

Efficacité d'une zéaralénone hydrolase sur les performances de porcelets recevant un aliment contaminé par zéaralénone

Juan-Ignacio ARTAVIA (1), Paula KOVALSKY (1), Sabine MASCHING (1), Laure ROUXEL (2)

(1) DSM Austria, Erber Campus 1, 3131 Getzersdorf, Autriche

(2) DSM Nutritional Products France, 71 boulevard National, 92250 La Garenne-Colombes

laure.rouxel@dsm.com

Efficacy of a zearalenone hydrolase on the performance of weaning piglets fed diets contaminated with zearalenone

Contamination of feed with zearalenone can negatively influence the health of farm animals and thus lead to a decrease in production efficiency. Due to its structural similarity to estrogens, zearalenone binds to estrogen receptors, thereby interfering with the reproductive system of swine. Swine naturally convert zearalenone mainly to α -zearalenol, which can exhibit up to 60 times as much estrogenicity as the parental metabolite. Therefore, natural metabolization of zearalenone to α -zearalenol cannot be considered as detoxification. A purified recombinant enzyme (zearalenone hydrolase, ENZ) was selected for its ability to degrade zearalenone, resulting in a non-toxic and non-estrogenic metabolite (hydrolyzed zearalenone), thus alleviating negative effects caused by this mycotoxin in the animal. In the present study, 36 post-weaning piglets were allocated to nine pens of four piglets each (two males and two females). For the 42-day duration of the trial, all animals had free access to feed and water. A level of dietary zearalenone contamination of 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ was used in the positive control and in the trial groups. Efficacy of the enzyme was evaluated by monitoring zearalenone and hydrolysed zearalenone in feces of the piglets. Zearalenone hydrolase was shown to biotransform zearalenone (from 355 to 200 ng/g feces) to hydrolysed zearalenone (from 0 to 137 ng/g feces) in the gastrointestinal tract of the piglets.

INTRODUCTION

De par sa similarité structurelle avec les œstrogènes, la zéaralénone (ZEN) peut se lier aux récepteurs d'œstrogènes et ainsi interférer avec le système reproducteur des truies et des porcs (Fink-Gremmels et Malekinejad, 2007). Certes, les animaux transforment naturellement la zéaralénone en α -zéaralénol principalement, mais ce métabolite peut présenter une oestrogénicité jusqu'à 60 fois supérieure à celle du métabolite initial. Par conséquent, la métabolisation naturelle de la zéaralénone en α -zéaralénol ne peut donc pas être considérée comme une détoxification.

Dans ce contexte, une enzyme recombinante purifiée (zéaralénone hydrolase, ENZ) a été sélectionnée pour sa capacité à dégrader la zéaralénone en un métabolite non toxique et non œstrogène (Zéaralénone hydrolysée) (Fruhauf *et al.*, 2019).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Stratégie expérimentale

Un essai a été conduit afin d'évaluer l'efficacité de l'enzyme recombinante purifiée de type zéaralénone hydrolase (ENZ, ZENzyme®) sur la détoxification de la zéaralénone chez les porcelets sevrés nourris avec des aliments contaminés par la

zéaralénone. Les concentrations en cette mycotoxine et en son métabolite hydrolysé ont été mesurées dans les fèces des animaux à la fin de l'essai et ont servi de biomarqueurs pour évaluer la détoxification de la zéaralénone chez l'animal.

1.2. Dispositif expérimental

Dans le cadre de cet essai, 36 porcelets en post-sevrage (âge : 6 semaines - poids initial : 9,21 kg (\pm 0,02 kg)) ont été répartis dans neuf cases de quatre porcelets chacun (deux mâles et deux femelles). Tous les animaux ont été identifiés et leur poids individuel enregistré, à la mise en place et à la fin du suivi. Pendant les 42 jours de l'essai, tous les animaux ont été nourris *ad libitum* et ont eu un accès libre à l'eau.

Les animaux des groupes Témoin positif et Essai ont reçu un aliment présentant un niveau de contamination alimentaire en zéaralénone de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Seuil haut de risque en aliment Porcelet = 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pour la zéaralénone). La contamination a été effectuée par le biais de toxine issue de culture, afin d'assurer que le niveau de contamination est homogène dans tous les groupes et sur toute la période d'essai. Les aliments ont été analysés pour valider l'absence d'autres mycotoxines.

La zéaralénone hydrolase ENZ a été intégrée à l'aliment du groupe Essai à une concentration de 10 unités enzymatiques par kg d'aliment.

Le protocole expérimental est présenté dans le tableau 1.

Tableau 1 – Protocole expérimental

Traitement	Nombre d'animaux	Zéaralénone ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Zéaralénone hydrolase (U/kg d'aliment)
Témoin négatif	12	--	--
Témoin positif	12	200	--
Essai	12	200	10

1.3. Mesures

L'efficacité de l'enzyme recombinante purifiée a été évaluée en mesurant les concentrations en zéaralénone et en zéaralénone hydrolysée (ng/g) par HPLC-MS/MS dans les fèces des animaux au 42^{ème} jour de l'essai.

Les paramètres zootechniques, poids vif (début et fin de suivi), gain de poids moyen quotidien, ingéré quotidien et indice de consommation, ont également été suivis.

1.4. Analyses des résultats

Les teneurs en zéaralénone et son métabolite ont été traitées par comparaison non paramétrique des moyennes puis test U de Mann-Whitney, avec pour unité expérimentale le porcelet.

Les paramètres de performance ont été traités par test de Kruskal-Wallis, avec pour unité expérimentale la case.

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (version 3.4.3.).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Au niveau des paramètres zootechniques (Tableau 2), aucune différence significative n'a été constatée entre les groupes Témoin négatif et Témoin positif : la présence de zéaralénone dans l'alimentation n'a pas eu d'effet sur les performances, ce qui était attendu. Les animaux du lot Essai présentent néanmoins une tendance à un meilleur indice de consommation, associée à une augmentation du poids vif final et du GMQ, à niveau d'ingéré équivalent. Une explication possible est que la zéaralénone étant effectivement détoxifiée par l'enzyme en métabolite non toxique/non œstrogénique, la voie de détoxification naturelle de l'animal n'est plus activée, la réponse inflammatoire en est affectée et les nutriments ainsi épargnés peuvent être utilisés pour la croissance.

Pour ce qui concerne l'efficacité de l'enzyme, les résultats ont mis en évidence que les porcelets du groupe Témoin positif présentent des taux élevés en zéaralénone dans les fèces à J42 (Figure 1). La concentration en zéaralénone dans les fèces du groupe Essai est significativement inférieure ($p < 0,05$) à celle du Témoin positif, avec une augmentation parallèle de la concentration en zéaralénone hydrolysée détoxifiée.

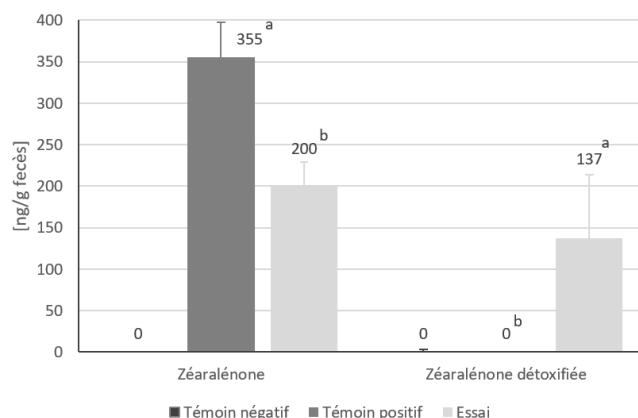


Figure 1 – Zéaralénone et sa forme détoxifiée dans les fèces à la fin de l'essai (J42)

Les lettres différentes indiquent une différence significative ($p < 0,05$).

CONCLUSION

Cet essai montre que les paramètres de concentrations en zéaralénone et en son métabolite hydrolysé dans les fèces des animaux constituent des biomarqueurs pertinents pour le suivi de la détoxification de la zéaralénone.

L'utilisation de l'enzyme recombinante purifiée mise en oeuvre au cours de cet essai (zéaralénone hydrolase) a permis de valider l'efficacité de cet enzyme pour la détoxification de la zéaralénone en un métabolite non toxique.

Tableau 2 – Résumé des mesures zootechniques

	Témoin négatif	Ecart-type	Témoin positif	Ecart-type	Essai	Ecart-type	p-value
Poids vif initial (kg)	9,21	0,02	9,21	0,02	9,21	0,02	0,712
Poids vif final (kg)	34,85	1,05	34,95	1,05	35,60	1,33	0,670
GMQ (g/j)	611	25	613	25	628	32	0,670
Ingéré moyen (g/j)	1092	20	1099	10	1102	16	0,837
IC	1,79	0,04	1,79	0,06	1,76	0,06	0,587

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Fink-Gremmels J. and Malekinejad H., 2007. Clinical effects and biochemical mechanisms associated with exposure to the mycoestrogen zearalenone. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 137, 326-341.
- Fruhauf S. et al., 2019. Biotransformation of the mycotoxin zearalenone to its metabolites Hydrolyzed Zearalenone (HZEN) and Decarboxylated Hydrolyzed Zearalenone (DHZEN) diminishes its estrogenicity in vitro and in vivo. *Toxins*, 11 (8), 481.