

Etude du devenir de 4 mycotoxines de l'*Aspergillus fumigatus* dans les fourrages conservés

Fate of *Aspergillus fumigatus* toxins in conserved forages

H. BOUDRA, DP. MORGAVI, D. ALVAREZ et D. GRAVIOU

INRA, Unité de Recherches sur les Herbivores. Equipe Digestion et Absorption. 63122 Saint-Genès-Champagnelle

INTRODUCTION

L'*Aspergillus fumigatus* est l'une des espèces majoritaires rencontrées dans les fourrages conservés, elle est souvent associée à l'échauffement des balles rondes de foin. L'*A. fumigatus* est le principal agent responsable de cas d'aspergillose, il a été également à l'origine de cas de mammites (Bauer *et al.*, 1989 ; Gareis et Wernery, 1994). De plus, l'extrait de culture de l'*A. fumigatus*, administré par voie orale à la souris et au rat, montre une forte action trémorgène (Land *et al.*, 1987). Dans les conditions de laboratoire, il produit plusieurs toxines : trémorgéniques (fumitremogènes A, B, et C, le verruculogène, et la TR-2), alcaloïdiques (fumigaclavine A, B et C) et la gliotoxine (Cole and Cox 1981). Des tests de toxinogénèse ont montré que la totalité des 15 souches testées sur milieu synthétique ont montré un haut potentiel toxigène ; elles produisent toutes 2 à 4 toxines à la fois (Boudra *et al.*, 2004). En revanche, sur 5 types de fourrages testés seul le dactyle et le ray grass ont été favorables à la production de gliotoxine (Boudra *et al.*, 2002).

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de la teneur en matières sèches (MS) et de la durée de conservation du fourrage sur la stabilité de 4 toxines de l'*A. fumigatus* (gliotoxine, verruculogène, fumagilline, et acide helvolique).

1. MATERIEL ET METHODES

La stabilité de ces 4 toxines a été étudiée sur 2 types de fourrages (dactyle et ray grass italien) ajustés à 8 et 50 % de teneurs en matières sèches, simulant ainsi le fourrage sec et l'ensilage respectivement. Ces fourrages ont été contaminés avec un mélange de 4 toxines: gliotoxine, fumagilline, acide helvolique et verruculogène à la concentration de 50, 30, 20 et 20 µg.ml⁻¹, respectivement. Ces échantillons ont été fermés, puis stockés à température ambiante et à l'obscurité à des temps variables. Un contrôle sans les toxines a été réalisé pour chaque type de fourrage. Chaque temps a été analysé en triplicate (n = 64). La stabilité de ces 4 toxines en solution pure a été également testée dans les mêmes conditions. Les échantillons ont été dosés par CLHP et détection en Barettes de Diode à 0, 1, 2 et 4 semaines.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

A l'exception de la fumagilline, les 3 autres toxines sont relativement stables. La fumagilline décroît de 35 % en moyenne après 1 semaine de stockage, ce taux atteint 90 % après 8 semaines (tableau 1). A la fin du stockage, le taux de toxine récupéré est en moyenne de 63, 76 et 89 % pour respectivement la gliotoxine, le verruculogène et l'acide helvolique. Le type de fourrage et le taux de MS n'a pas d'effet significatif sur la stabilité des toxines ($P > 0,05$). En solution pure, les 4 toxines sont parfaitement stables durant la période de conservation (tableau 2). Cette différence de stabilité pourrait s'expliquer par la présence de microorganismes dans les fourrages pouvant dégrader une partie des toxines.

Tableau 2 : stabilité des 4 toxines en solution pure

Incubation (Semaine)	Concentration (µg/ml) ^b			
	Gliotoxine	Fumagilline	Ac. Helvolique	Verruculogène
T0	427	146	214	214
T4	337	119	167	170
T7	406	122	202	210
Moyenne (±SD)	390±46	129±14	194±24	197±24

(b) : (Moyenne ± sd, n=3)

Des études *in vitro* sur la fermentation ruminale (Morgavi *et al.*, 2002) ont montré que la gliotoxine seule n'a pas d'effets négatifs aux concentrations habituellement retrouvées dans la nature. En revanche, contenue dans un extrait de culture d'*A. fumigatus*, la gliotoxine entraîne à faible dose (8 µg.ml⁻¹) des effets négatifs marqués sur les processus fermentaires (travaux non publiés). Ceci indique qu'un effort doit être fait pour la recherche et le dosage des autres toxines dans les aliments suspects.

Ce travail fait partie du Programme Transversal Inter-Départements INRA "Mycotoxines".

Bauer J., *et al.* 1989. J. Med. Vet. Mycol., 27, 45-50

Boudra H., *et al.* 2002. 9^{ème} Rencontres Recherches Ruminants

Boudra H, Morgavi, DP. 2004. Fd Add Cont (soumis)

Cole R. J. et Cox R. H. 1981. In Handbook of toxic metabolites

Gareis M. et Wernery U. 1994. Mycotox Res., 10: 2-8.

Land C. J., *et al.* 1987. Appl. Env. Microbiol., 53, 787-790

Tableau 1 : stabilité des 4 toxines sur 2 types de fourrages et à 2 teneurs en MS

Stockage (semaine)	Pourcentage de toxine restant : [(1-(C0-C)/C0)x 100] (%) ^a							
	Fumagilline		Gliotoxine		A. helvolique		Verruculogène	
	Sec	Humide	Sec	Humide	Sec	Humide	Sec	Humide
	Ray Grass							
1	69,8 ± 3,9	67,2 ± 3,4	80,7 ± 5,1	90,1 ± 6,1	103,3 ± 5,2	116,8 ± 6,8	85,7 ± 7,1	88,8 ± 4,1
4	24,4 ± 19,4	24,2 ± 1,8	71,6 ± 10	72,4 ± 12,0	98,0 ± 4,1	106,3 ± 1,9	76,3 ± 6,2	76,4 ± 1,0
8	7,0 ± 7,0	8,4 ± 9,2	58,5 ± 11	61,7 ± 12,1	92,5 ± 11,5	106,7 ± 8,1	68,6 ± 7,7	72,3 ± 8,5
	Dactyle							
1	68,1 ± 3,6	58,6 ± 2,6	83,9 ± 4,6	112,0 ± 10,0	90,3 ± 3,9	82,0 ± 1,7	95,9 ± 3,0	80,4 ± 2,2
4	19,1 ± 20,5	26,9 ± 2,6	78,4 ± 8,2	73,6 ± 24,6	75,2 ± 9,3	79,9 ± 4,2	86,0 ± 9,4	72,4 ± 3,3
8	8,7 ± 3,8	12,5 ± 1,3	76,7 ± 5,1	53,8 ± 28,5	77,6 ± 0,3	79,8 ± 2,7	93,0 ± 10,9	69,6 ± 1,3

(a) (Moyenne ± sd, n=3)