

Etude du devenir de la gliotoxine dans le rumen.

Fate of gliotoxin in rumen fluid.

H. BOUDRA, DP. MORGAVI, D. ALVAREZ, B. MICHALET-DOREAU.

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

INTRODUCTION

La gliotoxine est une des nombreuses toxines produites par l'*Aspergillus fumigatus*. Elle est douée de propriétés antibiotiques et immunosuppressives et peut jouer par conséquent un rôle dans l'apparition de maladies opportunistes chez les ruminants. La gliotoxine a été détectée sur des échantillons de poumon de dinde et de mamelles infectés par *A. fumigatus*. De plus, l'extrait de culture de l'*A. fumigatus*, administré (Bauer *et al.*, 1989, Gareis et Wernery, 1994) par voie orale à la souris et au rat, montre une forte action trémorgène (Land *et al.*, 1987).

L'objectif de ce travail est d'étudier le devenir de la gliotoxine, et d'évaluer ses effets *in vitro* sur les fermentations ruminales.

1. MATERIELS ET METHODES

⊗ Le jus de rumen (JR), prélevé sur 3 brebis fistulées avant la prise d'aliment, a été mélangé à égal volume pour former un "pool". Une partie de ce JR a été stérilisée (JR-S) par autoclavage (110°C, 10 min).

⊗ Les fermentations *in vitro* ont été conduites en anaérobiose dans des flacons de 100 ml contenant 20 ml d'un mélange de JR, tampon et de 400 mg de foin de luzerne comme substrat. Ces échantillons ont été contaminés avec de la gliotoxine à un taux de 20 µg/ml et incubés dans un BM en agitation à 39°C. Des prélèvements (2 ml) ont été effectués à 0, 30, 60, 90, 120, 240, 360 minutes et après 24h. Chaque temps a été analysé en triplicate (n=24). Un contrôle sans gliotoxine est réalisé (n=2).

⊗ En fin d'incubation, la gliotoxine a été dosée par CLHP après une extraction liquide-liquide avec le chloroforme et une détection en UV à 268 nm. Les mesures de la fermentation ont été également effectuées.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La gliotoxine n'est pas stable dans le JR-NS et le JR-S. Dans les deux cas, une disparition de plus de 50% a été enregistrée après 30 minutes d'incubation. Dans le JR-NS, cette disparition de la gliotoxine s'est accentuée pour atteindre 90% après 2 h, alors que dans le JR-S, le taux est resté stable durant toute la durée de l'incubation (Tab). La disparition de la gliotoxine pourrait avoir au moins 2 explications:

(1) Une partie de la gliotoxine pourrait être "dégradée" ou transformée par les microorganismes du rumen présents dans le JR-NS.

(2) La présence d'un milieu fortement réducteur du rumen pourrait réduire la gliotoxine au niveau de son pont dissulfure (S-S). En effet, l'addition d'agents réducteurs, tels que le dithiothreitol (réducteur spécifique du pont S-S) (Fig) transforme entièrement la gliotoxine en un dérivé chromatographiquement différent mais possédant le même spectre d'absorption en UV.

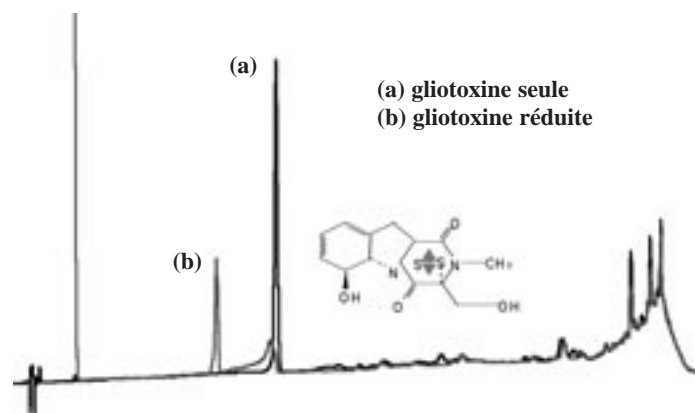
Tableau 1

Cinétique de disparition de la gliotoxine dans le JR.

Incubation (mn)	C ₀ -C/C ₀ ⁽¹⁾						
	30	60	90	120	240	360	1440
JR-NS	86,2		13,2	86,1	89,9	91,1	87,9
	±		±	±	±	±	±
	2,0		37,6	0,3	0,3	0,9	1,8
JR-S	59,1	69,6	-1,6	28,4	37,8	54,4	48,1
	±		±	±	±	±	±
	1,2	1,4	4,3	0,8	0,8	1,6	1,8

(1) (Moyenne ± sd, n=3)

Figure 1



De plus, jusqu'à une concentration de 5 µg/ml de JR, représentant une ingestion d'un fourrage contaminé à un taux d'environ 50 µg/g de fourrages, la gliotoxine seule n'a pas d'effet sur les fermentations ruminales.

CONCLUSION

La gliotoxine est très instable dans le JR fortement réducteur, et n'a pas d'effet sur les fermentations. En conclusion, on peut dire que la gliotoxine constituerait un risque mineur pour les ruminants, d'autant plus que la production de gliotoxine est faible aux conditions optimales de toxinogénèse, et ne s'accumule pas dans le milieu de culture (Boudra *et al.*, 2002).

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.

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

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