

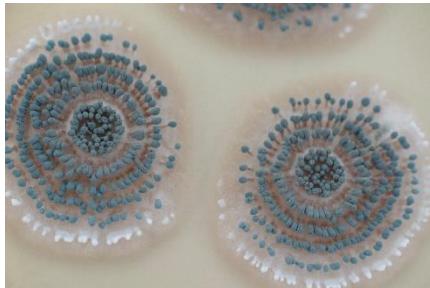
Supplémentation en probiotiques comme stratégie de lutte contre la toxicité des faibles doses de mycotoxine chez le porc :

Comment en évaluer l'efficacité?

Dr Imourana Alassane-Kpembi, DMV, PhD.

Faculté de
médecine vétérinaire

Université 
de Montréal
et du monde.



Les mycotoxines

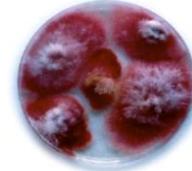
- Métabolites secondaires toxiques produits par les moisissures



ASPERGILLUS



PENICILLIUM



FUSARIUM

- Contaminants naturels des aliments, particulièrement produits agricoles (blé, maïs, cacahuètes, sorgho, ...) au champ ou en cours de stockage



MAÏS



BLÉ



SORGHO



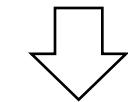
RIZ



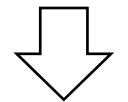
ORGE



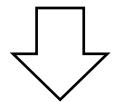
AVOINE



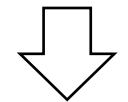
Deoxynivalenol
Fumonisines
Zearalenone
Aflatoxines



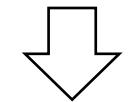
Deoxynivalenol
Zearalenone
Ochratoxine
Citrinine



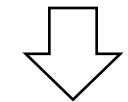
Aflatoxines



Aflatoxines
Ochratoxine



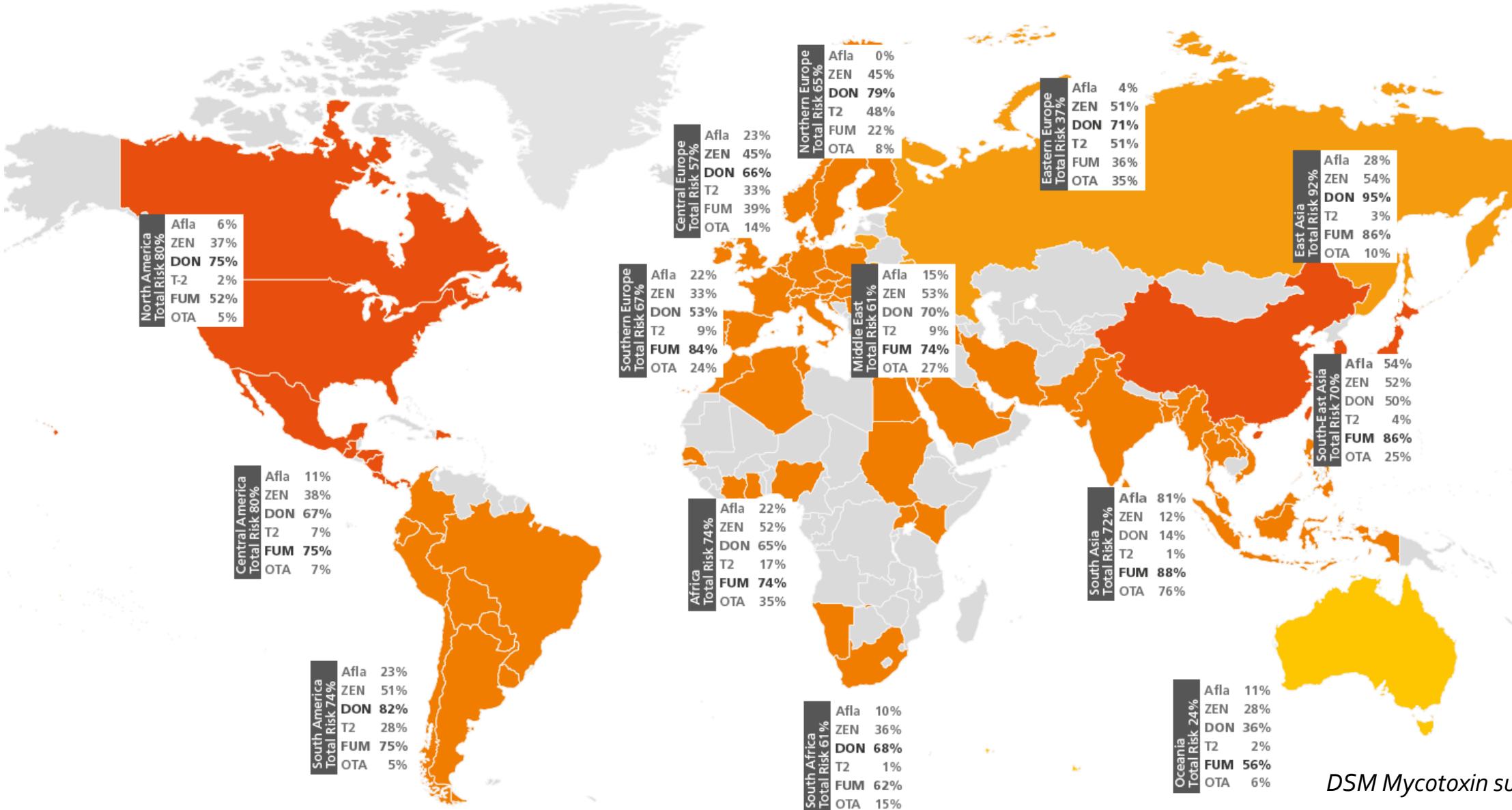
Deoxynivalenol
Zearalenone
Ochratoxine
Citrinine
ToxineT-2



Deoxynivalenol
Ochratoxine
Citrinine
ToxineT-2

- Propriétés toxiques conservées en cours de stockage ou de transformation

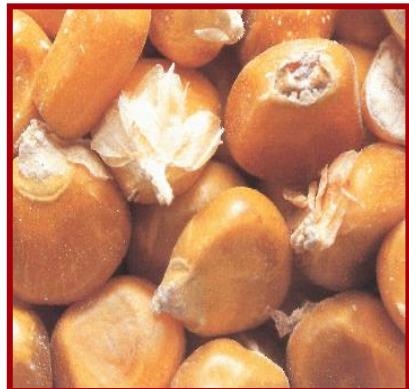
Mycotoxines: une problématique planétaire



60-70% des céréales brutes contaminées

DSM Mycotoxin survey 2021

Le porc, cible et modèle d'étude de la toxicité des mycotoxines



- ✓ Régime alimentaire riche en céréales susceptibles d'être contaminées
- ✓ Sensibilité particulière aux mycotoxines

Toxicité du Déoxynivalenol chez le porc

Aigüe

Anorexie

Vomissement (vomitoxine)

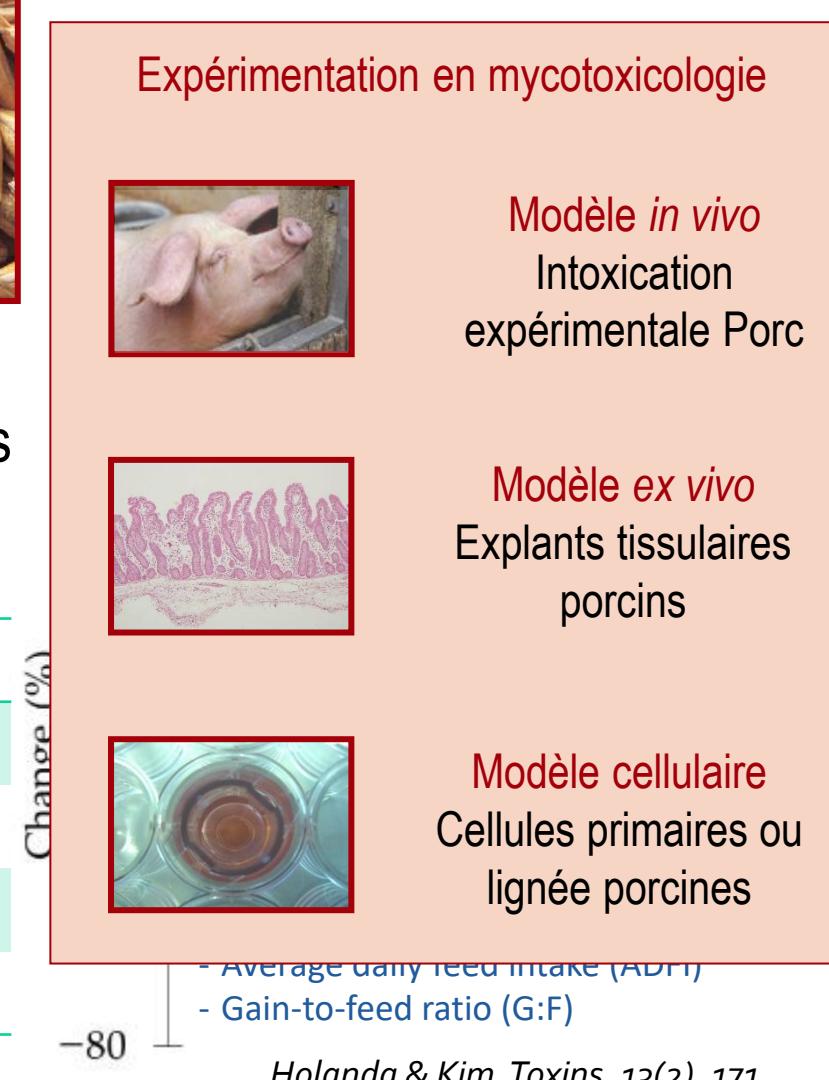
Diarrhée

Chronique

Ingéré alimentaire

Croissance pondérale

Altération fonctions immunitaires



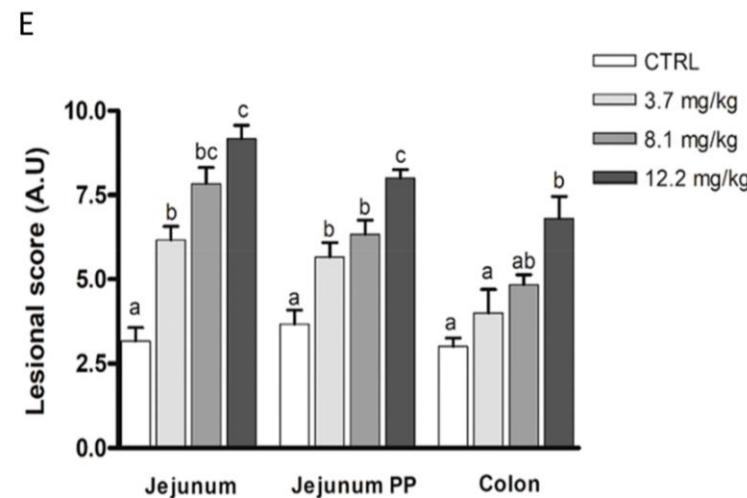
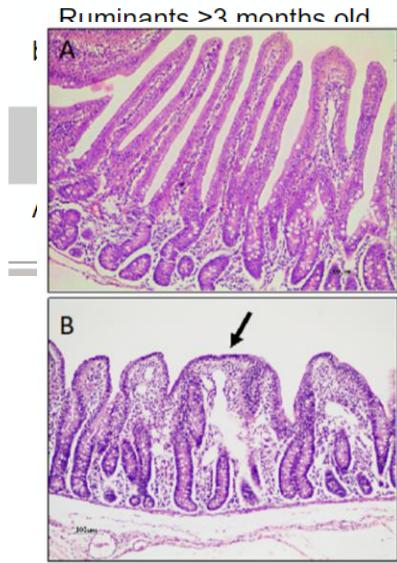
Règlementation des mycotoxines et limites



Article

Fumonisins at Doses below EU Regulatory Limits Induce Histological Alterations in Piglets

Chloé Terciolo ^{1,†}, Ana Paula Bracarense ^{2,†}, Pollyana C.M.C. Souto ³, Anne-Marie Cossalter ¹,
Léonie Dopavogui ¹, Nicolas Loiseau ¹ , Carlos A. F. Oliveira ³ , Philippe Pinton ¹
and Isabelle P. Oswald ^{1,*}



Guidance Levels for Total Fumonisins in Livestock Feed



| Class of Animal | Feed Ingredients & portion of the diet | Fumonisin level in ingredients and (finished feed) |
|---|---|--|
| Equids and rabbits | Corn and corn by-products not to exceed 20% of the diet | 5 ppm (1 ppm) |
| Swine and catfish | Corn and corn by-products not to exceed 50% of the diet | 20 ppm (10 ppm) |
| Ruminants, Poultry, and mink (all breeding) | Corn and corn by-products not to exceed 50% of the diet | 30 ppm (15 ppm) |
| Ruminants ≥3 months old being raised for slaughter and mink for pelt production | Corn and corn by-products not to exceed 50% of the diet | 60 ppm (30 ppm) |
| Poultry being raised for slaughter | Corn and corn by-products not to exceed 50% of the diet | 100 ppm (50 ppm) |
| All other species or classes of livestock and pet animals | Corn and corn by-products not to exceed 50% of the diet | 10 ppm (5 ppm) |

Iowa State University

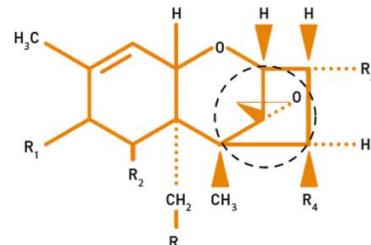
Intérêt des approches complémentaires de gestion du risque mycotoxine en élevage

Approches complémentaires de gestion du risque Mycotoxine:

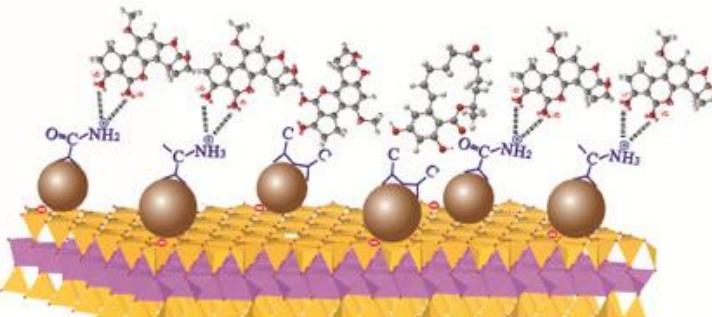
Utilisation d'additifs pour l'alimentation animale

- Désactivateurs de mycotoxines

- Adsorption



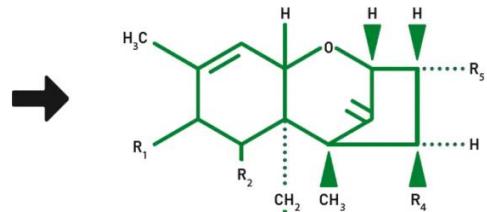
Trichothecenes



Langmuir 2020, 36, 10, 2601–2611

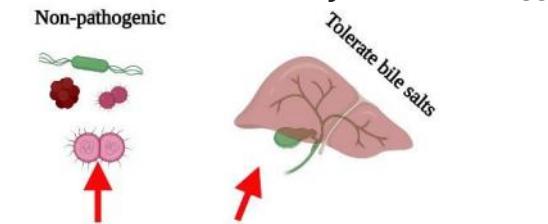
Survive the passage through the digestive system

- Biotransformation



detoxified form

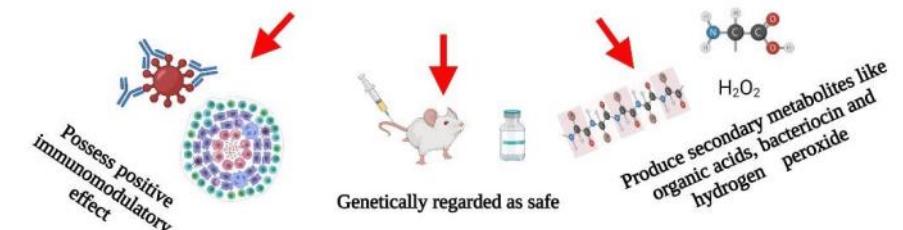
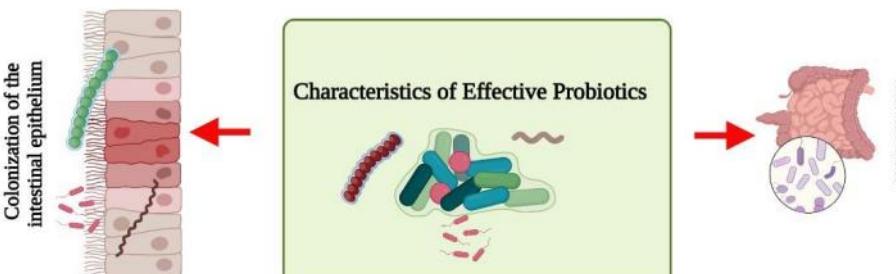
- Bio-protection contre les effets des mycotoxines



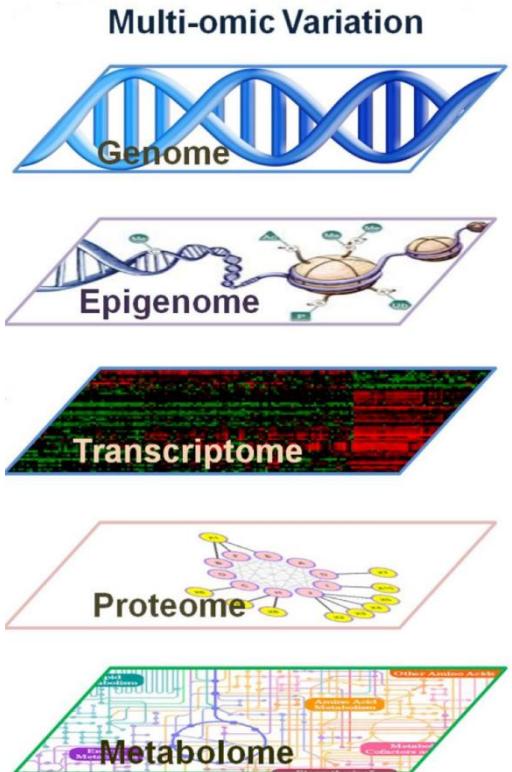
Life 2022, 12(1), 59

Tolerate bile salts

with the host



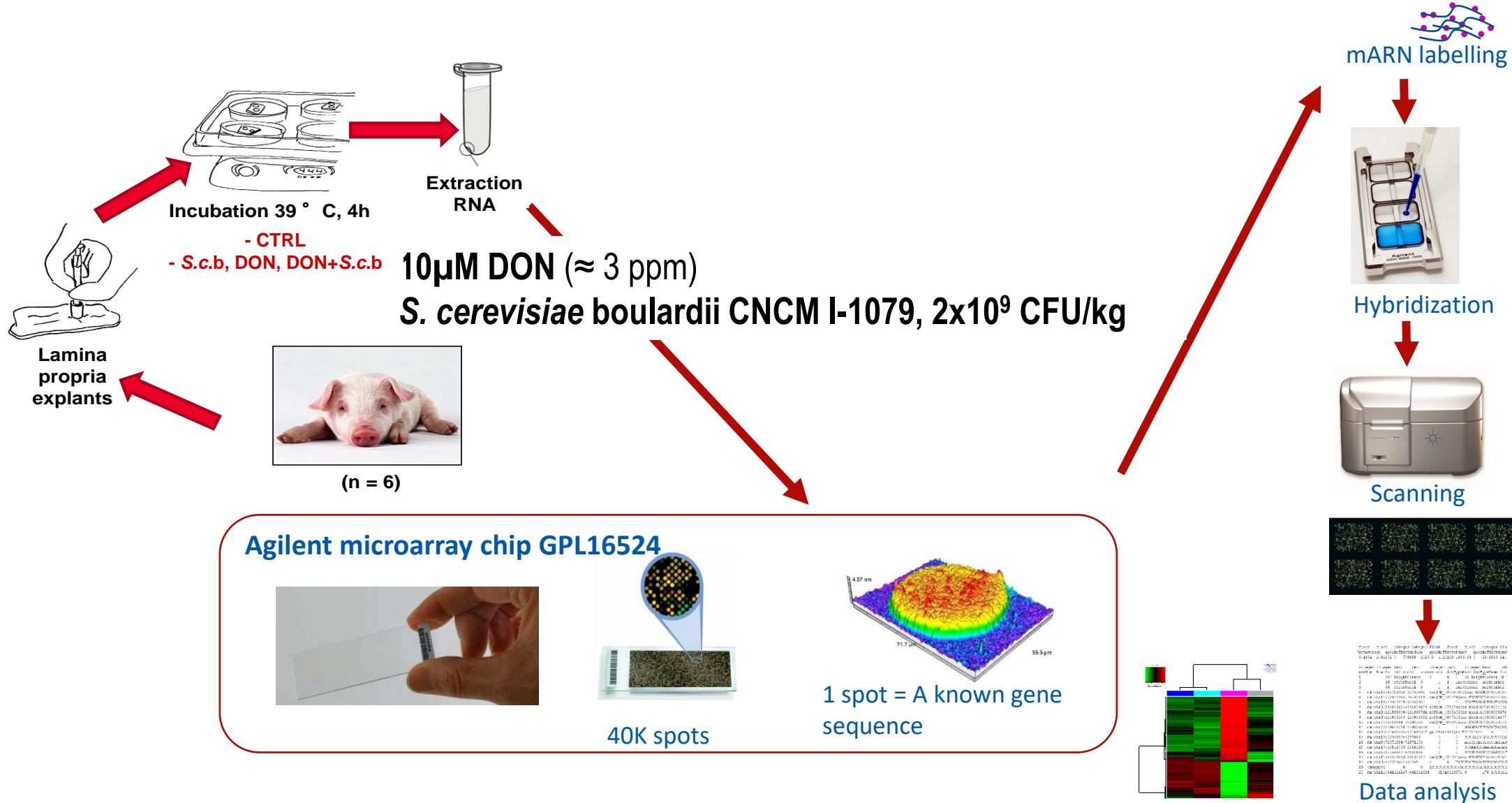
Pour quelle efficacité dans un contexte de toxicité subclinique?



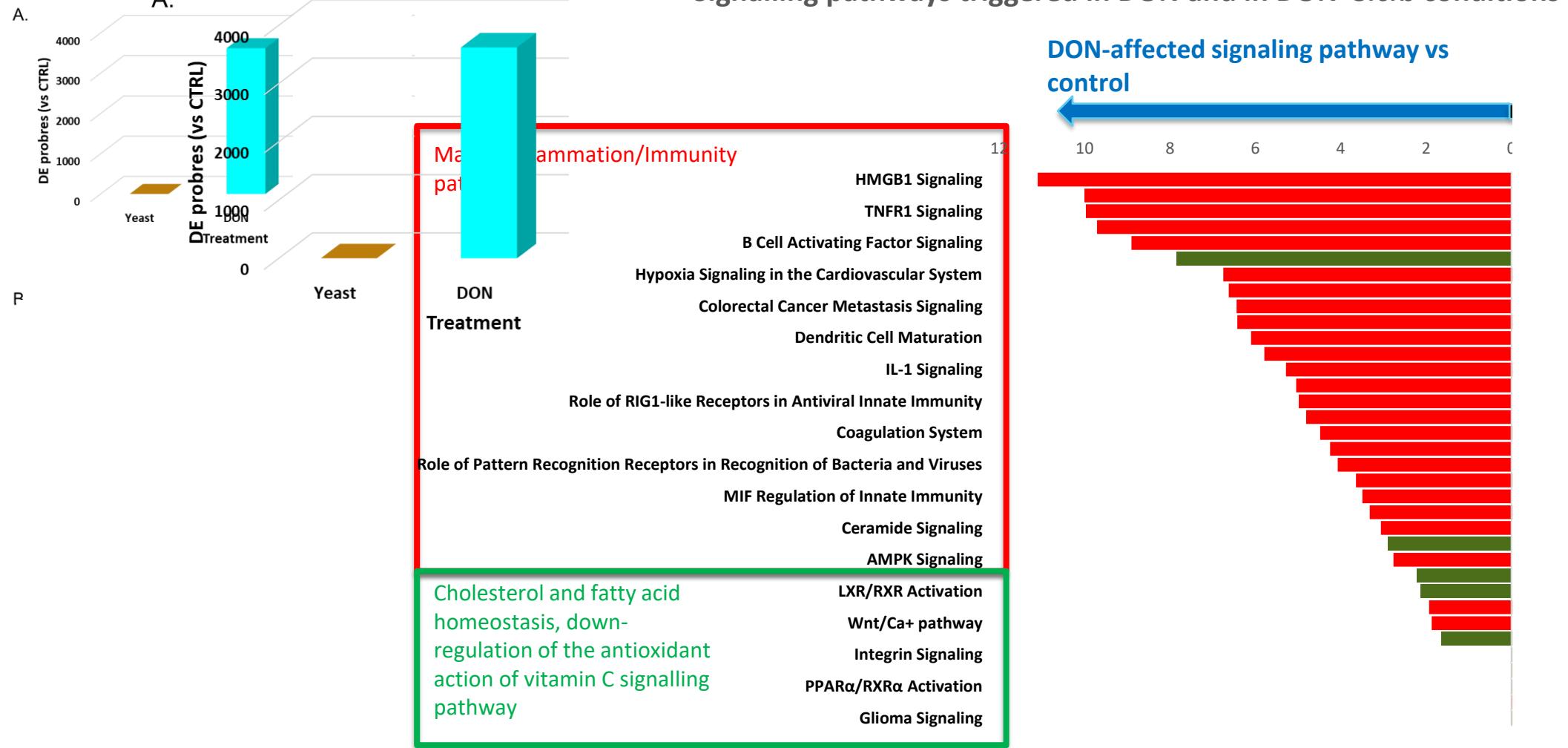
Efficacité d'une souche *S. cerevisiae* dans un contexte d'exposition subclinique du porcelet au DON



Étude ex-vivo des effets du DON et du probiotique

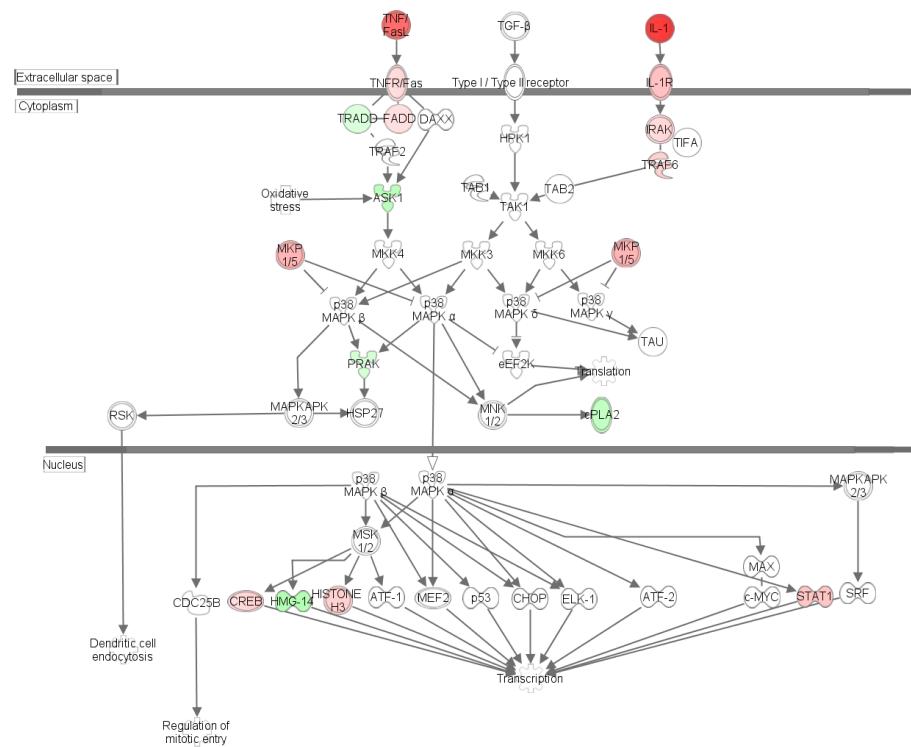


Effets du DON et du probiotique sur le transcriptome de l'intestin



→ Seulement 8 voies de signalisation sur 32 sont conservées quand l'intestin est traité avec le probiotique

Effets du DON et du probiotique sur la voie p38 MAPK



Voie p38 MAPK, régulateur-clé dans la biosynthèse des cytokines pro-inflammatoires

- Activation des ligands, récepteurs trans-membranaires et molécules adaptatrices
- Activation du gène *STAT1* (Signal Transducer And Activator of Transcription 1)

Administration du probiotique avant exposition au DON

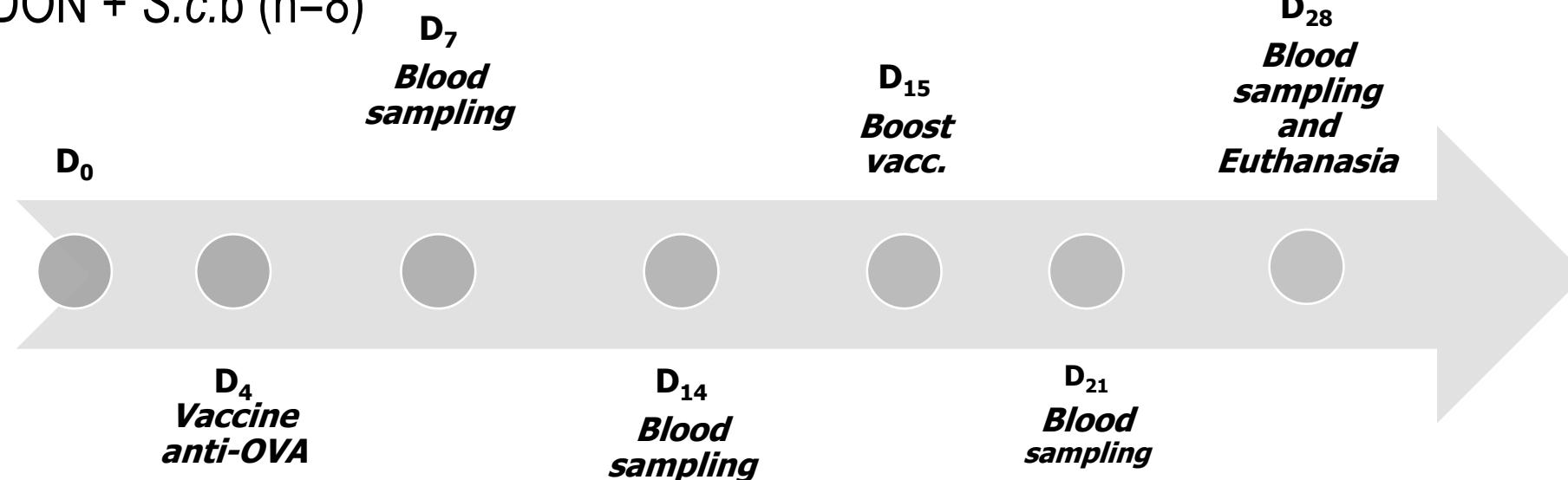
- Peu/pas d'effet sur l'expression de ligands
- Réversion de l'expression des récepteurs trans-membranaires et molécules adaptatrices
- Réversion de l'expression de *STAT1*

Étude *in vivo* des effets du DON et du probiotique

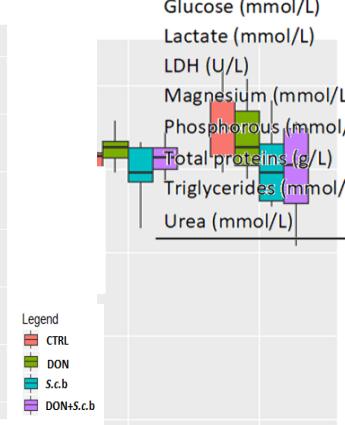
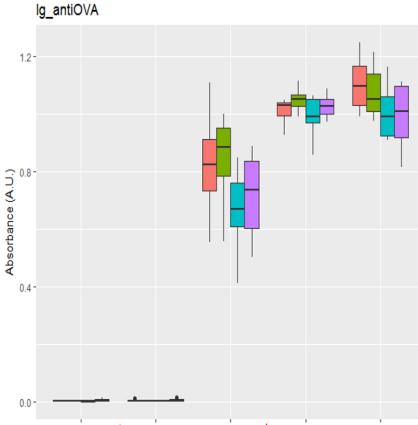
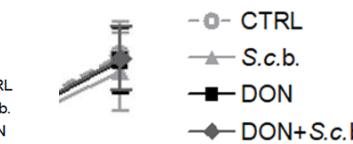
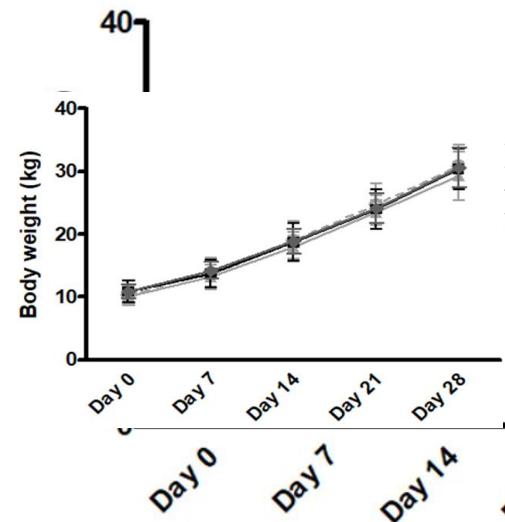
Plan d'expérience

36 porcelets mâles Crossbred castrés sevrés à 21 jours et acclimatés pendant 1 semaine

- CTRL (n=10)
- *S. cerevisiae* boulardii CNCM I-1079, 2×10^9 CFU/kg (n=8)
- DON 3ppm (n=10)
- DON + *S.c.b* (n=8)



Effets du DON et du probiotique sur les marqueurs usuels de toxicité



Legend

CTRL
DON
S.c.b.
DON+S.c.b.

Excepté l'histomorphologie, le **DON à faible dose n'a pas induit d'altération significative de la croissance et des autres marqueurs usuels**

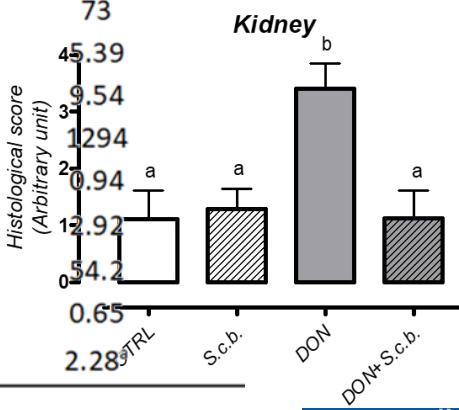
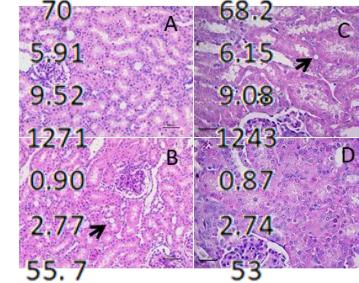
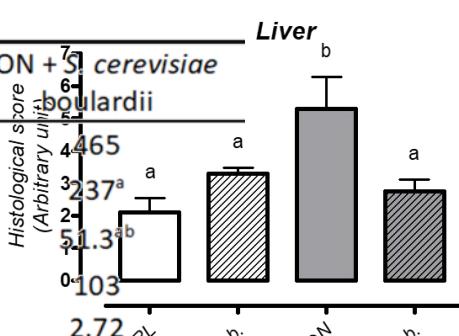
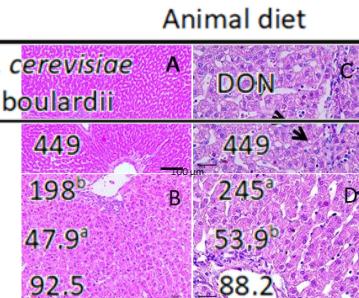
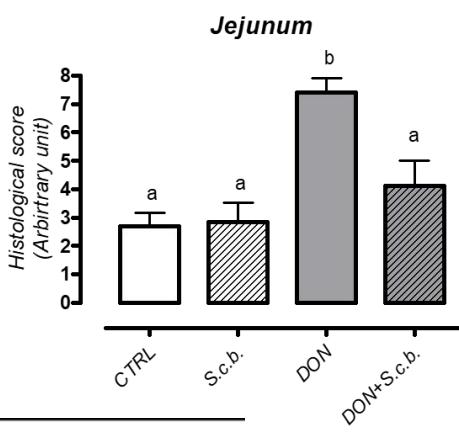
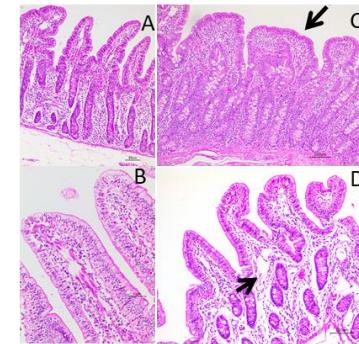
| Biochemical parameters | Animal diet | | | |
|---------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------------|
| | Control | <i>S. cerevisiae</i> boulardii | DON | DON + <i>S. cerevisiae</i> boulardii |
| Albumin ($\mu\text{mol/L}$) | 472 | 449 | 449 | 465 |
| ALP (U/L) | 241 ^a | 198 ^b | 245 ^a | 237 ^a |
| ALT (U/L) | 48.2 ^a | 47.9 ^a | 53.9 ^b | 51.3 ^{ab} |
| AST (U/L) | 71.2 | 92.5 | 88.2 | 103 |
| Calcium (mmol/L) | 2.76 | 2.68 | 2.76 | 2.72 |
| Cholesterol (mmol/L) | 2.09 | 2.08 | 2.02 | 2.09 |
| Creatinin ($\mu\text{mol/L}$) | 72.8 | 70 | 68.2 | 73 |
| Glucose (mmol/L) | 5.93 | 5.91 | 6.15 | 5.39 |
| Lactate (mmol/L) | 11 | 9.52 | 9.08 | 9.54 |
| LDH (U/L) | 1204 | 1271 | 1243 | 1294 |
| Magnesium (mmol/L) | 0.92 | 0.87 | 0.94 | 1.21 ^a |
| Phosphorous (mmol/L) | 2.84 | 2.77 | 2.74 | 2.92 |
| Total proteins (g/L) | 54.5 | 55.7 | 53 | 54.2 |
| Triglycerides (mmol/L) | 0.63 | 0.65 | 0.61 | 0.67 |
| Urea (mmol/L) | 2.37 ^a | 2.53 ^a | 1.82 ^b | 2.28 ^a |
| | | | | |
| Albumin ($\mu\text{mol/L}$) | 472 | 449 | 449 | 465 |
| ALP (U/L) | 241 ^a | 198 ^b | 245 ^a | 237 ^a |
| ALT (U/L) | 48.2 ^a | 47.9 ^a | 53.9 ^b | 51.3 ^{ab} |
| AST (U/L) | 71.2 | 92.5 | 88.2 | 103 |
| Calcium (mmol/L) | 2.76 | 2.68 | 2.76 | 2.72 |
| Cholesterol (mmol/L) | 2.09 | 2.08 | 2.02 | 2.09 |
| Creatinin ($\mu\text{mol/L}$) | 72.8 | 70 | 68.2 | 73 |
| Glucose (mmol/L) | 5.93 | 5.91 | 6.15 | 5.39 |
| Lactate (mmol/L) | 11 | 9.52 | 9.08 | 9.54 |
| LDH (U/L) | 1204 | 1271 | 1243 | 1294 |
| Magnesium (mmol/L) | 0.92 | 0.90 | 0.87 | 1.21 ^a |
| Phosphorous (mmol/L) | 2.84 | 2.77 | 2.74 | 2.92 |
| Total proteins (g/L) | 54.5 | 55.7 | 53 | 54.2 |
| Triglycerides (mmol/L) | 0.63 | 0.65 | 0.61 | 0.67 |
| Urea (mmol/L) | 2.37 ^a | 2.53 ^a | 1.82 ^b | 2.28 ^a |

Urea (mmol/L) 2.37^a

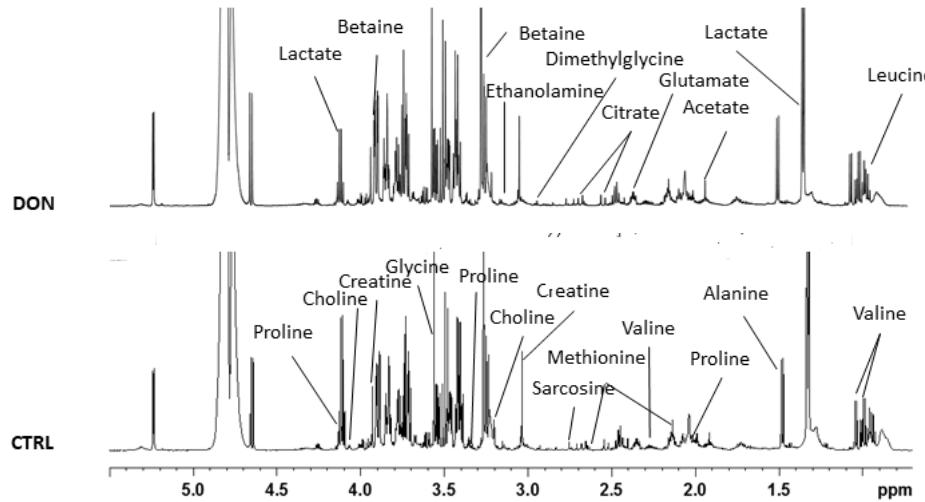
Urea (mmol/L) 2.53^a

Urea (mmol/L) 1.82^b

Urea (mmol/L) 2.28^a

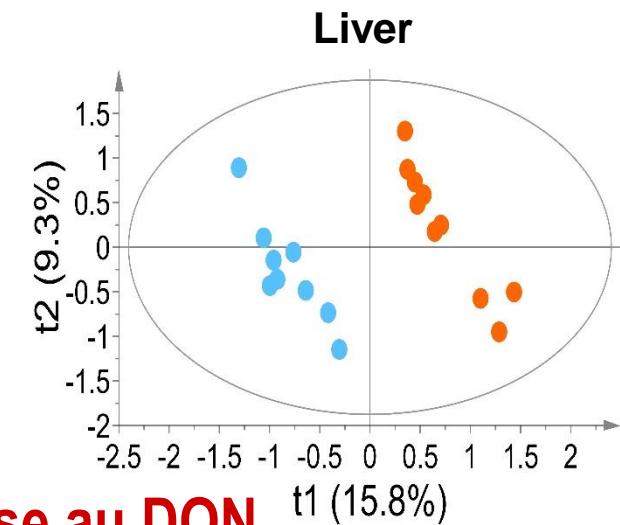
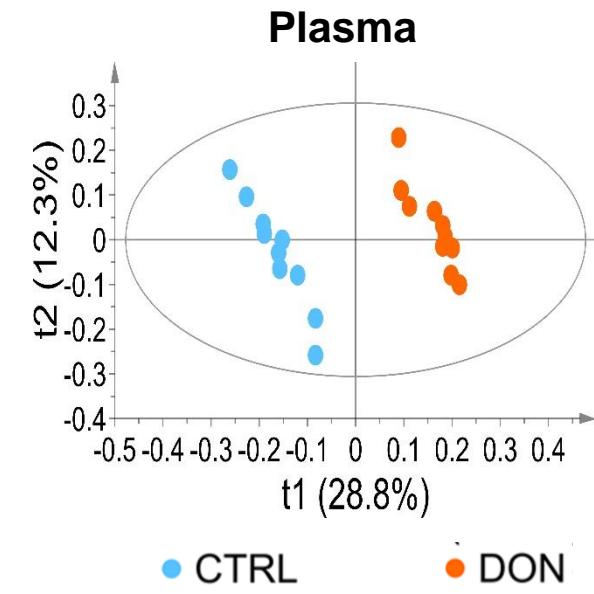


Empreinte métabolomique du DON à faible dose chez le porc



Comparaison des spectres en RMN du proton des groupes DON et CTRL

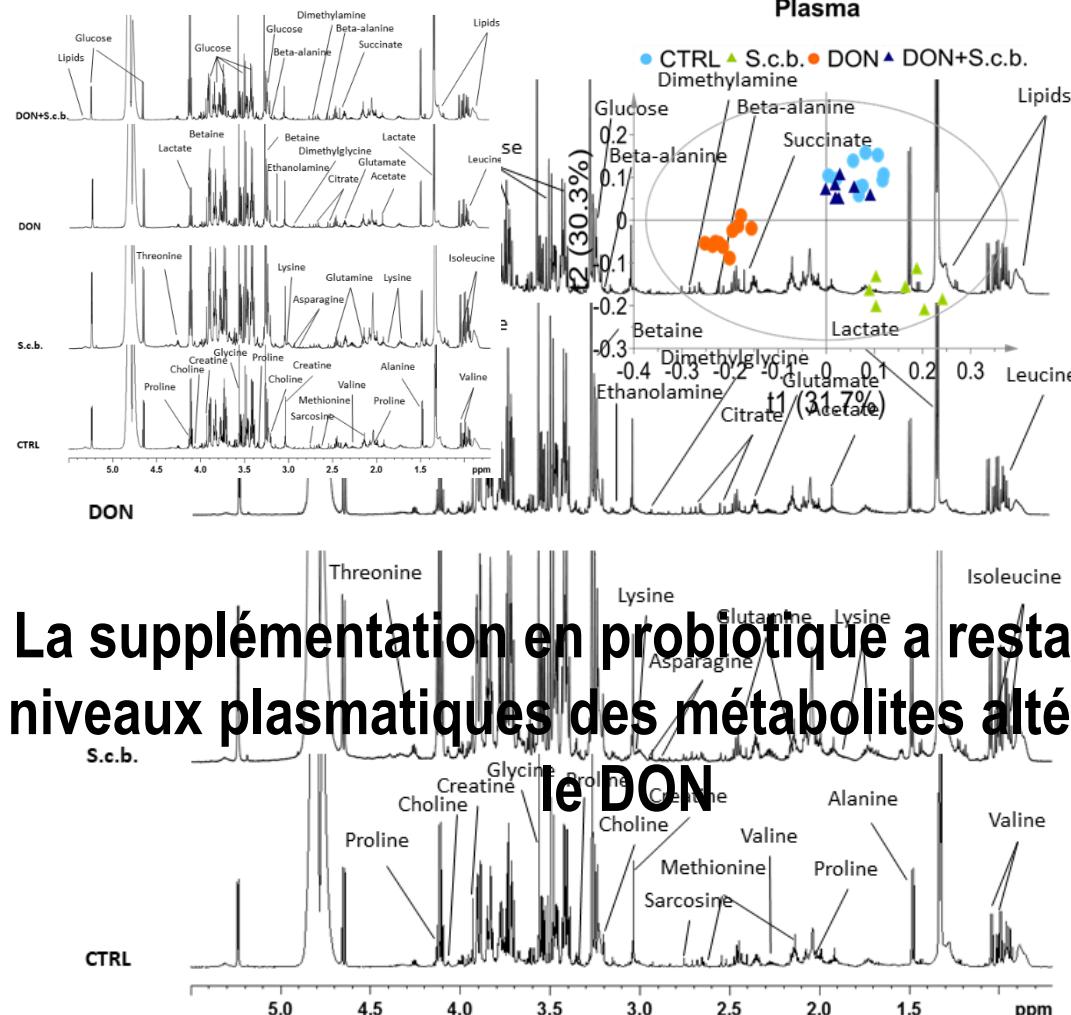
| Name of pathway | Number of mapped metabolites | Coverage (%) | Adjusted P-value |
|---|------------------------------|--------------|-----------------------|
| Deoxynivalenol | | | |
| Aminoacyl-tRNA biosynthesis | 6 | 12.77 | 1.47×10^{-5} |
| Biosynthesis of amino acids | 6 | 9.52 | 4.41×10^{-5} |
| Alanine, aspartate and glutamate metabolism | 4 | 12.12 | 7.81×10^{-4} |
| Glycine, serine and threonine metabolism | 3 | 9.38 | 9.52×10^{-3} |
| Valine, leucine and isoleucine biosynthesis | 2 | 25 | 0.011 |
| 2-Oxocarboxylic acid metabolism | 2 | 9.52 | 0.046 |



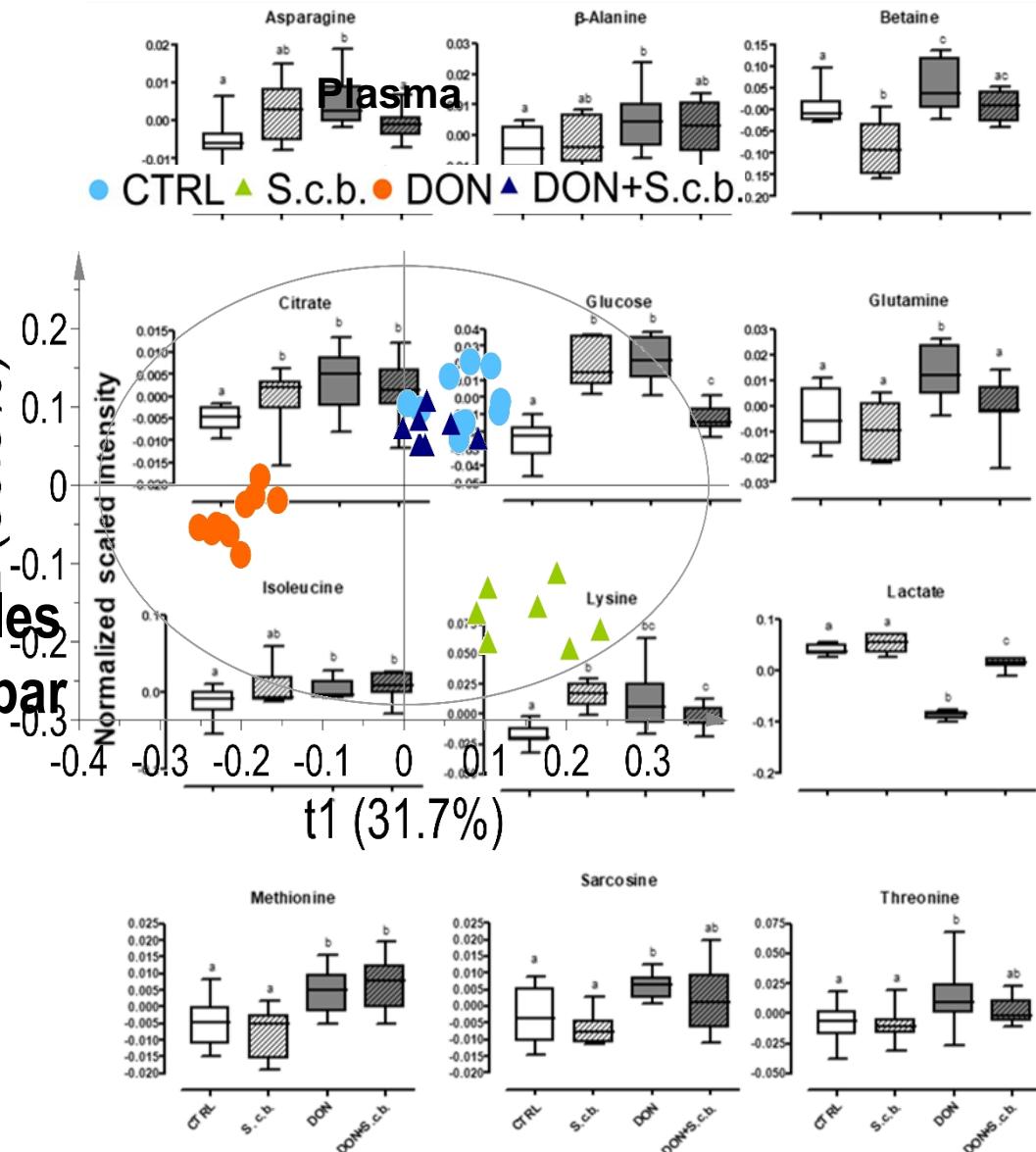
Même en l'absence de signes cliniques, l'exposition à faible dose au DON altère la biosynthèse des acides aminés chez le porc

Effets du probiotique sur la toxicité à faible dose du DON

Plasma

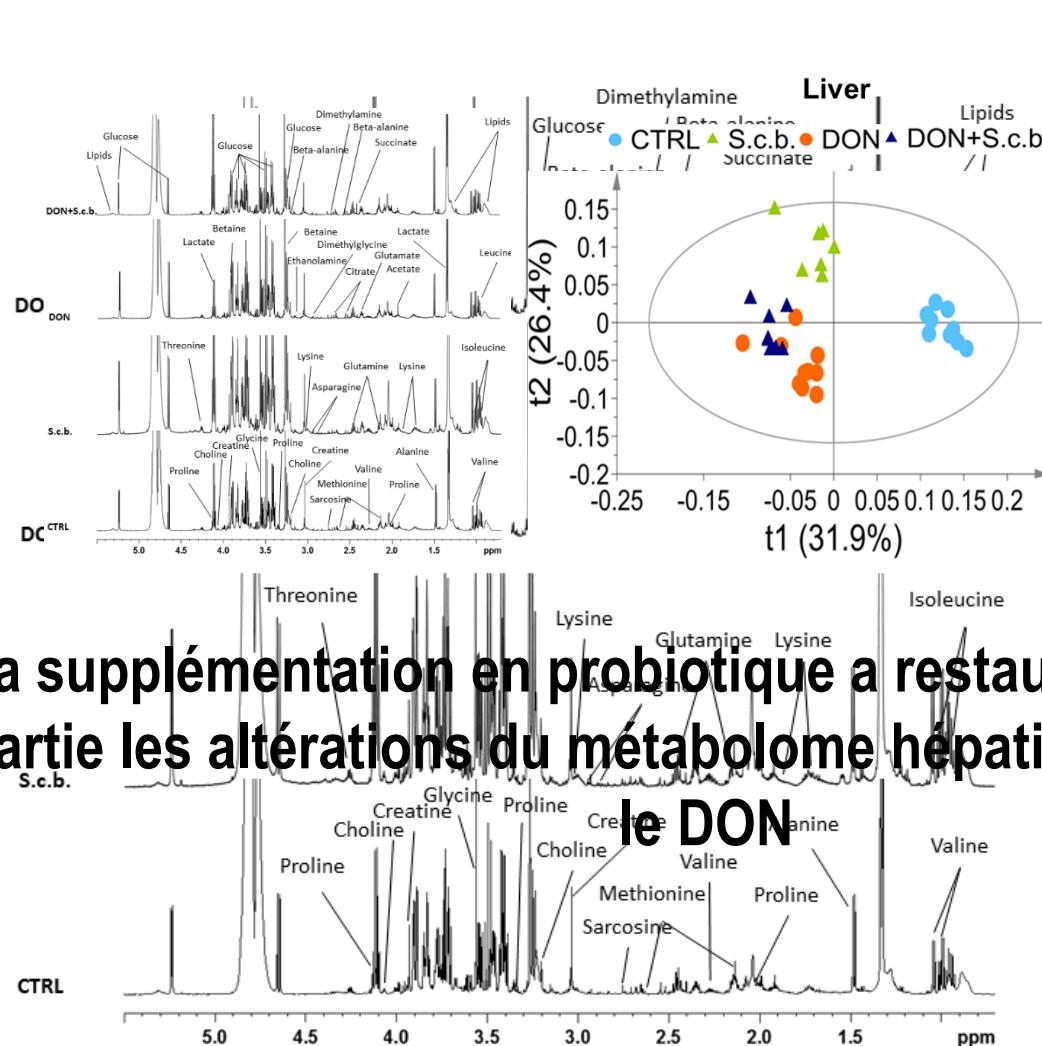


La supplémentation en probiotique a restauré les niveaux plasmatiques des métabolites altérés par le DON

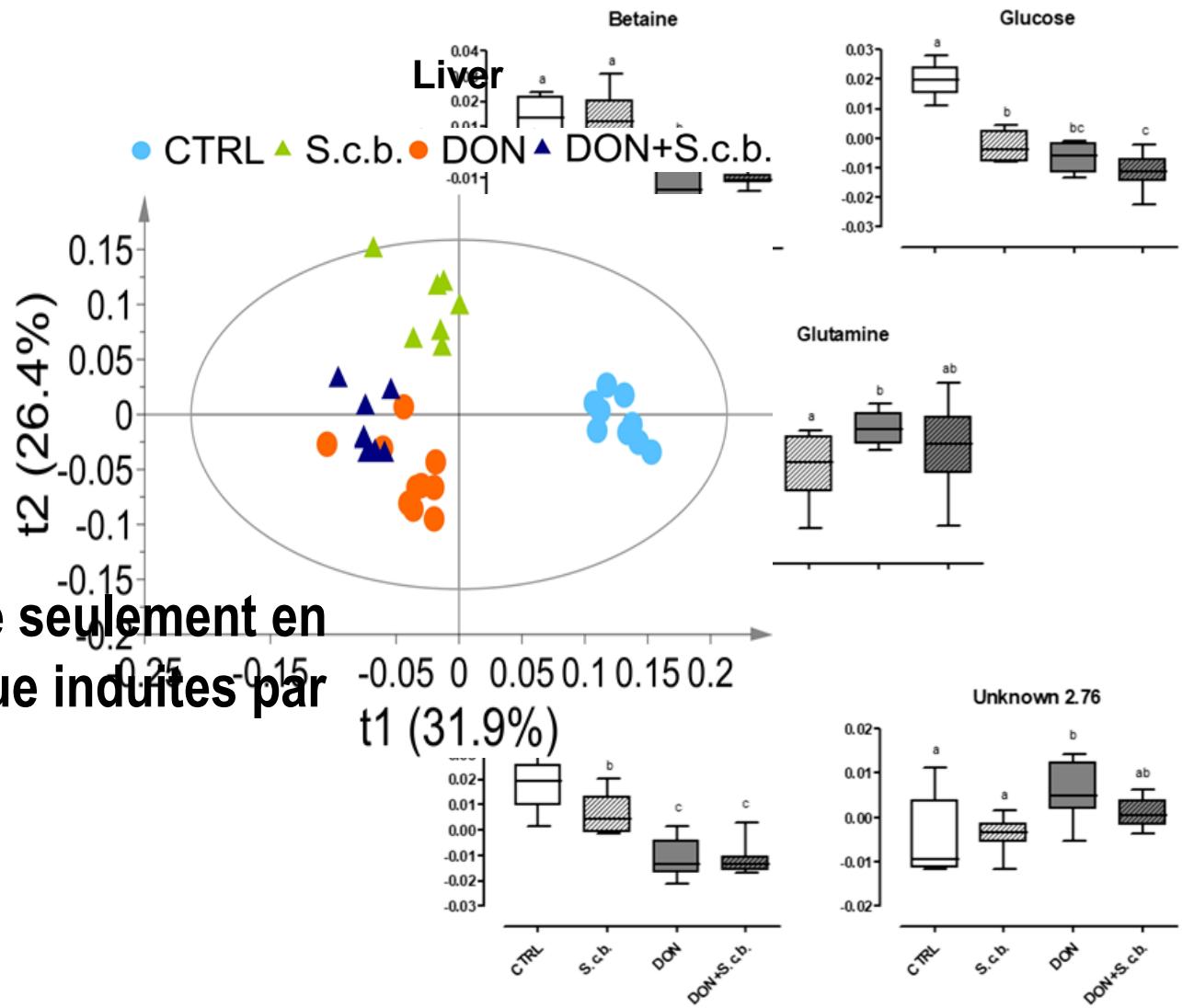


Effets du probiotique sur la toxicité à faible dose du DON

Foie



La supplémentation en probiotique a restauré seulement en partie les altérations du métabolome hépatique induites par le DON



Que retenir?

- En l'état actuel, la réglementation des mycotoxines dans les aliments pourrait ne pas garantir un statut optimal de santé et de production pour les animaux de la ferme,
Des approches complémentaires de gestion du risque sont nécessaires.
- L'étude de la **toxicité des faibles doses** de mycotoxines avec les outils conventionnels d'investigation présente certaines limites qui peuvent être levées par l'usage des **technologies "omics"**.
- La combinaison d'investigations en **transcriptomique ex-vivo** et en **métabolomique in vivo** sur des porcelets a révélé des **altérations significatives à des niveaux d'exposition au DON sans manifestations cliniques**.
- La supplémentation avec une souche probiotique *S. cerevisiae* boulardii accroît la résilience des porcelets à une exposition subclinique au DON.

Perspectives

- Plus d'études pour valider les données « omique » avec les méthodes conventionnelles.
- Réel potentiel des techniques « omique » à générer des **empreintes spécifiques aux expositions aux différentes mycotoxines** (sauf rares cases, e.g ratio Sa/So pour les fumonisins, peu de biomarqueurs spécifiques aux mycotoxines existent).
- Évoluer d'une compilation de résultats de techniques « omique » vers une **analyse intégrative** des données.



Article

Statistical Integration of 'Omics Data Increases Biological Knowledge Extracted from Metabolomics Data: Application to Intestinal Exposure to the Mycotoxin Deoxynivalenol

Marie Tremblay-Franco ^{1,2,*}, Cécile Canlet ^{1,2}, Philippe Pinton ¹, Yannick Lippi ¹, Roselyne Gautier ^{1,2},
Claire Naylies ¹, Manon Neves ¹, Isabelle P. Oswald ¹, Laurent Debrauwer ^{1,2} and Imourana Alassane-Kpembi ³

Remerciements



Cécile Canlet
Marie Tremblay-Franco



Yannick Lippi



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

Ana Paula Bracarense



LALLEMAND ANIMAL NUTRITION

Mathieu Castex
Jean-François Huppé