

# Effet *in vitro* de l'addition d'agents biologiques sur la présence de mycotoxines

## *In vitro* effect of microbial agents on the presence of mycotoxins

V. NIDERKORN, D.P. MORGAVI, H. BOUDRA

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

### INTRODUCTION

Des contaminations fongiques, voire mycotoxiques, sont régulièrement observées sur les fourrages conservés destinés à la nutrition animale. Au-delà des pertes économiques directes, s'ajoutent des problèmes de sécurité alimentaire par le passage possible de résidus de mycotoxines dans les produits animaux, notamment le lait (Boudra *et al.*, 2002). Parmi les moyens de prévention de cette contamination, l'utilisation de la capacité de certains microorganismes à biotransformer et/ou séquestrer les mycotoxines a été explorée. L'objectif de ce travail est de mettre au point et de valider un modèle de détoxification *in vitro* en utilisant une souche bactérienne dont les propriétés séquestrantes ont été démontrées (Haskard *et al.*, 2001)

### 1. MATERIEL ET METHODES

Des cultures de *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 à deux concentrations :  $10^2$  et  $10^{10}$  cellules/ml en milieu MRS (Man Rogosa and Sharpe) ont été mises en contact à 37°C sous agitation continue avec une solution d'aflatoxine B1 (AFB1) à 1 µg/ml. Des témoins sans cellule et sans AFB1 ont été réalisés. Chaque essai a été effectué en triplicate (n=24).

Des prélèvements ont été effectués à 1h ; 4h ; 6h ; 12h et 24h d'incubation. Une numération bactérienne a été réalisée sur chaque essai. Les tubes ont été ensuite centrifugés, puis l'AFB1 a été dosée sur le surnageant et le culot cellulaire par chromatographie liquide haute performance et détection fluorimétrique.

### 2. RESULTATS ET DISCUSSION

#### 2.1. NUMERATIONS BACTERIENNES

Les mesures de concentration bactérienne des cultures avec et sans AFB1 montrent des profils similaires. L'AFB1 ne présente donc pas d'effet cytotoxique sur la souche testée.

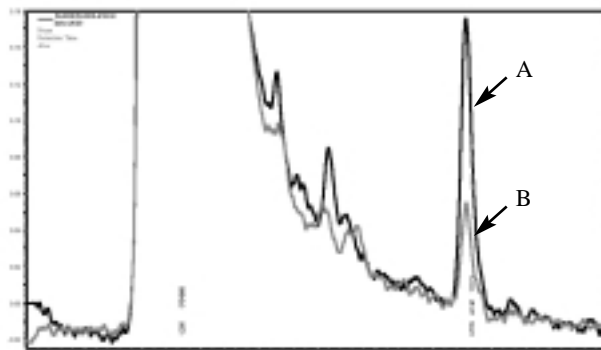
#### 2.2. DETOXIFICATION

L'examen du profil des concentrations d'AFB1 dans le surnageant et le culot cellulaire, à la concentration de  $10^{10}$  cellules/ml, montre une séquestration de plus de 30 % du taux initial de l'AFB1 après seulement 1h d'incubation.

**Tableau 1** : fractions d'AFB1 libres et liées après 1h et 4h de contact avec  $10^2$  et  $10^{10}$  cellules/ml

Temps d'incubation (h)	Fraction libre (%)	Fraction liée (%)	Recouvrement AFB1 (%)
<b><math>10^{10}</math> cellules/ml</b>			
1	72 ± 13	31 ± 9	102
4	54 ± 11	40 ± 8	94
<b><math>10^2</math> cellules/ml</b>			
6	93 ± 3	8 ± 5	101
12	93 ± 6	2 ± 1	95
24	97 ± 3	7 ± 4	104

**Figure 1** : profil des concentrations d'AFB1 dans le surnageant après 4h d'incubation : A : après contact avec  $10^{10}$  cellules/ml ; B : dans le témoin sans cellule



Des essais préliminaires ont montré que le complexe bactérie-AFB1 est stable pendant au moins 72h.

En revanche, à la concentration initiale de  $10^2$  UFC/ml, le taux de séquestration cellulaire de l'AFB1 reste très faible et stable durant toute la période d'incubation, et ce malgré un accroissement de la population ( $2 \times 10^8$  UFC/ml après 24h d'incubation). Le taux de recouvrement de l'AFB1 est proche de 100 %. Cette observation pourrait être en faveur d'une absence de biotransformation de l'AFB1 par la souche bactérienne.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux obtenus par Haskard *et al.* (2001).

Ces mêmes auteurs ont montré que la séquestration n'est effective qu'à partir de  $2 \times 10^9$  cellules/ml et qu'elle s'effectue au niveau de la membrane des bactéries. Des travaux récents (Lahtinen *et al.*, 2004) suggèrent que la séquestration de l'AFB1 par cette souche s'effectue au niveau du peptidoglycane ou de composés associés au peptidoglycane.

### CONCLUSION

Le modèle (séquestration et/ou biotransformation) mis au point par notre laboratoire est simple et permet le criblage d'un grand nombre de souches d'agents biologiques par jour.

**Boudra H., Morgavi D.P., Galtier P. 2002.** Rencontres Recherches Ruminants, 9, 17-23.

**Haskard C.A., El-Nezami H.S., Kankaanpää P.E., Salminen S., Ahokas J.T. 2001.** Appl. Environ. Microbiol., 67, 3086-3091.

**Lahtinen S.J., Haskard C.A., Ouwehand A.C., Salminen S., Ahokas J.T. 2004.** Food. Addit. Contam., 21(2), 158-164.