

Dosage des mycotoxines en maïs ensilage et corrélation avec la présence de champignons (collaboration CARAH-CAM-UCL) dans le cadre du Centre Agricole Maïs (financé par la DGA RW).

1. Problématique

La plupart des champignons sont relativement inoffensifs puisqu'ils ne font que réduire la productivité ou la valeur nutritive du matériel végétal qu'ils infectent.

Cependant, quelques champignons produisent des composés chimiques toxiques, appelés mycotoxines. Il s'agit de composés organiques complexes, produits par un champignon pathogène afin d'accroître sa compétitivité sur les autres microorganismes et d'accroître « sa part du gâteau » des substrats disponibles pour sa croissance.

Lorsque ces mycotoxines deviennent de plus en plus concentrées (10 à 20 parties par milliard, PPB), elles peuvent être cancérigènes ou poser des problèmes respiratoires tant chez l'animal que chez l'humain.

En faibles concentrations, les mycotoxines peuvent causer, chez les bovins, une diminution de la prise alimentaire, du gain de poids et de la production laitière ainsi qu'une augmentation des problèmes de reproduction.

Les problèmes liés aux mycotoxines auraient augmenté ces 25 dernières années notamment chez la vache laitière : sa consommation quotidienne a pratiquement doublé alors que son grosseur a augmenté beaucoup moins rapidement. Il en résulte un accroissement de la production laitière mais aussi de façon indirecte, une augmentation de la dose de toxines ingérées par unité de poids de l'animal.

Les moisissures telles que *Aspergillus* sp, *Fusarium* et *penicillium* sp. sont identifiées comme étant d'importants champignons producteurs de mycotoxines dans les ensilages.

Aspergillus sp. produit aflatoxines (surtout en régions chaudes).

Fusarium sp. produit le désoxynivalénol (DON), le zéaralénone, la toxine T2 et la fumonisine.

Les *penicillium* sp. produisent des ochratoxines.

La patuline est aussi signalée, surtout en front d'attaque des silos.

Il est à noter que les aflatoxines, ochratoxines A et zéaralénone peuvent se retrouver dans le lait via l'ingestion d'aliments contaminés.

2. Facteurs favorisant l'apparition de toxines en ensilage

La quantité de mycotoxines présente dans l'ensilage a tendance à augmenter lorsque l'étanchéité du silo diminue.

Les plus grandes quantités de mycotoxines sont généralement rencontrées dans les ensilages provenant de silos horizontaux laissés en contact avec l'air. Cette présence est souvent corrélée à une mauvaise gestion du silo favorisant la présence d'oxygène dans l'ensilage.

3. Prélèvement des échantillons destinés aux analyses

Le prélèvement d'un échantillon représentatif pour doser les mycotoxines est difficile puisque les moisissures peuvent produire une très grande quantité de toxines sur une petite surface. La concentration peut donc varier énormément à l'intérieur d'un silo.

Il est possible de prélever deux types d'échantillons :

- un échantillon prélevé dans les zones du silo présentant une mauvaise conservation manifeste. Cet échantillon doit permettre de répertorier les différentes mycotoxines rencontrées dans nos ensilages.
- un deuxième échantillon issu de 50 coups de sonde dans le front d'attaque du silo sera homogénéisé. De cet échantillon sera prélevé un sous-échantillon de 1kg destiné au laboratoire. Il doit permettre de quantifier la contamination générale du silo.

Les échantillons d'ensilage devront impérativement être conservés au congélateur (voire séchés à $t^{\circ} < 60^{\circ}$) et transportés au laboratoire dans un bac isotherme garni de poches de réfrigération car des mycotoxines peuvent être produites après l'échantillonnage.

4. Analyses en laboratoire

Le CARAH se charge d'analyser sur chaque échantillon les mycotoxines suivantes :

- DON
- Zéaralénone
- Ochratoxine A
- Toxine T2
- Patuline
- Aflatoxines B1 B2 G1 G2
- Fumonisine

5. Prélèvement des échantillons destinés aux analyses

Le prélèvement d'un échantillon représentatif pour doser les mycotoxines est difficile puisque les moisissures peuvent produire une très grande quantité de toxines sur une petite surface. La concentration peut donc varier énormément à l'intérieur d'un silo.

Il est possible de prélever deux types d'échantillons :

- un échantillon prélevé dans les zones du silo présentant une mauvaise conservation manifeste. Cet échantillon doit permettre de répertorier les différentes mycotoxines rencontrées dans ces taches.
D'autre part, un deuxième échantillon prélevé dans la même zone du silo peut être prélevé et envoyé **à l'état frais** le plus rapidement possible à la mycothèque de Louvain-la-Neuve pour y déterminer les champignons présents.
- un deuxième échantillon, issu de 50 coups de sonde à +/- 30 cm de profondeur dans le front d'attaque du silo, fera l'objet d'une bonne homogénéisation. De cet échantillon sera prélevé un sous échantillon de 1kg destiné au laboratoire. Il doit permettre de qualifier et de quantifier la contamination générale du silo.

Les échantillons d'ensilage destinés à la mesure des mycotoxines devront impérativement être conservés au congélateur (voire séchés à $t^{\circ} < 60^{\circ}$) et transportés au laboratoire dans un bac isotherme garni de poches de réfrigération car des mycotoxines peuvent être produites après l'échantillonnage.

En pratique...

Le CARAH se charge de prélever les doubles échantillons issus à la fois des 50 coups de sonde et des taches suspectes, à moins qu'un partenaire n'émette le souhait d'en fournir également, dans les conditions de prélèvement décrites ci-dessus. Dans ce cas, Prévenir le CARAH.

Sinon, les partenaires du CAM auront la possibilité de nous faire parvenir des échantillons d'ensilage présentant des taches suspectes (5 maximum par centre ou un total de 25 maximum tous centres confondus). Les échantillons destinés à l'analyse des mycotoxines seront conservés au congélateur dans un sachet plastique reprenant des **références** claires (voir ci-dessous).

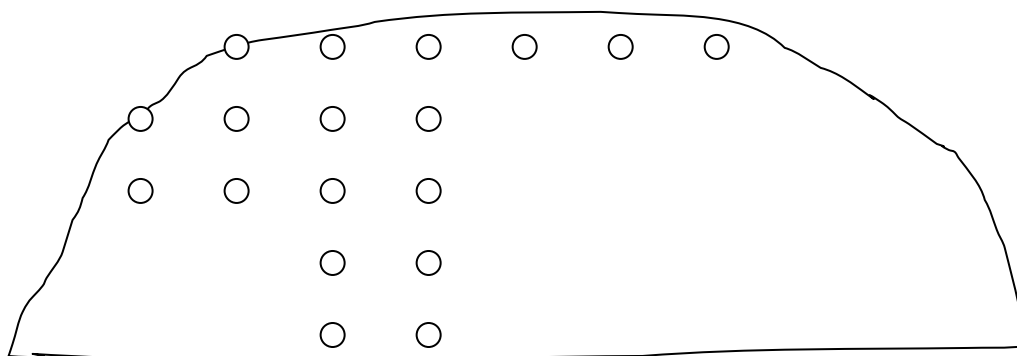
Un deuxième échantillon d'ensilage **frais** muni des **mêmes références** peut être envoyé de suite à la mycothèque de LLN pour une détermination des champignons présents dans l'ensilage. Ces **mêmes références** seront conservées par le préleveur.

Ces références comprendront impérativement :

- le nom du centre qui a prélevé : OPA, CHPTE...
- le numéro d'ordre de l'échantillon : 1,2,...
- la date de prélèvement : 01/02/04...
- Le lieu de prélèvement : Ciney...

Après concertation ou sur demande, une tournée sera organisée par le CARAH pour rapatrier ces échantillons à Ath.

Les 50 coups de sonde se donneront en respectant autant que faire se peut, un quadrillage du front de silos, comme schématisé ci-dessous.



Une fiche de prélèvement ad hoc sera remplie lors de chaque prélèvement et devra suivre l'échantillon au laboratoire.

Fiche de prélèvement mycotoxines			
Numéro de l'échantillon			
Nom du centre			
Date de prélèvement			
Nom de l'agriculteur			
Adresse de l'agriculteur			
Tél Fax agriculteur			

Lieu de prélèvement			
Date de récolte du maïs			
Conditions de récolte du maïs	Bon/Moyen/Mauvais		
MS à la récolte	Sec/normal/humide		
Problème rencontré lors de conservation	Oui/Non		
Si oui quels problèmes?			
Problème au niveau du bétail	Oui/Non		
Si oui quels problèmes?			
Variété(s) de maïs ensilées			
Méthode désilage			
Progression désilage hebdom. en mètre			
Description de la tache s'il y a lieu: couleur, odeur, présence de corps étrangers, terre, O2..., humidité + Schéma du front de coupe (présence de strates...)			
<i>Photo si possible</i>			
Résultat de l'analyse mycologique si connu			

6. Résultats 2006

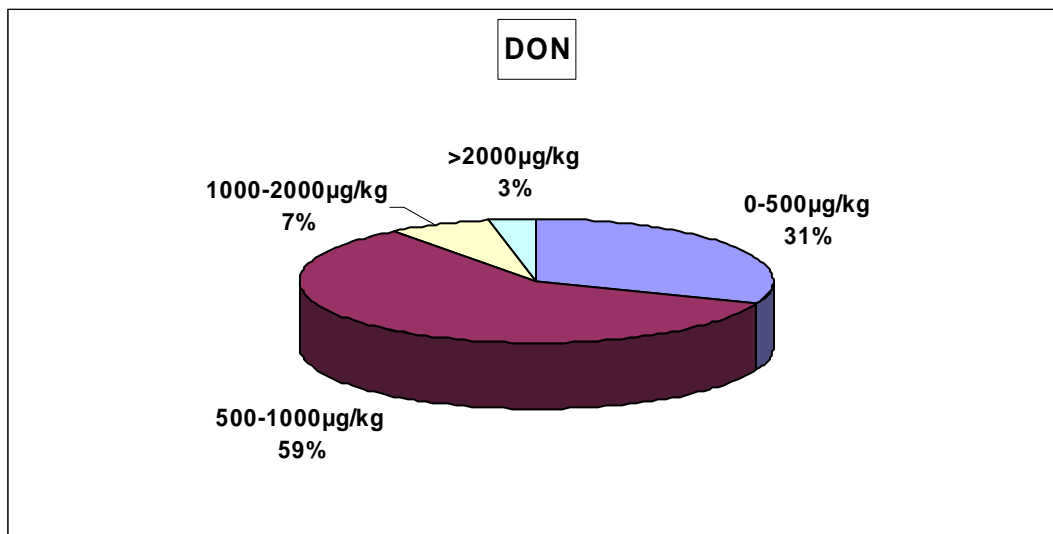
Référence		DON mg/kg	Zearalénone µg/kg	Fumonisine mg/kg	T2 (µg/kg)	Ochratoxine (µg/kg)	Aflatoxine (µg/kg)
CHIM6/09462	Ensilage escourgeon	0.2	76.1	<1	31.6	<2	<1
CHIM6/09463	Ensilage escourgeon	0.3	70.3	<1	<25	<2	<1
CHIM6/09464	Ensilage escourgeon	0.7	<25	<1	<25	<2	1.4
CHIM6/09440	Ensilage maïs	0.9	118.8	<1	>250	13	6.3
CHIM6/09441	Ensilage maïs	0.8	86.4	<1	>250	8.2	5.4
CHIM6/09442	Ensilage maïs	0.4	46.5	<1	<25	6	3.5
CHIM6/09443	Ensilage maïs	0.6	76.5	<1	>250	<2	5.7
CHIM6/09444	Ensilage maïs	0.8	234.5	<1	>250	<2	5.4
CHIM6/09445	Ensilage maïs	0.5	214.5	<1	>250	<2	1.0
CHIM6/09446	Ensilage maïs	0.6	101.9	<1	208	<2	4.2
CHIM6/09447	Ensilage maïs	0.5	128	<1	>250	<2	4.0
CHIM6/09448	Ensilage maïs	0.8	189.3	<1	>250	2.1	1.2
CHIM6/09449	Ensilage maïs	<0,25	57.7	<1	<25	<2	<1
CHIM6/09450	Ensilage maïs	0.7	357.6	<1	>250	<2	<1
CHIM6/09451	Ensilage maïs	0.55	113	<1	>250	<2	<1
CHIM6/09452	Ensilage maïs	0.7	123.5	<1	>250	<2	<1
CHIM6/09453	Ensilage maïs	0.4	87.1	<1	128	<2	<1
CHIM6/09454	Ensilage maïs	0.8	2200	<1	>250	2.3	<1
CHIM6/09456	Ensilage maïs	0.8	247.6	<1	156	<2	<1
CHIM6/09457	Ensilage maïs	>1	49.5	<1	>250	<2	1.0
CHIM6/09458	Ensilage maïs	0.45	282.6	<1	172	<2	<1
CHIM6/09459	Ensilage maïs	0.7	138.8	<1	<25	<2	<1
CHIM6/09460	Ensilage maïs	0.8	227.5	<1	>250	<2	<1
CHIM6/09461	Ensilage maïs	0.6	203.4	<1	135	<2	<1
calypso 07/231	Ensilage maïs	>2	252.6	<1	136	<2	6.3
calypso 07/232	Ensilage maïs	0.7	35.2	<1	<25	<2	3.0
calypso 07/233	Ensilage maïs	1	223.4	<1	62.9	<2	1.6
calypso 07/234	Ensilage maïs	1.6	42.0	<1	153	<2	>8
CHIM6/09455	Pulpes	0.25	<25	<1	131	<2	<1

7. Constatations 2006

DON

En règle générale, la DON se retrouve dans tous les échantillons qu'ils soient contaminés ou non par un champignon. Cela confirme l'hypothèse que cette mycotoxine soit produite au champ. La majorité des échantillons sont contaminés entre 100 et 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ce qui n'est pas alarmant pour une consommation par les bovins.

Le projet de réglementation européenne pour l'alimentation animale, valeur guide matière première est de 8000 à 12000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Le projet de réglementation européenne pour l'alimentation animale, valeur guide sur aliments composé est de 900 à 5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en fonction de l'animal à qui l'aliment est destiné. Deux échantillons dépassent les 1000 μg .

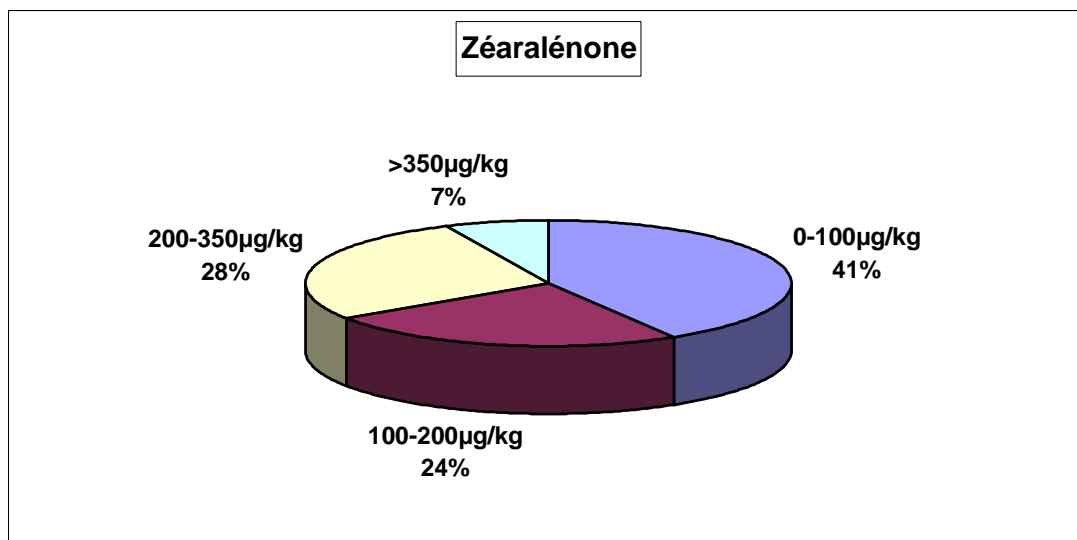


ZEARALENONE

Le projet de réglementation européenne pour l'alimentation animale, valeur guide matière première est de 2000 à 3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Le projet de réglementation européenne pour l'alimentation animale, valeur guide sur aliments composé est de 100 à 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en fonction des espèces.

Des problèmes de reproduction chez les bovins sont signalés avec des régimes alimentaires présentant des concentrations de 400 μg . Ces concentrations (2200 μg) sont atteintes dans un échantillon analysé en 2006.



FUMONISINES

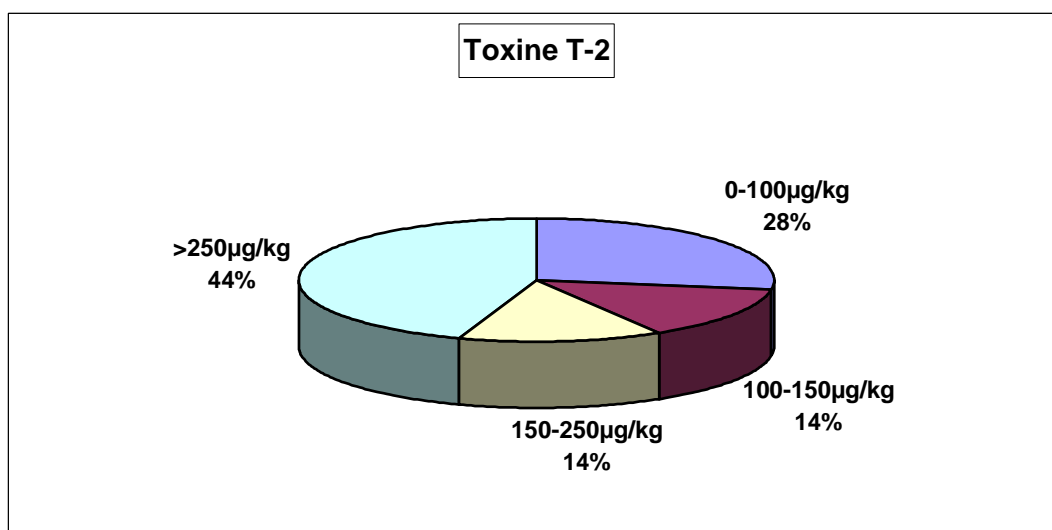
Le projet de réglementation européenne pour l'alimentation animale, valeur guide matière première est de 60000 µg/kg. Le projet de réglementation européenne pour l'alimentation animale, valeur guide sur aliments composé est de 5000 à 50000 µg/kg en fonction des espèces animales.

En 2006, aucun échantillon n'était contaminé par cette mycotoxine à plus de 1000 µg/kg.

TOXINE T2

Une réglementation européenne est en cours pour 2008.

Comme en 2005, 42% des échantillons contient plus de 250 µg. L'affectation de troupeaux laitiers par diminution de la production laitière (problèmes gastriques) a été observée avec des régimes alimentaires contenant de 300 à 500 µg.

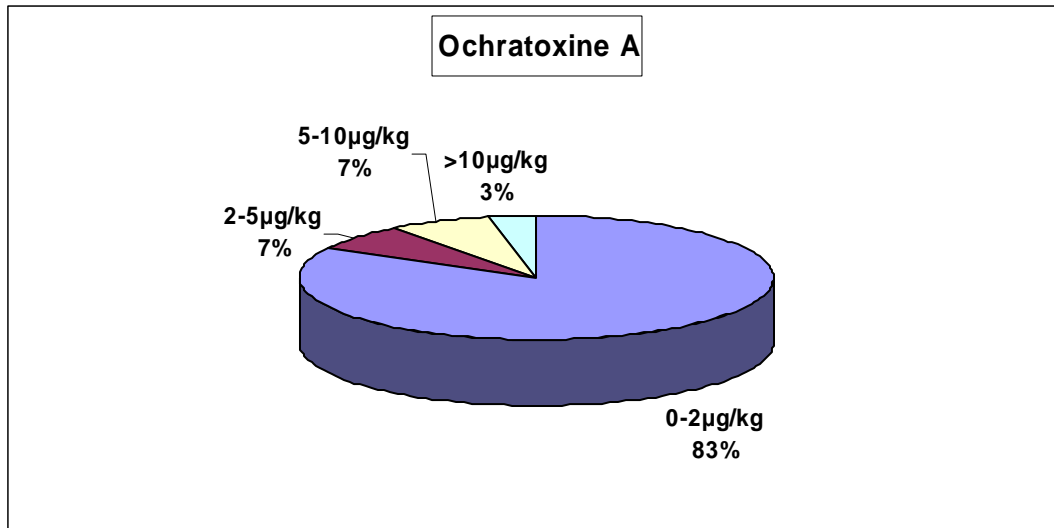


OCHRATOXINE A

Le projet de réglementation européenne pour l'alimentation animale, valeur guide matière première est de 250 µg/kg.

Le projet de réglementation européenne pour l'alimentation animale, valeur guide sur aliments composé est de 50 à 100 µg/kg.

Les échantillons étaient peu ou pas contaminés par cette mycotoxine (3% > 10 µg/kg). Comme en 2004 et 2005, cette toxine ne semble pas problématique en maïs ensilage.

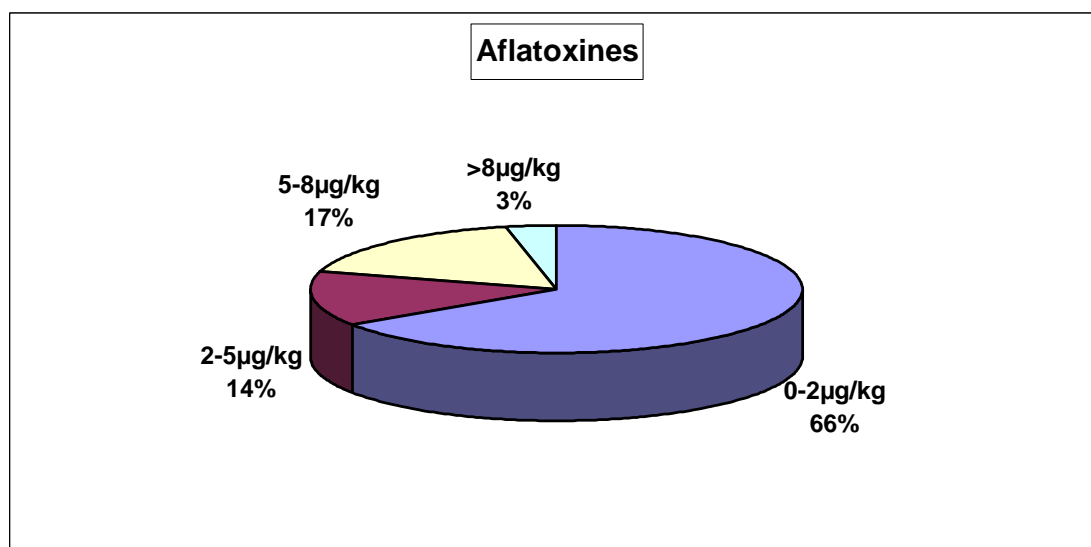


AFLATOXINE

La norme européenne CE/2002/32 pour l'alimentation animale, valeur guide matière première est de 20 µg/kg.

La norme européenne CE/2002/32 pour l'alimentation animale, valeur guide sur aliments composé est de 5 à 20 µg/kg en fonction des espèces animales.

Tous les échantillons montraient des teneurs inférieures à 5 µg/kg en 2005. En 2006, un échantillon montre une teneur supérieure à 8 µg/kg.



7. Conclusions pour 2006

C'est surtout la toxine T2 et la zéaralénone qui étaient détectées dans le maïs ensilage en 2006. Elles sont réputées produites par des fusarioses.

Les concentrations mesurées pour les autres mycotoxines posaient peu de problème.

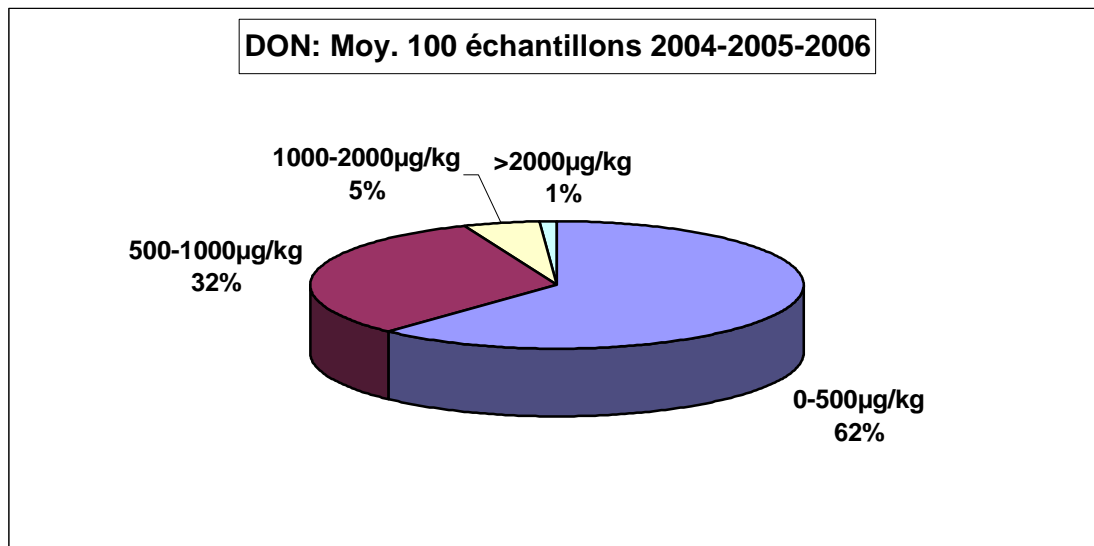
8. Constatations en moyenne sur 2004-2005-2006

Les graphiques suivants montrent la situation des silos de maïs sur une moyenne de 100 échantillons d'ensilage de maïs prélevés aléatoirement de 2004 à 2006 et ce, en ce qui concerne la DON, la zéaralénone, la toxine T-2 et les aflatoxines.

DON

Le projet de réglementation européenne pour l'alimentation animale, valeur guide matière première est de 8000 à 12000 µg/kg. Le projet de réglementation européenne pour l'alimentation animale, valeur guide sur aliments composé est de 900 à 5000 µg/kg en fonction de l'animal à qui l'aliment est destiné.

En règle générale, la DON se retrouve dans tous les échantillons qu'ils soient contaminés ou non par un champignon. Cela confirme l'hypothèse que cette mycotoxine soit produite au champ. La majorité des échantillons sont contaminés entre 0 et 1000 µg, ce qui n'est pas alarmant pour une consommation par les bovins. 6% des échantillons dépasse les 1000 µg.



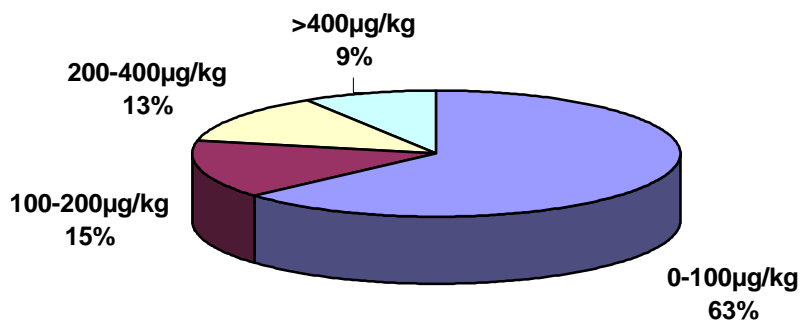
ZEARALENONE

Le projet de réglementation européenne pour l'alimentation animale, valeur guide matière première est de 2000 à 3000 µg/kg.

Le projet de réglementation européenne pour l'alimentation animale, valeur guide sur aliments composé est de 100 à 500 µg/kg en fonction des espèces.

Des problèmes de reproduction chez les bovins sont signalés avec des régimes alimentaires présentant des concentrations de 400 µg. 9% des échantillons atteignait au moins 400 µg/kg. 13% dosaient entre 200 et 400 µg/kg.

Zéaralénone: Moy. 100 échantillons 2004-2005-2006

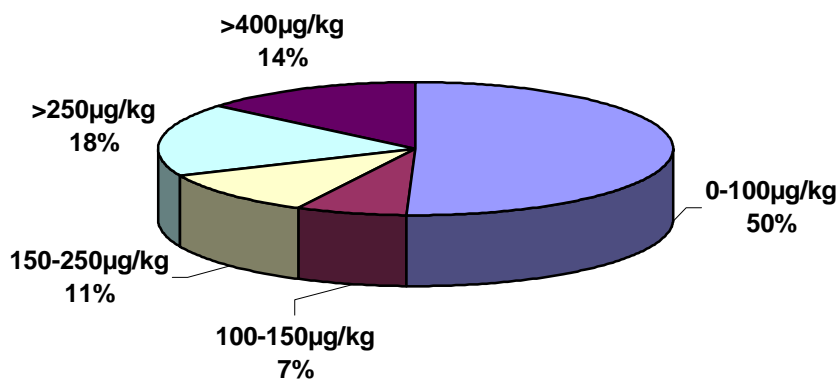


TOXINE T2

Une réglementation européenne est en cours pour 2008.

La Toxine T2 est bien présente dans les échantillons d'ensilage de maïs. 32% des échantillons contient plus de 250 µg/kg et 14% plus de 400 µg/kg. L'affectation de troupeaux laitiers par diminution de la production laitière (problèmes gastriques) a été observée avec des régimes alimentaires contenant de 300 à 500 µg.

Toxine T-2: Moy. 100 échantillons 2004-2005-2006



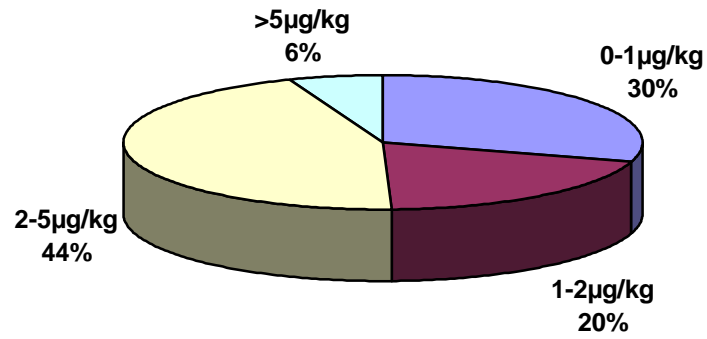
AFLATOXINE

La norme européenne CE/2002/32 pour l'alimentation animale, valeur guide matière première est de 20 µg/kg.

La norme européenne CE/2002/32 pour l'alimentation animale, valeur guide sur aliments composé est de 5 à 20 µg/kg en fonction des espèces animales.

6% des échantillons montre une teneur supérieure à 5 µg/kg.

Aflatoxines: Moy.100 échantillons 2004-2005-2006



Ing. O.Mahieu
Dr. Cuignet Marc
Dr.Ir. M.Van Koninckxloo