

## POTENTIEL TOXINOGENE DES SOUCHES DE *FUSARIUM MONILIFORME* PARASITANT LE MAÏS EN NOUVELLE CALEDONIE

F. PELLEGRIN (\*), D. LAURENT (\*), F. KOHLER (\*)

Jenny HAMEURT (\*) et B. BOCCAS • (\*\*)

### TOXICITY OF *FUSARIUM MONILIFORME* STRAINS ISOLATED FROM MAIZE IN NEW CALEDONIA

#### Summary

In 1981, an outbreak of equine leucoencephalomalacia affected forty-five horses in Noumea. The horses were fed on a ration containing a high proportion of locally grown maize infected with the fungus *Fusarium moniliforme*. Forty seven caledonian isolates of the fungus and one from South Africa were tested on 20 days old rats. Rats fed with rice contaminated with *Fusarium* isolates showed anorexia, loss of weight and eventually died. Fourteen isolates were highly toxic and kill the rats within 14 days. Further research on toxins produced by the fungus are in progress.

KEY-WORDS : *Fusarium moniliforme* Mycotoxins - Leucoencephalomalacia.

#### INTRODUCTION

En 1981, une épizootie s'est déclarée en Nouvelle-Calédonie chez une quarantaine de chevaux, entraînant la mort de cinq d'entre eux (2). Les premières investigations montrèrent que ces animaux avaient été intoxiqués par du maïs fortement contaminé par *Fusarium moniliforme*. Deux ans plus tard, un nouveau cas d'empoisonnement permit de poser un diagnostic vétérinaire plus précis montrant que le cheval était mort de leucoencéphalomalacie (LEM) toxique après avoir ingéré du maïs infesté par ce même *Fusarium* (1,5).

La responsabilité de *F. moniliforme* dans le déclenchement de cette maladie des Equidés a par ailleurs été expérimentalement prouvé (6) ce qui a confirmé la réalité du danger que représentent les mycotoxines dans l'alimentation des animaux et peut-être dans celle des hommes en Nouvelle Calédonie. Un programme de recherche est donc en cours de développement afin d'identifier, dans la population de *F. moniliforme* inféodée au maïs les souches toxigènes et leurs toxines.

#### MATERIEL ET METHODES

L'identification des souches de *Fusarium* isolées du maïs en Nouvelle Calédonie a été réalisée suivant le système récemment mis au point par Nelson, Toussoun et Marasas (7), qui établit une synthèse de tous les systèmes taxonomiques antérieurs. Les souches étudiées appartiennent à l'espèce *Fusarium moniliforme* Sheldon, dans la section *Liseola*. Les caractéristiques morphologiques essentielles de cette espèce

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

(\*\*) ORSTOM — Département E 213, rue Lafayette — 75480 PARIS CEDEX 10

ORSTOM Fonds Documentaire

06 OCT. 1989

M N° : 26.835 ex 1

Cote : B

P150

158 sur milieu de référence P.D.A. (Potato Dextrose Agar) à 30°C sont : l'absence des chlamydospores et la présence de microconidies formées en très grand nombre, à partir de phialides isolées. Ces microconidies sont produites en longues chaînettes, ou parfois en fausses têtes lorsqu'elles s'agglomèrent les unes aux autres sous l'effet d'un environnement très humide. La forme sexuée du *F. moniliforme* est *Gibberella fujikuroi* que l'on observe souvent à la base des tiges de maïs infectées par le parasite.

Après récolte, les souches isolées du maïs sont purifiées sur un milieu P.D.A. à fort pouvoir antibiotique (Penicilline 1.000.000 UI/litre, Colimycine 1.000.000 UI/litre) et conservées en tubes sur terre ou vermiculite stérilisées, substrats qui limitent la croissance végétative du champignon et réduisent en conséquence les risques de variations et de mutations. Les souches utilisées dans les épreuves d'intoxication sont en général des clones issus de la germination de microconidies.

Pour des raisons pratiques, il n'a pas été possible d'aborder directement l'étude expérimentale du pouvoir toxique de *F. moniliforme* sur le cheval, animal ayant révélé l'existence du problème. Nous avons donc utilisé une espèce mieux adaptée à l'expérimentation toxicologique : le rat de 20 jours de la souche albinos Sprague Dawley, suivant en cela les travaux de deux équipes (3,4).

La méthode d'administration *per os* a été retenue selon la technique suivante :  
— les souches sont cultivées sur 400 g de riz étuvé additionné de 240 ml d'eau par erlenmeyer de 2 litres. Ce substrat est stérilisé 2 fois (1 heure à 110°C) à 24 heures d'intervalle. Le riz stérilisé estensemencé avec 30 ml d'une suspension de spores (environ  $2.10^8$  conidies/ml) puis incubé 21 jours à 25°C. Pour augmenter la surface de croissance, les fioles sont maintenues inclinées, puis, après 10 jours, retournées afin de permettre au champignon d'envahir la totalité du substrat.

L'aliment est préparé sous hotte microbiologique à flux laminaire, par le mélange de produits de base et de riz sur lequel s'est développé le *Fusarium* dans les proportions suivantes :

— riz (équivalent poids sec)	50 %
— aliment pour chien	30 %
dont : protéines	20 %
lipides	5 %
matière minérale	8 %
cellulose	3 %
humidité	12 %
excipient	52 %
Vit. A	500.000 UI/100 kg
Vit. D3	500.000 UI/100 kg
Vit. E	4.500 UI/100 kg
— avoine	20 %

Le mélange broyé, compacté puis séché est découpé en cubes et distribué *ad libitum* à des lots d'animaux (de 3 à 5 rats) pendant 15 jours.

47 souches de *F. moniliforme* isolées sur les principales zones céréalières de l'île ont ainsi été éprouvées, ainsi qu'une souche récoltée en Afrique du Sud par Marasas.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Le tableau I présente les résultats obtenus avec les 48 souches éprouvées. Plusieurs paramètres ont été évalués dans cette expérimentation :

Tab. I — Résultats de l'intoxication per os de rats de 20 jours,  
par du riz artificiellement contaminé par 48 isolats de *Fusarium*.

N° Souche	C.M.Q. <sup>(1)</sup>	G.M.Q. <sup>(1)</sup>	$\frac{\text{G.M.Q.}}{\text{C.M.Q.}}$	Mortalité	
				Testés	Morts
Témoin <sup>(2)</sup>	6,3	1	0,15	38	0
13	5,6	0,9	0,16	3	0
109	3,5	0,5	0,14	5	0
81	2,9	0,27	0,09	3	1
89	4,3	0,36	0,08	5	0
9	5,1	0,38	0,07	3	0
111	5,3	0,33	0,06	3	0
7	4,1	0,2	0,048	4	0
80	2,3	0,15	0,044	8	1
86	2,6	0,1	0,038	3	0
61	5,4	0,2	0,037	4	0
60	2,6	0,09	0,034	3	1
74	3,8	0,1	0,026	4	0
82	3,6	0,08	0,022	3	0
43	4,7	0,10	0,021	3	0
108	3,2	0,05	0,015	4	0
93	2,8	— 0,01	— 0,003	5	0
3	2,9	— 0,05	— 0,017	5	0
92	2,7	— 0,05	— 0,018	5	0
87	2,3	— 0,05	— 0,021	5	0
101	3,4	— 0,10	— 0,029	4	0
68 B	2,6	— 0,11	— 0,042	16	0
106	3,6	— 0,20	— 0,05	3	0
70	1,8	— 0,09	— 0,05	3	1
115	4	— 0,29	— 0,071	3	0
119	2,7	— 0,20	— 0,074	3	0
24	3,3	— 0,26	— 0,078	3	0
83	2,1	— 0,17	— 0,080	3	0
114	2,9	— 0,24	— 0,08	3	0
112	2,2	— 0,30	— 0,13	3	0
113	3,7	— 0,71	— 0,18	3	0
117	1,8	— 0,2	— 0,11	3	2
84	1,3	— 0,3	— 0,23	3	1
90	2	— 0,66	— 0,33	3	1
118	0,5	— 0,27	— 0,54	3	3
122	0,9	— 0,6	— 0,66	3	0
123	0,4	— 0,31	— 0,75	3	2
79	0,9	— 0,8	— 0,88	3	3
M <sup>(3)</sup>	1,04	— 1,29	— 1,24	3	3
91	0,6	— 0,8	— 1,30	3	3
120	0,4	— 0,53	— 1,32	3	3
121	0,75	— 1	— 1,33	3	3
75	0,4	— 0,6	— 1,50	5	5

N° Souche	C.M.Q. (1)	G.M.Q. (1)	$\frac{G.M.Q.}{C.M.Q.}$	Mortalité	
				Testés	Morts
68 R	0,65	— 1,40	— 2,15	25	24
116	0,2	— 0,50	— 2,50	3	3
88	0,5	— 1,4	— 2,8	3	3
110	0,5	— 1,7	— 3,4	15	15
77	0,8	— 2,8	— 3,5	3	3
85	0,2	— 0,7	— 3,5	3	3

(1) Voir texte.

(2) Aliment contenant 50 % de riz sain.

(3) Souche isolée en Afrique du Sud par W.F.O. Marasas.

- la consommation moyenne quotidienne d'aliment par animal (CMQ),
- le gain moyen quotidien de poids par animal (GMQ),
- le rapport GMQ/CMQ dont la variation est, en première estimation, une fonction inverse de la toxicité,
- la mortalité qui révèle les cas de toxicité aigue.

Dans le tableau, les souches étudiées sont classées en fonction de la valeur du rapport GMQ/CMQ, par ordre de toxicité croissante. Ce rapport passe de 0,16 pour la souche 13 à — 3,5 chez les souches 77 et 85 les plus fortement toxigènes. L'augmentation de la toxicité se traduit par une inappétence croissante allant jusqu'au refus presque total de nourriture (cf. CMQ), par un gain pondéral de plus en plus faible, puis par une perte de poids vif (cf. GMQ), et d'autre part par des taux de mortalité croissant jusqu'au 100 % des animaux intoxiqués.

Il apparaît qu'une forte proportion de souches néocalédoniennes de *F. moniliforme* provoque une intoxication chez le rat de 20 jours. Les symptômes de cette intoxication varient en intensité. Mais à l'exception des toutes premières souches mentionnées dans le tableau, tous les isolats administrés *per os* induisent l'anorexie et des troubles de l'assimilation aboutissant à une croissance pondérale ralentie ou à l'amaigrissement des rats. Avec les souches les plus fortement toxigènes, ces perturbations s'amplifient et s'accompagnent d'ictère, de protéinurie marquée et de lésions hémorragiques du système digestif. Quatorze souches sur les quarante huit étudiées — soit 29 % — provoquent la mort de la totalité des animaux qui les ingèrent, en moins de 14 jours.

### CONCLUSION

L'administration *per os* de riz contaminé par *F. moniliforme* à des rats de 20 jours a permis d'évaluer le potentiel toxigène des souches de *F. moniliforme* parasitant le maïs en Nouvelle Calédonie, et de classer ces souches en fonction de leur pouvoir toxigène. L'épreuve biologique ainsi mise au point à travers ces expérimentations est utilisable pour la suite des recherches sur le *F. moniliforme*. Elle doit cependant être affinée par une étude histo-pathologique précise du tableau lésionnel chez l'animal intoxiqué, et complétée par l'essai d'autres méthodes d'administration des substances toxiques au rat ou à d'autres espèces animales, dans l'intention de réduire le temps de réponse de l'épreuve. Enfin, les effets toxiques mis en évidence chez le rat doivent être expérimentalement corrélés à l'action toxique observée chez le cheval. Ces recherches sont en cours. Leurs résultats seront publiés ultérieurement.

Nous tenons à exprimer nos remerciements à notre regretté collègue le Docteur Vétérinaire D. BREGEAT pour ses précieux conseils dans le calcul de l'équilibre des rations alimentaires.

Nos remerciements vont également aux Professeurs MARASAS et MIROCHA qui ont bien voulu nous fournir du matériel biologique et confirmer la toxicité de certaine souches.

## BIBLIOGRAPHIE

- (1) DOMENECH J., BOCCAS B., PELLEGRIN F., LAURENT D., KOHLER F., MAGNOL J. et LAMBERT C. — Etude de la fusariose du maïs (*Fusarium moniliforme*) en Nouvelle Calédonie et de la pathologie équine associée : la leucoencéphalomalacie équine. Revue d'élevage et médecine vétérinaire des pays tropicaux, 1984, 37 (3), 253-259.
- (2) DOMENECH J., BREGEAT D. et BOCCAS B. — Les mycotoxicoses en pathologie animale : intérêt de leur étude en Nouvelle Calédonie, Rev. Med. Ved. Nouvelle Calédonie, 1982, (1), 11-18.
- (3) HAMED K. ABBAS, MIROCHA C.J. and THOMAS SHIER W.T. — Mycotoxins produced from fungi isolated from food-stuffs and soil : Comparison of toxicity in fibro-blast and rat feeding tests. Appl. Environ. Microbiol., 1984, 48 (3), 654-661.
- (4) KRIEK N.P.J., MARASAS W.F.O., STEYN P.S., VAN RENSBURG S.J. and STEYN M. — Toxicity of a moniliformin producing strain of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* isolated from maize. Fd. Cosmet. Toxicol., 1977, 15, 579-587.
- (5) LAMBERT C., MAGNOL J., DOMENECH J., BOCCAS B., PELLEGRIN F., KOHLER F. et LAURENT D. — Etude de la leucoencéphalomalacie équine en Nouvelle Calédonie : une observation anatomoclinique. A paraître dans le : "Le Point Vétérinaire".
- (6) MARASAS W.F.O., KELLERMAN T.S., PIENAAR J.G. and NAUDE T.W. — Leucoencéphalomalacia : A mycotoxicosis of equidae caused by *Fusarium moniliforme* Sheldon. Onderstepoort Journal of Veterinary Research. 1976, 43, 113-122.
- (7) NELSON P.E., TOUSSOUN T.A. and COOK R.J. — *Fusarium*. Diseases, Biology and Taxonomy. The Pennsylvania State University Press (University Park and London) 1981.

**M**icrobiologie  
**A**liments  
**N**utrition

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

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

26835 ox 1