

# Revue des stratégies de détoxification en mycotoxines de l'aliment

Julia LAURAIN et Maria Angeles RODRIGUEZ

Olmix Group, ZA du Haut du Bois, 56580 Bréhan, France

animalcare.pm@olmix.com

Avec la collaboration de Marie Gallissot.

## Revue des stratégies de détoxification en mycotoxines de l'aliment

Une stratégie 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* 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 effet 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.

## Review of mycotoxin detoxification strategies of feed

One strategy for reducing animals' exposure to mycotoxins is to decrease mycotoxin bioavailability by incorporating various mycotoxin-detoxifying agents in the feed. Facing the abundance of available candidate detoxifying agents, screening methods are needed to evaluate their efficacy and select appropriate materials. This article reviews the different screening methods and efficacy data of a variety of mycotoxin-detoxifying agents. The *in vitro* efficacy of mycotoxin-detoxifying agents can be tested either in static or dynamic conditions, with different types of buffers and under various pH conditions that greatly influence the results. Methods based on gastro-intestinal simulation represent most closely 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 to reduce the bioavailability of 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 to convert 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, even though poly-contamination is 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 en amont de la fabrication de l'aliment (Lopez-Garcia et Park, 1998) en agissant sur les variétés, les pratiques culturales, le contrôle de l'infection fongique, et le stockage. Une fois que l'aliment est contaminé en mycotoxines, l'élimination de celles-ci est quasiment impossible. En effet, les mycotoxines sont chimiquement et thermiquement stables, ce qui signifie que les procédés industriels classiques ne sont pas suffisants pour les éliminer. Par exemple, l'extrusion à des températures supérieures à 150°C est nécessaire pour réduire significativement des contaminations en zéaralénone et fumonisines, réduire modérément des contaminations en aflatoxines et réduire faiblement des contaminations en déoxynivalénol (Bullerman et Bianchini, 2007). L'élimination des grains moisissus ou cassés et des poussières grâce à un nettoyage par trémie permet de réduire significativement le niveau de contamination, mais peut parfois induire un taux important de grains rejetés. Une stratégie 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, qui permettent de réduire la quantité de mycotoxines absorbée qui atteint les organes via la circulation sanguine.

En fonction de leur mode d'action, ces agents détoxifiants agissent soit en réduisant la biodisponibilité des mycotoxines (agents adsorbants) soit en réduisant la toxicité des mycotoxines (agents biotransformants). D'un point de vue réglementaire, depuis 2009, ces agents sont classés parmi les « substances destinées à réduire la contamination des aliments pour animaux par les mycotoxines : substances permettant de supprimer ou de réduire l'absorption des mycotoxines, d'en favoriser l'excrétion ou d'en modifier le mode d'action », règlement CE 386/2009. Ils ne peuvent cependant être utilisés que sur des aliments respectant les réglementations en vigueur. A ce jour peu d'agents sont enregistrés dans cette catégorie alors que le marché en propose une grande variété, historiquement enregistrés dans d'autres catégories pour lesquels ils peuvent également être utilisés (exemple : antimottant pour certaines argiles). Face à cette abondance, des méthodes d'évaluation fiables de l'efficacité des agents détoxifiants sont nécessaires afin de sélectionner des agents efficaces. Les méthodes *in vivo* étant peu spécifiques, complexes et onéreuses, les méthodes *in vitro* sont largement privilégiées pour leur meilleure facilité de mise en œuvre. Cet article est une revue scientifique 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*

Comparer l'efficacité *in vitro* de différents agents détoxifiants est souvent difficile du fait des diverses méthodes d'évaluation utilisées. Les trois principales méthodes sont présentées ci-dessous.

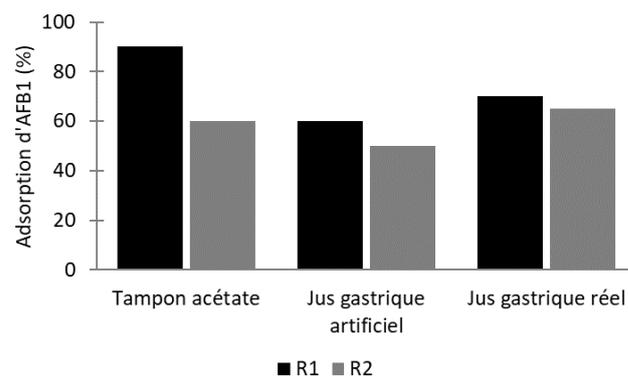
#### 1.1. La méthode statique à concentration unique

La méthode à concentration unique est la plus simple et la moins coûteuse à mettre en œuvre et donc la plus utilisée des

méthodes *in vitro*. Cette méthode 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 néanmoins pas standardisée, ainsi les résultats varient en fonction des conditions de test comme démontré par Vekiru *et al.* (2007 et 2015), comme par exemple selon les pH et solutions tampon utilisées (Tableau 1 et Figure 1). Le modèle statique à concentration unique aboutit souvent à une surestimation de la capacité d'adsorption (Versantvoort *et al.*, 2005).

**Tableau 1** – Pourcentage d'adsorption d'aflatoxine B1 (AFB1) en fonction du pH et de la solution tampon (extrait de Vekiru *et al.*, 2015)

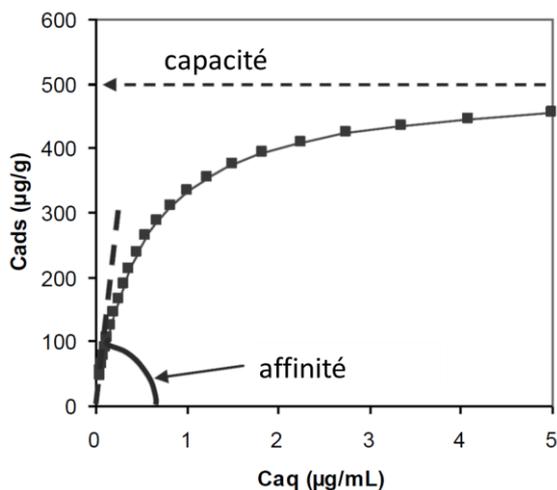
Agent adsorbant	Avec solution tampon			Avec jus gastrique
	pH 3,7	pH 5,0	pH 7,0	pH 3,7
Smectite R	96,4±0,5	92,7±0,3	97,2±0,1	49,8±0,4
Smectite C2	82,7±0,6	63,8±0,4	90,6±0,3	53,1±1,3
Smectite MB	95,2±0,2	96,0±0,2	98,2±0,1	66,3±1,7
Smectite B7	97,2±0,9	94,6±0,8	95,3±0,4	73,5±1,6
Smectite M5	93,6±0,3	89,8±0,2	94,8±0,2	63,5±0,8
Smectite M32	98,0±0,1	94,5±0,1	75,8±1,4	61,5±0,3
Smectite M34	98,0±0,2	93,5±0,2	94,1±0,2	57,4±0,7
Zéolite Z08	17,4±0,9	8,37±0,4	21,9±1,0	6,4±0,4



**Figure 1** - Pourcentage d'adsorption d'aflatoxine B1 (AFB1) par deux smectites (R1 et R2), dans des conditions différentes : tampon acétate, jus gastrique artificiel ou réel (extrait de Vekiru *et al.*, 2007)

#### 1.2. Les méthodes statiques à concentration variable (isothermes)

Les méthodes statiques à concentration variable, aussi appelées isothermes d'adsorption, sont utilisées pour évaluer le comportement des agents détoxifiants (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 à une température constante en conditions stables. Ce système prend en compte le fait que l'adsorption des mycotoxines est un phénomène réversible qui peut être caractérisé par un équilibre chimique. Le résultat des isothermes d'adsorption est représenté sous forme de courbe parmi différents modèles : Freundlich, Langmuir... (Figure 2). Cette méthode ne permet pas de comparer des agents entre eux mais permet de comprendre le comportement d'un agent détoxifiant en fonction de la concentration en mycotoxines.



**Figure 2** - Exemple de courbe d'isothermes (Cads = concentration adsorbée ; Ceq = concentration de la solution)

### 1.3. Les méthodes dynamiques

Les méthodes dynamiques, sous contrôle informatique, tel que le modèle gastro-intestinal TIM (TNO Intestinal Model, TNO, Pays-Bas) utilisé par Avantaggiato *et al.* (2003, 2004 et 2007), sont beaucoup plus représentatives de la dynamique gastro-intestinale des animaux *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, le duodénum, le jéjunum et l'iléon. La simulation de la digestion inclut la sécrétion de salive, de jus gastrique et pancréatique et de bile afin de reproduire les conditions de pH, la concentration en électrolytes et en enzymes digestives ainsi que la température corporelle et le mouvement péristaltique constituant le transit gastro-intestinal. Des membranes semi-perméables sont connectées au jéjunum et à l'iléon pour une dialyse continue des éléments digérés et libérés (fractions digestibles) et pour l'absorption d'eau. Comme les mycotoxines sont absorbées par diffusion passive, le système de dialyse est adapté à l'étude de leur biodisponibilité et de l'efficacité des agents détoxifiants (Avantaggiato *et al.*, 2004). En effet, les résultats d'absorption intestinale obtenus *in vitro* avec le TIM sont en accord avec les résultats obtenus *in vivo* sur l'absorption intestinale de déoxynivalénol, zéaralénone et nivalénol (Olsen *et al.*, 1985 ; Prelusky *et al.*, 1988 ; Biehl *et al.*, 1993 ; Hedman *et al.*, 1997, Eriksen *et al.*, 2003).

### 1.4. Impact du type de test

L'impact du type de test utilisé a été illustré par Avantaggiato *et al.* (2004) au cours de mesures réalisées avec du charbon actif. Avec la méthode des concentrations uniques, le charbon actif adsorbe jusqu'à 95% de déoxynivalénol alors que dans le modèle dynamique TIM, la captation de déoxynivalénol ne dépasse pas 45%. A la différence des modèles statiques, les études avec le modèle TIM sont beaucoup plus fidèles à la réalité *in vivo* (Avantaggiato *et al.*, 2003 et 2004 ; Blanquet *et al.*, 2004).

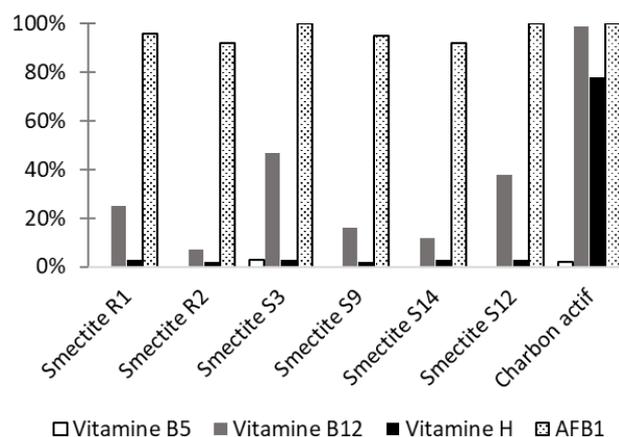
Cette revue regroupe les données obtenues par agent détoxifiant grâce à la méthode statique à concentration unique et à la méthode dynamique lorsqu'elles existent. Les méthodes statiques à concentration variable (isothermes) ne sont pas utilisées car elles permettent difficilement de comparer l'efficacité de différents agents entre eux.

## 2. EFFICACITE *IN VITRO* DES AGENTS ADSORBANTS

Les agents adsorbants sont des composés de poids moléculaire élevé, d'origine minérale ou organique, non digérés par l'animal et excrétés dans les fèces. Les agents adsorbants doivent être capables de fixer les mycotoxines sans les relarguer dans le tractus digestif afin que le complexe agent adsorbant-mycotoxine soit évacué dans les fèces. Le mode de liaison des agents adsorbants aux mycotoxines est basé sur les interactions intermoléculaires (liaisons hydrogènes, ioniques ou forces de van der Waals) dépendantes des propriétés électrostatiques et hydrophobiques de l'agent adsorbant et des mycotoxines cibles mais aussi de leur géométrie (plane ou non-plane) (EFSA, 2009).

### 2.1. Le charbon actif

Le charbon actif, aussi nommé charbon activé ou carbone activé, est un matériau issu de la pyrolyse de coco ou de chêne, constitué essentiellement d'une structure poreuse hétérogène. Le charbon actif présente une grande surface spécifique (300 à 3500 m<sup>2</sup>/g) qui lui confère un fort pouvoir adsorbant. De nombreuses études ont permis de constater que l'efficacité du charbon actif pour capter différentes mycotoxines est élevée. 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 2). Le charbon actif a également été testé avec le modèle gastro-intestinal dynamique TIM par Avantaggiato *et al.* (2003 et 2004). Après 6 h de digestion gastro-intestinale d'un aliment contaminé (2,8 ppm de déoxynivalénol et 3,8 ppm de nivalénol), l'ajout de 1% ou de 2% de charbon actif a permis de réduire, respectivement, l'absorption intestinale de déoxynivalénol de 29 à 45%, de nivalénol de 23 à 41% et de zéaralénone de 45 à 84% (Tableau 2). Néanmoins, le charbon actif n'est pas un agent adsorbant sélectif, ce qui signifie qu'il capte également les petites molécules comme les vitamines (Figure 3), c'est pourquoi il n'est plus recommandé de supplémenter l'aliment avec du charbon actif.



**Figure 3** - Pourcentage d'adsorption d'aflatoxine B1 (AFB1) des vitamines B5, B12 et H par différentes smectites et du charbon actif (adapté de Vekiru *et al.*, 2007)

### 2.2. Les argiles (smectites)

Les smectites sont des minéraux appartenant au groupe des silicates, sous-groupe des phyllosilicates (structure en feuillets). Ce sont des phyllosilicates de structure TOT (ou 2:1), c'est-à-dire constitués de feuillets comportant deux couches tétraédriques

(SiO<sub>4</sub>) tête-bêche, liées entre elles par une couche octaédrique (AlO<sub>4</sub>). Les feuillets sont liés entre eux par les cations interfoliaires, le plus souvent calcium ou sodium. L'espace interfoliaire (d-spacing ou d<sub>001</sub>) d'environ 1,25 nm confère aux smectites leurs propriétés d'adsorption. La surface spécifique entre les feuillets atteint jusqu'à 800m<sup>2</sup>/g. D'un point de vue réglementaire, les smectites sont regroupées dans le groupe des bentonites (règlement (EU) No 1060/2013). Les bentonites de la catégorie 1m558 constituent le groupe fonctionnel pour la réduction de la contamination des aliments en aflatoxines. Néanmoins les différentes études bibliographiques réalisées montrent que toutes les bentonites n'ont pas la même efficacité d'adsorption en aflatoxines (Tableau 2). L'efficacité d'adsorption en mycotoxines obtenue avec différentes smectites ne semble pas liée à la capacité d'échange cationique (CEC) (Vekiru *et al.*, 2007) mais est corrélée à l'espace interfoliaire et au pourcentage de fraction minérale caractérisant la smectite testée (De Mil *et al.*, 2015). Aussi l'espace interfoliaire limite le spectre d'adsorption des smectites aux aflatoxines, mycotoxines planes à la différence des autres mycotoxines qui sont beaucoup plus volumineuses. En effet seules les aflatoxines sont durablement adsorbées tout au long du tractus digestif. Par exemple les fumonisines sont adsorbées jusqu'à 100% à pH = 3 (conditions stomacales) mais sont relarguées au cours de l'augmentation du pH dans l'intestin : seulement 18% de la fumonisine B1 reste adsorbée dans la smectite à pH = 8 (Avantaggiato *et al.*, 2005).

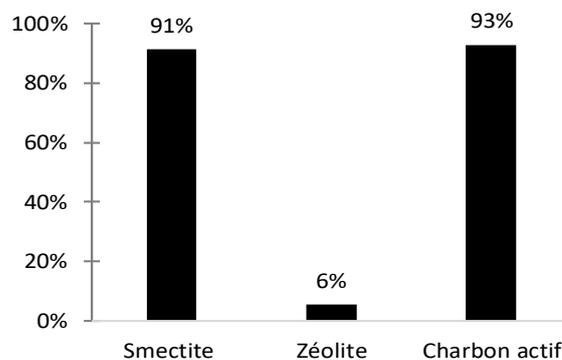
### 2.3. Les argiles modifiées

Différentes stratégies de modification des smectites visent à augmenter la capacité d'adsorption des mycotoxines. Elles comprennent des traitements thermiques, chimiques ou mécaniques. Parmi elles, seule l'augmentation de l'espace interfoliaire a abouti à une amélioration du spectre d'adsorption. Les premières études utilisaient des groupements alkyles pour augmenter l'espace entre les feuillets de smectites, à l'origine pour améliorer le traitement des eaux (Jaynes et Boyd, 1991) puis pour l'adsorption de mycotoxines (Jaynes et Zartman, 2011). Néanmoins l'utilisation de groupements alkyles est interdite en alimentation animale en Europe. Une nouvelle stratégie basée sur l'intégration d'extraits d'algues (*Ulva* sp.) à l'intérieur des feuillets de smectites permet d'augmenter l'espace interfoliaire de 1,25 à 4,88 nm, augmentant ainsi la surface d'adsorption accessible à un nombre plus important de mycotoxines. La capacité d'adsorption de ce matériau hybride argile-algue a été testée avec le modèle gastro-intestinal dynamique TIM par Demais et Havenaar en 2006. Après 6 h de digestion gastro-intestinale d'un aliment contaminé (1 ppm de déoxynivalénol et 2 ppm de fumonisine B1), l'ajout de 0,1% de ce matériau hybride argile-algue a permis de réduire l'absorption intestinale de déoxynivalénol de 40% et de la fumonisine B1 de 60% alors qu'une smectite simple n'adsorbe pas de fusariotoxines (Avantaggiato *et al.*, 2004). Cette étude a aussi démontré que ce matériau hybride argile-algue n'affecte pas la biodisponibilité des nutriments et des vitamines (Demais et Havenaar, 2006).

### 2.4. Les zéolites

Les zéolites sont des minéraux appartenant au groupe des silicates, sous-groupe des tectosilicates (structure tubulaire).

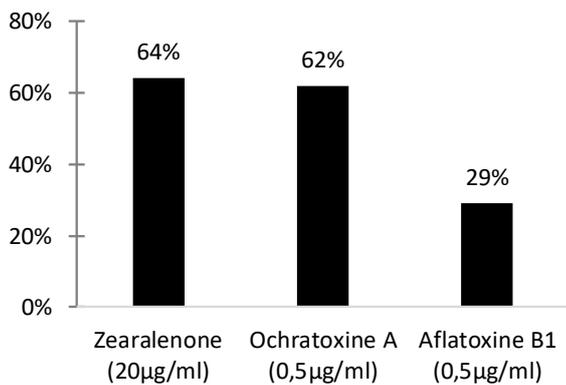
On qualifie les zéolites de tamis moléculaires car les ions et les molécules d'eau sont mobiles au sein de la structure, ce qui permet des échanges ioniques. Le caractère cristallin du squelette offre une structure poreuse qui autorise ou non le passage de molécules, avec un pouvoir discriminant inférieur à 0,1 nm. Les zéolites peuvent être naturelles (clinoptilolite) ou synthétiques et sont particulièrement utilisées pour fixer les ions NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Néanmoins les zéolites restent des agents adsorbants de mycotoxines limités (Tableau 2), leur capacité se limite principalement aux aflatoxines avec une efficacité inférieure aux smectites (Tableau 1 et Figure 4).



**Figure 4** - Pourcentage d'adsorption d'aflatoxine B1 (5 ml d'une solution aqueuse concentrée à 8 µg/ml) obtenu avec la méthode statique à concentration unique (adapté de Lemke *et al.*, 2001)

### 2.5. Les parois de levures

Les parois de levure sont des agents adsorbants organiques issus de *Saccharomyces cerevisiae*, principalement composés de polysaccharides (beta-glucanes et mannan-oligosaccharides (MOS)). Par exemple, les β-D glucanes ((1 → 3) -β-D-glucane et plus modérément le (1 → 6) -β-D-glucane) présents dans les parois de levure peuvent former des liaisons hydrogènes ou des interactions de van der Waals avec les mycotoxines et plus spécifiquement avec les mycotoxines telles que la zéaralénone et l'ochratoxine (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 testé l'efficacité de 32 produits différents à base de parois de levure sur l'adsorption de zéaralénone. Les résultats obtenus variaient de 10 à 60%, les meilleurs résultats étant obtenus avec des produits contenant plus de 50% de MOS et β-glucanes. Néanmoins au cours de cette étude, les auteurs n'ont pas trouvé de corrélation entre la composition des parois en beta-glucanes et MOS et leur efficacité contre les mycotoxines, tout comme Joannis Cassan *et al.* (2011). Seule la composition en chitine des parois de levure semble corrélée à l'efficacité d'adsorption en zéaralénone puisque la chitine réduit la solubilité des β-D-glucanes et donc l'accès à la zéaralénone (Yiannikouris *et al.*, 2004). Par ailleurs, l'efficacité des parois de levure contre les aflatoxines est très controversée (Tableau 2 et Figure 5). En effet l'adsorption d'aflatoxines semble plus dépendante du type de minéraux ajoutés aux parois de levures qu'aux parois de levures elles-mêmes (Baptista *et al.*, 2004 ; Fruhauf *et al.*, 2012). Enfin, l'efficacité des parois de levures contre le déoxynivalénol et les fumonisines semble très limitée (Tableau 2).



**Figure 5** – Pourcentage d'adsorption de zéaralénone, ochratoxine A et aflatoxine B1 d'une paroi de levure issue de la boulangerie (contenant 21,3% de MOS et 23,7% de beta-glucanes)<sup>1</sup> (adapté de Joannis Cassan *et al.*, 2011)

<sup>1</sup>Résultat obtenu avec la méthode statique à concentration unique

### 3. EFFICACITE *IN VITRO* DES AGENTS BIOTRANSFORMANTS

Les agents biotransformants sont des enzymes ou des microorganismes sélectionnés pour leur capacité à produire des enzymes capables de biotransformer ou dégrader des mycotoxines en métabolites peu ou pas toxiques. Ces agents ont la particularité de ne pas être altérés lors du processus de digestion des animaux. Ils peuvent être d'origine bactérienne, fongique ou issus de levures. Cette voie de détoxification des mycotoxines n'est pas nouvelle puisque les premières études datent des années 60 (Ciegler *et al.*, 1966). Aujourd'hui de nombreux agents biotransformants sont disponibles sur le marché mais très peu ont une efficacité réelle (Hahn *et al.*, 2015).

#### 3.1. Biotransformation des aflatoxines

L'aflatoxine B1 fut la première mycotoxine pour laquelle un agent biotransformant a été identifié. En effet en 1966, Ciegler *et al.* ont isolé une souche de *Flavobacterium aurantiacum* (NRRL B-184) capable de détoxifier l'aflatoxine B1 dans un milieu liquide sans produire d'agent toxique. Depuis, d'autres microorganismes ont été identifiés (Wu *et al.*, 2009) : *Mycobacterium fluoranthenorans* (DSM44556), *Lactobacillus*, *Rhodococcus erythropolis*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Pleurotus ostreatus*, *Armillariella tabescens*, *Saccharomyces cerevisiae*... Aujourd'hui les agents adsorbants, notamment les smectites, sont privilégiés par rapport aux agents biotransformants pour le traitement des aflatoxines car ils sont plus faciles d'utilisation et moins onéreux.

#### 3.2. Biotransformation des trichothécènes

La toxicité des trichothécènes est due à la présence de groupements époxy et de groupements acétyles pour les formes acétylées : 15-O-acétyl déoxynivalénol (DON), 3-acétyl DON (forme acétylée du DON), toxine T-2 (forme acétylée de la toxine HT-2), et Fusarénone X (forme acétylée du nivalénol, NIV). *Eubacterium sp.* (DSM 11798) est une bactérie Gram-positive anaérobie extraite du liquide du rumen qui a la capacité de produire une enzyme époxydase qui permet de transformer le DON, le NIV et la toxine HT-2 en métabolites non toxiques, respectivement DOM-1, de-époxy NIV et T2 tétraol (Binder *et al.*, 1997 et 1998 ; Fuchs *et al.*, 2002). Cette biotransformation

nécessite 24 heures en anaérobie stricte pour pouvoir transformer 97% du DON en DOM-1 (Hahn *et al.*, 2015). Néanmoins, la littérature fait état d'une grande variabilité de résultats en présence d'*Eubacterium sp.*, du fait de l'importance des conditions anaérobies spécifiques qui ne sont pas toujours respectées, notamment *in vivo* (Döll *et al.*, 2004 ; Avantaggiato *et al.*, 2004 ; Dänicke et Döls, 2010). Aussi *Eubacterium sp.* a une capacité de désacétylation partielle (Fuchs *et al.*, 2000 et 2002) à la différence de son pouvoir désépoxydant.

#### 3.3. Biotransformation des zéaralénones et ochratoxines

Différentes souches de microorganismes ont été identifiées pour leur capacité à transformer l'ochratoxine A et la zéaralénone en métabolites non toxiques. En 2003, Schatzmayr *et al.* ont testé différentes souches de *Trichosporon*, *Rhodotorula* et *Cryptococcus* pour détoxifier l'ochratoxine A en ochratoxine- $\alpha$ . Au cours de cette étude, la souche *Trichosporon mycotoxinivorans* (MTV 115) a été identifiée comme étant la plus efficace *in vitro* et *in vivo*. La zéaralénone peut être métabolisée par des souches fongiques, en  $\alpha$ -zéaralénol ou  $\beta$ -zéaralénol (Richardson *et al.*, 1985 ; Minervini *et al.*, 2005). Elle peut également être transformée en ZOM-1, un autre métabolite non toxique, par *Trichosporon mycotoxinivorans* (MTV 115) (Schatzmayr *et al.*, 2006 ; Vekiru *et al.*, 2010), ou encore en zéaralénone hydrolysée (HZEN) et zéaralénone hydrolysée décarboxylée (DHZEN) par *Gliocadium roseum* (El-Sharkawy et Abul-Hajj, 1988) ou par une enzyme lactonohydrolase (Takahashi-Ando *et al.*, 2002). En 2015, Hahn *et al.* ont testé 20 produits commerciaux différents pour biotransformer la zéaralénone. Seulement un produit (contenant une levure inactivée et *Eubacterium sp.*) a efficacement biotransformé la zéaralénone en métabolite non toxique (DHZEN), que ce soit en conditions aérobies ou anaérobies. Ainsi, les études sur la biotransformation de la zéaralénone sont très limitées et controversées à la différence des nombreuses études *in vitro* sur l'adsorption de la zéaralénone (Hahn *et al.*, 2015).

#### 3.4. Biotransformation des fumonisines

Les fumonisines sont une famille de mycotoxines découverte très récemment (Bezuidenhout *et al.*, 1988), ainsi très peu d'études de biotransformation sont disponibles sur cette famille. En 2010, Heinl *et al.* ont proposé un schéma de dégradation de la fumonisine B1 en forme hydrolysée (HFB1) par la bactérie *Sphingopyxis sp.* (MTA 144), via l'action consécutive de deux enzymes : une carboxylestérase et une aminotransférase. 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 fumonisine B1 (Cirliani *et al.*, 2014).

### CONCLUSION

L'étude de différents agents détoxifiants en mycotoxines nécessite de bien considérer les méthodes de test utilisées puisque les résultats d'efficacité varient considérablement en fonction du type de test et des conditions d'application. De nombreux agents détoxifiants ont prouvé leur intérêt pour réduire l'absorption intestinale de certaines mycotoxines en situation de mono-contamination. Les agents adsorbants de type smectites ont largement démontré leur efficacité contre les aflatoxines tandis que les agents issus de parois de levures peuvent significativement adsorber la zéaralénone et les

ochratoxines en fonction de leur qualité. A ce jour seuls les agents adsorbants à base de smectite modifiée à partir d'algue ont à la fois un potentiel pour l'adsorption des trichothécènes et des fumonisines et pas d'impact sur la biodisponibilité des nutriments dans un modèle *in vitro*.

Les agents biotransformants constituent une stratégie bien maîtrisée *in vitro*. Pour la majorité des détoxifiants la plupart des études ont été réalisées *in vitro* et de nouvelles études sont nécessaires pour confirmer leur application en conditions *in vivo*.

**Tableau 2** – Efficacité des agents adsorbants à fixer différentes mycotoxines (/ : absence de donnée)<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup>Références INDIQUEES ENTRE PARENTHESES : 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.

<sup>2</sup>Déoxynivalenol.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Avantaggiato G., Havenaar R., Visconti A., 2003. Assessing the zearalenone-binding activity of adsorbent materials during passage through a dynamic *in vitro* gastrointestinal model. Food Chem. Toxicol., 41, 1283-1290.
- Avantaggiato G., Havenaar R., Visconti A., 2004. Evaluation of the intestinal absorption of deoxynivalenol and nivalenol by an *in vitro* gastrointestinal model, and the binding efficacy of activated carbon and other adsorbent materials. Food Chem. Toxicol., 42, 817-824.
- Avantaggiato G., Solfrizzo M., Visconti A., 2005. Recent advances on the use of adsorbent materials for detoxification of Fusarium mycotoxins. Food Addit. Contam., 22, 379-388.
- Avantaggiato G., Havenaar R., Visconti A., 2007. Assessment of the multi-mycotoxin-binding efficacy of a carbon/aluminosilicate-based product in an *in vitro* gastrointestinal model. 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. The capacity of manno-oligosaccharides, thermolysed yeast and active yeast to attenuate aflatoxicosis. World J. Microbiol. Biotechnol., 20, 475-481.
- Bezuidenhout S., Gelderblom W., Gorst-allman C., Marasas W., Spiteller G., Vleggaard R., 1988. Structure elucidation of the fumonisin, mycotoxins from Fusarium moniliforme. J. Chem. Soc. Commun., 11, 743-745.
- Biehl M., Prelusky D., Koritz G.D., Hartin K.E., Buck W.B., Trenholm H.L., 1993. Biliary excretion and enterohepatic cycling of zearalenone in immature pigs. Toxicol. Appl. Pharmacol., 121, 152-159.
- Binder J., Horvath E.M., Schatzmayr G., Ellend N., Danner H., Krska R., Braun R., 1997. Screening for deoxynivalenol detoxifying anaerobic rumen microorganisms. Cereal Res. Commun., 25, 343-346.
- Binder E.M., Binder J., Ellend N., Schaffer E., Krska R., Braun R., 1998. Microbiological degradation of deoxynivalenol and 3-acetyl-deoxynivalenol. In: M. Miraglia, H. P. van Egmond, C. Brera & J. Gilbert (Eds), 279-285. Alaken, Fort Collins, USA.
- Blanquet S., Zejdner E., Beyssac E., Meunier J., Denis S., Havenaar R., Alric M., 2004. A dynamic artificial gastrointestinal system for studying the behavior of orally administered drug dosage forms under various physiological conditions. Pharm. Res., 21, 585-591.
- Bullerman L., Bianchini A., 2007. Stability of mycotoxins during food processing. Int. J. Food Microbiol., 119, 140-6.
- Ciegler A., Lillehoj E.B., Peterson R.E., Hall H.H., 1966. Microbial detoxification of aflatoxin. 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. Hydrolysed fumonisin B1 and N-(deoxy-D-fructos-1-yl)-fumonisin B1: stability and catabolic fate under simulated human gastrointestinal conditions. Int. J. Food Sci. Nutr., 66, 98-103.
- Dänicke S., Döll S., 2010. A probiotic feed additive containing spores of Bacillus subtilis and B. licheniformis does not prevent absorption and toxic effects of the Fusarium toxin deoxynivalenol in piglets. Food Chem. Toxicol., 48, 152-158.
- Diaz D.E., Hagler W.M., Hopkins B.A., Whitlow L.W., 2002. Aflatoxin binders: *In vitro* binding assay for aflatoxin B1 by several potential sequestering agents. Mycopathologia, 156, 223-226.
- Demais H., Havenaar R., 2006. Efficacy of sequestrant/chelator Amadeite®, in the binding of mycotoxins during transit through a dynamic gastrointestinal model (TIM) simulating the GI conditions of pigs. The World Mycotoxin Forum. Cincinnati, USA, pp. 89.
- De Mil T., Devreese M., De Baere S., Van Ranst E., Eeckhout M., De Backer P., Croubels S., 2015. Characterization of 27 mycotoxin binders and the relation with *in vitro* zearalenone adsorption at a single concentration. Toxins, 7, 21-33.
- Döll S., Dänicke S., Valenta H., Flachowsky G., 2004. *In vitro* studies on the evaluation of mycotoxin detoxifying agents for their efficacy on deoxynivalenol and zearalenone. Arch. Anim. Nutr., 58, 311-324.
- EFSA, 2009. Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food safety. CFP/EFSA/FEEDAP/2009/01.
- El-Sharkawy S., Abul-Hajj Y.J., 1988. Microbial cleavage of zearalenone. Xenobiotica, 18, 365-371.
- Eriksen G.S., Pettersson H., Lindberg J.E., 2003. Absorption, metabolism and excretion of 3-acetyl DON in pigs. Arch. Anim. Nutr., 57, 335-345.

- Fuchs I., Binder E.M., Heidler D., Krska R. 2000. Characterisation of metabolites after the microbial degradation of A- and B-trichothecenes by BBSH 797. *Mycotoxin Res.*, Suppl 1, 66-9.
- Fuchs E., Binder E.M., Heidler D., Krska R., 2002. Structural characterization of metabolites after the microbial degradation of type A trichothecenes by the bacterial strain BBSH 797. *Food Addit. Contam.*, 19, 379–386.
- Fruhauf S., Schwartz H., Ottner F., Krska R., Vekirua E., 2012. Yeast cell-based feed additives: studies on aflatoxin B1 and zearalenone. *Food Addit. Contam.*, 29, 217–231.
- Galvano F., Pietri A., Bertuzzi T., Piva A., Galvano M., Chies L., Galvano M., 1998. Activated carbons: *in vitro* affinity for ochratoxin A and DON and relation of adsorption ability to physicochemical parameters. *J. Food Protect.*, 61, 469-475.
- Grant P.G., Phillips T.D., 1998. Isothermal adsorption of aflatoxin B1 on HSCAS clay. *J. Agr. Food Chem.*, 46, 599-605.
- Hahn I., Kunz-Vekiru E., Twaružek M., Grajewski J., Krska R., Berthiller F., 2015. Aerobic and anaerobic *in vitro* testing of feed additives claiming to detoxify deoxynivalenol and zearalenone, *Food Additives and Contaminants: Part A*, 32, 922-933.
- Hedman R., Pettersson H., Lindberg J.E., 1997. Absorption and metabolism of nivalenol in pigs. *Arch. Anim. Nutr.*, 50, 13–24.
- Heini S., Hartinger D., Thamhesl M., Vekiru E., Krska R., Schatzmayr G., Moll W.D., Grabherr R., 2010. Degradation of fumonisin B1 by the consecutive action of two bacterial enzymes. *J. Biotechnol.*, 145, 120-129.
- Jaynes W.F., Boyd S.A., 1991. Clay mineral type and organic compound sorption by hexadecyltrimethylammonium-exchanged clays. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 55, 43–48.
- Jaynes F., Zartman R.E., 2011. Aflatoxin toxicity reduction in feed by enhanced binding to surface-modified clay additives. *Toxins*, 3, 551-565.
- Joannis-Cassan C., Tozlovanu M., Hadjeba-Medjdoub K., Ballet N., Pfohl-Leszkoicz A., 2011. Binding of zearalenone, aflatoxin B1, and ochratoxin A by yeast-based products: a method for quantification of adsorption performance. *J. Food Protect.*, 74, 1175–1185.
- Lemke S.L., Ottinger S.E., Mayura K., Ake C.L., Pimpukdee K., Wang N., Phillips T.D., 2001. Development of a multi-tiered approach to the *in vitro* prescreening of clay-based enterosorbents. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 93, 17-29.
- Lopez-Garcia R., Park D.L., 1998. Effectiveness of post-harvest procedures in management of mycotoxin hazards. In: D. Bhatnagar and S. Sinha (Eds), Marcel Dekker, New York, USA, 407-433.
- Minervini F., Giannoccaro A., Cavallini A., Visconti A., 2005. Investigations on cellular proliferation induced by zearalenone and its derivatives in relation to the estrogenic parameters. *Toxicol. Lett.*, 159, 272–283.
- Olsen M., Malmlof H., Pettersson H., Sandholm K., Kiessling K.H., 1985. Plasma and urinary levels of zearalenone and alpha-zearalenol in a prepubertal gilt fed zearalenone. *Acta Pharmacol. Tox.*, 56, 239–243.
- Piotrowska M., Masek A., 2015. *Saccharomyces cerevisiae* cell wall components as tools for ochratoxin A decontamination. *Toxins*, 7, 1151-1162.
- Prelusky D.B., Hartin K.E., Trenholm H.L., Miller J.D., 1988. Pharmacokinetic fate of 14C-labeled deoxynivalenol in swine. *Fund. Appl. Toxicol.*, 10, 276–286.
- Ramos A.J., Hernandez E., 1996. *In vitro* aflatoxin adsorption by means of a montmorillonite silicate. A study of absorption isotherms. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 62, 263-269.
- Règlement (CE) N°386/2009 de la Commission du 12 mai 2009 modifiant le règlement (CE) N°1831/2003 du Parlement européen et du Conseil en vue d'établir un nouveau groupe fonctionnel d'additifs pour l'alimentation animale. *Journal Officiel L* 118, 66.
- Règlement d'exécution (UE) N°1060/2013 DE LA COMMISSION du 29 octobre 2013 concernant l'autorisation de la bentonite en tant qu'additif dans l'alimentation de toutes les espèces animales. *Journal Officiel L*289, 33.
- Richardson K.E., Hagler W.M., Mirocha C.J., 1985. Production of zearalenone,  $\alpha$ - and  $\beta$ -zearalenol, and  $\alpha$ - and  $\beta$ -zearalanol by *Fusarium spp.* in rice culture. *J. Agr. Food Chem.*, 33, 862–866.
- Rotter R.G., Frohlich A.A., Marquardt R.R., 1989. Influence of dietary charcoal on ochratoxin A toxicity in leghorn chicks. *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. *In vitro* assessment of adsorbents aiming to prevent deoxynivalenol and zearalenone mycotoxins. *Mycopathologia*, 163, 81–90.
- Schatzmayr G., Heidler D., Fuchs E., Nitsch S., Mohl M., Täubel M., Loibner A.P., Braun R., Binder E.M., 2003. Investigation of different yeast strains for the detoxification of ochratoxin A. *Mycotoxin Res.*, 19, 124-8.
- Schatzmayr G., Zehner F., Täubel M., Schatzmayr D., Klimitsch A., Loibner A.P., Binder E.M., 2006. Microbiologicals for deactivating mycotoxins. *Mol. Nutr. Food Res.*, 50, 543 – 551.
- Takahashi-Ando N., Kimura M., Kakeya H., Osada H., Yamaguchi I., 2002. A novel lactonohydrolase responsible for the detoxification of zearalenone: enzyme purification and gene cloning. *Biochem. J.*, 365, 1–6.
- Tangni E.K., 2003. Occurrence of mycotoxins in beer, exposure assessment for consumers and development of biological detoxification options for the control of ochratoxin A during brewing. Thèse de doctorat. Université catholique de Louvain, Louvain, Belgique, nb pages.
- Tomasevic-Canovic M., Dakovic, A., Rottinghaus G., Matijasevic S., Duricic M., 2002. Surfactant modified zeolites – new efficient adsorbents for mycotoxins. *Micropor. Mesopor. Mat.*, 61, 173-180.
- Vekiru E., Fruhauf S., Sahin M., Ottner F., Schatzmayr G., Krska R., 2007. Investigation of various adsorbents for their ability to bind Aflatoxin B1. *Mycotoxin Res.*, 23, 27-33.
- Vekiru E., Hametner C., Mitterbauer R., Rechthaler J., Adam G., Schatzmayr G., Krska R., Schuhmacher R., 2010. Cleavage of zearalenone by *Trichosporon mycotoxinivorans* to a novel nonestrogenic metabolite. *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. *In vitro* binding assessment and *in vivo* efficacy of several adsorbents against aflatoxin B1. *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. Applicability of an *in vitro* digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food Chem. Toxicol.*, 43, 31-40.
- Wu Q., Jezkova A., Yuan Z., Pavlikova L., Dohnal V., Kuca K., 2009. Biological degradation of aflatoxins. *Drug Metab. Rev.*, 41, 1–7.
- Yiannikouris A., François J., Poughon L., Dussap C.G., Bertin G., Jeminet G., Jouany J.P., 2004. Adsorption of zearalenone by  $\beta$ -D-glucans in the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *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. Chemical and conformational study of the interactions involved in mycotoxin complexation with  $\beta$ -D-glucans. *Biomacromolecules.*, 7, 1147-1155.

