

EXPOSITION AUX MYCOTOXINES DANS L'ALIMENT DES REPRODUCTEURS ET IMPACTS SUR LE POUSSIN

**Pampouille Eva¹, Travel Angélique¹, Barbe Alix¹, Mème Nathalie², Ledru Emmanuel²,
Souchet Christophe¹, Tardieu Didier³, Guerre Philippe³**

¹ITAVI - L'Orfrasière - 37380 NOUZILLY,

²INRAE – PEAT - 37380 NOUZILLY,

³ENVT – 31076 TOULOUSE

pampouille@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

Les mycotoxines constituent un facteur de risque persistant en production avicole, souvent invoqué lors de baisses de performance ou de troubles de santé inexplicables. Chez les poules reproductrices, la durée d'élevage prolongée et la fréquence des livraisons d'aliments multiplient les occasions d'exposition, augmentant le risque d'effets chroniques ou subcliniques, avec des répercussions possibles sur la fertilité et la qualité de la descendance. Un essai a été mené afin 1- d'évaluer l'impact d'expositions séquentielles aux fumonisines B (FBs) et à la zéaralénone (ZEA) chez des poules reproductrices et leurs poussins, 2- de déterminer des biomarqueurs. Des poules reproductrices Ross 308 ont été réparties en six groupes : un lot témoin, quatre lots exposés 2 semaines à des doses modérées (1 ppm ZEA + 7 ppm FBs), une seule fois ou à plusieurs reprises (phase poulette et/ou début de ponte), et un lot exposé plus fortement et durablement (4 semaines ; 1 ppm ZEA + 30 ppm FBs). Les performances zootechniques, les indicateurs de santé et bien-être, les paramètres de reproduction ainsi que des biomarqueurs ont été suivis. Des inséminations artificielles ont été réalisées à S32 et S42, et la qualité, le poids et la température des poussins ont été mesurés à l'éclosion et à J7. Des analyses de résidus de mycotoxines ont été conduites sur le foie des poules et des poussins et aussi dans les œufs à couvrir. Aucune altération majeure des performances n'a été observée avec les expositions modérées, malgré la détection de FB1 dans le foie des poules persistant jusqu'à 14 jours après l'arrêt de l'exposition. L'exposition forte pendant 4 semaines a en revanche induit une réduction significative du poids des poules (-108 g à 32 semaines) et des poussins à l'éclosion (-0,8 g). La fumonisine FB1 a été détectée dans les œufs, ainsi que dans le foie des poussins à l'éclosion et à 7 jours, quelles que soient la fréquence ou l'intensité de l'exposition des mères, démontrant le transfert mère-œuf-poussin. Le dosage de FB1 dans le foie du poussin apparaît ainsi comme un biomarqueur pertinent de l'exposition maternelle. Ces résultats apportent la première preuve expérimentale du transfert de FB1 de la mère au poussin, y compris après une exposition modérée et courte. Longtemps considérées comme peu absorbées et vite éliminées, ces mycotoxines montrent ici une bioaccumulation réelle, avec des effets biologiques non négligeables sur la descendance.

ABSTRACT

Exposure to Mycotoxins in Breeder Feed and Impacts on the Chick

Mycotoxins represent a persistent risk factor in poultry production and are often implicated in unexplained drops in performance or health issues. In breeder hens, the long production cycle and frequent feed deliveries increase the likelihood of exposure, heightening the risk of chronic or subclinical effects that may impact fertility and offspring quality. A trial was conducted to (1) evaluate the effects of sequential exposures to fumonisins (FBs) and zearalenone (ZEA) in breeder hens and their chicks, and (2) identify potential biomarkers. Ross 308 breeder hens were divided into six groups: one control group, four groups exposed for two weeks to moderate doses (0.5 ppm ZEA + 7 ppm FBs), either once or repeatedly (during the rearing phase and/or early lay), and one group exposed to higher and longer-term doses (four weeks; 0.5 ppm ZEA + 30 ppm FBs). Zootechnical performances, health and welfare indicators, reproductive parameters, and biomarkers were monitored. Artificial inseminations were carried out at 32 and 42 weeks, and chick quality, weight, and body temperature were measured at hatching and at 7 days of age. Mycotoxin residue analyses were performed on the liver of hens and chicks, as well as in hatching eggs. No major performance alterations were observed under moderate exposure, although FB1 was detected in the hens' livers up to 14 days after exposure cessation. However, high exposure for four weeks induced a significant reduction in hen body weight (-108 g at 32 weeks) and chick hatching weight (-0.8 g). Fumonisin FB1 was detected in eggs, as well as in chick livers at hatching and at 7 days, regardless of the frequency or intensity of maternal exposure, demonstrating mother-egg-chick transfer. Measuring FB1 levels in chick liver thus appears to be a relevant biomarker of maternal exposure. These results provide the first experimental evidence of FB1 transfer from the mother to the chick, even after short and moderate exposure. Long considered poorly absorbed and rapidly eliminated, these mycotoxins here demonstrate real bioaccumulation, with measurable biological effects on the offspring.

INTRODUCTION

Souvent pointées du doigt en cas de baisse de performance ou de troubles de santé inexplicables en élevage avicole, les mycotoxines - contaminants fréquents des céréales - restent un sujet de vigilance pour la nutrition animale (Guerre et al., 2026). Issues de champignons du type *Fusarium*, *Aspergillus* ou *Penicillium*, les mycotoxines résistent aux procédés classiques de fabrication des aliments. Principalement présentes sur les céréales, qui constituent en moyenne 60 % de la ration des volailles, elles ont des effets qui varient selon les espèces, les stades physiologiques et le type de toxine. En Europe, les recommandations ou seuils réglementaires concernent cinq mycotoxines ou familles principales (fumonisines (FBs), zéaralénone (ZEA), DON, T-2/HT-2, aflatoxines). Toutefois, ces références s'appliquent principalement aux volailles en production, sans distinction spécifique pour les reproducteurs. En raison de leur durée d'élevage plus longue et de la fréquence des livraisons d'aliment (tous les 15 jours environ), le risque d'exposition des poules reproductrices aux mycotoxines est non négligeable. Ces possibles expositions répétées augmentent le risque d'effets chroniques ou subcliniques, pouvant affecter leur santé, leur fertilité, voire la qualité de leur descendance. Par ailleurs, les seuils actuels ne tiennent pas compte des effets d'interaction entre mycotoxines (ou effet « cocktail ») ni des variabilités de réponse entre individus ou espèces.

L'objet de la présente étude menée par l'ITAVI, l'ENVIT et INRAE a été de faire la lumière sur les impacts réels des mycotoxines chez les poules reproductrices et leurs poussins.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et design expérimental

L'essai a été mené dans l'unité expérimentale INRAE PEAT (DOI : 10.15454/1.5572326250887292E12). Un total de 528 poussins femelles d'un jour (Ross 308, reproductrices de chair) a été mis en place et élevé en groupes au sol jusqu'à l'âge de 8 semaines.

Puis les animaux ont été répartis aléatoirement dans 44 parquets de 6m² (12 poules/parquet) et élevés jusqu'à 52 semaines.

Six groupes expérimentaux ont été constitués en fonction de la fréquence, de la durée, et de la période d'exposition à un aliment contaminé par deux mycotoxines (FBs + ZEA) ainsi que du niveau de contamination (cf. 1.2) :

- (1) un groupe Témoin L1, non exposé à un aliment contaminé ;
- (2) un groupe L2 exposé modérément à deux reprises pendant 15 jours en période de ponte (semaines S31–S32 et S41–S42) ;
- (3) un groupe L3 exposé modérément à deux reprises pendant 15 jours en phase poulette (semaines S11–S12 et S21–S22) ;

(4) un groupe L4 exposé modérément une seule fois pendant 15 jours en période de ponte (semaines S31–S32) ;

(5) un groupe L5 exposé modérément à quatre reprises pendant 15 jours, à la fois en phase poulette et en période de ponte (semaines S11–S12, S21–S22, S31–S32 et S41–S42) ;

et enfin, (6) un groupe L6 exposé à un niveau de contamination élevé pendant quatre semaines consécutives en période de ponte (semaines S29–S32). Chaque groupe, à l'exception du dernier, comprenait huit répétitions. Le groupe L6 ne comportait que quatre répétitions, ce nombre réduit ayant été jugé suffisant pour mettre en évidence des effets significatifs en raison de la forte exposition aux mycotoxines.

Des inséminations artificielles (IA) ont été réalisées à 31 (IA1), 32 (IA2), 42 (IA3) et 43 (IA4) semaines d'âge. Après chaque insémination, les œufs ont été collectés pendant 5 jours, puis incubés.

1.2. Aliments expérimentaux

Les aliments Démarrage (S1-S3 puis S4-S6), Croissance (S7-S16), Pré-ponte (S17-S23), et Ponte (S24-34 puis S35-S52) ont été formulés en considérant les niveaux nutritionnels recommandés par le guide sélectionneur Ross 308.

Pour les aliments contaminés, des mycotoxines partiellement purifiées ont été ajoutées à l'aliment de base. Les niveaux de contamination ont été choisis pour refléter des situations terrain possibles, tout en respectant les recommandations maximales de l'Union européenne (Recommandation 2006/576/CE, 2006). L'aliment des lots 2 à 5 a été contaminé avec des doses de 1,1 mg ZEA/kg et 4 + 2,4 mg de FB₁ + FB₂/kg d'aliment, et le lot 6 à 1,1 mg ZEA/kg et 19,9 + 11 mg de FB₁ + FB₂/kg d'aliment, afin d'accentuer les effets zootechniques.

Les teneurs en FB et ZEA dans les aliments formulés ont été vérifiées par LC/MSMS. La plupart des mycotoxines dosées étaient inférieures à la limite de quantification (LOQ) ou représentaient moins de 1 % des teneurs maximales tolérées dans l'alimentation des oiseaux (trichothécènes).

1.3. Performances zootechniques

Avant et après chaque période d'exposition, les poids des poules ont été mesurés. La consommation alimentaire était relevée de manière hebdomadaire. La ponte était mesurée quotidiennement, les poids individuels des œufs relevés une fois par semaine, et la qualité des œufs (poids de l'œuf, résistance coquille, épaisseur de la coquille, poids coquille, coloration du jaune, unités Haugh, hauteur de jaune, poids de jaune, poids de blanc) était mesurée toutes les 3 semaines environ.

Après chaque exposition, 12 poules par lot étaient sacrifiées afin de relever les lésions macroscopiques éventuelles. Le poids de différents organes (cœur, foie, rate, pancréas, follicules ovariens) a également été mesuré. Simultanément, des échantillons de foie ont

été prélevés afin d'évaluer le caractère bio accumulatif et persistant des fumonisines (cf. 1.4)

Les performances de reproduction ont été relevées à chaque série d'IA (mortalité embryonnaire, taux de fertilité, taux d'éclosabilité, taux d'éclosion).

Pour chacune des quatre séries d'éclosion, le poids des poussins (J0 et J7), leur qualité, le sexe-ratio et leur température corporelle ont été relevés. Lors des IA1 et IA2, douze poussins par groupe ont été euthanasiés afin d'observer d'éventuelles lésions anatomiques, et de prélever le foie et le cerveau pour recherche de marqueurs de toxicité (cf. 1.4).

1.4. Dosage des mycotoxines dans les foies et les œufs

Les teneurs en FB₁, FB₂, FB₃, ZEA, alpha-zéaralénol (α ZOL) et bêta-zéaralénol (β ZOL) dans le foie ont été mesurées par LC-MS/MS comme précédemment décrit (Tardieu et al., 2021). Les dosages dans le blanc et le jaune d'œuf ont fait l'objet de développements spécifiques. Brièvement pour les FBs, 5 g de matrice sont homogénéisés dans 125 mg de NaCl, 20 ml d'eau/acétonitrile/méthanol (2:1:1) et 12,5 ng d'un mélange de standards internes (SI) contenant [¹³C₃₄]-FB₁, [¹³C₃₄]-FB₂ et [¹³C₃₄]-FB₃. Les homogénats sont délipidés à l'hexane. Une aliquote de la phase aqueuse est diluée dans du PBS (1 mM, pH 7,3) et passée sur colonne d'immuno-affinité FUMONIPREP (Biopure, Tulln, Autriche). L'éluât est séché et conservé à -20 °C jusqu'à analyse.

ZEA, α ZOL et β ZOL, correspondant à la somme des métabolites libres et des métabolites conjugués, ont été mesurés après hydrolyse des formes conjuguées. Brièvement, 5 g de matrice sont homogénéisés dans 5 ml de tampon acétate (0,2 M, pH 7,2). L'homogénat est délipidé par ajout d'acétonitrile et d'hexane (2/1, v/v) et évaporé. Le résidu sec est remis en suspension dans 5 ml de tampon acétate (0,2 M, pH 5) et hydrolysé une nuit par 1000 U de H-2 β -glucuronidase d'*Helix pomatia*. 12,5 μ l de 1 μ g/ml de [¹³C₁₈]-ZEN sont ajoutés et le mélange est évaporé. Le résidu sec est mis en suspension dans 2,5 ml de méthanol, 22,5 ml de PBS et passé sur colonne EASI-EXTRACT ZEAREALONE (R-Biopharm Rhone LTD, Glasgow, Écosse). L'éluât est séché et conservé à -20 °C jusqu'à analyse.

FB₁, FB₂ et FB₃ d'une part, et ZEA, α ZOL et β ZOL d'autre part ont été dosés après séparation sur colonne Poroshell 120 (3,0 $\times$ 50 mm, 2,7 μ) avec gradient d'élution (Tardieu et al., 2021). La détection a été effectuée par électrospray en ionisation positive à l'aide d'un triple quadripôle MS/MS 6410 d'Agilent (Agilent, Santa Clara, CA, États-Unis). Les teneurs en mycotoxines ont été calculées à l'aide du logiciel MassHunter d'Agilent en tenant compte du taux de récupération mesuré sur les SI. La LOQ dans le foie était de 250 ng/kg pour FB₁, α ZOL et β ZOL. Les LOQ dans le blanc et le jaune étaient de 20 ng FB₁/kg et 160 ng/kg pour α ZOL et β ZOL. Dans les œufs, les LOQ de

la FB₂ et FB₃ étaient de 80 ng/kg, celle de la ZEA de 640 ng/kg.

1.5. Dosage des sphingolipides dans les foies et les œufs

Le dosage des sphingolipides (SL) a été réalisé comme précédemment décrit (Guerre et al., 2024). Brièvement, 1 g de matrice est homogénéisé dans 3 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4) puis centrifugés. Une aliquote du surnageant est supplémentée par une solution de SI à une concentration de 6250 pmol/g. Après hydrolyse des glycérophospholipides, les SL sont extraits par une solution de méthanol/chloroforme (2/1, v/v).

Les SL ont été séparés sur colonne Poroshell 120 d'Agilent (3,0 $\times$ 50 mm, 2,7 μ m) à l'aide d'un gradient (Guerre et al., 2024). La détection est réalisée par ionisation positive à l'aide d'un spectromètre triple quadripôle Agilent 6410. Les teneurs en SL sont calculées à l'aide du logiciel MassHunter.

1.6. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R Studio (version 4.4.1) afin d'évaluer l'impact des différentes modalités d'exposition aux mycotoxines sur les performances. Le choix des tests statistiques a été déterminé en fonction de l'adéquation des données à une approche paramétrique (ANOVA) ou non paramétrique (Kruskal-Wallis). Pour les données qualitatives (lésions, qualité de poussin), un test de χ^2 a été réalisé.

L'impact de l'exposition aux mycotoxines sur le sphingolipidome a été évalué par analyse monovariée selon les modalités décrites pour les performances et par analyse multivariée des moindres carrés (PLS-DA) à l'aide du logiciel XLSTAT Biomed.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Impacts sur les performances zootechniques

Chez les poules exposées à une ou plusieurs reprises pendant deux semaines, en phase de croissance ou de ponte, à des niveaux modérés (lots 2 à 5), aucun effet zootechnique majeur (ponte, consommation, mortalité, reproduction) n'a été observé.

En cas d'exposition plus forte et prolongée (lot 6), une baisse significative du poids des poules (-108 g à 32 semaines d'âge), et des poussins à l'éclosion (-0,8g) a été observée (Tableau 1), confirmant que la durée et l'intensité de l'exposition influencent les effets biologiques.

2.2. Teneurs en mycotoxines dans les foies et les œufs

L'administration d'un aliment contenant FBs et ZEA a permis la détection de mycotoxines dans le foie et les œufs dès la plus faible dose (Tableau 2). Le dosage de la ZEA et de ses métabolites dans le foie montre que, en début de ponte, les teneurs en α ZOL sont

supérieures à celles en β ZOL, alors que ces teneurs sont voisines en fin de ponte. Le ratio α ZOL: β ZOL en début de ponte est donc en accord avec des résultats antérieurs chez le poulet (Tardieu, 2020). Ce résultat est important car le potentiel oestrogénique de α ZOL est 60 fois supérieur à celui de la ZEA, alors que le β ZOL est considéré comme 5 fois moins oestrogénique (EFSA, 2017). Les teneurs en ZEA et métabolites étaient inférieures à la LOQ dans le blanc et les jaunes d'œufs ainsi que dans les foies des poussins à la naissance. L'administration de teneurs variables de FB n'a pas eu d'impact sur les teneurs en ZEA et métabolites. Aucune trace de ZEA ou métabolites n'était détectable après 8 semaines de distribution d'un aliment non contaminé.

Les teneurs en FB₁ dans le foie des poules du lot 6 (Fig 1A) étaient supérieures à celles des lots 2 à 5 (Tableau 2), et consistantes avec des travaux antérieurs réalisés chez le poulet (Guerre et al., 2024). Ces teneurs décroissent lentement après arrêt de la distribution d'aliment contaminé (Fig 1A), à une vitesse proche de celle décrite chez le poulet (Tardieu et al., 2021). Un très faible transfert de FB₁ vers le jaune d'œuf mais pas le blanc est observé (Tableau 2). Les teneurs en FB₁ mesurées dans les jaunes d'œufs du lot 6 étaient proches de celles observées dans les lots 2 à 5, suggérant une saturation du transfert vers l'œuf. Par ailleurs, cette étude révèle pour la première fois la présence de FB₁ dans le foie des poussins dont les teneurs décroissent à une vitesse similaire à celle observée chez les poules (Fig 1B). Ces résultats révèlent que la FB₁ est bioaccumulable chez les poules, en accord avec des données chez le poulet (Laurain et al., 2021).

2.3. Impact sur les teneurs en sphingolipides dans les foies et les œufs

L'administration d'aliment contenant FBs et ZEA a entraîné de nombreuses altérations des teneurs en sphingolipides dans les foies et les œufs, permettant une séparation nette des blancs et jaunes issus des animaux exposés de ceux des animaux témoins en PLS-DA dans des modèles robustes, tels qu'attestés par des valeurs de Q² très supérieures à 0,5 (Fig 2). Ces altérations ont entraîné une élévation des rapports sphinganine:sphingosine (Sa:So) dans les foies mais aussi les œufs (Fig 3). Ce rapport est très largement utilisé comme biomarqueur d'exposition aux FBs dans de nombreuses espèces (Riley et al., 2019). Il est augmenté dans le plasma, le foie, et les reins de poulets et dindes exposés aux FBs (Guerre et al., 2024). Cette étude est la première à montrer son élévation dans les œufs. Cet effet est accompagné de très nombreuses altérations des teneurs en sphingolipides. On constate notamment des élévations des ratios entre sphingolipides à très longue chaîne (C22-24) et sphingolipides à longue chaîne (C16). Les ratios C22-24:C16 sont ainsi augmentés sur céramides, sphingomyélines, dihydrocéramides, dihydrosphingomyélines et glycosylcéramides dans les

foies et les œufs (Fig 3). Ces résultats sont en accord avec des données antérieures chez le poulet et la dinde (Guerre et al., 2024), ils confirment l'intérêt de ces biomarqueurs dans l'évaluation de l'exposition des volailles aux FBs, en complément du Sa:So.

De manière intéressante les altérations du sphingolipidome mesurées dans le foie des poules et dans les jaunes se sont également retrouvées dans les foies des poussins à la naissance (Fig 3). Ces résultats montrent pour la première fois que le transfert des FB₁ de la poule au jaune puis au poussin s'accompagne d'une forte altération du sphingolipidome.

Les SL sont des lipides complexes dotés de rôles structuraux et fonctionnels. Ils sont impliqués dans la différenciation cellulaire, les phénomènes inflammatoires, et dans la reconnaissance et défense contre les agents infectieux. Même si seuls des effets mineurs sur les performances ont été observés dans cette étude, des altérations des teneurs en SL sont susceptibles de modifier les capacités de défense des animaux dans différentes situations de stress (Gomez-Larrauri et al., 2025).

CONCLUSION

En conclusion, cette étude confirme le caractère bioaccumulable de la FB₁ chez la volaille, et révèle pour la première fois un transfert de la poule aux jaunes, puis aux poussins. Le dosage de la FB₁ dans le foie s'est avéré le biomarqueur d'exposition le plus sensible. Les teneurs en FB₁ décroissent lentement à l'arrêt de l'exposition, aucune trace n'étant détectable après 8 semaines de distribution d'un aliment non contaminé. Le transfert de FB₁ à l'œuf et au poussin s'est accompagné d'une forte altération des teneurs en sphingolipides. Bien qu'un transfert aux œufs soit observé aux deux concentrations de FB explorées, un effet sur les performances n'a été constaté qu'à la plus forte dose. En revanche, aucun transfert de la ZEA ou de ses métabolites aux blancs et jaune d'œufs ou aux poussins n'a pu être mis en évidence.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient dsm-firmenich pour la fourniture des mycotoxines partiellement purifiées, Aviagen pour le management des animaux, la Socavic pour la fourniture des semences ainsi que le CASDAR, le SNA et le CIPC pour le financement du projet MYCOREPRO (n°20ART1530248).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- EFSA, 2017. EFSA Journal, 15(7):4851
- Gomez-Larrauri A., 2025. J Biol Chem 301(8):110475
- Guerre P., 2024. Chem Biol Interact, (25), 1-11
- Guerre P., 2026. 16^{ème} Journées de la Recherche Avicole 2026, Tours, *In press*
- Laurain J., 2021. Toxins, (13), 1-13
- Riley T., 2019. J Lipid Res, (60), 1185-1189
- Tardieu D., 2020. Toxins, (12), 1-18
- Tardieu D., 2021. Food Chem Toxicol, (148), 1-9

Tableau 1. Poids des poules et des poussins du lot 6 à l'éclosion lors de deux séries d'insémination artificielle (à 31S et 32S d'âge des mères)

	Poids des poules (g)			Poids des poussins à J0 (g)	
	Avant exposition S28	Pendant l'exposition S30	Fin d'exposition S32	IA1 à S31	IA2 à S32
Poules Témoin	3701	3779	3854	43,1	43,7
Poules Lot 6	3671	3721	3746	42,3	42,9
p-value	ns	ns	0,039	$2,2 \cdot 10^{-16}$	0,001

Tableau 2. Teneurs des principales mycotoxines (ng/kg) dans les foies et les œufs des lots 2 à 5¹

	Foies					Oeuf	
	Préponte S13	Ponte S23	Ponte S32	Ponte S43	Poussins	Jaune	Blanc
αZOL	6410	3995	2311	2351	<LOQ	<LOQ	<LOQ
βZOL	3429	1348	2974	2539	<LOQ	<LOQ	<LOQ
FB1	21787	6721	18029	7884	7108	274	<LOQ ²

¹ Résultats exprimés sous la forme de moyennes, n = 6 à 18. ZEA, FB₂ et FB₃ étaient généralement inférieures à la LOQ.² des teneurs proches de la LOQ ont été mesurées sur 3 blancs sur 11 dans le lot 6, dont un à 1238 ng/kg, ces résultats hétérogènes ont été attribués à une contamination par la coquille lors du prélèvement.

Figure 1. FB1 dans les foies des poules (A) et des poussins (B) du lot 6

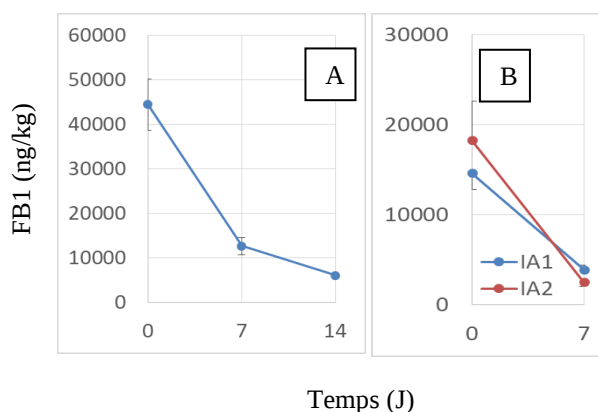


Figure 2. PLS-DA sur le sphingolipidome des blancs (A) et jaunes (B) d'œufs du lot 6

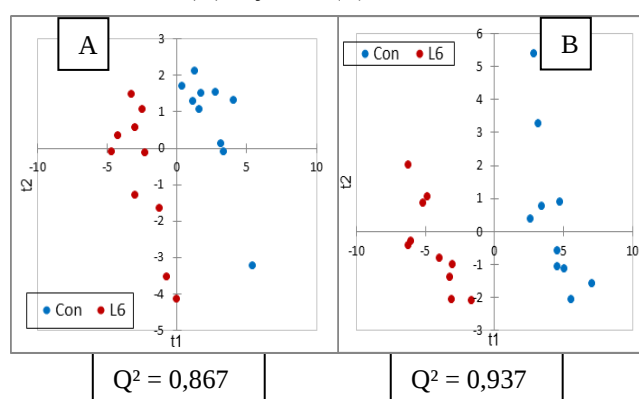


Figure 3. Rapports Sa:So et C22-24 :C16 pour les sphingomyélines (SM) dans les foies des poules (1), les jaunes (2) et les blancs d'œufs (3), et les foies des poussins (4) chez les animaux contrôles (Con) et lot 6 (L6)

