Fourrages (2009) 199, 265-280

Les mycotoxines dans les fourrages : un facteur limitant insidieusement la qualité des fourrages et les performances des ruminants

H. Boudra

Contrairement aux cas d'intoxications aiguës par les mycotoxines, les risques d'intoxications chroniques, par ingestion répétée de faibles quantités, sont fréquents. Les conséquences économiques alors liées aux pertes de productivité et aux effets sur la santé des animaux sont difficiles à évaluer, mais potentiellement importantes.

RÉSUMÉ

Divers types de moisissures peuvent contaminer les fourrages au champ, durant leur conservation (en foin ou en ensilage) ou leur utilisation. Leur développement, favorisé par certaines conditions climatiques ou de conservation, peut conduire à une diminution de la valeur alimentaire du fourrage et/ou à une production de mycotoxines pouvant être néfaste à la santé des animaux. Les méthodes de prévention de l'exposition des animaux aux mycotoxines sont à privilégier à tous les stades de la production. A côté du respect des bonnes pratiques de conservation et de l'application de conservateurs chimiques, des méthodes basées sur l'utilisation d'agents biologiques ont été testées avec succès.

MOTS CLÉS

Acremonium, Aspergillus, bovin, champignon phytopathogène, conservateur, conservation de la récolte, ensilage, foin, fourrage, *Fusarium*, mycotoxine, *Neotyphodium*, ovin, *Penicillium*, production animale, toxicité, valeur alimentaire.

KEY-WORDS

Acremonium, animal production, *Aspergillus,* cattle, crop conservation, feeding value, forage, *Fusarium*, hay, mycotoxin, *Neotyphodium*, *Penicillium*, plant parasitic fungus, sheep, silage, silage additive, toxicity.

AUTEUR

INRA, UR1213 Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle ; hboudra@clermont.inra.fr

Les fourrages constituent une part importante de la ration des ruminants. Parmi les facteurs affectant la qualité hygiénique des fourrages, c'est la contamination par les moisissures qui est la plus importante. Dans certaines conditions climatiques ou de mauvaise conservation, ces moisissures peuvent se développer et conduire à une diminution de la valeur alimentaire des fourrages et à une production de mycotoxines pouvant être néfaste à la santé des animaux et de l'homme. A l'inverse des céréales, la contamination des fourrages et des ensilages par les moisissures et les mycotoxines a été très peu étudiée et peu contrôlée. Ceci peut s'expliquer en partie par l'absence de valeur marchande des fourrages conservés qui sont produits et consommés *in situ*.

Dans cet article, nous passerons en revue successivement i) les voies de contamination des fourrages au champ et durant la conservation par les moisissures toxinogènes ainsi que les conditions écologiques qui régissent leur développement et la production de mycotoxines, ii) les conséquences d'une telle contamination sur la valeur alimentaire des fourrages et sur la santé des animaux. Nous aborderons également les moyens concernant la prévention et la maîtrise de ces contaminations.

1. Mycotoxines et moisissures...

Les mycotoxines sont **des toxines issues du métabolisme secondaire des moisissures** contaminant naturellement les denrées alimentaires. Elles sont des contaminants ubiquitaires présents dans 25 à 70% des aliments végétaux selon leur provenance (PITTET, 1998 ; BINDER *et al.*, 2007). Plus d'un millier de métabolites secondaires d'origine fongique peuvent être produits dans les conditions de laboratoire (COLE *et al.*, 2003), mais une partie seulement des métabolites (environ une trentaine) possédant

TABLEAU 1 : **Principales moisissures toxinogènes retrouvées dans les fourrages.**

TABLE 1 : ***Main toxinogenic moulds found in forages.***

Espèce	Principales mycotoxines	Retrouvées dans :		
		Pâturage	Foin	Ensilage
Aspergillus sp.				
- *A. fumigatus*	Gliotoxine, fumigaclavines, verruculogène	-	++	+
- *A. ochraceus*	Ochratoxine A	-	+	-
- *A. flavus*	Aflatoxines	-	+	-
- *A. versicolor*	Sterigmatocystine	-	+	-
Fusarium sp.	Zéaralenone	+	+	+
	Fumonisines	-	+	++
	Trichothécènes	-	-	-
Penicillium sp.	Patuline, acide mycophénolique, PR toxine, citrinine		+	+
	Acide pénicillique, roquefortines, ochratoxine A		-	+
Endophytes				
Acremonium lolii	Ergovaline, lolitrème	++	+	-
	Coumestrol	+	+	-
Autres moisissures				
- *Byssochlamys nivea*	Patuline	-	+	++
- *Claviceps sp.*	Ergotamine et dérivés	-	-	+
- *Monascus purpureus*	Citrinine, monacoline KA, monacoline KL	-		
- *Paecilomyces variotii*	Patuline.	-	+	+
- *Pithomyces chartarum*	Sporidesmine	+	-	+

expérimentalement un effet biologique ont été identifiés et sont retrouvés à des niveaux appréciables comme contaminants naturels des aliments. Les mycotoxines sont produites par des moisissures **appartenant notamment aux genres *Fusarium*, *Aspergillus* et *Penicillium*** (tableau 1).

Comme on peut le voir sur ce tableau, une même moisissure peut synthétiser plusieurs toxines et une même toxine peut être produite par différentes moisissures. Ce qui peut avoir comme conséquence la présence dans un même aliment de plusieurs mycotoxines à la fois (Mansfield *et al.*, 2008 ; Richard *et al.*, 2009).

Leur structure chimique ainsi que leurs effets toxiques sont très variés. Ces métabolites constituent un groupe de substances toxiques présentant notamment des activités cancérogènes, mutagènes, tératogènes, immunosuppressives et œstrogènes chez l'animal d'expérience. En plus des effets individuels des différentes mycotoxines, il existe **des effets synergiques** observés entre certaines mycotoxines. Ainsi, le déoxynivalénol (DON) et l'acide fusarique ou la fumonisine B1 (FB1) ont un effet synergique négatif sur la croissance des animaux d'élevage (Harvey *et al.*, 1996 ; Smith *et al.*, 1997). Le même constat a été rapporté sur les fermentations ruminales avec une toxicité supérieure d'un extrait de culture d'*Aspergillus fumigatus* (contenant un mélange de toxines) par rapport à la gliotoxine seule peu active (Morgavi *et al.*, 2004).

2. Principales moisissures et mycotoxines des fourrages, et conditions de développement

■ Facteurs influençant la croissance des moisissures et la production de mycotoxines

La contamination des fourrages par les moisissures est inéluctable, mais leur présence dans un aliment n'est pas synonyme de présence de mycotoxines. En effet, les fourrages conservés et stabilisés hébergent à l'état latent, sous forme de spores, de nombreuses espèces fongiques. Ceci est sans conséquence préjudiciable pour l'animal consommateur tant que les conditions écologiques et nutritionnelles ne permettent pas un développement fongique. De plus, toutes les souches d'une même espèce ne sont pas toxinogènes (productrices de mycotoxines).

Le développement fongique et/ou la production de mycotoxines sont principalement régis par des facteurs environnementaux, notamment la teneur en eau du fourrage, la température mais aussi le degré de confinement durant la conservation. Si la croissance d'une moisissure peut s'effectuer sur la quasi-totalité des substrats en présence d'humidité, les conditions pour la production de mycotoxines sont beaucoup plus strictes, comme on va le voir plus loin. Le couple teneur en eau - température des fourrages au moment de la récolte et durant la conservation est

Aliments	Croissance fongique	Gliotoxine* (µg/g)	
		6 jours	14 jours
Blé	**+++**	8,9	3,9
Maïs	**+++**	nd	nd
Orge	**+++**	5,6	1,4
Triticale	**+++**	17,5	3,6
Dactyle	**++**	na	1,5
Fétuque	**+**	na	nd
Luzerne	**-**	na	nd
Ray-grass	**++**	na	0,9
Trèfle	**+/-**	na	nd

* na : non analysé ; nd : non détecté

TABLEAU 2 : **Croissance d'*Aspergillus fumigatus* et production de gliotoxine sur aliments destinés aux ruminants.**

*TABLE 2 : **Growth of Aspergillus fumigatus and production of gliotoxin in feeds for ruminants**.*

déterminant pour la colonisation ultérieure par les moisissures : une teneur en eau supérieure à 15% pour un foin et inférieure à 65% dans un ensilage pourraient altérer la qualité hygiénique des fourrages. La plupart des moisissures ont des optimums de croissance entre 20 et 25°C. Certaines espèces thermophiles peuvent même se développer à des températures supérieures ; c'est le cas de l'*A. fumigatus*, espèce fréquente des fourrages conservés. Mais d'autres espèces psychrophiles (adaptées au froid), comme la majorité des espèces de *Penicillium* et certaines espèces de *Fusarium*, peuvent se développer à des températures bien inférieures (10-15°C). La température optimale de toxinogenèse est généralement voisine de celle de la croissance ; elle dépend de l'espèce fongique. Par exemple, la production des aflatoxines (AFs) se fait à des températures supérieures à 25°C, alors que celle de *Fusarium* et notamment de *Penicillium spp.* se fait à des températures plus basses (15 à 25°C).

Pour la toxinogenèse, c'est la nature du substrat, c'est-à-dire sa composition chimique en relation directe avec la richesse de la plante en glucides et secondairement en lipides, qui est primordiale. C'est pourquoi le risque mycotoxique au champ est plus élevé quand la récolte est tardive, c'est-à-dire quand le végétal arrive à maturation et devient riche en nutriments (MILLS, 1989 ; OLDENBURG, 1993). Un essai de toxinogenèse *in vitro* a été réalisé par inoculation d'une souche toxinogène d'*A. fumigatus* sur différents types de fourrages et de céréales destinés aux animaux. Les résultats ont montré un développement fongique et surtout une production de gliotoxine plus importante dans les céréales que sur les fourrages, moins riches en nutriments, notamment en glucides (tableau 2 ; BOUDRA et MORGAVI, 2005).

Deux groupes de moisissures toxinogènes peuvent être présentes sur les fourrages ; les premières contaminent l'herbe au champ et les secondes sont notamment présentes après la récolte.

Mycotoxines de champ

La contamination et la production de mycotoxines au champ sont principalement dues à des moisissures phytopathogènes capables d'attaquer le végétal vivant, comme les *Fusaria*. Des moisissures saprophytes peuvent également se développer et

produire des mycotoxines au champ dans des conditions particulières, par exemple après une attaque du végétal par des insectes ou un stress causé par la chaleur provoquant ainsi une fragilisation ou une rupture "des parois de défense" du végétal, ce qui permet aux spores de moisissures d'entrer en contact direct avec les nutriments.

Il existe deux mycotoxicoses actuellement reconnues en relation avec la consommation d'herbe de pâturage. Ces toxicoses sévissent **essentiellement dans l'hémisphère sud**, notamment en Nouvelle-Zélande (Towers, 1993) ; quelques cas ont été rapportés en France (Le Bars et Le Bars, 1996). **L'eczéma facial des ruminants**, provoqué par l'ingestion de sporidesmines produites par *Pythomyces chartarum*, se manifeste par une lésion cutanée de photo-sensibilisation faisant suite à une atteinte hépatique. Cette moisissure se développe sur l'herbe suite à une succession de conditions climatiques particulières : un été sec entraînant un dessèchement de l'herbe suivi d'un automne humide. **Le syndrome appelé "*Ryegrass staggers*"** se manifeste à la suite de l'ingestion de graminées des genres *Lolium* et *Festuca* contaminées par des toxines trémorgènes, notamment le lolitrème B. La maladie se caractérise en début d'intoxication par des tremblements suite à une atteinte nerveuse. Ces toxines sont souvent associées à d'autres molécules comme l'ergovaline produites par des champignons endophytes du genre *Neotyphodium*, anciennement appelé *Acremonium spp.* D'autres espèces comme **les *Fusaria*** sont également retrouvées dans la flore des pâturages en Nouvelle-Zélande (Di Menna et Parle, 1970). La zéaralénone (ZEA) a été détectée sur des échantillons d'herbe verte à des taux entre 300 et 3 000 µg/kg MS (Scudamore et Livesey, 1998).

Outre le métabolisme fongique, il existe au champ d'autres mécanismes de production de composés toxiques. Une attaque par des larves d'insectes ou par des moisissures (*Pseudopezia, Oïdium*) d'un végétal vivant (luzerne ou trèfle) peut entraîner une exacerbation des réactions métaboliques conduisant à des concentrations anormalement élevées d'un constituant habituel, comme le coumestrol, un phyto-œstrogène pouvant se retrouver à des concentrations importantes (30 à 350 mg/kg de MS ; Le Bars *et al.*, 1990).

Moisissures et mycotoxines de conservation

Un grand nombre et une grande diversité de micro-organismes de diverses origines sont présents dans les fourrages verts fraîchement récoltés. La contamination, qui débute au champ, va se poursuivre au cours des processus de récolte, de séchage, de manutention et de stockage. **La grande partie de l'*inoculum* est apportée durant la récolte par la terre ou par les débris de végétaux moisis** de la récolte précédente restés au champ ou dans le silo. La confection du fourrage va soit stabiliser la contamination, soit l'aggraver si elle n'est pas réalisée selon les Bonnes Pratiques Agricoles (figure 1).

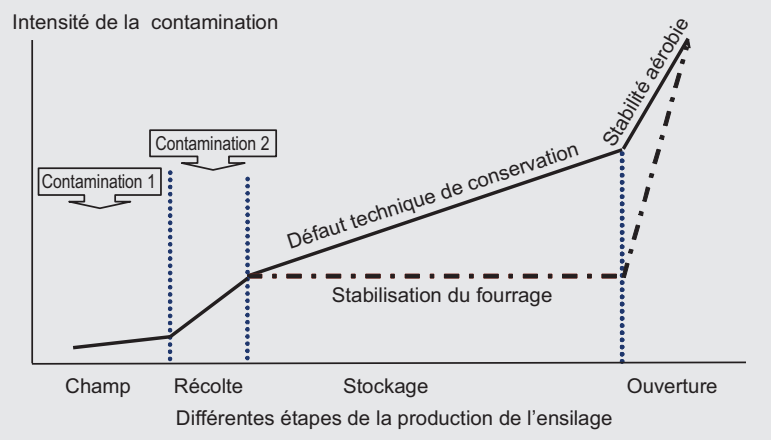


FIGURE 1 : **Les étapes à risque de contamination au cours de la production de l'ensilage** (adapté de BOUDRA *et al.*, 2002).

*FIGURE 1 : **Stages with risks of contamination during silage production** (after BOUDRA et al., 2002).*

La flore fongique des fourrages conservés est différente selon le type de fourrage (humide ou sec) et peut évoluer rapidement durant leur conservation et/ou leur utilisation. La stabilisation des fourrages conservés est basée sur le séchage rapide à une teneur en eau inférieure à 15-20% pour le foin, et la combinaison d'une anaérobiose avec une fermentation par des bactéries lactiques normalement présentes ou additionnées comme conservateurs pour l'ensilage. Ces conditions devraient empêcher le développement de la majorité des moisissures soit en raison d'une teneur en eau insuffisante (foin sec), soit par l'absence d'oxygène dans les ensilages et les balles rondes enrubannées, **vu le caractère aérobie de la majorité des moisissures. Le risque de développement fongique et de production de mycotoxines est surtout présent au désilage** avec la rupture de l'anaérobiose, provoquant des remontées de températures. En cas de mauvaises conditions de stockage, la flore présente à la récolte évolue très rapidement en quantité et en qualité au cours du séchage et du stockage : la flore de conservation plus xérophile (plus adaptée aux substrats secs) va remplacer au fur et à mesure celle du champ plus hygrophile (adaptée aux substrats humides). Plus d'une soixantaine d'espèces ont été isolées des fourrages conservés (LE BARS et LABOUCHE, 1979 ; PELHATE, 1987), les plus importantes sont rapportées au tableau 1. Ci-dessous figurent quelques exemples de contaminations par les principales espèces rencontrées dans les fourrages conservés.

Aspergillus fumigatus est l'une des espèces majeures retrouvées dans les fourrages conservés (COLE *et al.*, 1977 ; GAREIS et WERNERY, 1994) ; de couleur vert-gris, elle se trouve souvent associée à l'échauffement des balles rondes de foin. Elle est également le principal agent responsable d'aspergillose pulmonaire et de mammites chez les ruminants (BAUER *et al.*, 1989). ***Aspergillus flavus***, de couleur vert-jaune, est l'espèce productrice de la seule mycotoxine réglementée : l'aflatoxine B1 (AFB1). Elle est fréquemment retrouvée dans les fourrages secs des pays chauds et humides comme l'Afrique (LE BARS et LABOUCHE, 1979). Plus récemment, une enquête en Italie a rapporté une contamination par l'AFB1 des fourrages de prairie naturelle et de luzerne conservés en balles rondes enrubannées (TOMASI *et al.*, 1999). ***Penicillium***

roqueforti est une moisissure verte présentant une tolérance à l'acidité et à l'anaérobiose de l'ensilage. C'est une espèce majeure des ensilages (AUERBACH *et al.*, 1998 ; SCHNEWEIS *et al.*, 2000). Des taux importants d'acide mycophénolique (25 000 µg/kg) et de roquefortine (17 µg/kg) ont été retrouvés dans des ensilages de maïs et d'herbe (AUERBACH *et al.*, 1998 ; SCHNEWEIS *et al.*, 2000). ***Byssochlamys spp.***, dont le principal représentant est le *B. nivea*, est une moisissure blanche prenant parfois l'ensilage en masse. La patuline est la principale toxine produite par cette espèce ; elle a été retrouvée dans les ensilages à des concentrations pouvant atteindre 40 000 µg/kg (ESCOULA, 1977). ***Stachybotrys atra*** est une espèce cellulolytique capable de coloniser le foin et surtout la paille. La stachybotriotoxicose, encore appelée maladie de l'étable, est caractérisée par une ulcération de la muqueuse buccale associée à une salivation abondante. Elle affecte plusieurs animaux d'élevage, notamment les ruminants (LE BARS et LE BARS, 1996).

3. Conséquences de la présence des mycotoxines dans les fourrages

La présence des moisissures et/ou des mycotoxines dans les aliments destinés aux animaux entraîne un certain nombre d'effets préjudiciables : altération des qualités organoleptiques et nutritives des fourrages conduisant à une diminution des performances zootechniques (gain de poids, production lactée...), apparition d'affections variées (mycoses, allergies...), intoxications aiguës ou chroniques liées à l'ingestion de mycotoxines. Aux **pertes économiques** engendrées par la présence de ces toxines dans l'alimentation animale s'ajoutent des **problèmes de sécurité alimentaire** par le passage possible de certains résidus dans les produits animaux, comme le lait. Les moisissures et les mycotoxines exercent leurs effets à travers trois mécanismes primaires.

Pertes économiques

Contrairement aux céréales, le développement des moisissures sur les plantes fourragères au champ est généralement discret et rarement responsable de la perte d'une récolte. Les pertes de fourrages sont surtout observées lors de mauvaises conditions de stockage. La perte peut être totale : fourrage détruit par le feu dans le cas du foin notamment ou rendu inconsommable. Mais, dans la majorité des cas, elle est partielle en raison d'un développement fongique localisé, qui s'accompagne souvent d'une **diminution plus ou moins importante de la valeur alimentaire**. Les pertes touchent essentiellement la quantité de matière sèche, les teneurs en glucides et en matières azotées. Au niveau de l'animal, les pertes se traduisent par une **diminution des performances zootechniques** : diminution de la production laitière et/ou du gain de poids, infertilité, cycles de sélection manqués (WU, 2007). De plus, **divers coûts supplémentaires**, liés à l'analyse des aliments et aux frais vétérinaires, sont également prévus lors d'une suspicion de mycotoxicose.

La présence de mycotoxines dans les fourrages se traduit généralement par une **diminution des quantités ingérées** (QI). Des bovins à l'engraissement ayant reçu un aliment contaminé en AFB1 à 0,6 mg/kg ont réduit significativement les QI (HELFERICH *et al.*, 1986). Des vaches laitières, ayant reçu une dose de 13 mg d'AFB1 provenant d'un extrait de culture d'*A. parasiticus*, ont diminué significativement leur production laitière journalière (19,7 *vs* 22,1 kg/jour), alors que la même dose d'AFB1 pure ne l'a pas modifiée (APPLEBAUM *et al.*, 1982). Les pertes imputables aux fourrages endophytés ont été considérables aux USA ; elles ont été évaluées à 600 millions $ par an pour la seule filière bovins viande (TOWERS, 1993). Ainsi, les QI par des agneaux consommant du foin infesté par *Acremonium coenophialum* sont plus faibles ($P < 0,05$; 856 *vs* 936 g/ animal/jour ; CHESTNUT *et al.*, 1992). OLDENBURG *et al.* (1998) ont observé une diminution significative du gain de poids journalier chez deux races d'agneaux pâturant une même variété de *Lolium perenne* fortement endophytée. En revanche, un essai réalisé sur des vaches laitières consommant du foin contenant une forte teneur en ergovaline (480 µg/kg de MS) n'a pas entraîné d'effet ni sur l'ingestibilité, ni sur la production laitière (EMILE *et al.*, 2000). La divergence entre ces résultats pourrait s'expliquer par le taux d'endophytement de la plante mais également par la présence d'autres mycotoxines qui agiraient en synergie, comme c'est le cas de la présence simultanée du lolitrème et de l'ergovaline. Parmi les autres mycotoxines pouvant contaminer les fourrages conservés, on rencontre les mycotoxines à effets œstrogéniques, comme la ZEA, le coumestrol ou l'isoflavone (la génistéine retrouvée en grande quantité dans le trèfle). Elles ont toutes été responsables de troubles de la reproduction dans un élevage de moutons en pâturage (TOWERS, 1993 ; SHIER, 1998). Si l'on connaît les effets sur les performances zootechniques des mycotoxines majeures en conditions expérimentales, on ne peut pas en revanche estimer de façon sûre ces pertes sur le terrain du fait des nombreux stress subis par les ruminants (figure 2). Les pertes sont globalement la résultante de nombreux facteurs

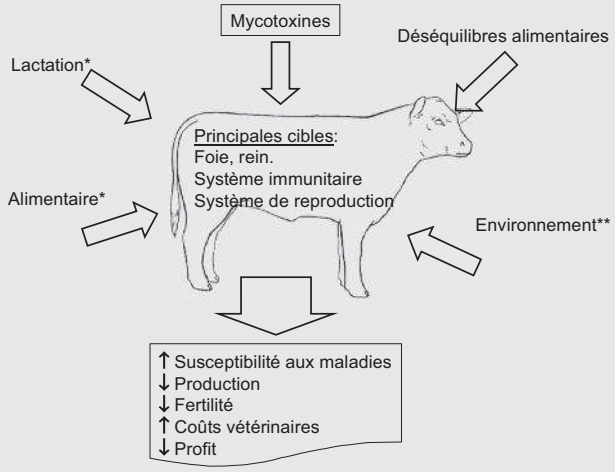


FIGURE 2 : **Différents types de stress subis par les ruminants** (adapté de MORGAVI *et al.*, 2008).

*FIGURE 2 : **Various types of stress endured by ruminants** (after MORGAVI et al., 2008).*

et il est **souvent difficile de faire la part du rôle des mycotoxines de celui de tous les autres facteurs de stress**. En pratique, les vétérinaires sont régulièrement confrontés à des cas de toxicoses, dont seulement une infime partie est associée à la présence de mycotoxines (MORGAVI *et al.*, 2008).

Effets des mycotoxines sur la santé des ruminants

L'ingestion d'aliments contaminés par les mycotoxines peut entraîner, selon la dose, des effets toxiques variés allant d'une simple diminution de l'ingestion jusqu'à la mort de l'animal. Cependant, les effets spectaculaires des mycotoxicoses aiguës suite à l'ingestion de fortes doses sont devenus rares en raison de l'amélioration des techniques de récolte et de conservation. En revanche, **les conséquences liées à l'ingestion prolongée de faibles doses de mycotoxines et les effets synergiques avec d'autres mycotoxines ou agents pathogènes sont probablement les plus fréquentes et sont plus difficiles à diagnostiquer**. Dans cette dernière situation, les effets immunotoxiques sont à prendre au sérieux. En effet, de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont montré que la majorité des mycotoxines possèdent à faible dose des propriétés immuno-suppressives, notamment une aggravation des infections et une diminution de l'efficacité des vaccins chez le porc (OSWALD *et al.*, 2003 et 2005). En revanche, aucun travail de ce type n'a été entrepris sur les ruminants.

L'évaluation de **l'exposition des ruminants aux mycotoxines est la résultante de deux facteurs : animal et alimentaire**. Il est fréquemment considéré que les ruminants sont moins sensibles aux mycotoxines que les monogastriques. L'explication habituellement avancée est la présence dans le rumen d'une population importante et complexe de micro-organismes capable de dégrader certaines mycotoxines mais aussi de les séquestrer. Mais la réalité du terrain est tout autre et laisse penser plutôt à une fragilité des ruminants, notamment ceux à haut potentiel de production comme la vache laitière et le bovin à viande. Ainsi, la dégradation ne concerne en fait qu'un nombre limité de mycotoxines : le DON et l'ochratoxine A (OTA), d'autres étant plus toxiques après leur métabolisation dans le rumen comme la ZEA, ou peu détoxifiées comme l'AFB1 (MORGAVI *et al.*, 2008). De plus, pour que cette détoxification soit réellement efficace, il faut que le rumen et sa flore soient maintenus dans de bonnes conditions. Or, chez les ruminants à potentiel de production élevé, les régimes riches en concentré permettent souvent de maximiser les performances, mais peuvent être également à l'origine de modifications importantes de la flore ruminale, notamment d'une diminution du nombre de protozoaires (BROSSARD *et al.*, 2004), responsables de la dégradation de certaines mycotoxines (GALTIER et ALVINERIE, 1976). En outre, les capacités de détoxification du rumen peuvent être dépassées chez ces mêmes animaux qui ont une ingestion élevée et un turnover rapide des aliments dans le rumen (VELDMAN *et al.*, 1992). Une autre différence chez les ruminants par rapport aux monogastriques est la présence d'un cycle de production

long qui peut atteindre jusqu'à 7 ans, comparé par exemple aux 42 jours pour le poulet. Pour ce qui est du facteur alimentaire, les ruminants peuvent être exposés à un nombre variable et plus important de mycotoxines que les animaux monogastriques, en raison d'une alimentation complexe. En effet, la ration des ruminants compte une part de fourrages apportant son lot de mycotoxines supplémentaires. Dans le cas de lots de fourrages contaminés, les animaux peuvent donc être exposés durant une longue période à des mycotoxines. De plus, l'alimentation des ruminants (fourrages conservés et concentrés) est moins contrôlée que celle des monogastriques, car produite et consommée à la ferme. Les recommandations de la Commission européenne relatives à la présence des mycotoxines majeures dans les produits destinés à l'alimentation animale sont désormais disponibles (recommandation 2006/576/CE du 17 août 2006), mais ne concernent que les concentrés et les céréales.

Transfert dans les produits animaux

Le transfert de mycotoxines et/ou leur(s) métabolite(s) dans les produits animaux est un aspect crucial en termes de sécurité alimentaire. Pour certaines mycotoxines, comme les **fusariotoxines** (DON, ZEN, toxine T-2 et fumonisines), **le transfert dans le lait est faible ou nul**. En revanche, **pour l'aflatoxine M1** (AFM1), métabolite majeur de l'AFB1 et seule toxine réglementée, **les taux peuvent atteindre jusqu'à 6% de la dose ingérée** chez les vaches à haut potentiel de production (Veldman *et al.*, 1992). Des plans de surveillance de la contamination des laits en France sont réalisés chaque année pour connaître le niveau et la fréquence de contamination par l'AFM1. Récemment, une enquête nationale, réalisée sur des laits prélevés dans 128 exploitations du sud-ouest de la France, a montré que les taux sont en conformité avec la teneur maximale réglementaire de 0,05 µg/l (Boudra *et al.*, 2007). Ces résultats ne représentent cependant qu'une photographie, valable pour la seule année d'étude, des conditions plus favorables à la production de mycotoxines pouvant éventuellement exister à d'autres périodes. En revanche, il y a peu de données concernant le transfert et l'accumulation potentiels des mycotoxines dans les tissus comestibles comme le muscle, le foie ou les reins d'animaux exposés.

4. Quels sont les moyens pour éliminer les mycotoxines présentes dans les fourrages conservés ?

Bien qu'un certain nombre de facteurs de risque connus soient pris en compte, concernant la contamination mycotoxique au champ (pratiques culturales) ou durant le stockage (en respectant certains facteurs environnementaux comme la teneur en eau du végétal, l'anaérobiose), l'élimination de la contamination mycotoxique des aliments pour animaux ne peut pas être totalement réalisée. Devant ce constat, il convient de mettre en place des moyens de prévention pour lutter contre l'exposition des animaux aux mycotoxines dans

les fourrages. L'approche prioritaire (méthodes préventives) est d'éviter le développement des moisissures et la production de mycotoxines. La deuxième approche (méthodes curatives) est celle visant à réduire l'impact des mycotoxines pré-formées.

Méthodes préventives

Le respect des bonnes pratiques agronomiques de récolte et de conservation est impératif pour minimiser le risque de contaminations mycotoxiques. Toutes ces techniques ne sont pas détaillées dans cet article mais n'en demeurent pas moins essentielles. Un des moyens de prévention consiste à **utiliser des variétés de végétaux résistantes aux contaminations fongiques**. Des travaux ont montré que les niveaux de contamination par les mycotoxines dans le maïs Bt (transgénique dont les grains expriment une protéine de *Bacillus thuringiensis* aux propriétés insecticides) seraient moins élevés que dans les maïs conventionnels (Duvick, 2001 ; Wu, 2006). L'utilisation d'additifs, comme les bactéries lactiques, a permis d'améliorer et la qualité de conservation et la stabilité aérobie des ensilages. Ce sont surtout les **bactéries hétérofermentaires**, comme *Lactobacillus buchneri* (Holzer *et al.*, 2003), **productrices d'acides gras volatils à activité antifongique**, qui ont permis d'améliorer de façon significative la stabilité aérobie en inhibant le développement des moisissures au désilage (figure 3). L'ensilage, grâce aux fermentations, peut également être un moyen d'éliminer une contamination par les mycotoxines présentes à la mise en silo (Rotter *et al.*, 1990 ; Boudra et Morgavi, 2008).

Méthodes curatives : détoxification des fourrages conservés

Malgré toutes ces mesures, les fourrages conservés peuvent contenir des taux élevés de mycotoxines (Lacey, 1991 ; Scudamore et Livesey, 1998 ; Mansfield *et al.*, 2008). Face à cette contamination "silencieuse" et à un déficit d'aliments, le recours à des méthodes de

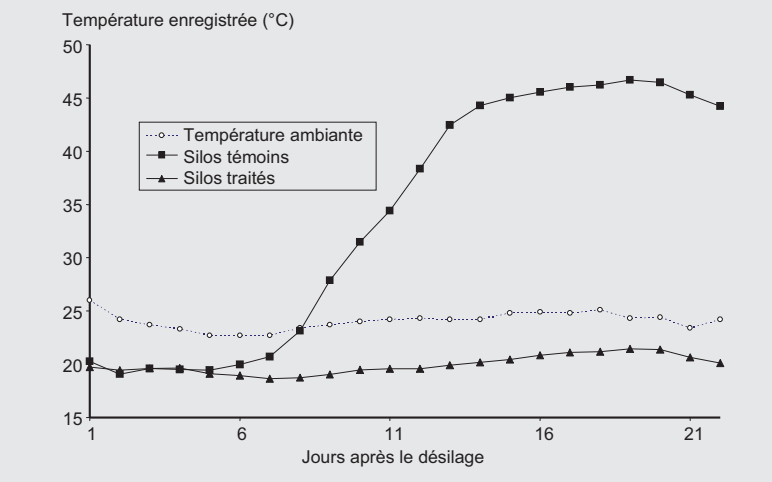


Figure 3 : **Evolution de la stabilité aérobie d'un ensilage de maïs traité et non traité par une bactérie lactique** (moyenne de 4 mesures).

*Figure 3 : **Evolution of the stability of maize silage in the presence of oxygen, with or without a treatment with a lactic bacterium** (mean of 4 measurements).*

détoxification peut être envisagé. Des méthodes physiques et chimiques ont été développées, principalement pour la détoxification d'aliments destinés aux animaux. Une large variété de **composés chimiques** a montré leur efficacité, à des degrés divers, à détruire certaines mycotoxines. Le traitement à l'ammoniac a été utilisé avec succès dans certaines régions pour la détoxification des céréales contaminées par les aflatoxines et les ochratoxines (Giddey *et al.*, 1977 ; Chelkowski *et al.*, 1982). Des **adsorbants inorganiques** sont également utilisés pour leur capacité à lier les mycotoxines et à empêcher ainsi leur absorption au niveau du tractus gastro-intestinal des animaux, réduisant ainsi leur biodisponibilité dans le sang et les organes cibles. Compte tenu de la faible valeur marchande et des volumes de fourrage à traiter, les méthodes physiques et chimiques de détoxification sont assez mal adaptées ; elles sont relativement drastiques, coûteuses et potentiellement dangereuses pour les manipulateurs.

Récemment, de nouvelles stratégies, basées sur l'utilisation d'**agents biologiques** (bactéries et levures) capables de complexer les toxines, ont été explorées. Cette approche, plus douce et moins coûteuse, fait actuellement l'objet de nombreux travaux de recherche. Les études sont encore pour la plupart réalisées *in vitro* mais des applications futures sont raisonnablement envisageables et certains produits commencent à apparaître sur le marché. Certaines souches de bactéries lactiques ont été montrées capables de lier *in vitro* plusieurs mycotoxines (Haskard *et al.*, 2001 ; Niderkorn *et al.*, 2006). Compte tenu du rôle technologique des bactéries lactiques dans la fermentation des ensilages, ces micro-organismes apparaissent comme de bons candidats à la diminution des mycotoxines présentes à la mise en silo. Les parois de levure de *Saccharomyces cerevisiae* sont également capables de lier *in vitro* les mycotoxines (Devegowda *et al.*, 1998). Des études récentes ont élucidé les structures des 2 types d'adsorbants impliqués dans le mécanisme de séquestration des mycotoxines : les ß-D glucanes pour les levures (Yiannikouris *et al.*, 2004) et le peptidoglycane pour les bactéries lactiques (Niderkorn *et al.*, 2009). Ces mêmes études ont montré également que les complexes formés entre ces adsorbants organiques et les mycotoxines étaient stables dans les conditions simulant le tractus gastro-intestinal des ruminants. Cette observation permet d'envisager une excrétion facilitée par les fèces du complexe mycotoxine - ligands organiques et donc une réduction de l'exposition aux mycotoxines. De plus, la capacité de ces ligands à lier plusieurs mycotoxines rend leur utilisation souhaitable dans les conditions d'alimentation des ruminants où la contamination par plusieurs mycotoxines est fréquente. Des études *in vivo* ont montré que l'addition de ces ligands, notamment les parois de levures, peut diminuer les effets négatifs des mycotoxines chez différentes espèces monogastriques mais aussi chez les ruminants (Korosteleva *et al.*, 2007). Récemment, nous avons obtenu, sur un "modèle rat", la preuve de l'intérêt du concept d'un produit commercial à base de parois de levures, en démontrant que son addition à une alimentation contaminée par l'AFB1 et l'OTA a diminué l'absorption des mycotoxines et l'augmentation significative de leur excrétion fécale (Firmin *et al.*, soumis). Les études sur un "modèle brebis" sont en cours.

En conclusion

La maîtrise du risque lié à la présence des mycotoxines dans les fourrages reste étroitement liée à la prévention du développement fongique avant et après la récolte. Des recherches sont nécessaires pour évaluer les effets toxiques d'une exposition chronique aux faibles doses, notamment sur le système immunitaire. Les préjudices économiques éventuels d'une telle exposition et la demande croissante des consommateurs en matière de sécurité alimentaire doivent justifier, en l'absence d'un contrôle régulier de la contamination mycotoxique des fourrages, la conduite de recherches sur de nouvelles méthodes de prévention et de décontamination des aliments destinés aux ruminants.

Contribution aux Journées de l'A.F.P.F.,
"Des fourrages de qualité pour des élevages à hautes performances économiques et environnementales",
les 25-26 mars 2009.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Applebaum R.S., Brackett R.E., Wiseman D.W., Marth E.H. (1982) : "Responses of dairy cows to dietary aflatoxin: feed intake and yield, toxin content, and quality of milk of cows treated with pure and impure aflatoxin", *J. Dairy Sci.,* 65, 1503-1508.

Auerbach H., Oldenburg E., Weissbach F. (1998) : "Incidence of *Penicillium roqueforti* and roquefortine C in silages", *J. Sci. Food Agric.,* 76, 565-572.

Bauer J., Gareis M., Bott A., Gedek B. (1989) : "Isolation of a mycotoxin gliotoxin from a bovine udder infected with *Aspergillus fumigatus", J. Med. Vet. Mycol.*, 27, 45-50.

Binder E.M., Tan L.M., Chin L.J., Handl J., Richard J. (2007) : "Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients", *Anim. Feed Sci. Technol.*, 137, 265-282.

Boudra H., Morgavi D.P. (2005) : "Mycotoxin risk evaluation in feeds contaminated by *Aspergillus fumigatus", Anim. Feed Sci. Technol.*, 120, 113-123.

Boudra H., Morgavi D.P. (2008) : "Reduction in *Fusarium* toxin levels in corn silage with low dry matter and storage time", *J. Agric. Food Chem.*, 56, 4523-4528.

Boudra H., Morgavi D.P., Galtier P., Michalet-Doreau B. (2002) : "Présence des moisissures toxinogènes et des mycotoxines dans les fourrages conservés. Signification et prévention", *9e Rencontres Recherches Ruminants*, 17-23.

Boudra H., Barnouin J., Dragacci S., Morgavi D.P. (2007) : "Aflatoxin M-1 and ochratoxin A in raw bulk milk from French dairy herds", *J. Dairy Sci.*, 90, 3197-3201.

Brossard L., Martin C., Chaucheyras-Durand F., Michalet-Doreau B. (2004) : "Protozoa involved in butyric rather than lactic fermentative pattern during latent acidosis in sheep", *Reprod. Nutr. Dev.*, 44, 195-206.

Chelkowski J., Szebiotko K., Golinski P., Buchowski M., Godlewska B., Radomyska W., Wiewiorowska M. (1982) : "Mycotoxins in cereal grain. Part 5. Changes of cereal grain biological value after ammoniation and mycotoxins (ochratoxins) inactivation", *Nahrung*, 26, 1-7.

Chestnut A.B., Bernard J.K., Harstin J.B., Reddick B.B. (1992) : "Performance of growing lambs fed *Acremonium coenophialum* infested tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) hay", *Small Rumin. Res.*, 7, 9-19.

COLE R.J., KIRKSEY J.W., DORNER J.W., WILSON D.M., JOHNSON J.C. JR., JOHNSON A.N., BEDELL D.M., SPRINGER J.P., CHEXAL K.K., CLARDY J.C., COX R.H. (1977) : "Mycotoxins produced by *Aspergillus fumigatus* species isolated from molded silage", *J. Agric. Food Chem.*, 25, 826-830.

COLE R.J., JARVIS B.B., SCHWEIKERT M.A. (2003) : *Handbook of secondary fungal metabolites*, New York.

DEVEGOWDA G., RAJU M.V., AFZALI N., SWAMY H.V.L.N. (1998) : "Mycotoxin picture world-wide : novel solutions for their counteraction", *Biotechnology in the feed industry, Proc. of Alltech's 14th annual Symp. : Passport to the year 2000*, 241-255.

DI MENNA M.E., PARLE J.N. (1970) : "Moulds on leaves of perennial ryegrass and white clover", *N.-Z. J. Agric. Res.*, 13, 51-68.

DUVICK J. (2001) : "Prospects for reducing fumonisin contamination of maize through genetic modification", *Environ. Health Perspect.*, 109, Suppl 2, 337-342.

EMILE J.C., BONY S., GHESQUIERE M. (2000) : "Influence of consumption of endophyte-infested tall fescue hay on performance of heifers and lambs", *J. Anim. Sci.*, 78, 358-364.

ESCOULA L. (1977) : "Moisissures des ensilages et conséquences toxicologiques", *Fourrages*, 69, 97-114.

FIRMIN S., GANDIA P., MORGAVI D.P., HOUIN G., JOUANY J.P., BERTIN G., BOUDRA H. (SOUMIS) : "Modification of aflatoxin B1 and ochratoxin A pharmacokinetics in rats administered a yeast cell wall preparation", *Food Addit. Contam.*

GALTIER P., ALVINERIE M. (1976) : "*In vitro* transformation of ochratoxin A by animal microbial floras", *Ann. Rech. Vétér.*, 1.

GAREIS M., WERNERY U. (1994) : "Determination of gliotoxin in samples associated with cases of intoxication in camels", *Mycotox. Res.*, 10, 2-8.

GIDDEY C., BRANDT J., BUNTER G. (1977) : "The detoxification of oil-seed cakes polluted by aflatoxin. Research and development of an industrial process", *Ann. Technol. agri.*, 27, 331-338.

HARVEY R.B., EDRINGTON T.S., KUBENA L.F., ELISSALDE M.H., CASPER H.H., ROTTINGHAUS G.E., TURK J.M. (1996) : "Effect of dietary fumonisin B1-containing culture material, deoxynivalenol-contaminated wheat, or their combination on growing barrws", *Am. J. Vet. Res.*, 57, 1790-1794.

HASKARD C.A., EL-NEZAMI H., KANKAANPAA P., SALMINEN S., AHOKAS J. (2001) : "Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria", *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, 3086-3091.

HELFERICH W.G., GARRETT W.N., HSIEH D.P.H., BALDWIN R.L. (1986) : "Feedlot performance and tissue residues of cattle consuming diets containing aflatoxins", *J. Anim. Sci.*, 62, 691-696.

HOLZER M., MAYRHUBER E., DANNER H., BRAUN R. (2003) : "The role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation", *Trends Biotechnol.*, 21, 282-287.

KOROSTELEVA S.N., SMITH T.K., BOERMANS H.J. (2007) : "Effects of feedborne *Fusarium* mycotoxins on the performance, metabolism, and immunity of dairy cows", *J. Dairy Sci.*, 90, 3867-3873.

LACEY J. (1991) : "Natural occurrence of mycotoxins in growing and conserved forage crops", *Mycotoxins and animal foods* (R.S. Henderson ed.), CRC Press, inc., Boca Raton, USA, 363-397.

LE BARS J., LABOUCHE C. (1979) : "Moisissures de quelques fourrages du Sénégal. Considérations écologiques et toxicologiques", *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, 32, 57-63.

LE BARS J., LE BARS P. (1996) : "Recent acute and subacute mycotoxicoses recognized in France", *Vet. Res.*, 27, 383-394.

LE BARS J., LE BARS P., BRICE G. (1990) : "Présence, accumulation et devenir du coumesrol dans la luzerne et ses dérivés", *Rec. Med. Vet.*, 166, 463-469.

MANSFIELD M.A., JONES A.D., KULDAU G.A. (2008) : "Contamination of fresh and ensiled maize by multiple *Penicillium* mycotoxins", *Phytopathology*, 98, 330-336.

MILLS J.T. (1989) : "Ecology of mycotoxigenic *Fusarium* species on cereal seeds", *J. Food Prot.*, 52, 737-742.

MORGAVI D.P., BOUDRA H., JOUANY J.P., MICHALET-DOREAU B. (2004) : "Effect and stability of gliotoxin, an *Aspergillus fumigatus* toxin, on *in vitro* rumen fermentation", *Food Addit. Contam.*, 21, 871-878.

MORGAVI D.P., BOUDRA H., JOUANY J.P. (2008) : "Consequences of mycotoxins in ruminant production", *Mycotoxins in Farm Animals* (I.P. Oswald, I. Taranu eds., Kerala (India), 29-46.

NIDERKORN V., BOUDRA H., MORGAVI D.P. (2006) : "Binding of *Fusarium* mycotoxins by fermentative bacteria *in vitro", J. Appl. Microbiol*., 101, 849-856.

NIDERKORN V., MORGAVI D.P., ABOAB B., LEMAIRE M., BOUDRA H. (2009) : "Cell wall component and mycotoxin moieties involved in the binding of fumonisin B1 and B2 by lactic acid bacteria", *J. Appl. Microbiol.,* 106, 3, 977-985.

OLDENBURG E. (1993) : "Occurence of zearalenone in maize", *Mycotox. Res*., 9, 72-78.

OLDENBURG E., WEISSBACH F., VALENTA H., HÖLTERSHINKEN M., BARKOW B., LOOSE K. (1998) : "Effects of endophyte-infected perennial ryegrass on the performance of sheep", *Rev. Med. Vet*., 149, 638.

OSWALD I.P., DESAUTELS C., LAFFITTE J., FOURNOUT S., PERES S.Y., ODIN M., LE BARS P., LE BARS J., FAIRBROTHER J.M. (2003) : "Mycotoxin fumonisin B1 increases intestinal colonization by pathogenic *Escherichia coli* in pigs", *Appl. Environ. Microbiol.,* 69, 5870-5874.

OSWALD I.P., MARIN D.E., BOUHET S., PINTON P., TARANU I., ACCENSI F. (2005) : "Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals", *Food Addit. Contam*., 22, 354-360.

PELHATE J. (1987) : "La microbiologie des foins", *Les fourrages secs : récolte, traitement, utilisation* (C. Demarquilly éd.), INRA, Paris, 63-81.

PITTET A. (1998) : "Natural occurrence of mycotoxins in food and feed-an update review", *Rev. Med. Vet*., 149, 479-492.

RICHARD E., HEUTTE N., BOUCHART V., GARON D. (2009) : "Evaluation of fungal contamination and mycotoxin production in maize silage", *Anim. Feed Sci. Technol*., 148, 309-320.

ROTTER B.A., MARQUARDT R.R., FROHLICH A.A. (1990) : "Ensiling as a means of reducing ochratoxin A concentrations in contaminated barley", *J. Sci. Food Agric*., 50, 155-166.

SCHNEWEIS I., MEYER K., HÖRMANSDORFER S., BAUER J. (2000) : "Mycophenolic acid in silage", *Appl. Environ. Microbiol*., 66, 3639-3641.

SCUDAMORE K.A., LIVESEY C. (1998) : "Occurrence and significance of mycotoxins in forage crops and silage : a review", *J. Sci. Food Agric*., 77, 1-17.

SHIER T.W. (1998) : "Estrogenic mycotoxins", *Rev. Med. Vet*., 149, 599-604.

SMITH T.K., MCMILLZN E.G., CASTILLO J.B. (1997) : "Effects of feeding blends of *Fusarium* mycotoxin-contaminated grains contained deoxynivalenol and fusaric acid on growth and feed consumption of immature swine", *J. Anim. Sci*., 75, 2184-2191.

TOMASI L., HORN W., RONCADA P., ZACCARONI A., LIGABUE M., BATTINI F., STRACCIARI G.L. (1999) : "Preliminary studies on the presence of B1 aflatoxin in cured forages in the province of Reggio Emilia (Italy)", *Fourrages*, 158, 179-186.

TOWERS N. (1993) : "Pasture as source of mycotoxins : the New Zealand experience and European implications", *Proc. UK Workshop on Occurrence and significance of mycotoxins* (K.A. Scudamore ed.), Central Science Laboratory MAF, Slough, Berkshire, UK, 16-26.

VELDMAN A., MEIJS J.A.C., BORGGREVE J.J. (1992) : "Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk", *Anim. Prod*., 55, 163-168.

WU F. (2006) : "Mycotoxin reduction in Bt corn : potential economic, health, and regulatory impacts", *Transgenic Res*., 15, 277-289.

WU F. (2007) : "Measuring the economic impacts of *Fusarium* toxins in animal feeds", *Anim. Feed Sci. Technol*., 137, 363-374.

YIANNIKOURIS A., FRANCOIS 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 Prot*., 67, 1195-1200.

SUMMARY

Mycotoxins : an insidiously menacing factor for the quality of forages and the performances of the ruminants

In opposition to cases of acute intoxication by mycotoxins, the risks of chronic infections by repeated ingestion of small amounts are frequent. The economic consequences in terms of losses in productivity and of animal health are difficult to estimate, but potentially important.

Various types of moulds can contaminate the forages, on the fields, during conservation (as hay or as silage), or during their consumption. Their development is favoured by certain climatic conditions or the conditions of the conservation and may diminish the feeding value of the forage and/or produce mycotoxins potentially dangerous to the animals' health. The methods of preventing the exposure of livestock to the mycotoxins are to be followed at all the stages of the production. Apart from keeping good conservation practices and from applying chemical silage additives, there exist methods based on the use of biological agents that have been tested with success.