ISSN: 0759-0644

Microbiologie
Aliments
Nutrition

Microbiology - Foods and Feeds - Nutrition Microbiologia - Alimenti - Nutrizione Mikrobiologie - Nahrungsmitteln - Ernährung Microbiología - Alimentos - Nutrición

11.01



Publication périodique éditée par la société I.E.E.N.A avec le concours scientifique de l'Association A.TESSIER

ABONNEMENTS 1987

| France métropolitaine, départements et territoires français d'Outre- Mer (prix T.T.C.) | |
|--|----------|
| — Abonnement annuel (4 fascicules) | 450 F.F. |
| — Le numéro (franco) | 140 F.F. |
| Etablir la commande et le titre de paiement au nom de : | |
| Société I.E.E.N.A 2, Av. Salengro - 92290 Châtenay-Malabry (France (B.N.P., Agence de Sceaux, 27 rue Houdan - 92330 Sceaux Code Banque: 30004 - Code guichet: 01496 - N° de compte: 240286 2 | |

Les abonnements partent du premier numéro de l'année.

SUBSCRIPTION 1987

| SUBSCRIPTION 1987 | |
|--|----------|
| — Annual subscription (4 issues) | |
| Belgium, Czechoslovakia, Denmark, East Germany, West Germany, Great-Britain, Greece, Hungria, Ireland, Italy, Luxemburg, The Netherlands, Norway, Poland, Portugal, Switzerland, Spain, Sweden, Yugoslavia | 450 F.F. |
| — Other countries of Europa, America, Asia, Africa, Oceania, (air mail charges paid) | 450 F.F. |
| — One copy (postage paid-all countries) | 140 F.F. |
| Subscription order and payment should be send to: Société I.E.E.N.A 2, Av. Salengro - 92290 Châtenay-Malabry (Fran (Banque Nationale de Paris - Agence de Sceaux, 27 rue Houdan - F. 92. | |
| 30004 - 01496 - Account number 240286 23). | |

The subscription will run from January to December

TOXICITE AIGUE SUR CANETONS PEKIN DE SOUCHES DE FUSARIUM MONILIFORME ISOLEES DU MAIS EN NOUVELLE-CALEDONIE

D. LAURENT •(*), F. PELLEGRIN (*), F. KOHLER (*), C. LAMBERT (*), J. HAMEURT (*), B. BOCCAS (**) et J. DOMENECH (***)

ACUTE TOXICITY ON PEKIN DUCKLINGS OF *FUSARIUM MONILIFORME* ISOLATED FROM MAIZE IN NEW CALEDONIA

Summary

The toxicity of *Fusarium moniliforme* strains isolated from maize in New Caledonia has been tested on one day old Pekin ducklings. Toxic isolates of the fungus killed the ducklings within 6 days only when mixed to an unbalanced ration. Ducklings fed on a well balanced ration containing the same isolates survived and showed only symptoms of intoxication.

* KEY WORDS: Fusarium moniliforme - Toxicity - Ducklings - Maize.

INTRODUCTION

Le potentiel toxinogène d'une population de souches de *Fusarium moniliforme* Sheldon parasitant le maïs en Nouvelle-Calédonie a été étudié à la suite de plusieurs cas de leucoencéphalomalacie observés chez des chevaux ayant ingéré du maïs infesté par ce champignon (2,3).

L'expérimentation, réalisée sur le rat de 20 jours, a permis de classer les souches en fonction de leur pouvoir toxique (7). Afin d'établir une relation entre les résultats obtenus chez le rat, et ceux qu'ont par ailleurs obtenus l'équipe de Marasas chez le caneton Pékin (5), une expérimentation complémentaire a été réalisée chez cette seconde espèce animale selon la méthode utilisée par Marasas. Le présent article rapporte les résultats de cette expérimentation, et met en évidence les conditions dans lesquelles le test sur caneton peut être utilisé.

Fonds Documentaire ORSTOM Cote: 6×5666 Ex: 1

^(*) Laboratoire de Phytopathologie du Centre ORSTOM de Nouméa- B.P. A5 - Nouméa - Nouvelle-Calédonie.

^(**) ORSTOM - Département E.-213, rue la Fayette - 75480 Paris Cedex 10.

^(***) IEMVT - B.P. 25 - Paita - Nouvelle Calédonie.

| | Aliment "poulette" commercial Ration I | Aliment spécial (¹) Ration II | |
|-----------------------------|---|----------------------------------|--|
| Maïs fusarien | 500 g | 520 g | |
| Soja | + | 310 g | |
| Farine de riz | _ | 120 g | |
| Blé | 150 g | _ | |
| Orge | 50 g | _ | |
| Maïs | 214 g | _ | |
| Sorgho | + | | |
| Son (brisures) | + | _ | |
| Tournesol | + | _ | |
| Farine de viande | 84 g | _ | |
| Phosphate bicalcique | _ | 15 g | |
| Sel | 5 g | 5 g | |
| Méthionine | + | 1 g | |
| Lysine | + | _ | |
| Chaux | + | 21 g | |
| Antioxydant | _ | 0,50 g | |
| Prémix | | | |
| - mat. minérale totale | · + | 1,40 g | |
| - P | 3,50 g | 7 g | |
| - Ca | 5 g | 0,70 g | |
| - NaCl | | 0,35 g | |
| - Insolubles chlorhydriques | - | 1,40 g | |
| - Vit. A | 7 500 UI | 1 260 000 UI | |
| - Vit. D3 | 1 000 UI | 420 000 UI | |
| - Vit. E | 10 UI | 2 100 UI | |
| Vitamines A | _ | 500 UI | |
| D3 | _ | 125 UI | |
| Е | - | 0,10 mg | |
| B 1 | | 0,06 mg | |
| B2 | _ | 0,16 mg | |
| В6 | _ | 0,06 mg | |
| C | _ | 1,50 mg | |
| K3 | _ | 0,08 mg | |
| PP | | 0,10 mg | |

⁺ Présent en quantité indéterminée - Absent

⁽ 1) La composition de la ration II, équilibrée, a été mise au point par D. Bregeat, vétérinaire nutritionniste à 1 IEMVT.

Isolement et entretien des souches

Les souches isolées du maïs sont purifiées sur le milieu P.D.A. (Potato Dextrose Agar) à fort pouvoir antibiotique (Pénicilline et Colimycine à 1 000 000 UI/litre), puis conservées en tubes sur terre ou vermiculite stériles. Les souches utilisées sont des clones issus des isolats.

Méthodes de culture des souches éprouvées

Ces souches sont cultivées en erlenmeyer de 5 litres sur 1,2 kg de grains de maïs humidifiés à 80 %. Ce substrat est stérilisé 2 fois 1 heure à 110°C, à 12 heures d'intervalle, puis ensemencé avec 30 ml d'une suspension de spores, et incubé 21 jours à 25°C.

Préparation des aliments

La culture est séchée à 40 % dans un tunnel à air pulsé et sous lampes à infrarouges, puis broyée finement.

L'aliment définitif comprend 50 % de maïs moisi et 50 % d'aliment complémentaire. Ce dernier est soit un aliment commercial pour poulette (ration I), soit un mélange dont les proportions de produits de base permettent d'obtenir un aliment final équilibré et correctement supplémenté en vitamines et acides essentiels (ration II). La composition des rations I et II est indiquée dans le tableau I.

Expérimentation animale

Des lots de canetons Pékin de 1 jour sont composés de 4 à 8 individus suivant les disponibilités.

Les aliments sont distribués *ad libitum* aux canetons dès le 2^e jour de vie sous forme d'une pâtée préparée par l'adjonction de 500 ml d'eau à 1 000 g de farine.

L'expérimentation est conduite pendant 15 jours. L'évolution du poids des animaux, les quantités d'aliments consommées, les éventuels signes cliniques et les lésions d'autopsie sont notés.

Recherche de toxines connues

Une recherche de la moniliformine a été effectuée selon les méthodes de Rabie (8) et Burmeister (1) sur des extraits aqueux et hydroalcooliques à 60 %, provenant de maïs artificiellement contaminé avec des souches toxiques et non toxiques de *F. moniliforme*.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Quarante trois souches de *F. moniliforme* isolées en Nouvelle-Calédonie ont été éprouvées après avoir été incorporées à l'aliment équilibré (ration II). Aucune mortalité n'a été observée chez les canetons. Les seuls symptômes d'intoxication détectés furent : quelques signes d'anorexie, des retards de croissance, des défauts d'emplumement, quelques lésions du proventricule, quelques ulcérations de la muqueuse du gésier et des entérites.

La même méthode utilisée pour tester une souche d'origine sud-africaine (souche MRC 826), considérée comme fortement toxinogène pour le caneton par l'équipe de Marasas (4, 5, 6), a donné un résultat négatif : les canetons ont survécu sans manifester de symptôme d'intoxication.

14 Cette divergence entre nos résultats et ceux de Marasas nous a conduit à reprendre notre expérimentation en incorporant les cultures de *Fusarium*, non plus à un aliment équilibré, mais à un aliment habituel du commerce (ration I), suivant en cela strictement le protocole utilisé par l'équipe de Marasas.

Les résultats de cette seconde expérimentation figurent dans le tableau II.

Tableau II — Toxicité de certaines souches suivant la composition de la ration alimentaire

| | nombre de canetons | nombre de morts | temps moyen de mortalité | poids moyen de départ (g.) | poids moyen final (14 j.) (g.) | quantité consommée/ caneton (g.) |
|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|--|
| Témoin Ration I | 13 | 0 | | 46 | 181 | 562 |
| Témoin Ration II | 18 | 0 | _ | 49 | 363 | 566 |
| 68 B Ration I | 10 | 0 | - | 47 | 131 | 240 |
| 68 B Ration II | 10 | 0 | - | 46 | 335 | 560 |
| 68 R Ration I | 20 | 20 | 5,2 j | 44 | 40,2 | 15 |
| 68 R Ration II | . 14 | 0 | - | 48 | 324 | 486 |
| MRC 826 Ration I | 13 | 10 | 5,8 j | 48 | 48 (morts) 89 (sacrifiés) | 32 |
| MRC 826 Ration II | 14 | 0 | _ | 45 | 300 | 400 |

Ils mettent en évidence les faits suivants :

- une faible assimilation de l'aliment du commerce (ration I) par rapport à l'aliment équilibré (ration II). A consommation égale, la perte de poids est de 50 % chez les canetons nourris avec la ration I.
- l'effet toxique n'apparaît significativement que chez les canetons malnutris. Ainsi, la souche 68 R, léthale pour le rat de vingt jours dans nos expérimentations antérieures (7), l'est également pour le caneton Pékin lorsqu'elle est incorporée à l'aliment du commerce. Dans ce cas la mortalité intervient en 4 à 6 jours sans gain de poids des animaux intoxiqués. Dans les mêmes conditions expérimentales la souche sud-africaine MRC 826 tue les canetons en 5 à 6 jours, ce qui confirme les résultats rapportés par Kriek (4).
- la souche 68 B, non toxique pour le rat ne provoque pas de toxicité chez le caneton, quelque soit le type d'aliment auquel on l'incorpore.
- ces observations qui mettent en évidence la toxicité de la souche 68 R, et la non toxicité de la souche 68 B, confirment les résultats obtenus par Marasas (communication personnelle) sur les mêmes souches.
- lorsque la souche 68 R, toxique, est incorporée à la ration I, la consommation de l'aliment est 32 fois plus faible que lorsque cette souche est incorporée à la ration II. La présence de la souche 68 R dans l'aliment du commerce induit donc un refus de nourriture très significatif chez les canards, ce phénomène n'étant pas observé avec un aliment équilibré. Ce refus de nourriture semble du à une action rapide de la toxine sur le tractus digestif des animaux : les autopsies ont en effet révélé d'importantes lésions hémorragiques du tube digestif (intestin grêle) et des atteintes hépatiques après l'ingestion de l'aliment du commerce (ration I) contaminé par la souche toxique, alors que ces symptômes n'existent pas chez les canards ayant reçu la ration II équilibrée et contaminée par cette même souche.

L'hypothèse qu'un ou plusieurs éléments de la ration II (vitamine (s), acide (s) aminé (s) essentiel (s) ou autre (s) empêche (nt) la toxine de s'exprimer est envisageable. Cette hypothèse est en cours d'étude.

La recherche de moniliformine n'ayant pas été concluante, il apparaît par ailleurs probable que le pouvoir toxique observé chez les souches calédoniennes de *F. moniliforme* est du à des toxines encore inconnues. Cette situation est identique à celle décrite par Marasas (5), et confirme les résultats obtenus dans les expérimentations chez le rat de 20 jours.

CONCLUSION

Le test *per os* sur canetons Pékin de 1 jour mis au point par Kriek (4) et Marasas (5, 6) est utilisable si les souches toxiques sont incorporées à un aliment déséquilibré qui affaiblit l'animal et permet ainsi à la (aux) toxine (s) de s'exprimer. Il perd par contre son efficacité si la toxine est administrée dans une alimentation équilibrée.

Les premiers résultats que nous avons obtenus dans cette expérimentation sont par ailleurs en accord avec ceux de l'épreuve chez le rat de 20 jours : les mêmes souches sont toxiques chez les deux espèces animales.

Les recherches en cours se proposent maintenant d'établir s'il existe une relation entre la toxicité mise en évidence chez le rat et le caneton d'une part, et celle qui provoque la leucoencéphalomalacie du cheval d'autre part, puis d'identifier le (ou les) principe (s) actif (s) responsable (s) de cette toxicité.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BURMEISTER H.R., CIEGLER A., VESONDER R.F. Moniliformin, a metabolite of Fusarium moniliforme NRRL 6322: purification and toxicity. Appl. Env. Microb., 1979, 37 (1), 11-13.
- (2) DOMENECH J., BOCCAS B., PELLEGRIN F., LAURENT D., KOHLER F., MAGNOL J. et LAMBERT C. Etude de la fusariose du maïs à *Fusarium moniliforme* en Nouvelle-Calédonie et de la pathologie équine associée : la leucoencéphalomalacie toxique. Rev. Elev. Med. Vét. Pays Trop., 1984, 37 (3), 253-259.
- (3) DOMENECH J., BOCCAS B., PELLEGRIN F., LAURENT D., KOHLER F., MAGNOL J. et LAMBERT C. Equine leucoencéphalomalacia in New Caledonia. Australian Veterinary Journal, 1985, 62 (12), 422-423.
- (4) KRIEK N.P.J., MARASAS W.F.O., THIEL P.G. Hepato and cardiotoxicity of Fusarium verticillioides (F. moniliforme) isolates from southern african maize. Fd. Cosmet. Toxicol., 1981, 19, 447-456.
- (5) MARASAS W.F.O., KRIEK N.P.J., STEYN M., VAN RENSBURG S.J. et VAN SCHALKWYK D.J. - Mycotoxicological investigations on Zambian maize. Fd. Cosmet. Toxicol., 1978, 16, 39-45.
- (6) MARASAS W.F.O., KRIEK N.P.J., WIGGINS V.M., STEYN P.S., POWERS D.K., HASTIE T.J. Incidence, geographic distribution and toxigenicity of *Fusarium* species in South African corn. Posharvest Pathology and Mycotoxins, 1979, 69 (11), 1181-1185.
- (7) PELLEGRIN F., LAURENT D., KOHLER F., HAMEURT J., DOMENECH J., BOCCAS B. Potentiel toxinogène des souches de *Fusarium moniliforme* parasitant le maïs en Nouvelle-Calédonie. Microbiol. Alim. Nutri., 1986, 4, 157-161.
- (8) RABIE C.J., LUBBEN A., LOUW A.I., RATHBONE E.B., STEYN P.S. et VLEGGAAR R. Moniliformin, a mycotoxin from *Fusarium fusarioïdes*. J. Agric. Food Chem., 1978, **26** (2), 375-379.