

Des biomarqueurs pour prouver l'efficacité d'additifs à contrer les effets du déoxynivalénol et des fumonisines

Christian TENIER (1) et Karin NAERHER (2)

(1) BIOMIN France, F-22440 Ploufragan, France

(2) BIOMIN Holding, G-3131 Getzersdorf, Autriche

karin.naerher@biomin.net

Trends and advanced strategies in mycotoxin risk management – biomarker studies in pigs

In farm animals, contamination of cereals and derived products with Fusarium toxins causes feed-borne intoxications; pigs especially are very sensitive to such substances. Within the annual BIOMIN Mycotoxin survey 2014, European results showed a high prevalence of deoxynivalenol (DON) (66%) and fumonisins (FUM) (56%) with average contamination levels of positive samples of 1864 ppb and 1019 ppb, respectively. These data highlight the importance of mycotoxin deactivating products to counteract their negative effects. Biomarker studies are requested by authorities like EFSA for a successful EU authorization in order to demonstrate the efficacy of mycotoxin deactivating products *in vivo*. Biomin® BBSH 797 (Genus novus of Coriobacteriaceae family) detoxifies DON to the non-toxic metabolite de-epoxy-deoxynivalenol (DOM-1) in the gastrointestinal tract of pigs. FUMzyme® is a fumonisin esterase which degrades fumonisin B₁ (FB₁) into the major non-toxic metabolite hydrolyzed fumonisin B₁ (HFB₁). The efficacy of this enzyme was shown in a second experiment by analyzing the biomarker of effects (sphinganine/sphingosine ratio) in serum and exposure FB₁ and HFB₁ contents in urine and feces. Hydrolysis of fumonisin B₁ positively affected the sphingolipid ratio in the blood serum of piglets, which was returned to normal in piglets receiving contaminated diets. During these trials, DON and FUM concentrations were significantly reduced. The studies should show the link between mycotoxin exposure to disease risk and also the effectiveness of additives to detoxify mycotoxins to non-toxic metabolites *in vivo*.

INTRODUCTION

La contamination des céréales par les fusariotoxines peut intoxiquer les porcs qui y sont très sensibles (Bracarense *et al.* 2011). Dans le rapport Mycotoxines BIOMIN 2014, les résultats européens montrent une prévalence élevée de déoxynivalénol (66%) et des fumonisines (56%), et des niveaux de contamination moyens (1864 et 1019 ppb, respectivement) dans les matières premières agricoles et les aliments finis. Ces données soulignent l'importance de disposer de produits contrant les effets toxiques des mycotoxines chez les animaux. Pour être autorisés, leur efficacité à désactiver *in vivo* les mycotoxines en métabolites non toxiques doit être démontrée par des études de biomarqueurs définis (EFSA, 2012).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Biotransformation du DON

Après une période d'adaptation de deux semaines suivant le sevrage, 24 porcelets parmi 124 ont été choisis en fonction de leur poids, de leur sexe et de leur état général. Ils ont été répartis de façon aléatoire dans trois groupes expérimentaux, chaque groupe étant composé de quatre mâles et de quatre femelles, d'un poids moyen de 14,2 kg. Le protocole expérimental est détaillé ci-dessous (tableau 1).

Tableau 1 – Protocole expérimental

Groupe de traitement	Nombre de porcs	Programme d'alimentation*			
		J1	J2	J3	J4
Témoin	8	A	A	A	A
DON	8		A + DON	A + DON	
DON + additif	8		A+DON+ BBSH	A+DON+BB SH	

*A : Aliment témoin ; DON (2000ppb DON) ; additif (1,7 x 10⁸ UFC/kg d'aliment)

Après cette phase d'adaptation où les porcelets ont été nourris à volonté, ils ont ensuite été rationnés pendant quatre jours, l'aliment étant distribué deux fois par jour, matin et soir. Les données d'alimentation ont été enregistrées manuellement.

Afin d'atteindre la concentration-cible de 2000 ppb de DON dans les rations, du blé naturellement contaminé en DON a été ajouté en quantités définies à J2 et J3 (tableau 1). Dans le groupe traitement, un additif a été ajouté à l'aliment à J2 et J3 à une dose de 1,7 x 10⁸ UFC/kg d'aliment (Biomin® BBSH 797, BIOMIN GmbH ; tableau 1).

Des échantillons sériques de tous les animaux ont été prélevés à J1, J3 et J4. Un premier échantillon (sans mycotoxines, sans additif) a été prélevé avant de nourrir les animaux avec les rations expérimentales (J1).

Un deuxième échantillon a été prélevé le matin du troisième jour (J3), 1h30 après le nourrissage des animaux et un dernier échantillon a été prélevé 24h après (J4). Les concentrations sériques en DON et DOM-1 ont été mesurées par LC-MS/MS par le laboratoire Christian Doppler (spécialisé dans l'étude du métabolisme des mycotoxines, IFA de Tulln, Autriche). Les résultats ont été traités statistiquement par ANOVA (SPSS 19.0).

1.2. Biotransformation des FUM

54 porcelets au sevrage, âgés de 28 jours, d'un poids initial moyen de 8,35 kg, ont été aléatoirement répartis par 6 dans 9 sous-groupes (3 mâles, 3 femelles). Ils ont été bouclés et pesés individuellement. Pendant les 42 jours de l'essai, les animaux ont eu accès librement à l'aliment et à l'eau. Une contamination de 2 ppm de fumonisines provenant d'aliment naturellement contaminé a été appliquée. Dans le groupe traité, un additif a été ajouté à une dose de 15 unités par kg d'aliment (FUMzyme®, BIOMIN GmbH ; tableau 2). Son efficacité a été déterminée en mesurant le ratio sphinganine/sphingosine (Sa/So) dans le sérum, à J42 (Grenier *et al.*, 2013). Les données ont été analysées par ANOVA et test de Tukey (IBM SPSS Statistics 19).

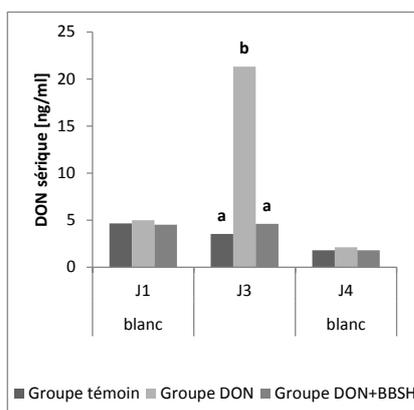
Tableau 2 – Protocole expérimental

Groupes de traitement	Nombre de porcs
Témoin	18
FUM (2000 ppb FUM)	18
FUM (2000 ppb FUM) + additif (15 U/kg d'aliment)	18

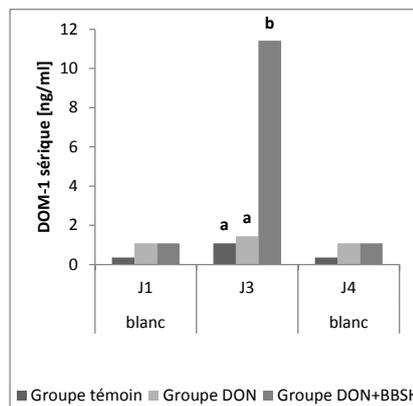
2. RESULTATS

2.1. Biotransformation du DON

L'additif a significativement réduit la concentration sérique du DON ($P < 0,05$), augmenté celle du DOM-1 ($P < 0,05$) prouvant son efficacité à détoxifier le DON *in vivo* (figures 1 et 2).



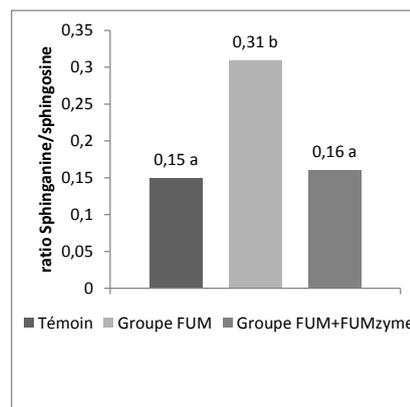
a, b: des lettres différentes indiquent une différence significative ($P < 0,05$)
Figure 1 – Concentration sérique en DON (ng/ml)



a, b: des lettres différentes indiquent une différence significative ($P < 0,05$)
Figure 2 – Concentration sérique en DOM-1 (b) (ng/ml)

2.2. Biotransformation des FUM

Les fumonisines bloquent la synthèse des sphingolipides complexes issus de la sphinganine (Sa) et de la sphingosine (So), s'accumulant dans les tissus et générant un stress oxydant, une peroxydation lipidique, des dommages cellulaires et une apoptose. Cette accumulation peut être utilisée comme biomarqueur d'une contamination en fumonisines. Le ratio Sa/So a été significativement amélioré ($P < 0,05$) dans le groupe traité démontrant l'efficacité de l'additif (figure 3).



a, b des lettres différentes indiquent une différence significative ($P < 0,05$)
Figure 3 – Ratio sérique sphinganine/sphingosine (Sa/So) à J42

CONCLUSION

Les biomarqueurs représentent un outil efficace, en conditions expérimentales, pour évaluer l'activité de dégradation *in vivo* des mycotoxines des produits testés. Les résultats de cette étude ont mis en évidence une réduction significative de la concentration sérique en DON avec Biomin® BBSH 797. Avec FUMzyme®, les fumonisines B1 ont été hydrolysées dans les fèces et l'urine, permettant un retour à la normale du ratio sérique Sa/So.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bracarense A- P. F.L., Lucioli J., Grenier B., Pacheco G.D., Moll W-F., Schatzmayr G., Oswald I.P., 2011, Individual and combined effects of subclinical doses of deoxynivalenol and fumonisins in piglets, British Journal of Nutrition, 1 – 11.
- EFSA, 2012. Guidance for the preparation of dossiers for technological additives. EFSA Journal 2012;10(1):2528.
- Grenier B., Bracarense A-P F. L., Schwartz H.E., Lucioli J., Cossalter A.M., Moll W-D., Schatzmayr G., Oswald I.P., 2013, Biotransformation Approaches To Alleviate the Effects Induced by Fusarium Mycotoxins in Swine, Agric. Food Chem. 2013, 61, 6711–6719.