haut. L'essai a été conduit de J1 à J21. Les mycotoxines ont été testées individuellement dans chaque traitement. Les traitements différaient par la contamination en mycotoxines et le niveau d'incorporation du pré-mélange d'additif à base du complexe argile-algues (PMA, commercialisé sous le nom MT.X+, Olmix, France) à 0.25% ou 0.5% distribué de 0 à 21 jours.

Tableau 1. Organisation des 11 traitements

Groupe	n	AFLA (ppm)	FUM (ppm)	T-2/HT-2 (ppm)	PMA (%)
Contrôle négatif	120	0	0	0	0
0,50% PMA	60	0	0	0	0.5
AFLA	60	2.8	0	0	0
FUM	120	0	100	0	0
T-2/HT-2	60	0	0	2.0	0
AFLA+0.2 5%PMA	60	2.8	0	0	0.25
AFLA+0.5 %PMA	60	2.8	0	0	0.5

Douzièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 05 et 06 avril 2017

FUM+0.25 %PMA	120	0	100	0	0.25
FUM+0.5 %PMA	120	0	100	0	0.5
T-2/HT-2+0.25%P MA	60	0	0	0	0.25
T-2/HT-2 +0.25%P MA	60	0	0	2	0.5

1.2 Aliment

Tous les animaux ont reçu le même traitement, c'est-à-dire le même aliment iso-nutritif de J1 à J21, distribué *ad libitum*. Les jours de pesée les animaux étaient mis à jeun pendant 6 heures. L'aliment a été formulé selon les recommandations NRC 1994 après évaluation des valeurs nutritionnelles des matières premières utilisées. Toutes les matières premières ont fait l'objet d'analyses mycotoxines afin de vérifier l'absence de mycotoxines naturelles, avant d'être contaminée à l'aide de mycotoxines artificielles. Par rapport à d'autres espèces, les poulets sont considérés comme résistants à l'aflatoxine (Guerre *et al.*, 1996) et aux fumonisines (Makun *et al.*, 2010) et plus ou moins sensibles à la toxine T-2/HT-2 (Efsa, 2010 ; Afssa, 2009 ; Agag, 2005). Dans le but d'obtenir des effets significatifs sur les critères de performance et de toxicité hépatique, les contaminations ont volontairement été définies très hautes par rapport à la réglementation (directive 2002/32/CE) sur les maximums autorisés en aflatoxines et aux recommandations en fumonisines et toxine T-2/HT-2 (directive 2006/576/CE et 2013/637/UE). Ainsi, tous les aliments utilisés pour le traitement aflatoxines (AFLA) contenaient 2,8 ppm d'un mélange composé à 93,1% d'aflatoxine B₁, 2,1% d'aflatoxine B₂, 3,4% d'aflatoxine G₁ et 0,7% d'aflatoxine G₂, produit à partir d'*Aspergillus parasiticus*. Tous les aliments utilisés pour le traitement fumonisines (FUM), contenaient 100 ppm d'un mélange de fumonisines composé à 73% de fumonisine B1 et 27% de fumonisine B2 produit à partir de *Fusarium moniliforme*. Tous les aliments utilisés pour le traitement toxine T-2/HT-2 (T-2/HT-2) contenaient 2 ppm d'un mélange composé à 82% de toxine T-2 et 18% de toxine HT-2 produit à partir de *Fusarium sporotrichioides*.

1.3 Mesures

a. Performances zootechniques

L'ingéré et le gain de poids ont été mesurés à J7, J14 et J21.

b. Paramètres hépatiques et biologiques

Le poids relatif de foie (PRF : rapport entre le poids du foie et le poids de l'animal, multiplié par 100) a été mesuré à J21. Le rapport entre la sphinganine et la sphingosine (Sa:So, biomarqueur des effets hépatiques de la fumonisine (Voss *et al.*, 2013)) a été mesuré dans le sang pour le traitement FUM à J21 pour tous les animaux. L'indice Lamic/Samitec (LSI) pour l'essai AFLA a été mesuré à J21 pour tous les animaux. Le LSI est une équation prenant en compte le poids relatif et la couleur du foie (différence avec la couleur de référence, le blanc).

LSI = % PRF (100 – ΔE*ab) avec % PRF = poids relatifs de foie ; ΔE*ab = différence entre la couleur du foie et le blanc mesuré par colorimètre. Pour chaque traitement, 12 foies ont été collectés de façon aléatoire pour illustration visuelle du LSI.

Les protéines plasmatiques totales (PPT) ont été analysées à J21 sur 12 échantillons de sang par technique Biureto’s et mesurées avec Thermo Plate Analyzer®.

1.4 Analyses statistiques

Toutes les données obtenues ont été soumises à une analyse de variance et un test de Bonferroni ($P \leq 0,05$) avec le logiciel Statgraphics Centurion XV version 15.1.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Consommation d’aliment

Tableau 2. Consommation d’aliment (grammes) par groupe pour chaque traitement à 21 jours

Traitement	AFLA	FUM	T-2/HT-2
Contrôle négatif	1121 ^a (2)	1121 ^a (2)	1121 ^a (2)
0,50% PMA	1125 ^a (2,2)	1125 ^a (2,2)	1125 ^a (2,2)
Mycotoxines	877 ^c (2,1)	1001 ^c (3,3)	1021 ^b (1,3)
Mycotoxines + 0,25% PMA	859 ^c (4,5)	1065 ^b (3)	1032 ^b (0,7)
Mycotoxines + 0,50% PMA	988 ^b (6,3)	1070 ^b (4,6)	1094 ^a (1,3)

(a-c : les moyennes d'une colonne ayant des lettres différentes diffèrent par le test de Bonferroni ($P \leq 0.05$), les coefficients de variation figurent entre parenthèses).

Tous les traitements mycotoxines ont diminué la consommation d’aliment des poulets en comparaison du contrôle négatif ($P \leq 0,05$), les résultats sur la consommation d’aliment sont en accord avec des études utilisant des niveaux de contamination similaires (Marchioro *et al.*, 2013 ; Rauber *et al.*, 2012 ; Santurio *et al.*, 1999). L’incorporation de 0,50% de pré-mélange dans les régimes contaminés en mycotoxines a significativement amélioré la consommation d’aliment des poulets comparé à ceux exposés aux mycotoxines seules ($P \leq 0,05$), et a permis une compensation totale des effets négatifs de la contamination en toxines T-2/HT-2. Une étude similaire utilisant 3ppm d’aflatoxines a également mesurée une baisse de consommation d’aliment de -22% par rapport au témoin, néanmoins l’utilisation de 0,50% d’une argile sodique a permis d’améliorer la consommation alimentaire de 6% (Santurio *et al.*, 1999), alors qu’ici l’utilisation de 0.50% de PMA a permis d’augmenter la consommation d’aliment de 12%.

2.2 Poids final

Tous les traitements mycotoxines ont diminué le gain de poids des animaux en comparaison du contrôle négatif ($P \leq 0,05$, Tableau 3), cet effet est conjointement lié à la baisse de consommation d’aliment mesuré précédemment. Les résultats sur le poids final sont en accord avec des études utilisant des niveaux de contamination similaires (Marchioro *et al.*, 2013 ; Rauber *et al.*, 2012 ; Santurio *et al.*, 1999). L’incorporation de 0,50% de pré-mélange dans les régimes contaminés en mycotoxine a significativement amélioré le poids final des poulets par rapport à ceux exposés uniquement aux mycotoxines, et a complètement

compensé la perte de poids final liée à la contamination en toxines T-2/HT-2 du fait d’une meilleure ingestion (Tableau 2).

Tableau 3. Poids final (grammes) par groupe pour chaque traitement à 21 jours

Traitement	AFLA	FUM	T-2/HT-2
Contrôle négatif	762 ^a (9,6)	762 ^a (9,6)	762 ^a (9,6)
0,50% PMA	753 ^a (8,8)	753 ^a (8,8)	753 ^a (8,8)
Mycotoxines	568 ^c (9,5)	676 ^c (13,2)	707 ^b (9,3)
Mycotoxines + 0,25% PMA	584 ^c (8,8)	713 ^b (11,3)	708 ^b (9,4)
Mycotoxines + 0,50% PMA	632 ^b (8,4)	709 ^b (10,8)	749 ^a (9,7)

(a-c : les moyennes d'une colonne ayant des lettres différentes diffèrent par le test de Bonferroni ($P \leq 0.05$), les coefficients de variation figurent entre parenthèses).

2.3 Paramètres hépatiques

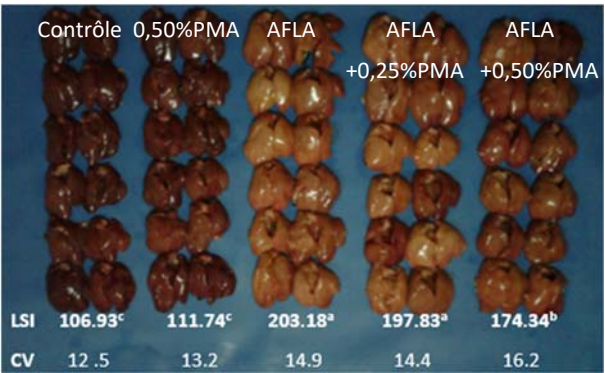
Tableau 4. Poids relatifs de foie (%) par groupe pour chaque traitement à 21 jours

Traitement	AFLA	FUM	T-2/HT-2
Contrôle négatif	3,11 ^c (10,9)	3,11 ^c (10,9)	3,11 ^a (10,9)
0,50% PMA	3,14 ^c (11,4)	3,14 ^{bc} (11,4)	3,14 ^a (11,4)
Mycotoxines	4,81 ^a (13,6)	3,44 ^a (10,8)	2,94 ^b (12,9)
Mycotoxines + 0,25% PMA	4,80 ^a (13,4)	3,28 ^b (9,7)	2,96 ^{ab} (10,6)
Mycotoxines + 0,50% PMA	4,03 ^b (11,5)	3,25 ^b (8,5)	3,08 ^{ab} (10,5)

(a-c : les moyennes d'une colonne ayant des lettres différentes diffèrent par le test de Bonferroni ($P \leq 0.05$), les coefficients de variation figurent entre parenthèses).

Les poids de foie relatifs (PFR) des poulets exposés aux mycotoxines étaient soit supérieurs (aflatoxines et fumonisines), soit inférieurs (toxines T-2/HT-2) à ceux du contrôle négatif ($P \leq 0,05$). L’incorporation de 0,50% de pré-mélange dans les régimes contaminés en mycotoxine a permis d’améliorer les PFR, de manière à ce qu’ils se rapprochent de la valeur du contrôle négatif. Une étude similaire utilisant 3ppm d’aflatoxines a également mesuré une augmentation du PFR, l’utilisation de 0,50% d’une argile sodique a permis d’améliorer le PFR de 9% (Santurio *et al.*, 1999), alors qu’ici l’utilisation de 0,50% de PMA a permis d’améliorer le PFR de 17%.

Figure 1. Indice Lamic/Samitec (LSI) et aspect de 12 foies collectés aléatoirement par groupe (traitement AFLA)



Douzièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 05 et 06 avril 2017

Le LSI moyen des poulets exposés à 2,8 ppm d’aflatoxines était plus élevé que celui du contrôle négatif (+90%, $P\leq0,05$). L’incorporation de 0,50% de pré-mélange au régime contenant 2,8 ppm d’aflatoxines a significativement diminué le LSI en comparaison des poulets exposés uniquement aux aflatoxines (-14%, $P\leq0,05$).

Tableau 5. Rapport sphinganine-sphingosine (Sa:So), traitement FUM à 21 jours

Traitement	FUM
Contrôle négatif	0,43 ^c (7,4)
0,50% PMA	0,43 ^c (7,2)
Mycotoxines	3,32 ^a (4,6)
Mycotoxines + 0,25% PMA	2,3 ^b (4,1)
Mycotoxines + 0,50% PMA	2,33 ^b (5,7)

(a-c : les moyennes d'une colonne ayant des lettres différentes diffèrent par le test de Bonferroni ($P\leq0,05$), les coefficients de variation figurent entre parenthèses).

Le rapport Sa:So des poulets exposés à 100 ppm de fumonisines était 7,7 fois plus élevé que dans le contrôle négatif ($P\leq0,05$). Cette valeur est en accord avec les résultats obtenus par d’autres études dans différentes espèces dont le poulet de chair (Antonissen *et al.*, 2015, Rauber *et al.*, 2013 ; Tran *et al.*, 2003 ; Broomhead *et al.*, 2002 ; Henry *et al.*, 2000). L’incorporation de 0,25 ou 0,50% de pré-mélange dans les régimes contenant 100 ppm de fumonisines a significativement diminué le rapport Sa:So en comparaison des poulets exposés à 100 ppm de fumonisines (respectivement –31% et –30%, $P\leq0,05$), mais reste 5,4 fois supérieure aux témoins.

2.4 Biochimie clinique

Tableau 6. Protéines plasmatiques totales (PPT ; g/dL) à 21 jours

Traitement	AFLA	FUM	T-2/HT-2
Contrôle négatif	3,44 ^a (10,9)	3,33 ^a (3,33)	3,44 ^a (4.3)
0,50% PMA	3,48 ^a (11,4)	3,36 ^a (3,36)	3,48 ^a (5,2)
Mycotoxines	2,56 ^c (13,6)	2,93 ^c (2,93)	3,32 ^a (3)
Mycotoxines + 0,25% PMA	2,60 ^c (13,4)	3,12 ^b (3,12)	3,37 ^a (3.9)
Mycotoxines + 0,50% PMA	2,86 ^b (11,5)	3,12 ^b (3,12)	3,45 ^a (3.8)

(a-c : les moyennes d'une colonne ayant des lettres différentes diffèrent par le test de Bonferroni ($P\leq0,05$), les coefficients de variation figurent entre parenthèse).

Les protéines plasmatiques totales (PPT) sont un indicateur d’un mauvais fonctionnement hépatique et de la présence de toxines dans le foie. Ainsi, les PPT des poulets exposés à 2,8 ppm d’aflatoxines ou à 100 ppm de fumonisines étaient diminuées par rapport au contrôle négatif ($P\leq0,05$). Aucune différence significative n’a été observée en présence de toxines T-2/HT-2. L’incorporation de 0,25 ou 0,50% de pré-mélange dans les régimes contaminés en mycotoxines a significativement amélioré les niveaux de PPT ($P\leq0,05$), sans les rapprocher des niveaux des témoins.

CONCLUSION

L’effet de chaque mycotoxine sur les performances et les paramètres hépatiques du poulet de chair obtenus dans cette étude sont significatifs et en accord avec d’autres études similaires (Marchioro *et al.*, 2013 ; Rauber *et al.*, 2012 ; Santurio *et al.*, 1999). L’aflatoxine est la mycotoxine qui a provoqué les plus fortes dégradations des paramètres étudiés par rapport au groupe contrôle. L’ajout de PMA à un aliment fortement contaminé en aflatoxines (2,8 ppm) a systématiquement permis d’améliorer les paramètres étudiés mais n’a pas permis de rétablir les performances du groupe contrôle. Néanmoins, l’ajout de 0.50% de PMA semble plus efficace que 0.50% d’argile sodique (Santurio *et al.*, 1999) pour réduire l’effet de 2.8 ppm d’aflatoxines. Aussi l’ajout de 0.50% de PMA a permis de réduire l’impact des fumonisines sur le rapport Sa:So de façon significative, bien que la valeur reste supérieure au témoin. L’absence d’étude similaire utilisant une forte dose de T-2/HT-2 n’a pas permis de confronter les résultats, néanmoins l’incorporation de PMA a permis de significativement améliorer les performances, sans toutefois rétablir le PPT. D’après les résultats obtenus, l’ajout de PMA dans un aliment poulet de chair contaminé en mycotoxines semble une bonne alternative pour réduire l’impact des mycotoxines sans complètement rétablir les performances et paramètres hépatiques du fait des très fortes contaminations testées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Afssa, 2009. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaines alimentaires. pp 308

Ass. Univ. Bull. Environ. Res. Vol. 8 No. 2, October 2005

Agag, 2005. Mycotoxins in food and feed: 5-Trichothecenes A-T-2 Toxin Andretta I, Kipper M, Lehnen C.R, Lovatto P.A, 2012. Poultry Science 91 :376–38

Antonissen G, Croubels S, Pasmans F, Ducatelle R, Eechaut V et al. Fumonisin affect the intestinal microbial homeostasis in broiler chickens, predisposing to necrotic enteritis Veterinary Research (2015) 46:98 DOI 10.1186/s13567-015-0234-8

Broomhead J.N., Ledoux D.R., Bermudez A.J. & Rottinghaus G.E. 2002. Chronic effects of Fumonisin B1 in broilers and turkeys fed dietary treatments to market age. Poult. Sci. 81:56-61.

CAST, 2003. Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human systems. Council of Agricultural Science and Technology, CAST, Ames, IA. Task Force Report No.

EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP); Statement on the establishment of guidelines for the assessment of additives from the functional group ‘substances for reduction of the contamination of feed by mycotoxins’, EFSA Journal, 2010, vol. 8 pg. 8

Food and Agriculture Organization (2004) Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003. FAO Food and Nutrition Paper 81. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy

Henry M.H., Wyatt R.D. & Fletcher O.J. 2000. The toxicity of purified Fumonisin B1 in broiler chicks. Poult. Sci. 79:1378-1384.

Makun, H.A, Anjorin, S.T., Moronfoye, B., Adejo, F.O., Afolabi, O.A., Fagbayibo, G., Balogun, B.O. and Surajudeen, A.A. (2010). Fungal and aflatoxin contaminations of some human food commodities in Nigeria. African Journal of Food Sciences. 4 (4): 127 – 135

Rauber RH, Oliveira MS, Mallmann AO, Dilkin P, Mallmann CA, Giacomini LZ, Nascimento VP (2013) Effects of fumonisin B1 on selected biological responses and performance of broiler chickens. Pesqui Vet Brasil 33:1081–1086

Tran S.T., Bailly J.D., Tardieu D., Duran S., Bernard G. & Guerre P. 2003. Sphinganine to sphingosine ratio and predictive biochemical markers of fumonisin B1 exposure in ducks. Chemico-Biological Interaction 146:61-72.

Voss K, Riley R. 2013. Fumonisin Toxicity and Mechanism of Action: Overview and Current Perspectives. Food Safety Vol. 1 (2013) No. 1 p. 2013006

