

REDUCTION DE L'EXPOSITION AUX MYCOTOXINES AVEC UN DECONTAMINANT A BASE D'ALGUES ET D'ARGILE DANS UNE ETUDE TOXICOCINETIQUE CHEZ LE POULET DE CHAIR

Gallissot Marie¹, Rutjens Sofie², Rodriguez Maria Angeles¹, Devreese Mathias²

¹OLMIX GROUP – ZA du Haut du Bois – 56580 BREHAN,

²UNIVERSITE DE GAND, Département de pathobiologie, pharmacologie et médecine
zoologique, Laboratoire de pharmacologie et toxicologie - Salisburylaan 133 - B-9820
MERELBEKE (BELGIQUE)
mgallissot@olmix.com

RÉSUMÉ

Les aliments pour volaille sont souvent contaminés par plusieurs mycotoxines qui peuvent altérer la santé et les performances des animaux. L'incorporation de décontaminants en mycotoxines dans les aliments peut limiter ces effets néfastes. L'objectif de cette étude était de tester, dans un modèle toxicocinétique validé, la capacité d'un décontaminant à base d'algues et d'argile à réduire l'exposition des poulets de chair à une polycontamination en mycotoxines (déoxynivalénol – DON, ochratoxine A – OTA et aflatoxine B1 – AFB1). Après 12 heures de jeûne, 16 poulets mâles (environ 1,6 kg PV) ont reçu un bolus contenant soit les mycotoxines seules (n=8), soit les mycotoxines et le décontaminant (n=8) (2,0 mg AFB1/kg PV ; 0,5 mg DON/kg PV ; 0,25 mg OTA/kg PV ; 2,5 g décontaminant/kg d'aliment). Des prises de sang ont été effectuées sur les 16 poulets entre 0 h (avant administration du bolus) et 24 h post-administration. Le DON-3-sulfate (DON-3S, principal métabolite du DON chez le poulet), l'OTA et l'AFB1 ont été quantifiés dans le plasma par UHPLC-MS/MS. La surface sous la courbe de 0h au dernier point supérieur à la limite de quantification ($SSC_{0 \rightarrow t}$) a été calculée. Le décontaminant a réduit significativement l' $SSC_{0 \rightarrow 12h}$ du DON-3S ($P=0.012$), l' $SSC_{0 \rightarrow 24h}$ de l'OTA ($P<0.001$) et l' $SSC_{0 \rightarrow 8h}$ de l'AFB1 ($P<0.001$). La biodisponibilité orale relative ((moyenne $SSC_{0 \rightarrow t}$ mycotoxine + décontaminant / moyenne $SSC_{0 \rightarrow t}$ mycotoxine) * 100) a été réduite avec le décontaminant de 39,9%, 44,3% et 64,1% respectivement pour le DON, l'OTA et l'AFB1. En conclusion, le décontaminant à base d'algues et d'argile testé réduit l'absorption orale de plusieurs mycotoxines administrées simultanément chez le poulet de chair.

ABSTRACT

Reduction of mycotoxin exposure with an algae- and clay-based decontaminant in a toxicokinetic study on broiler chickens

Poultry feed is often contaminated with several mycotoxins that can impair animal health and performance. The incorporation of mycotoxin decontaminants in the feed can limit these adverse effects. The objective of this study was to test, in a validated toxicokinetic model, the ability of an algae- and clay-based decontaminant to reduce the exposure of broiler chickens to mycotoxin polycontamination (deoxynivalenol – DON, ochratoxin A – OTA and aflatoxin B1 – AFB1). Sixteen male chickens (approximately 1.6 kg BW) were fasted for 12 h and then given a bolus containing either the mycotoxins alone (n=8) or the mycotoxins and the decontaminant (n=8) (2.0 mg AFB1/kg BW, 0.5 mg DON/kg BW, 0.25 mg OTA/kg BW, 2.5 g decontaminant/kg feed). Blood samples were taken from the 16 chickens between 0 h (before bolus administration) and 24 h post-administration. DON-3-sulfate (DON-3S, major metabolite of DON in chickens), OTA and AFB1 were quantified in plasma using UHPLC-MS/MS. The area under the curve from 0 h to the last point above the limit of quantification ($AUC_{0 \rightarrow t}$) was calculated. The decontaminant significantly reduced the $AUC_{0 \rightarrow 12h}$ of DON-3S ($P=0.012$), the $AUC_{0 \rightarrow 24h}$ of OTA ($P<0.001$) and the $AUC_{0 \rightarrow 8h}$ of AFB1 ($P<0.001$). The relative oral bioavailability ((mean $AUC_{0 \rightarrow t}$ mycotoxin + decontaminant/mean $AUC_{0 \rightarrow t}$ mycotoxin) * 100) was reduced with the decontaminant by 39.9%, 44.3% and 64.1%, for DON, OTA and AFB1 respectively. In conclusion, the algae- and clay-based decontaminant tested reduces the oral absorption of several mycotoxins administered in a single oral bolus to broiler chickens.

INTRODUCTION

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par des moisissures, principalement des genres *Fusarium*, *Aspergillus* et *Penicillium*. La présence simultanée de plusieurs mycotoxines dans les céréales est fréquente (Gruber-Dorninger *et al.*, 2019), et peut affecter la santé et les performances des volailles (Osselaere *et al.*, 2013). En Europe, certaines mycotoxines font l'objet d'une réglementation (2002/32/CE) ou de recommandations (2006/576/CE) pour limiter le risque lié à leur présence dans l'alimentation. Néanmoins, de récentes études ont montré que le poulet de chair pouvait être affecté par les mycotoxines telles que le déoxynivalénol (DON) même à des niveaux inférieurs aux recommandations européennes (Santos et van Eerden, 2021 ; EFSA 2023). Il est possible d'incorporer des décontaminants en mycotoxines dans les aliments afin de limiter les effets néfastes des mycotoxines. Néanmoins, selon les recommandations de l'EFSA, il est nécessaire de tester l'efficacité de ces décontaminants *in vivo*, avec des dispositifs expérimentaux spécifiques. En effet, les études *in vivo* évaluant uniquement les performances zootechniques sont jugées insuffisantes (Boudergue *et al.*, 2009, EFSA, 2010). Un produit à base de macroalgues et d'argile, développé par Olmix Group, a démontré sa capacité à limiter les effets néfastes de très fortes doses de mycotoxines administrées individuellement chez le poulet de chair, notamment sur les performances zootechniques et sur certains paramètres physiologiques spécifiques (Rodriguez *et al.*, 2017). Un modèle toxicocinétique permettant de suivre l'absorption de plusieurs mycotoxines simultanément a par ailleurs été développé (Devreese *et al.*, 2012). L'objectif de la présente étude était de tester, dans ce modèle toxicocinétique validé, la capacité du décontaminant à base d'algues et d'argile à réduire l'exposition des poulets de chair à une co-contamination en mycotoxines (DON, ochratoxine A – OTA et aflatoxine B1 – AFB1).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Schéma expérimental

Après une période d'acclimatation d'une semaine, seize poulets mâles (Ross 308) d'environ 1,6 kg PV ont été mis à jeun pendant 12 h, puis ont reçu un bolus contenant soit les mycotoxines seules (n=8), soit les mycotoxines et le décontaminant, prémélange d'additif à base d'argile et d'algues (commercialisé sous le nom MT.X+, Olmix, France) (n=8) (0,5 mg DON/kg PV ; 0,25 mg OTA/kg PV ; 2,0 mg AFB1/kg PV ; 2,5 g décontaminant/kg d'aliment). Les teneurs en mycotoxines ont été choisies en fonction des recommandations européennes (DON) et des niveaux nécessaires à la mesure quantitative des mycotoxines dans le plasma (OTA, AFB1, Lauwers *et al.*, 2019). Des prises de sang ont été effectuées dans la veine

métatarsienne plantaire superficielle sur les 16 poulets entre 0 h (avant administration du bolus) et 24 h post-administration. Les échantillons de sang ont été centrifugés (± 3000 g, 10 minutes, 4°C), puis le plasma a été stocké à -15°C jusqu'à analyse.

1.2. Analyse des mycotoxines

Le DON-3-sulfate (DON-3S, principal métabolite du DON chez le poulet (Guerre, 2015)), l'OTA et l'AFB1 (Lauwers *et al.*, 2019) ont été quantifiés dans le plasma par UHPLC-MS/MS. Du fait de l'absence de standard, l'analyse de DON-3S est semi-quantitative. La courbe toxicocinétique de la concentration plasmatique en mycotoxines a été obtenue par analyse non-compartmentale (Phoenix, Pharsight Corporation, USA). La surface sous la courbe de 0h au dernier point supérieur à la limite de quantification (LDQ) ($SSC_{0 \rightarrow t}$), la concentration plasmatique maximale (C_{max}) et le temps à la concentration plasmatique maximale (T_{max}) ont été calculés. La biodisponibilité orale relative ((moyenne $SSC_{0 \rightarrow t}$ mycotoxine + décontaminant / moyenne $SSC_{0 \rightarrow t}$ mycotoxine) * 100) a été utilisée comme indicateur d'efficacité du décontaminant.

1.3. Statistiques

L'effet du décontaminant a été évalué en comparant les paramètres toxicocinétiques des poulets témoin et des poulets test. Un test T pour échantillons indépendants réalisé avec SPSS (version 24.0, IBM, Etats-Unis) sur l' $SSC_{0 \rightarrow t}$, la C_{max} et le T_{max} avec un risque $\alpha=0,05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Déoxynivalénol

La concentration plasmatique du DON-3S dans le temps est présentée en Figure 1 et les données toxicocinétiques dans le Tableau 1. L' $SSC_{0 \rightarrow 12h}$ moyenne du DON-3S a été réduite avec le décontaminant ($P=0.012$). Ainsi, la biodisponibilité orale relative du DON-3S a été réduite de 39,9% avec le décontaminant. Ces résultats concordent avec des résultats obtenus dans un modèle *in vitro* dynamique (Demais et Havenaar, 2006), dans lequel la supplémentation de l'aliment avec le décontaminant algues-argile a permis de réduire de 40% l'absorption intestinale de DON.

Figure 1. Concentration plasmatique du DON-3S dans le temps, avec ou sans décontaminant

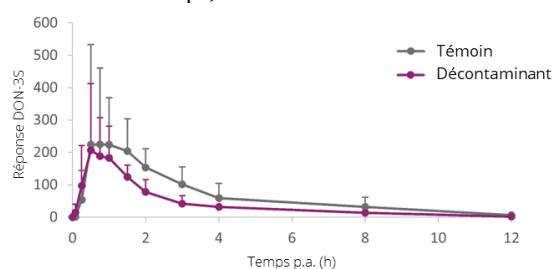


Tableau 1. Paramètres toxicocinétiques du DON-3S chez le poulet de chair, avec ou sans décontaminant (** $P \leq 0,01$; ¹Mesure semi-quantitative)

	Témoin	Décontaminant
SSC _{0→12h} (réponse.h ¹)	760,87 ± 256,36	457,33** ± 57,26
C _{max} (ng/mL)	346,10 ± 252,01	270,07 ± 157,39
T _{max} (h)	1,31 ± 0,83	0,91 ± 0,41
Biodisponibilité orale relative (%)	100,0	60,1

2.2. Ochratoxine A

La concentration plasmatique de l'OTA dans le temps est présentée en Figure 2 et les données toxicocinétiques dans le Tableau 2. L'SSC_{0→24h} de l'OTA a été réduite avec le décontaminant ($P < 0.001$). Ainsi, la biodisponibilité orale relative de l'OTA a été réduite de 44,3% avec le décontaminant. Des résultats similaires ont été obtenus chez le porc, dans une étude toxicocinétique réalisée selon la méthode décrite par Devreese *et al.* (2012) : l'SSC_{0→6h} de l'OTA a été significativement réduite par la technologie algues-argile (données non publiées, 2019).

Figure 2. Concentration plasmatique de l'OTA dans le temps, avec ou sans décontaminant

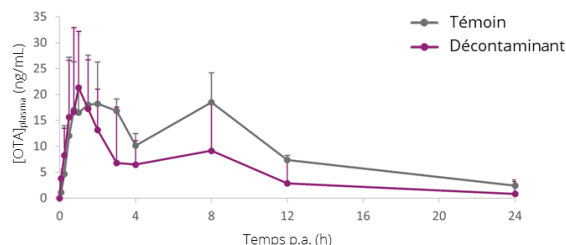


Tableau 2. Paramètres toxicocinétiques de l'OTA chez le poulet de chair, avec ou sans décontaminant (***) $P < 0,001$)

	Témoin	Décontaminant
SSC _{0→24h} (h.ng/mL)	205,99 ± 45,11	114,74*** ± 26,41
C _{max} (ng/mL)	31,45 ± 10,02	26,48 ± 11,46
T _{max} (h)	3,28 ± 3,05	1,75 ± 2,74
Biodisponibilité orale relative (%)	100,0	55,7

2.3. Aflatoxine B1

La concentration plasmatique de l'AFB1 dans le temps est présentée en Figure 3 et les données toxicocinétiques dans le Tableau 3. L'SSC_{0→8h} de

l'AFB1 a été réduite avec le décontaminant ($P < 0.001$). Ainsi, la biodisponibilité orale relative de l'AFB1 a été réduite de 64,1% avec le décontaminant. La concentration maximale a également été réduite avec le décontaminant (-76%, $P < 0,05$). Cette C_{max} a par ailleurs été atteinte plus tardivement avec le décontaminant ($P < 0,05$). Ces résultats sont en accord avec les attentes liées à l'utilisation d'argile de type bentonite dans la réduction de la biodisponibilité de l'AFB1 (Règlement d'exécution (UE) no 1060/2013).

Figure 3. Concentration plasmatique de l'AFB1 dans le temps, avec ou sans décontaminant

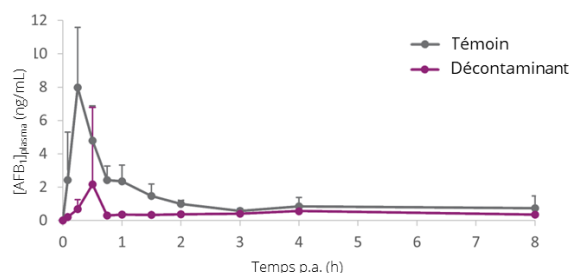


Tableau 3. Paramètres toxicocinétiques de l'AFB1 chez le poulet de chair, avec ou sans décontaminant (***) $P < 0,001$; *) $P < 0,05$)

	Témoin	Décontaminant
SSC _{0→8h} (h.ng/mL)	9,44 ± 2,60	3,39*** ± 0,99
C _{max} (ng/mL)	8,65 ± 2,54	2,07*** ± 4,14
T _{max} (h)	0,26 ± 0,11	3,44* ± 3,41
Biodisponibilité orale relative (%)	100,0	35,9

CONCLUSION

En conclusion, le décontaminant à base d'algues et d'argile testé réduit l'absorption orale de plusieurs mycotoxines (déoxynivalénol, ochratoxine A et aflatoxine B1) administrées en une seule fois chez le poulet de chair. Ces résultats concordent avec des résultats obtenus précédemment dans différents modèles expérimentaux, pour les trois mycotoxines testées individuellement et soulignent l'intérêt du décontaminant testé pour lutter contre la présence simultanée de plusieurs mycotoxines dans l'aliment. Ces résultats confirment en outre l'intérêt du décontaminant à base d'algues et d'argile pour lutter contre le DON, qui compte parmi les mycotoxines les plus à risque en production avicole en Europe.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Demais H., Havenaar R., 2006. In: Proceedings of the 4th World Mycotoxin Forum. Cincinnati, pp89.
- Devreese M., Osselaere A., Goossens J., Vandenbroucke V., De Baere S., Eeckhout M., De Backer P., Croubels S., 2012. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess 29(7):1101-7.
- Devreese M., De Baere S., De Backer P., Croubels S., 2012. J. Chrom. A 1257, 75-80.
- Boudergue C., Burel C., Dragacci S., Favrot M-C., Fremy J-M., Massimi C., Prigent P., Debongnie P., Pussemier L., Boudra H., Morgavi D., Oswald I., Perez A., Avantaggiato G., 2009. EFSA Supporting Publication 6(9):EN-22, 192 pp.
- EFSA Panel FEEDAP, 2010. EFSA Journal 8(7):1693.
- EFSA Panel CONTAM, 2023. EFSA Journal, 21(2):7806.
- Gruber-Dorninger C., Jenkins T., Schatzmayr G., 2019. Toxins 11, 375.
- Guerre P., 2015. Toxins (Basel), (6), 2289–2305.
- Lauwers M., De Baere S., Letor B., Rychlik M., Croubels S., Devreese M., 2019. Toxins 11(3):171.
- Osselaere A., Santos R.R., Hautekiet V., De Backer P., Chiers K., 2013. PLoS ONE 8(7): e69014.
- Rodriguez M.A., Laurain J., Garcia Suarez M., David S., 2017. In: 12^e Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras. Tours, pp636.
- Santos R.R., Van Eerden E., 2021. Toxins 13:170.