

**INTERET DE L'UTILISATION D'UN NOYAU PHYTOGENIQUE DANS LA
GESTION D'UN POOL DE MYCOTOXINES EN VOLAILLE DE CHAIR EN
COMPARAISON À UN CAPTEUR A BASE D'ARGILE :
NOUVELLE APPROCHE PAR LA GESTION DES SEUILS DE TOLÉRANCE AUX
CONTAMINANTS DE L'ALIMENT**

Jaubert Manon, Plichart Gaëtan Vetea

BIODEVAS LABORATOIRES - ZA de l'Épine - 72460 SAVIGNÉ-L'ÉVÊQUE

gplichart@biodevas.fr

RÉSUMÉ

La contamination des aliments par les mycotoxines, impactant les performances des productions animales, est une problématique majeure toujours d'actualité. L'objectif de l'essai de 21 jours réalisé en station expérimentale est d'évaluer l'efficacité d'un additif phytogénique dépourvu d'argile stimulant le métabolisme hépatique des xénobiotiques, sur les performances zootechniques en présence de mycotoxines, en comparaison avec un capteur classique. 240 poussins de 1 jour sont répartis aléatoirement en 4 modalités de 6 répétitions de 10 animaux chacune. La 1^{ère} modalité est le témoin négatif (T-) dont l'aliment n'est pas contaminé. Pour les 3 autres modalités, l'aliment est contaminé par 3 mycotoxines à raison de 1 mg/kg d'aflatoxines, 50 mg/kg de fumonisine et 40 mg/kg de DON avec un témoin positif (T+) ne recevant que l'aliment contaminé, une modalité « capteur » recevant un capteur à base d'argile, d'enzymes et d'extraits de plantes et une modalité « essai » recevant additif phytogénique. À J21, sont mesurés le poids vif (PV), l'indice de consommation (IC), la consommation totale d'aliment, le ratio hauteur des villosités sur profondeur des cryptes intestinales (HV/PC). Les analyses statistiques réalisées sont une analyse de la variance et un test de Bonferroni ($p\text{-value} \leq 0,05$). L'unité statistique est la répétition. Les animaux de la modalité « Essai » n'ont pas un PV (764g) significativement différent du T- (747,7g) mais significativement supérieur à la modalité « capteur » (714,2g). L'IC de la modalité « essai » est identique à celui du T- (1,57). Le ratio HV/PC est plus élevé pour la modalité essai (10,03) comparé aux autres modalités (T- 8,34, T+ 8,64, modalité « capteur » 7,81). L'additif phytogénique, incorporé à 0,025% a permis d'obtenir de significativement meilleurs sur le poids vif, le poids des foies et le ratio HV/PC comparés à ceux du lot T+, cela malgré l'ingestion de mycotoxines à fortes doses.

ABSTRACT

Interest of using a phytogenic additive in the management of a mycotoxins pool in broiler compared to a clay-based binder: a new approach by raising the tolerance thresholds to contaminants in the feed

Feed contaminations by mycotoxins, which impact performances in animal productions, are still problematic. This trial conducted in an experimental facility for 21 days aims to evaluate the efficiency of a phytogenic additive (clay-free) to stimulate the xenobiotic pathway of the liver, on global performances in presence of mycotoxins in comparison to a classic binder. 240 one-day-old chicks are randomly divided into four groups of six replicates of 10 animals each. One is the control group (T-) with no contaminated feed. For the 3 other groups, the feed is contaminated with 3 mycotoxins at a rate of 1 mg/kg of aflatoxins, 50 mg/kg of fumonisin and 40 mg/kg of deoxynivalenol. Among these 3 groups, one is the positive control (T+) which only receives the contaminated feed, one is the "binder" group and receives the reference binder and the last is the trial group which receives a phytogenic additive incorporated at 0.025% in the feed. At D21 weight, feed conversion ratio (FCR) and villi height / crypt depth ratio (VH/CD) are measured. The statistical analysis are analysis of variance and Bonferroni test ($p\text{-value} \leq 0.05$). Birds of trial group has a similar weight (764g) than the T- (747.7g) and a higher weight than the binder group (714.2g). The FCR of the trial and negative control group are equal (1.57). The VH/CD ratio of the trial group is higher (10.03) than the other groups (T- 8.34, T+ 8.64 and "binder" group 7.81). The phytogenic additive, incorporated at 0.025% leads birds to have better results on weight, liver weight and VH/CD ratio than the group T+, even though birds consumed mycotoxins.

INTRODUCTION

Parmi plus de 300 mycotoxines identifiées (Leeson et al. 1995), plus d'une trentaine sont toxiques. Les principales mycotoxines retrouvées et posant un problème en productions animales sont les aflatoxines (connues pour être les plus délétères), l'ochratoxine A, les fumonisines, les tricothécènes, la zéaralénone (Miller, 1994) et l'ergot du seigle. Afin de limiter l'impact de ces mycotoxines sur les performances zootechniques des volailles de chair, différentes stratégies peuvent être mises en place : limiter l'apparition des mycotoxines au champs par des techniques culturales adaptées, ajouter des capteurs de mycotoxines à l'aliment afin de diminuer leur biodisponibilité et de limiter l'absorption intestinale de ces molécules en les adsorbants. Une autre approche consisterait à augmenter le seuil de tolérance des animaux aux mycotoxines afin que ces dernières n'impactent pas les performances zootechniques. Cette approche consisterait à stimuler le métabolisme hépatique et notamment le métabolisme des xénobiotiques afin d'améliorer la détoxification de l'organisme. Aujourd'hui, l'approche majoritairement utilisée en nutrition animale est la captation des mycotoxines par les argiles. Plusieurs types d'argiles peuvent être utilisées avec une efficacité qui varie en fonction de la mycotoxine considérée. Ainsi Daković *et al.* ont démontré au travers de plusieurs études en 2005, 2007 et 2008 que toutes les argiles n'ont pas la même efficacité d'adsorption et que celle-ci varie en fonction du type de mycotoxine.

Les aliments n'étant jamais contaminés que par une seule mycotoxine (Forget-Richard et al, 2012 ; Travel et al, 2011), il est fréquent de devoir augmenter le nombre de capteurs différents et leur quantité, ce qui peut entraîner des conséquences sur les qualités nutritives de l'aliment (Elliott C.T. et al.,2020), notamment en ce qui concerne les vitamines et les oligo-éléments.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité d'un additif phytogénique composé d'extraits naturels de plantes dont *Foeniculum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* et *Thymus vulgaris* (Inédia® de Biodevas Laboratoires) dépourvu d'argile (ci-après nommé Essai) dans la gestion des mycotoxines présentes dans l'aliment des volailles par une approche innovante qui consiste à élever le seuil de tolérance des oiseaux aux mycotoxines et non à diminuer leur biodisponibilité. Cet additif à base d'extraits de plantes reconnues pour avoir des vertus sur le métabolisme hépatique des xénobiotiques paraît être une méthode alternative dans la gestion des contaminants de l'aliment sans les capter. Les résultats obtenus sont comparés à ceux d'un produit de référence, capteur de mycotoxines à base d'argile et de substances phytogéniques et d'enzymes (ci-après nommé Capteur) dans un

contexte d'un aliment contaminé par 3 mycotoxines différentes.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Modèle expérimental

L'essai est réalisé en station d'expérimentation agréée selon les recommandations du MAPA (*Ministério da Agricultura, Pecuaria e Abastecimento*) pour l'enregistrement des additifs anti-mycotoxines et la « Resolution #879 (February 15th, 2008) » du Brazilian Council of Veterinary Medicine, en ce qui concerne les procédures pour l'expérimentation et le bien-être animal. 240 poussins mâles de 1 jour de souche Cobbs 500 et de poids moyen de 45,7g sont répartis de façon aléatoire en 4 groupes. Chaque groupe est constitué de 6 répétitions de 10 animaux., Tous les groupes reçoivent une formule d'aliment iso nutritive selon les recommandations NRC (1994), l'absence de mycotoxines dans les matières premières de cette formule est vérifiée. Pour 3 groupes, l'aliment est contaminé de façon expérimentale par ajout de 3 mycotoxines produites naturellement par les champignons à raison de 1 mg/kg d'aflatoxines (AF), 50 mg/kg de fumonisine (FUM) et 40 mg/kg de déoxynivalénol (DON). Le groupe ne recevant pas d'aliment contaminé sert de témoin négatif noté « T- ». Parmi les 3 autres groupes, un premier ne reçoit que l'aliment contaminé et sert de témoin positif, noté « T+ ». Un deuxième groupe reçoit l'aliment supplémenté par le capteur à la dose recommandée par le fabricant (soit 0.1%), noté « capteur ». Le troisième groupe reçoit l'aliment contaminé supplémenté avec l'additif phytogénique à la dose de 0.025%, noté « Essai ». L'ensemble des 4 modalités expérimentales est repris dans le tableau 1 ci-dessous :

Tableau 1 : Modalités expérimentales

Groupe	Nombre d'animaux	Mycotoxines (mg/kg)			% d'incorporation
		AF	FUM	DON	
T-	60	-	-	-	-
T+	60	1	50	40	-
Capteur	60	1	50	40	0,10%
Essai	60	1	50	40	0,025%

1.2. Paramètres mesurés

Toutes les semaines, la consommation d'aliment et le poids vif des oiseaux sont mesurés ou calculés. A la fin de l'essai, sont en plus mesurés et calculés l'indice de consommation. Les animaux sont euthanasiés et les foies sont individualisés puis pesés. Pour chaque modalité, 12 échantillons de sérum sont collectés avant euthanasie des animaux pour quantifier les enzymes hépatiques, protéines totales et le ratio plasmatique Sphinganine / Sphingosine (SA/SO). Pour chaque modalité, 5 échantillons de jéjunum sont collectés et préparés pour lecture histologique afin de pouvoir mesurer le ratio Hauteur des villosités intestinales / profondeur des cryptes (HV/PC).

Les données ont été soumises à une analyse de la variance (ANOVA à 1 facteur). L'unité statistique est la répétition, sauf pour le poids vif (pesées individuelles) et les paramètres biologiques. Les différences de moyennes ont été comparées par un test de Bonferroni ($p\text{-value} \leq 0,05$). Les analyses ont été réalisées avec le logiciel Statgraphics Centurion XV version 15.1.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Performances zootechniques

A la fin de l'essai, les animaux du lot Essai ont un poids comparable à celui des animaux du Témoin négatif. Le poids des animaux de la modalité Capteur n'est ni différent du poids des animaux du lot Témoin négatif ni de celui des animaux du Témoin positif.

Tableau 2 : Poids vifs (g) des oiseaux à J21

Groupe	J21
Témoin négatif	748 ^{ab}
Témoin positif	701 ^c
Capteur Référence	714 ^{bc}
Essai	764 ^a
p-value	0,0009

a – c = Les moyennes par colonne avec des lettres différentes différent par le test de Bonferroni ($P \leq 0.05$).

Les consommations totales d'aliment (en grammes) par animal à la fin de l'étude pour le Témoin négatif, le Témoin positif, la modalité Capteur et la modalité Essai sont respectivement de 1104.59, 1075.61, 1049.64 et 1118.94 ($p\text{-value} = 0.094$). La consommation d'aliment a ainsi tendance à être similaire entre les 4 modalités bien qu'elle soit numériquement supérieure pour le témoin négatif et la modalité Essai.

Les indices de consommation des lots Essai et Capteur sont numériquement identiques à celui du lot Témoin négatif, bien que statistiquement, il n'y a aucune différence entre les 4 lots.

Tableau 3 : Indice de consommation

Groupe	Indice de consommation
Témoin négatif	1,57
Témoin positif	1,64
Capteur	1,57
Essai	1,57
p-Value	0,2120

2.2 Paramètres biologiques

L'ensemble des paramètres biologiques – poids relatifs des foies, sérologies et morphologie intestinale – est présenté dans le tableau 4.

Tableau 4 : Synthèse des paramètres biologiques de l'essai à J21

Paramètres	Témoin -	Témoin +	Capteur	Essai
Poids relatif des foies (%)	2,96 ^a	3,28 ^b	2,81 ^a	2,91 ^a
Protéines totales (g/dL)	2,82 ^a	2,51 ^b	2,81 ^a	2,78 ^a
ALT (U/L)	5,93	5,29	6,04	5,97
AST (U/L)	367	359	383	387
Ratio SA/SO	0,21 ^c	0,76 ^a	0,26 ^{bc}	0,37 ^b
Ratio HV/PC	8,34 ^b	8,64 ^b	7,81 ^b	10,03 ^a

a – c = Les moyennes par colonne avec des lettres différentes différent par le test de Bonferroni ($p \leq 0.05$).

Les animaux de la modalité Essai et de la modalité Capteur ont des foies de poids relatifs similaires à ceux des animaux du lot Témoin négatif. Il en est de même en ce qui concerne la teneur en protéines totales alors qu'on note une hypoprotéïnémie chez les animaux du témoin positif. Le ratio SA/SO des animaux du lot Essai n'est pas différent de celui du lot Capteur. Toutefois, ils sont tous les deux significativement différents de celui du lot Témoin positif. Le ratio HV/PC est supérieur pour les animaux du lot Essai.

2.3 Discussion

Les résultats des animaux des groupes témoins positif et négatif sont cohérents vis-à-vis des effets attendus des mycotoxines (Magnin *et al.*, 2016). L'augmentation du poids relatif des foies observée sur le groupe témoin positif par rapport aux autres groupes suggère une toxicité hépatique des aflatoxines et des fumonisines (Magnin *et al.*, 2016). L'augmentation du rapport SA/SO du témoin positif est également une conséquence de la perturbation de la synthèse des sphingolipides causée par la présence de fumonisines (Antonissen *et al.*, 2015). Le poids vif des animaux du groupe T+ peut aussi être expliqué par la présence de DON. En effet, comme pour la consommation d'aliment, Andretta *et al.* (2011) montre que le poids vif est inversement corrélé à la concentration en DON (concentration moyenne 4,29mg/kg). Cependant, dans cet essai, l'impact d'une synergie entre mycotoxines se révèle complexe à mettre en évidence car les effets observés ne sont pas forcément délétères et varient selon les doses et les espèces de volailles. A titre d'exemple Lee *et al.* ont montré en 2012 qu'un mélange d'aflatoxines (2mg/kg) et de DON (2mg/kg) provoquait une baisse de la consommation d'aliments, du taux de ponte et de l'efficacité alimentaire mais n'avait pas d'impact négatif sur le poids vif en poule pondeuse. Cela est cohérent avec les résultats obtenus dans cette étude où une baisse de consommation est observée dans le groupe T+. En revanche, Siloto *et al.* (2013) a observé qu'un mélange de fumonisines (25mg/kg) et

d'aflatoxines (1mg) n'impacte ni la consommation d'aliment ni le poids vif, il n'a pas non plus d'impact sur les paramètres biologiques tels que le poids relatif du foie, et cela malgré la toxicité connue de ces deux toxines sur cet organe. Toutefois, dans cette étude, des effets négatifs sur le foie ont pu être mis en évidence avec un mélange aflatoxines, fumonisines et DON à des doses relativement élevées dans le lot Témoin positif laissant supposer une synergie d'action. Ces effets négatifs ne sont pas mis en évidence chez les animaux du lot Essai, bien qu'ils consomment et absorbent des mycotoxines, contrairement à ceux du lot « capteur ». Pour les animaux ayant reçu l'additif phytogénique, les poids relatifs des foies n'étant pas statistiquement différents de ceux du T-, nous pouvons penser qu'en agissant sur le métabolisme hépatique des xénobiotiques, l'additif a joué un rôle protecteur de l'architecture et de la fonction de l'organe. Cela est conforté par les résultats sérologiques (protéines totale et rapport SA/SO). Ainsi, au travers des résultats de ce premier essai, l'approche visant à augmenter les seuils de tolérance des animaux aux mycotoxines semble intéressante et permet de pallier les côtés néfastes de la stratégie de la captation (dilution des formules d'aliment lors du fort taux d'incorporation, adsorption des oligo-éléments et vitamines, efficacité dépendante de la mycotoxine). Les effets observés tant sur les paramètres zootechniques que sur les foies sont compatibles avec une stimulation du métabolisme des xénobiotiques, les mycotoxines ingérées seraient alors métabolisées et dégradées par le foie avant de

provoquer leurs effets toxiques. Des essais complémentaires sont nécessaires pour confirmer cette approche notamment par des analyses transcriptomiques ciblant les gènes impliqués dans le métabolisme de détoxification du foie.

De plus, sur d'autres paramètres comme le poids final et le ratio HV/PC, l'additif phytogénique a permis d'obtenir de meilleurs résultats que ceux du capteur voire que ceux du témoin négatif. L'additif phytogénique permettrait donc d'augmenter la surface d'échange de l'architecture intestinale et favoriserait une meilleure absorption des nutriments. Cette hypothèse pourrait expliquer les résultats de poids vifs pour le lot Essai qui sont numériquement supérieurs au témoin négatif, elle demande néanmoins d'être vérifiée par d'autres travaux.

CONCLUSION

Les résultats montrent un effet favorable de la solution testée sur les performances zootechniques malgré l'ingestion d'un aliment fortement contaminé par 3 mycotoxines majeures. Certains paramètres sont même meilleurs que ceux obtenus avec le capteur. On note également un effet favorable de la solution testée sur la préservation du foie et de ses fonctions dans un tel contexte. Cela confirme que la gestion des mycotoxines par élévation des seuils de tolérance peut être une alternative efficace aux capteurs complexes, tout en prenant moins de place dans une formule d'aliment.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Andretta, Ines & Kipper da Silva, Marcos & Lehnen, Cheila & Hauschild, Luciano & Vale, Marcos & Lovatto, P.A.. (2011). Meta-analytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in broilers. *Poultry science*. 90. 1934-40. 10.3382
- Daković, A., Tomasevic-Canovic, M., Dondur, V., Rottinghaus, G.E., Medakovic, V., Zaric, S. 2005. Adsorption of mycotoxins by organozeolites. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 46, 20-25.
- Daković, A., Matijasević, S., Rottinghaus, G.E., Dondur, V., Pietrass, T., Clewett, C.F. 2007. Adsorption of zearalenone by organomodified natural zeolitic tuff. *J. Colloid Interface Sci.*, 311, 8-13.
- Daković, A., Matijasević, S., Rottinghaus, G.E., Ledoux, D.R., Butkeraitis, P., Sekulić, Z. 2008. Aflatoxin B(1) adsorption by natural and copper modified montmorillonite. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 66, 20-25.
- Elliott, C.T., Connolly, L. & Kolawole, O. 2020. *Mycotoxin Res.*, 36 : 115–126
- Forget-Richard F., Oswald I.P., 2012. *Innovations Agronomiques.*, 24, pp.17-33.
- Lee, Jason & Jessen, K & Beltrán Aguedo, Reinel & Starkl, Verena & Schatzmayr, Gerd & Borutova, R & Caldwell, D. (2012). Mycotoxin-contaminated diets and deactivating compound in laying hens: 1. Effects on performance characteristics and relative organ weight. *Poultry science*. 91. 2089-95. 10.3382
- Leeson, S., G. Diaz and J.D. Summers. 1995. *Poultry metabolic disorders and mycotoxins*. University Books. Guelph, Canada.

Magnin, Michel & Travel, Angélique & Bailly, Jean & Guerre, Philippe. (2016). Effets des mycotoxines sur la santé et les performances des volailles.

Miller, J D 1994 Conference Report: 6th International Working Conference on Stored-product Protection. *Australian Mycotoxin Newsletter* 5(2), pages 1 and 8_Travel A., Martin C., Lopes E., Skiba F., Metayer J.P., et al., 2011. *Journ. Rech. Avic.*, 9: 508-512.

Siloto, Estela & Oliveira, E & Sartori, J. & Fascina, Vb & Martins, B & Ledoux, David & Rottinghaus, George & Sartori, Denise. (2013). Lipid metabolism of commercial layers fed diets containing aflatoxin, fumonisin, and a binder. *Poultry science*. 92. 2077-83. 10.3382

Travel A., Martin C., Lopes E., et al. 2011. Ingestion d'aliments contaminés par plusieurs mycotoxines à faibles doses chez les dindes : effets sur la santé, les performances zootechniques, le métabolisme et l'assimilation des nutriments. 9. Journées de la Recherche Avicole, Tours, France. {hal-02748477}

Travel et al. 2017, *Innovations Agronomiques* 55, Démarche raisonnée pour évaluer l'impact des mycotoxines chez les volailles : qualité sanitaire des produits et critères d'alerte, 327 - 343