

IMPACTS DE DON ET DE DOM-1 SUR LES PERFORMANCES ET LA COLONISATION / TRANSLOCATION DE *CAMPYLOBACTER JEJUNI* EN POULET DE CHAIR

Ruhnau Daniel¹, Doupovec Barbara², Rouxel Laure³, Schatzmayr Dian², Awad Wageha¹

¹ Clinic for Poultry and Fish Medicine, University of Vet. Medicine, 1210 VIENNA, Autriche,

² DSM-BIOMIN Research Center, Technopark 1, 3430 TULLN, Autriche,

³ DSM-Firmenich Nutritional Products, 92200 NEUILLY-SUR SEINE, France

laure.rouxel@dsm-firmenich.com

RÉSUMÉ

Les impacts négatifs de la mycotoxine Déoxynivalénol (DON) et du pathogène bactérien *Campylobacter* (*C.*) *jejuni* sur les cellules épithéliales et l'intégrité de l'intestin sont bien connus. Récemment, il a été démontré que le DON augmentait la charge en *C. jejuni* dans l'intestin et les organes internes en poulet de chair. Une solution de gestion du risque associé au DON consiste à biotransformer cette mycotoxine en dé-époxy-déoxynivalénol (DOM-1), grâce à un additif alimentaire intégrant un micro-organisme produisant une enzyme de type dé-époxydase : le DON est dégradé en DOM-1, dépourvu de l'anneau époxyde toxique pour les animaux.

Pour confirmer la non-toxicité du métabolite DOM-1, un essai a été réalisé sur 180 poulets de chair, répartis en six groupes : 1. Témoin, 2. DOM-1 (5 ppm), 3. DON (5 ppm), 4. DOM-1 + *C. jejuni*, 5. DON + *C. jejuni* et 6. *C. jejuni*. Au jour 14, les oiseaux des groupes 4, 5 et 6 ont été inoculés par voie orale avec 1 ml d'une suspension de PBS contenant 10⁸ UFC de *C. jejuni* NCTC 12744. Les performances zootechniques (poids vif, gain de poids et ingéré) ont été mesurées au cours des cinq semaines d'essai. A 7, 14 et 21 jours après l'infection, des échantillons de foie, de rate, de duodénum, de jéjunum et de cæcum ont été prélevés pour analyses bactériologiques.

Une diminution significative du poids vif a été observée chez les poulets recevant les régimes DON, avec ou sans *C. jejuni*, par rapport aux autres groupes. En outre, il a été constaté que la co-exposition des animaux au DON et à *C. jejuni* entraînait une charge plus élevée en *C. jejuni* non seulement dans l'intestin, mais aussi dans le foie et la rate. Au contraire, le DOM-1 ne favorise pas la présence de *Campylobacter* chez les poulets. Par conséquent, il peut être déduit que l'utilisation d'un additif alimentaire biotransformant le DON en DOM-1 est bénéfique pour la santé des poulets et prévient le risque de contamination par *Campylobacter*.

ABSTRACT

Impact of Deoxynivalenol (DON) and its derivate Deepoxy-deoxynivalenol (DOM-1) on broiler performance and *Campylobacter jejuni* colonization and translocation in broiler chickens

Mycotoxins and many bacterial pathogens are a challenge to intestinal epithelial cells. The negative impacts of the mycotoxin deoxynivalenol (DON) as well as from *Campylobacter* (*C.*) *jejuni* on gut integrity in broilers are already well described. Recently it was demonstrated that DON increased the load of *C. jejuni* in the gut and inner organs. A solution to counteract the risk associated with DON is to biotransform this mycotoxin into de-epoxy-deoxynivalenol (DOM-1), thanks to a feed additive incorporating a micro-organism producing a de-epoxidase-type enzyme: DON is degraded into DOM-1, which lacks the epoxide ring that is toxic to animals.

To confirm that DOM-1 is non-toxic, a trial with 180 broilers was conducted. The birds were divided into six groups with 5 replicates with 6 birds each). The setup for the 6 groups was 1. Control, 2. DOM-1 (5 ppm), 3. DON (5 ppm), 4. DOM-1 + *C. jejuni*, 5. DON + *C. jejuni* and 6. *C. jejuni*. At day 14, birds of group 4, 5 and 6 were orally inoculated with 1 ml of a PBS suspension containing 1x10⁸ CFU of *C. jejuni* NCTC 12744. The typical performance parameters (body weight, body weight gain and feed intake of the birds) were determined for the whole five weeks trial period. At 7, 14 and 21 days post infection, samples from liver, spleen, duodenum, jejunum and cecum were taken and processed for bacteriological investigations.

A significant decrease in body weight was observed for chickens receiving the DON diet with or without *C. jejuni* compared to the other groups. Furthermore, it was found that the co-exposure of birds to DON and *C. jejuni* resulted in a higher *C. jejuni* load not only in the gut but also in liver and spleen. This study demonstrated that DOM-1 does not promote *Campylobacter* in chickens. Hence, the use of a feed additive for the biotransformation of DON to DOM-1 is beneficial for health of chicken and prevents the risk of contamination via *Campylobacter*.

INTRODUCTION

La contamination des aliments par les mycotoxines et la prévalence du pathogène bactérien *Campylobacter* (C.) *jejuni* chez les poulets de chair ont un impact sanitaire et économique de plus en plus important en production de volailles.

Le déoxynivalénol (DON) est une mycotoxine très répandue qui a des effets négatifs sur les performances et la santé des poulets de chair (DSM World Mycotoxin Survey, 2022 ; Murugesan *et al.*, 2015). En tant qu'inhibiteur de la synthèse des protéines, le DON affecte principalement les cellules à division rapide, telles que les cellules épithéliales de l'intestin et immunitaires. L'impact négatif du DON sur la barrière intestinale a été associé notamment à la destruction de l'architecture intestinale et à des changements dans la modulation de l'expression des protéines des jonctions serrées (Pinton *et al.*, 2009).

De même, les effets de *C. jejuni* sur la physiologie intestinale des poulets ont déjà été rapportés. Il a été démontré que ces bactéries ont un impact négatif sur l'absorption des nutriments, avec pour conséquence une réduction de l'efficacité alimentaire (Awad *et al.*, 2015). En outre, le lien entre « leaky gut » et *C. jejuni* est connu et induit une augmentation de la translocation bactérienne de l'intestin vers les organes internes (Awad *et al.*, 2016). Et récemment, il a été démontré que le DON augmentait la charge en *C. jejuni* dans l'intestin et les organes internes chez le poulet de chair (Ruhnau *et al.*, 2020).

Une solution de gestion du risque associé au DON consiste à biotransformer cette mycotoxine en dé-époxy-déoxynivalénol (DOM-1), grâce à un additif alimentaire intégrant un micro-organisme (Biomim[®] BBSH[®] 797) produisant une enzyme de type dé-époxydase (EFSA, 2017) : le DON est dégradé en DOM-1, dépourvu de l'anneau époxyde toxique pour les animaux. Cette solution de désactivation, largement utilisée, favorise la prévalence de DOM-1, sans que l'interaction entre ce métabolite et un pathogène tel que *C. jejuni* n'ait été étudiée.

L'objectif de cet essai est d'étudier, chez le poulet de chair, l'effet de l'ajout alimentaire du DOM-1, métabolite du DON, sur la colonisation par *C. jejuni* de l'intestin et la translocation de *C. jejuni* vers les organes internes, en comparaison avec le DON.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

Dans le cadre de cet essai, 180 poussins d'un jour Ross 308 ont été répartis de manière aléatoire en six groupes expérimentaux (notés 1 à 6 – voir plan expérimental, tableau 1), avec cinq répétitions chacun (six poussins par case). Les animaux ont un accès libre à la nourriture et à l'eau pendant toute la durée de l'essai.

Les animaux des groupes 2 et 4 ont reçu un aliment présentant un niveau de contamination alimentaire en DOM-1 de 5 ppm. Et les animaux des groupes 3 et 5 ont reçu un aliment présentant un niveau de contamination en DON de 5 ppm. Les suppléments ont été effectués par le biais de molécules issues de culture. Les aliments ont été analysés par HPLC-MS/MS pour valider l'absence d'autres mycotoxines.

A J14, les poulets des groupes 4, 5 et 6 ont été inoculés par voie orale dans le jabot avec 1×10^8 UFC/ml de *C. jejuni* NCTC 12744. La durée de l'essai a été de 35 jours.

1.2. Mesures

Les paramètres zootechniques des animaux (poids vif et ingéré) ont été enregistrés tout au long de l'essai.

A J21, J28 et J35 (soit 7, 14 et 21 jours post-challenge à *C. jejuni*), 5 oiseaux de chaque groupe ont été euthanasiés à des fins de prélèvements de tissus : foie, rate, duodénum, jéjunum et caecum. Des analyses bactériologiques ont été pratiquées sur ces échantillons. Les prélèvements de duodénum, de jéjunum et de caecum ont également été utilisés pour les tests de perméabilité paracellulaire intestinale, en cellules d'Ussing.

1.3. Analyses statistiques

Toutes les données issues de l'essai ont été soumises à une analyse statistique par ANOVA (IBM SPSS Statistics 24).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Performances zootechniques

Les résultats des mesures de paramètres zootechniques sont présentés en figure 1.

Les groupes 1 à 3 ne sont pas challengés à *C. jejuni*. Au sein de ces groupes, les oiseaux du groupe 2 (recevant le DOM-1) ont un poids vif significativement plus élevé par rapport au groupe 1 (témoin) et au groupe 3 (exposé au DON) ($P = 0,040$ en semaine 2 et $P = 0,008$ en semaine 5, respectivement dans ce dernier cas). Le groupe 2 présente également un indice de consommation amélioré ($P < 0,01$ en semaine 4).

En situation challengée à *C. jejuni* (groupes 4 à 6), la performance de croissance reste plus favorable pour les oiseaux recevant le DOM-1 (groupe 4), ce qui ne se retrouve pas pour l'indice de consommation. En semaine 5, le groupe 5 (co-exposé DON + *C. jejuni*) présente les poids et indice de consommation les plus dégradés.

Comparant l'ensemble des groupes, l'indice de consommation (IC) des oiseaux infectés et/ou exposés au DON (groupes 3, 4, 5 et 6) a été plus élevé que celui des oiseaux non infectés (groupes 1 et 2) en semaine 5. Et pendant 4 des 5 semaines de l'essai, l'IC a été plus faible dans le groupe 2 par rapport aux groupes 3, 4, 5

et 6, cet effet étant significatif en semaines 4 et 5 ($P = 0,001$ et $P = 0,033$ respectivement), ce qui met en évidence que le DOM-1, métabolite du DON, n'a pas d'effet négatif sur l'efficacité alimentaire dans les conditions de l'essai.

2.2. Impact sur la colonisation/translocation de *C.jejuni*

La charge en *C. jejuni* dans l'intestin, le foie et la rate est présentée en figure 2. Dès 7 jours post-challenge (à J21), les poulets du groupe 5 présentent des charges plus élevées en *C. jejuni* dans le jéjunum et le cæcum par rapport aux oiseaux du groupe 6 ($P < 0,05$ et $P < 0,1$ respectivement). A J28, 14 jours post-challenge, une augmentation significative de la charge en *C. jejuni* est mesurée dans les caeca ainsi que dans le foie et la rate des animaux exposés au DON (groupe 5). En outre, cette co-exposition des poulets de chair au DON et à *C. jejuni* a induit la translocation de *C. jejuni* vers le foie et la rate à J28. Au contraire, la co-exposition au DOM-1 (groupe 4) a diminué la charge en *C. jejuni* dans le jéjunum et le cæcum de manière significative à J21 par rapport au groupe DON ($P = 0,012$ et $P = 0,033$, respectivement). Et à J28, DOM-1 a diminué la translocation de *C. jejuni* vers le foie et la rate par rapport au groupe DON ($P = 0,037$ et $P = 0,016$, respectivement, -1.5 log). A J35, aucune différence significative entre les groupes n'est notée, bien que la charge en *C. jejuni* soit numériquement plus faible dans l'intestin chez les oiseaux recevant DOM-que dans ceux du groupe DON.

2.3. Impact sur la perméabilité intestinale

La perméabilité intestinale a été évaluée en cellules d'Ussing, avec suivi des flux de mannitol marqué *ex vivo*, sur les segments de duodénum, jéjunum et cæcum prélevés à J21, J28 et J35 (Figure 3).

A J21 (7 jours post-challenge), des différences significatives de flux sur la période initiale de mesure (30 à 60 min) sont mesurées sur tous les segments prélevés. A J35, l'effet du DON est plus persistant sur les segments de jéjunum et de cæcum. En outre, la co-exposition au DON et à *C. jejuni* potentialise l'effet négatif sur la perméabilité du duodénum tout au long des mesures, avec un flux de mannitol significativement plus élevé à J28 ($P < 0,001$) et J35 ($P < 0,05$) par rapport aux témoins (groupes 1 et 2).

Au contraire, l'administration de DOM-1 n'induit pas de changements significatifs dans la perméabilité intestinale et conduit à une perméabilité comparable à celle du groupe 1. En outre, à J21, le niveau de flux de mannitol du groupe DOM-1 (2) est significativement inférieur à celui du groupe DON (3) sur le segment de duodénum ($P = 0,019$) pour l'ensemble des périodes de mesure et, dans le jéjunum, pendant les deuxième et troisième périodes de suivi ($P = 0,025$). Cette différence est également prononcée dans le duodénum et le jéjunum à J28 ($P < 0,01$), mais elle n'est pas significative à J35.

Les résultats montrent ainsi que l'exposition au DON engendre une perturbation de la barrière épithéliale intestinale, en augmentant la perméabilité paracellulaire. De même, l'exposition à *C. jejuni* induit une augmentation du flux paracellulaire dans tous les segments de l'intestin. Et cet effet est logiquement plus prononcé sur les segments issus d'animaux co-exposés au DON et à *C. jejuni* (groupe 5). Il faut noter que l'impact des différents traitements sur la perméabilité intestinale varie fortement entre les différents sites de l'intestin, ce qui reflète probablement des mécanismes différents d'altération de la perméabilité intestinale pour chaque segment intestinal.

CONCLUSION

Les résultats de la présente étude montrent que la présence de DOM-1 dans l'aliment, résultant de la biotransformation enzymatique du DON, n'a pas d'effets négatifs sur les paramètres zootechniques et la perméabilité intestinale.

Les résultats ont démontré que l'inclusion de DOM-1 dans l'alimentation des poulets de chair, associée à une infection par *C. jejuni*, a réduit la charge bactérienne dans l'intestin et la dissémination de *Campylobacter* dans les organes internes, ce qui pourrait être dû aux changements au niveau perméabilité intestinale par rapport au DON. De plus, une amélioration des performances des oiseaux a été observée chez les animaux des groupes recevant DOM-1.

Les stratégies alimentaires qui réduisent non seulement les effets néfastes du DON dans les aliments des poulets de chair, mais aussi la charge de *Campylobacter*, ont un impact significatif sur le bien-être des animaux et sur la santé publique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Awad W.A., Dublec F., Hess C., Dublec K., Khayal B., Aschenbach J.R., Hess M., 2016, Poult. Sci., (95), 2259–65.
- Awad W.A., Smorodchenko A., Hess C., Aschenbach J.R., Molnár A., Dublec K., Khayal B., Pohl E., Hess M., 2015, Appl. Microbiol. Biotechnol., (99), 6431–41.
- DSM World Mycotoxin Survey, 2022. Disponible via <https://www.dsm.com/anh/news/downloads/whitepapers-and-reports/dsm-world-mycotoxin-survey-2022-report.html>, consulté le 17/11/23.
- Murugesan G.R., Ledoux D.R., Naehrer K., Berthiller F., Applegate T.J., Grenier B., Phillips, T.D., Schatzmayr G., 2015, Poult. Sci., (94), 1298-1315.
- Pinton P., Nougayrède J.P., Del Rio J.C., Moreno C., Marin D., Ferrier L., Bracarense A.P., Kolf-Clauw M., Oswald I., 2009, Toxicol. and Appl. Pharmacol., (137), 41-48.
- Ruhnau D., Hess C., Grenier B., Doupovec B., Schatzmayr D., Hess M., Awad W.A., 2020, Front.Vet. Sci., (7), 573894.
- EFSA scientific opinion, 2017, EFSA Journal 15(1), 4676.

Tableau 1. Plan expérimental

Traitement	Nombre d'animaux	DON (ppm)	DOM-1 (ppm)	<i>C. jejuni</i> (UFC/oiseau)
1 - Témoin	30	--	--	--
2 - DOM	30	--	5	--
3 - DON	30	5	--	--
4 - DOM + <i>C.jejuni</i>	30	--	5	10 ⁸
5 - DON + <i>C.jejuni</i>	30	5	--	10 ⁸
6 - <i>C.jejuni</i>	30	---	--	10 ⁸

Figure 1. Comparaison des performances zootechniques (poids vif et indice de consommation) en fonction de l'âge des animaux et des groupes (# : $P < 0,1$; * : $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$)

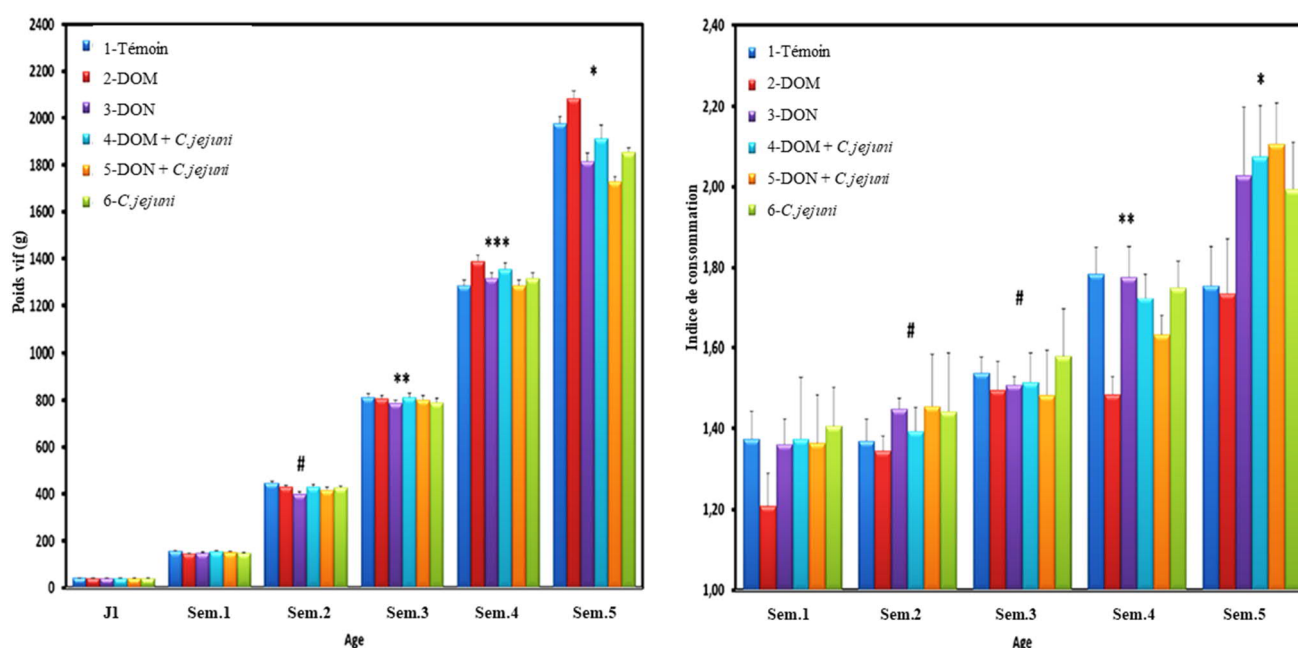


Figure 2. Evolution de la charge en *C. jejuni* dans les différents organes en fonction de l'âge des animaux et des groupes (# : $P<0,1$; * : $P<0,05$; ** $P<0,01$)

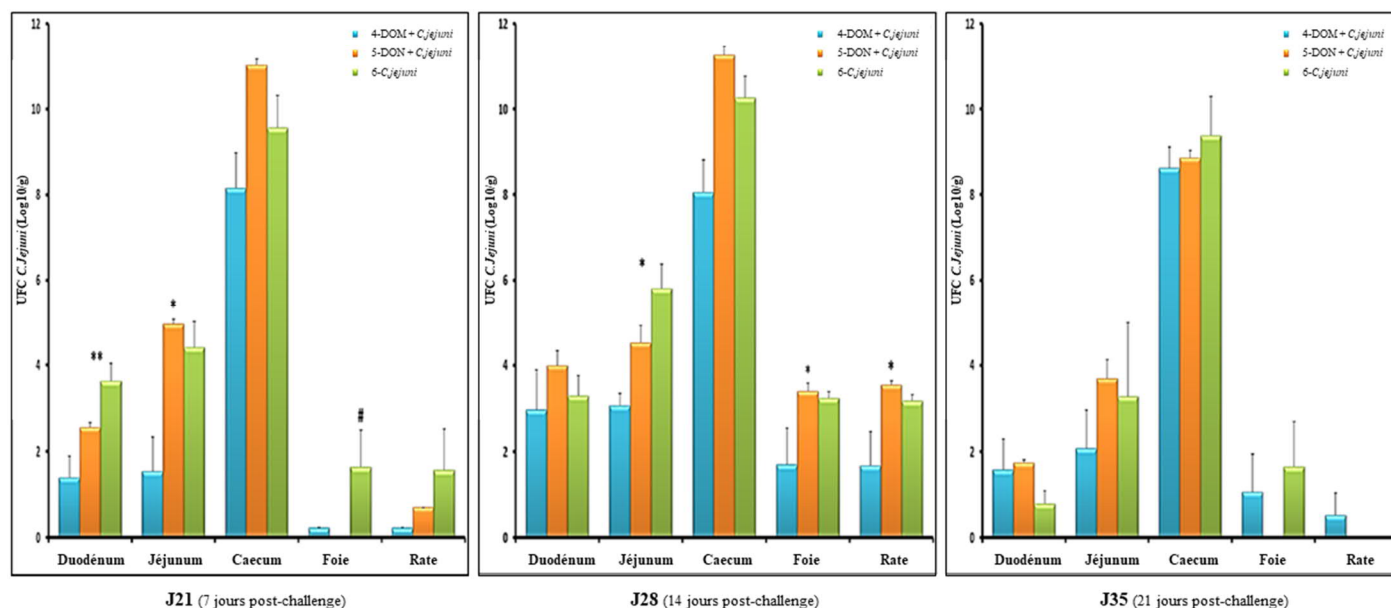


Figure 3. Comparaison de la perméabilité intestinale au niveau du duodénum, du jéjunum et du caecum en fonction de l'âge des animaux et des groupes (# : $P<0,1$; * : $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$)

