

## LES STRATEGIES DE DETOXIFICATION EN MYCOTOXINES DE L'ALIMENT

Laurain Julia, Rodriguez Maria Angeles, Gallissot Marie

OLMIX Group – ZA du Haut du Bois – 56580 BREHAN  
[animalcare.pm@olmix.com](mailto:animalcare.pm@olmix.com)

### RÉSUMÉ

La stratégie la plus commune pour réduire l'exposition des animaux aux mycotoxines consiste à réduire la biodisponibilité des mycotoxines grâce à l'incorporation d'agents détoxifiants dans l'aliment. Face à l'abondance d'agents détoxifiants disponibles sur le marché, des méthodes *in vitro* de sélection sont nécessaires afin d'évaluer leur efficacité. Cet article est une revue des différentes méthodes d'évaluation et des données d'efficacité des différents types d'agents détoxifiants existants. Les méthodes *in vitro* d'évaluation de l'efficacité des agents détoxifiants peuvent être statiques ou dynamiques, tout comme elles peuvent être basées sur différents milieux tampon et en conditions de pH variées qui influencent beaucoup les résultats. Les méthodes basées sur la simulation des conditions gastro-intestinales sont les plus représentatives de l'efficacité *in vivo* potentielle d'un agent détoxifiant. Les agents détoxifiants sont divisés en deux catégories de produits : les agents adsorbants et les agents biotransformants. Les agents adsorbants ont pour objectif de limiter l'absorption intestinale des mycotoxines, les agents les plus connus étant les argiles, modifiées ou non, les parois de levures et le charbon actif. Les agents biotransformants sont composés de micro-organismes ou d'enzymes qui ont pour objectif de transformer les mycotoxines en métabolites non toxiques. Cet article regroupe les données d'efficacité connues par type d'agent et en fonction des méthodes *in vitro* utilisées. On constate une grande variabilité des résultats en fonction des méthodes utilisées et des mycotoxines testées. A ce jour très peu d'agents ont pu démontrer un large spectre d'efficacité alors que les poly-contaminations en mycotoxines sont beaucoup plus fréquentes que les mono-contaminations dans l'aliment.

### ABSTRACT

#### **Mycotoxin detoxification strategies of feed, a review.**

The most common strategy for reducing animal's exposure to mycotoxins is to decrease mycotoxin bioavailability by incorporating various mycotoxin-detoxifying agents in the feed. Facing the abundance of available detoxifying agent candidates, screening methods are needed to evaluate their efficacy and select appropriate materials. This article is a review of the different screening methods and efficacy data of various mycotoxin-detoxifying agents. The *in vitro* efficacy of mycotoxin-detoxifying agents can be tested either in static or dynamic conditions, with different types of buffer and under various pH conditions that greatly influence the results. Methods based on gastro-intestinal simulation are the most representative methods of the potential *in vivo* efficacy of mycotoxin-detoxifying agents. Mycotoxin-detoxifying agents can be divided into two categories: adsorbing agents and biotransforming agents. Adsorbing agents aim at reducing the bioavailability of the mycotoxins. The most common adsorbing agents are clays, modified or not, yeast cell walls and activated charcoal. Biotransforming agents are composed of microorganisms or enzymes that aim at degrading mycotoxins into non-toxic metabolites. This article reviews efficacy data by type of mycotoxin-detoxifying agent and by type of *in vitro* screening method used. A wide variability of results is observed, depending on the method and mycotoxin used. Today, very few detoxifying agents have demonstrated a wide spectrum of efficacy whereas poly-contamination are more frequent than single contamination of feed.

## INTRODUCTION

La première approche pour contrôler les contaminations en mycotoxines dans l'aliment est la prévention de la formation de mycotoxines au champ (Lopez-Garcia et Park, 1998). Une fois l'aliment contaminé, l'élimination des mycotoxines est presque impossible, les procédés industriels classiques n'étant pas suffisants pour les éliminer (Bullerman et Bianchini, 2007). Le tri des grains moisis ou cassés et des poussières permet de réduire significativement le niveau de contamination, mais induit un taux important de grains rejetés. Ainsi, la stratégie la plus commune pour réduire l'exposition des animaux aux mycotoxines consiste à réduire leur biodisponibilité grâce à l'incorporation d'agents détoxifiants dans l'aliment. Ces agents agissent en réduisant soit la biodisponibilité des mycotoxines, c'est-à-dire en réduisant leur absorption intestinale (agents adsorbants) soit leur toxicité par biotransformation (agents biotransformants). Face à l'abondance d'agents détoxifiants proposés sur le marché, des méthodes d'évaluation de leur efficacité sont nécessaires afin de sélectionner les agents fiables. Les méthodes *in vivo* étant peu spécifiques, complexes et onéreuses, les méthodes *in vitro* sont privilégiées. Cet article est une revue des différentes méthodes d'évaluation *in vitro* et des données d'efficacité publiées des différents types d'agents détoxifiants existants.

## 1. LES DIFFERENTES METHODES D'EVALUATION IN VITRO

### 1.1. Les méthodes statiques à concentration unique ou variable (isothermes)

La méthode à concentration unique est la plus simple et la moins coûteuse à mettre en œuvre. Elle mesure la diminution de mycotoxines purifiées dans un milieu aqueux où une quantité de mycotoxine connue réagit avec une concentration en agent détoxifiant connue.

Le résultat est communément retranscrit en « % d'adsorption ». Cette méthode n'est pas standardisée, ainsi les résultats varient en fonction des conditions de test et ce modèle statique aboutit souvent à une surestimation de la capacité d'adsorption par rapport aux conditions dynamiques *in vivo* (Versantvoort *et al.*, 2005).

Les méthodes statiques à concentration variable, aussi appelées isothermes d'adsorption, sont utilisées pour évaluer le comportement des agents détoxifiants en fonction de la concentration en mycotoxines (Grant et Phillips, 1998 ; Ramos et Hernandez, 1996). La quantité de mycotoxine adsorbée par unité d'agent est tracée en fonction de la concentration en mycotoxines dans la solution.

### 1.2. Les méthodes dynamiques

Les méthodes dynamiques tel que le modèle TIM (TNO, Pays-Bas) utilisé par Avantaggiato *et al.*, (2003 ; 2004 et 2007) sont bien plus représentatives de la dynamique gastro-intestinale *in vivo* que les modèles statiques. Le système TIM est composé de quatre compartiments connectés à des valves péristaltiques, simulant la digestion dans l'estomac et l'intestin grêle. Des membranes semi-perméables sont connectées au jéjunum et à l'iléon pour une dialyse continue des éléments digérés. Les mycotoxines étant absorbées par diffusion passive, ce système est adapté à leur étude ainsi que celle des agents détoxifiants (Avantaggiato *et al.*, 2004). Les résultats d'absorption intestinale obtenus avec le TIM sont en accord avec les résultats *in vivo* sur l'absorption intestinale de déoxynivalénol (DON), zéaralénone (ZEA) et nivalénol (NIV) chez le porc (Olsen *et al.*, 1985 ; Prelusky *et al.*, 1988 ; Biehl *et al.*, 1993 ; Hedman *et al.*, 1997, Eriksen *et al.*, 2003).

## 2. EFFICACITE IN VITRO DES AGENTS ADSORBANTS

Les agents adsorbants sont des composés de poids moléculaire élevé, non digérés par l'animal. La liaison entre agents adsorbants et mycotoxines dépend des propriétés électrostatiques et hydrophobiques de l'agent adsorbant et des mycotoxines cibles mais aussi de leur géométrie (plane ou non-plane) (EFSA, 2009). Ainsi les agents adsorbants ont une efficacité différente en fonction des mycotoxines présentes.

### 2.1. Le charbon actif

Le charbon actif, est un matériau issu de la pyrolyse de coco ou de chêne. Il présente une grande surface spécifique (300 à 3500 m<sup>2</sup>/g) qui lui confère un fort pouvoir adsorbant. Les résultats d'adsorption obtenus via la méthode statique à concentration unique varient de 52 à 100% en fonction des conditions et des mycotoxines testées (Tableau 1). Dans le modèle dynamique TIM (Avantaggiato *et al.*, 2003 et 2004), 1% ou de 2% de charbon actif ont permis de réduire, respectivement, l'absorption intestinale de DON de 29 à 45%, de NIV de 23 à 41% et de ZEA de 45 à 84% (Tableau 1). Néanmoins, le charbon actif capte également les petites molécules comme les vitamines (Vekiru *et al.*, 2007), c'est pourquoi il n'est plus recommandé de compléter l'aliment avec du charbon actif.

### 2.2. Les argiles (aluminosilicates)

Les aluminosilicates sont notamment composées de smectites et zéolites. Les smectites sont des minéraux appartenant au sous-groupe des phyllosilicates (structure en feuillets), incluant les bentonites et montmorillonites. Les zéolites sont des minéraux appartenant au sous-groupe des tectosilicates (structure tubulaire), incluant la clinoptilolite. Les études bibliographiques réalisées montrent que toutes les argiles n'ont pas la même efficacité d'adsorption

en aflatoxines (Tableau 1). L'efficacité d'adsorption semble corrélée au pourcentage de fraction minérale et à l'espace interfoliaire de la smectite testée (De Mil *et al.*, 2015), qui limite leur spectre d'adsorption aux aflatoxines, de structure plane à la différence des autres mycotoxines, plus volumineuses.

### 2.3. Les argiles modifiées

Les stratégies permettant d'augmenter l'espace interfoliaire sont les seules à permettre une amélioration du spectre d'adsorption. L'utilisation de groupements alkyles pour augmenter l'espace interfoliaire est possible (Jaynes et Zartman, 2011), néanmoins leur utilisation est interdite en Europe. Une stratégie basée sur l'intégration d'extraits d'algues entre les feuillets de smectites permet d'augmenter l'espace interfoliaire de 1,25 à 4,88 nm. L'ajout de 0,1% de ce matériau argile-algue dans le modèle dynamique TIM a permis de réduire l'absorption intestinale de DON de 40% et de FB1 de 60% sans affecter la biodisponibilité des nutriments (Demais et Havenaar, 2006) alors qu'une smectite simple ne les adsorbe pas (Avantaggiato *et al.*, 2004).

### 2.4. Les parois de levures

Les parois de levure sont des agents adsorbants organiques issus de *Saccharomyces cerevisiae*, pouvant interagir avec les mycotoxines (Yiannikouris *et al.*, 2006). Les résultats obtenus avec les parois de levures sont très variables en fonction de leur origine et de leur composition. En 2012, Fruhauf *et al.* ont obtenus des résultats variant de 10 à 60% d'adsorption de ZEA, sans toutefois trouver de corrélation entre leur composition et leur efficacité d'adsorption. Par ailleurs, l'efficacité des parois de levure contre les aflatoxines est très controversée (Tableau 1), celle-ci semblant plus dépendante des minéraux ajoutés aux parois de levures qu'à ces dernières elles-mêmes (Baptista *et al.*, 2004 ; Fruhauf *et al.*, 2012). Enfin, l'efficacité des parois de levures contre le DON et les fumonisines (FUM) semble très limitée (Tableau 1).

## 3. EFFICACITE IN VITRO DES AGENTS BIOTRANSFORMANTS

Les agents biotransformants sont des enzymes ou des microorganismes d'origine bactérienne, fongique ou issus de levures capables de dégrader des mycotoxines en métabolites peu ou pas toxiques pour l'animal.

### 3.1. Bio transformation des aflatoxines

L'AFB1 fut la première mycotoxine pour laquelle un agent biotransformant a été identifié : *Flavobacterium aurantiacum* (Ciegler *et al.*, 1966). Depuis, de nombreux autres microorganismes ont été identifiés (Wu *et al.*, 2009), toutefois les agents adsorbants sont privilégiés car ils sont plus faciles d'utilisation et moins onéreux.

### 3.2. Biotransformation des trichothécènes

*Eubacterium sp.* (DSM 11798) est une bactérie Gram positive anaérobie produisant une enzyme capable de transformer les trichothécènes en métabolites non toxiques comme le DOM-1 par exemple (Binder *et al.*, 1997 et 1998 ; Fuchs *et al.*, 2002 ; Hahn *et al.*, 2015). Cette souche est aujourd'hui enregistrée comme additif en Union Européenne. Néanmoins, les résultats disponibles sont très variables du fait de l'importance des conditions anaérobies nécessaires, qui ne sont pas toujours respectées, surtout *in vivo* (Döll *et al.*, 2004 ; Avantaggiato *et al.*, 2004 ; Dänicke et Döll, 2010).

### 3.3. Biotransformation des zéaralénones et ochratoxines

Différents microorganismes ont été identifiés pour leur capacité à transformer l'ochratoxine A (OTA) et la ZEA. En 2003, Schatzmayr *et al.* ont identifié la souche *Trichosporon mycotoxinivorans* (MTV 115) comme la plus efficace *in vitro* et *in vivo* pour détoxifier l'OTA. La ZEA peut être métabolisée par voie fongique (Richardson *et al.*, 1985 ; Minervini *et al.*, 2005), bactérienne (Schatzmayr *et al.*, 2006 ; Vekiru *et al.*, 2010 ; El-Sharkawy et Abul-Hajj, 1988) ou enzymatique (Takahashi-Ando *et al.*, 2002) en différents métabolites non toxiques. Récemment, sur 4 produits biotransformants testés, seul un produit a efficacement biotransformé la ZEA en métabolite non toxique (ZOM-1), en conditions aérobies ou anaérobies (Hahn *et al.*, 2015). Ainsi, les études sur la biotransformation de la ZEA sont limitées et controversées à la différence des nombreuses études sur l'adsorption de la ZEA.

### 3.4. Biotransformation des fumonisines

Très peu d'études de biotransformation des FUM sont disponibles. En 2010, Heintz *et al.* ont proposé un schéma de dégradation de la FB1 en FB1 hydrolysée (HFB1) par la bactérie *Sphingopyxis sp.* (MTA 144), via l'action consécutive de deux enzymes. Néanmoins à ce jour la non toxicité de l'HFB1 est discutée et son absorption intestinale semble plus élevée que celle de la molécule mère, la FB1 (Cirilini *et al.*, 2014). Une souche d'estérase est aujourd'hui enregistrée comme additif en Union Européenne.

## CONCLUSION

L'étude d'agents détoxifiants en mycotoxines nécessite de bien considérer les méthodes utilisées. A ce jour très peu d'agents ont pu démontrer un large spectre d'efficacité alors que les poly-contaminations en mycotoxines sont beaucoup plus fréquentes que les mono-contaminations dans l'aliment.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Avantaggiato G., Havenaar R., Visconti A., 2003. Food Chem. Toxicol., (41), 1283-1290.
- Avantaggiato G., Havenaar R., Visconti A., 2004. Food Chem. Toxicol., (42), 817-824.
- Avantaggiato G., Havenaar R., Visconti A., 2007. J. Agricult. Food Chem., (55), 4810-4819.
- Baptista A.S., Horii J., Calori-Domingues M.A., Micotti da Gloria E., Salgado J.M., Vizioli M.R., 2004. World J. Microbiol. Biotechnol., (20), 475-481.
- Biehl M., Prelusky D., Koritz G.D., Hartin K.E., Buck W.B., Trenholm H.L., 1993. Toxicol. Appl. Pharmacol., (121), 152-159.
- Binder J., Horvath E.M., Schatzmayr G., Ellend N., Danner H., Krska R., Braun R., 1997. Cereal Res. Commun., (25), 343-346.
- Binder E.M., Binder J., Ellend N., Schaffer E., Krska R., Braun R., 1998. In: M. Miraglia, H. P. van Egmond, C. Brera & J. Gilbert (edit.), Alaken, Fort Collins, pp279-285.
- Bullerman L., Bianchini A., 2007. Int. J. Food Microbiol., (119), 140-6.
- Ciegler A., Lillehoj E.B., Peterson R.E., Hall H.H., 1966. Appl. Microbiol., (14), 934-9.
- Cirlini M., Hahn I., Varga E., Dall'Asta M., Falavigna C., Calani L., Berthiller F., Del Rio D., Dall'Asta C., 2014. Int. J. Food Sci. Nutr., (66), 98-103.
- Dänicke S., Döll S., 2010. Food Chem. Toxicol., (48), 152-158.
- Diaz D.E., Hagler W.M., Hopkins B.A., Whitlow L.W., 2002. Mycopathologia, (156), 223-226.
- Demais H., Havenaar R., 2006. The World Mycotoxin Forum. Cincinnati, pp. 89.
- De Mil T., Devreese M., De Baere S., Van Ranst E., Eeckhout M., De Backer P., Croubels S., 2015. Toxins, (7), 21-33.
- Döll S., Dänicke S., Valenta H., Flachowsky G., 2004. Arch. Anim. Nutr., (58), 311-324.
- EFSA. 2009. CFP/EFSA/FEEDAP/2009/01.
- El-Sharkawy S., Abul-Hajj Y.J., 1988. Xenobiotica, (18), 365-371.
- Eriksen G.S., Pettersson H., Lindberg J.E., 2003. Arch. Anim. Nutr., (57), 335-345.
- Fuchs E., Binder E.M., Heidler D., Krska R., 2002. Food Addit. Contam., (19), 379-386.
- Fruhauf S., Schwartz H., Ottner F., Krska R., Vekiru E., 2012. Food Addit. Contam., (29), 217-231.
- Galvano, F., Pietri, A., Bertuzzi, T., Piva, A., Galvano, M., Chies, L., Galvano, M., 1998. J. Food Protect., (61), 469-475.
- Grant P.G., Phillips T.D., 1998., J. Agr. Food Chem., (46), 599-605.
- Hahn I., Kunz-Vekiru E., Twarużek M., Grajewski J, Krska R. and Berthiller F., 2015. Food Additives and Contaminants: Part A, (32), 922-933.
- Hedman R., Pettersson H., Lindberg J.E., 1997. Arch. Anim. Nutr., (50), 13-24.
- Heinl S., Hartinger D., Thamhesl M., Vekiru E., Krska R., Schatzmayr G., Moll W.D., Grabherr R., 2010. J Biotechnol., (145), 120-9.
- Jaynes F., Zartman R.E., 2011. Toxins., (3), 551-565.
- Lemke S.L., Ottinger S.E., Mayura K., Ake C.L., Pimpukdee K., Wang N., Phillips T.D., 2001. Anim. Feed Sci. Tech., (93), 17-29.
- Lopez-Garcia R., Park D.L., 1998. In: D. Bhatnagar and S. Sinha (edit.), Marcel Dekker, New York, pp407-433.
- Minervini F., Giannoccaro A., Cavallini A., Visconti A., 2005. Toxicol. Lett., (159), 272-283.
- Olsen M., Malmlof H., Pettersson H., Sandholm K., Kiessling K.H., 1985. Acta Pharmacol. Tox., (56), 239-243.
- Piotrowska M., Masek A., 2015. Toxins, (7), 1151-1162.
- Prelusky D.B., Hartin K.E., Trenholm H.L., Miller J.D., 1988. Fund. Appl. Toxicol., (10), 276-286.
- Ramos A.J., Hernandez E., 1996. Anim. Feed Sci. Tech., (62), 263-269.
- Richardson K.E., Hagler W.M., Mirocha C.J., 1985. J. Agr. Food Chem., (33), 862-866.
- Rotter R.G., Frohlich A.A., Marquardt R.R., 1989. Can. J. Anim. Sci., (53), 449-453.
- Sabater-Vilar M., Malekinejad H., Selman M.H.J., van der Doelen M.A.M., Fink-Gremmels J., 2007. Mycopathologia, (163), 81-90.
- Schatzmayr G., Heidler D., Fuchs E., Nitsch S., Mohnl M., Täubel M., Loibner A.P., Braun R., Binder E.M., 2003. Mycotoxin Res., (19), 124-8.
- Schatzmayr G., Zehner F., Täubel M., Schatzmayr D., Klimitsch A., Loibner A.P., Binder E.M., 2006. Mol. Nutr. Food Res., (50), 543 - 551.
- Takahashi-Ando N., Kimura M., Kakeya H., Osada H., Yamaguchi I., 2002. Biochem. J., (365), 1-6.
- Tangni E.K., 2003. Thèse de doctorat. Université catholique de Louvain, Louvain, Belgique.
- Tomasevic-Canovic M., Dakovic, A., Rottinghaus G., Matijasevic S., Duricic M., 2002. Micropor. Mesopor. Mat., (61), 173-180.
- Vekiru E., Fruhauf S., Sahin M., Ottner F., Schatzmayr G., Krska R., 2007. Mycotoxin Res., (23), 27-33.

- Vekiru E., Hametner C., Mitterbauer R., Rechthaler J., Adam G., Schatzmayr G., Krska R., Schuhmacher R., 2010. Appl. Environ. Microb., (76), 2353–2359.
- Vekiru E., Fruhauf S., Rodriguez I., Ottner F., Krska R., Schatzmayr G., Ledoux D.R., Rottinghaus G.R., Bermudez A.J., 2015. World Mycotoxin J., (8), 477 – 488.
- Versantvoort C.H.M., Oomen A.G., Van de Kamp E., Rempelberg C.J.M., Sips A.J.A.M., 2005. Food Chem. Toxicol., (43), 31-40.
- Wu Q., Jezkova A., Yuan Z., Pavlikova L., Dohnal V., Kuca K., 2009. Drug Metab. Rev., (41), 1–7.
- Yiannikouris A., François J., Poughon L., Dussap C.G., Bertin G., Jeminet G., Jouany J.P., 2004. J. Food Protect., (67), 1195–1200.
- Yiannikouris A., André G., Poughon L., François J., Dussap C.G., Jeminet G., Bertin G., Jouany J.P., 2006. Biomacromolecules., (7), 1147-1155.

**Tableau 1.** Efficacité des agents adsorbants à fixer différentes mycotoxines (/ : absence de donnée). Références : A-Avantaggiato *et al.*, 2003 ; B-Avantaggiato *et al.*, 2004 ; C-Avantaggiato *et al.*, 2007 ; D-Demais et Havenaar, 2006 ; E-Diaz *et al.*, 2002 ; F-Döll *et al.*, 2004 ; G-Fruhauf *et al.*, 2012 ; H-Galvano *et al.*, 1998 ; I-Lemke *et al.*, 2001 ; J-Piotrowska et Masek, 2015 ; K-Rotter et Frohlich, 1989 ; L-Sabater-Vilar *et al.*, 2007 ; M-Tangni, 2003 ; N-Tomasevic-Canovic *et al.*, 2002 ; O-Vekiru *et al.*, 2007 ; P-Vekiru *et al.*, 2015.

| Type d'agent adsorbant                  | Méthode de test/unité                            | Aflatoxines                                | Ochratoxines               | Zéaralénone                   | Déoxynivalénol                | Fumonisines            |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------|
| <b>Charbon actif</b>                    | Statique à concentration unique (% d'adsorption) | 88 à 99,9%<br>(Réf. E, I, O <sup>2</sup> ) | 90 à 99%<br>(Réf. C, H, K) | 74,5 à 100%<br>(Réf. A, F, G) | 52 à 95%<br>(Réf. B, F, H, M) | 100%<br>(Réf. B)       |
| <b>Charbon actif</b>                    | Dynamique (TIM) (% d'absorption intestinale)     | /                                          | /                          | -45 à -84%<br>(Réf. A)        | -29 à -45%<br>(Réf. B)        | /                      |
| <b>Smectites</b>                        | Statique à concentration unique (% d'adsorption) | 50 à 100%<br>(Réf. C, E, O, P)             | 6 à 17%<br>(Réf. C)        | 13 à 49%<br>(Réf. A, F)       | 1 à 9%<br>(Réf. B, F)         | 0 à 100%<br>(Réf. B)   |
| <b>Smectite modifiée à base d'algue</b> | Dynamique (TIM) (% d'absorption intestinale)     | /                                          | /                          | /                             | -7 à -40%<br>(Réf. D)         | -52 à -60%<br>(Réf. D) |
| <b>Zéolite</b>                          | Statique à concentration unique (% d'adsorption) | 8,3 à 99%<br>(Réf. C, I, N, P)             | 20 à 59%<br>(Réf. C, M, N) | 17 à 54%<br>(Réf. A)          | 1 à 3%<br>(Réf. B, N)         | 6 à 59%<br>(Réf. B)    |
| <b>Parois de levure</b>                 | Statique à concentration unique (% d'adsorption) | 29 à 96,6%<br>(Réf. E)                     | 7 à 62%<br>(Réf. C, J)     | 0 à 88%<br>(Réf. A, F, L)     | 0 à 24%<br>(Réf. B, L)        | 2 à 50%<br>(Réf. B)    |