

CARACTERISATION DES ESPECES DE CHAMPIGNONS ET DE MYCOTOXINES CONTAMINANT DES ENSILAGES EN BELGIQUE

Héloïse Bastiaanse et François Van Hove, Mycothèque de l'UCL (BCCM™/MUCL)

Projet de recherche financé par la politique scientifique fédérale dans le cadre du programme scientifique « Action de stimulation de l'utilisation et de la collaboration avec les Collections Coordonnées Belges de Microorganismes (BCCM) »

Les ensilages d'herbe et de maïs constituent une part importante de l'alimentation hivernale des animaux d'élevage en Belgique. La qualité nutritionnelle et microbiologique de ces ensilages est un facteur déterminant des performances zootechniques ainsi que de l'état sanitaire du troupeau. Le développement de moisissures dans les ensilages doit par conséquent faire l'objet d'une attention toute particulière. Les moisissures diminuent l'appétence et la valeur nutritionnelle des aliments (diminution des taux de sucres, acides aminés, protéines...) et ralentissent l'acidification du fourrage par consommation des sucres solubles qui ne pourront servir à la fermentation lactique. Sous certaines conditions environnementales, certaines d'entre elles produisent également des mycotoxines qui peuvent avoir des conséquences néfastes sur la santé de l'animal. A ce risque s'ajoute celui du transfert de résidus toxiques dans les produits animaux destinés à la consommation humaine lorsque les animaux reçoivent des aliments contaminés. En plus des pertes économiques générées pour l'agriculteur, la présence de moisissures et de mycotoxines dans les ensilages représente ainsi un véritable risque pour la santé humaine et animale.

Objectifs du projet de recherche

Le projet de recherche mené conjointement par la Mycothèque de l'Université catholique de Louvain, le CERVA (Centre d'Etude et de Recherche Vétérinaire et agronomique), le CIPF (Centre Indépendant de Promotion Fourragère), la Hogeschool Gent, et l'Université d'Anvers, vise à étudier la diversité des souches fongiques et des mycotoxines rencontrées dans les ensilages en Belgique.

Une vaste campagne d'échantillonnage est menée depuis le 1^{er} novembre 2005 dans plusieurs exploitations agricoles belges pratiquant différents systèmes de culture et de production d'ensilage. Plus de 430 échantillons ont été prélevés et ont été soumis à différentes analyses afin d'isoler et d'identifier les moisissures ainsi que les mycotoxines produites. De manière à évaluer les risques de toxicité des ensilages liés à la présence des mycotoxines, des essais ont été mis au point sur des cultures de cellules de foie humain et de souches bactériennes transformées. En complément à ces tests de toxicité, une enquête diagnostique est réalisée auprès des agriculteurs sur les symptômes éventuellement développés par les animaux nourris avec les ensilages échantillonnés (maladies, problèmes de fertilité, réactions allergiques, ...). Ceci devrait permettre d'établir des corrélations avec la présence de champignons, de mycotoxines et /ou de toxicité.

Ce projet de recherche devrait aboutir à la mise en place d'une base de données en ligne sur les moisissures et les mycotoxines des ensilages, servant de support aux agriculteurs pour la gestion des problèmes de contamination des ensilages en détaillant les risques de production et la toxicité des mycotoxines. Les résultats préliminaires du projet de recherche ainsi que quelques recommandations pratiques concernant la prévention et la maîtrise des contaminations des ensilages par les moisissures et les mycotoxines sont présentés ici.

La contamination des ensilages par les moisissures et les mycotoxines

Les fourrages et les céréales sont naturellement en contact avec des spores fongiques pendant la culture au champ, pendant la récolte et durant la période de conservation. Lorsque les ensilages sont correctement réalisés, les conditions de pH bas et d'anaérobiose s'installant après les processus de fermentation ne sont pas favorables au développement de la plupart des moisissures. A l'ouverture du silo, des moisissures sont toutefois observées de manière récurrente. Des poches bien circonscrites ou des couches d'ensilage moisi sont visibles au sein du silo, à la surface du front d'attaque ou le plus souvent juste sous la bâche de protection.

La campagne d'échantillonnage menée en 2006 dans près de 40 fermes belges met en évidence une grande diversité de moisissures au sein des ensilages d'herbe, de maïs et de pulpe de betterave. La grande majorité des espèces isolées (56%) appartiennent au genre *Penicillium*. Ces moisissures confèrent des colorations verdâtres aux ensilages et présentent un risque de toxicité pour le bétail en raison de la production de plusieurs mycotoxines (patuline, roquefortine, toxine PR,...). Ingérées à de fortes doses, ces toxines sont susceptibles de provoquer chez les ruminants des troubles nerveux et, dans certains cas, des avortements. Un nombre significatif de *Zygomycètes* sp. (23%) et de *Trichoderma* spp. (14%), ainsi que quelques *Byssochlamys* spp., *Aspergillus* spp., *Monascus* spp. et *Fusarium* spp. (7%) ont été isolés. L'apparence de ces moisissures dans les ensilages ainsi que les risques de toxicité associés sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : Liste préliminaire des principales moisissures isolées dans les ensilages d'herbe et de maïs en 2006 et description des risques de toxicité associés.

<i>Espèces</i>	<i>Apparence</i>	<i>Conséquences</i>
<i>Aspergillus</i> spp	Vert foncé ou noir (<i>A. niger</i>) d'aspect diffus (poussière).	Espèces tolérantes à l'anaérobiose (peuvent se développer en absence d'air). Ne modifient pas l'appétence et présentent des risques de toxicité par sécrétions de plusieurs mycotoxines (aflatoxine, fumitoxine, ochratoxine, patuline,...) dont certaines, à fortes doses, peuvent entraîner des troubles nerveux, des avortements et des troubles respiratoires chez le bétail (aspergillose pulmonaire).
<i>Byssochlamys nivea</i>	Feutrage blanc assez dense (ne verdit pas lorsqu'on le met à l'air).	Présentent des risques de toxicité par sécrétions de patuline (dysfonctionnement de la flore du rumen, météorisation).
<i>Fusarium</i> spp.	Blanc puis rose, aspect cotonneux.	Se développent sur les maïs récoltés tardivement et dans les silos mal tassés. Diminuent l'appétence et présentent des risques de toxicité par sécrétion de zéarélanone (activité oestrogénique) et de trichothécènes (diarrhées, hémorragies intestinales, dermatoses). Présence peu probable dans les pulpes de betteraves.
<i>Monascus</i> spp.	Blanc puis rouge au moment de la sporulation.	Pas de toxicité. Effet stimulant sur l'appétence.

<i>Mucor</i> spp.	Blanc puis ponctué de points noirs.	Entraînent de l'inappétence sans risque de toxicité.
<i>Penicillium</i> spp. (<i>P.roqueforti</i> , <i>P. carneum</i> , <i>P. paneum</i>)	Poussière bleu vert foncé.	Largement rencontrées dans les ensilages échantillonnés en 2006. Risque de toxicité par la production notamment de patuline, de roquefortine et de toxine PR associées, à fortes doses, à des troubles nerveux et parfois des avortements.
<i>Trichoderma</i> spp.	Moisissure jaune vert ou blanche.	Risque de toxicité par la production de gliotoxine (immunosuppresseur) et d'isocyanide.

Les mycotoxicoses du bétail sont en général assez difficiles à diagnostiquer et peuvent par conséquent passer facilement inaperçues. Les effets biologiques des mycotoxines sont en effet assez variés selon les doses ingérées, la durée d'exposition de l'animal aux mycotoxines mais aussi selon l'état sanitaire de l'animal et le nombre de toxines présentes. Les ruminants sont globalement plus résistants à la plupart des mycotoxines que les animaux monogastriques. Ceci s'explique par le rôle détoxifiant de la population microbienne du rumen. Lorsque de faibles doses sont ingérées, la toxicité des mycotoxines se manifeste généralement sous forme de troubles chroniques (diminution de l'ingestion, baisse des performances zootechniques, troubles de la reproduction,...), et se solde rarement par la mort de l'animal. Des effets insidieux tels une diminution des performances zootechniques (production de lait/viande, troubles de la reproduction), une diminution de l'ingestion ainsi qu'une prédisposition accrue à des maladies par suite d'une déficience du système immunitaire peuvent être observés chez le bétail.

Les mécanismes régissant la production de mycotoxines par les moisissures sont à ce jour largement incompris. De manière générale, la contamination des produits par les mycotoxines se réalise lorsqu'un ensemble de conditions environnementales au champ, ainsi que de techniques incorrectes de récolte et de stockage sont réunies. Les mycotoxines peuvent être produites directement dans l'ensilage après la confection du silo ou être présentes au champ et persister dans le fourrage, même après disparition des moisissures.

Cette persistance des mycotoxines dans les ensilages, même après disparition des moisissures qui en sont à l'origine, semble être confirmée par les premiers résultats du projet. Des taux importants de deoxynivalenol, une mycotoxine produite par des moisissures appartenant au genre *Fusarium*, ont en effet été détectés dans des parties d'apparence saine d'ensilages de maïs échantillonnés en 2006. Ainsi, la mycotoxine semble avoir été produite au champ, dans des parcelles sujettes aux fusarioses de l'épi, et être toujours présente sur les maïs lors de la confection de l'ensilage. Ces résultats préliminaires du projet sont importants puisqu'ils mettent en exergue la problématique complexe du développement des moisissures dans les ensilages : la présence de moisissures dans un ensilage ne traduit pas forcément la présence de mycotoxines dans celui-ci, pas plus que son absence ne garantit l'innocuité du produit à distribuer aux animaux. Le risque de mycotoxicoses du bétail peut cependant être considérablement réduit si toutes les précautions sont prises pour conserver de manière optimale les fourrages.

Quelques recommandations pratiques concernant la prévention et la maîtrise des contaminations des ensilages par les moisissures sont données ci-après.

Recommandations pratiques pour la prévention et la maîtrise des contaminations des ensilages par les moisissures et les mycotoxines

La prévention contre les contaminations des ensilages par les mycotoxines commence par le respect des Bonnes Pratiques Agricoles (BPA) tout au long de la chaîne de fabrication de l'aliment, depuis la sélection des semences jusqu'à la mangeoire des animaux. Les étapes les plus sensibles sont la récolte, la conservation et l'ouverture du fourrage.

Durant la récolte

Le risque de développement de moisissures est notamment lié à la charge en spores présente dans le fourrage au moment de la confection du silo. L'état sanitaire des parcelles, ainsi que la propreté de l'emplacement du silo à la ferme et du matériel de récolte a par conséquent un impact significatif sur la qualité du fourrage récolté.

La gestion de la quantité d'inoculum présente sur les parcelles au moment de la récolte passe également par le respect des BPA (application de rotations culturales, choix de variétés résistantes, fertilisation équilibrée des parcelles, application d'une couverture phytosanitaire appropriée contre les maladies cryptogamiques,...). L'incorporation de terre et/ou de résidus de fumier avec le fourrage pendant la récolte ou la confection du silo représente en outre un risque important d'introduction de spores d'origine tellurique. Des mesures pratiques telles que la suppression des taupinières dans les parcelles, le réglage approprié de la hauteur des barres de coupe pendant la récolte ainsi que l'aménagement de la circulation des remorques et des engins tasseurs pendant le chantier d'ensilage contribuent à l'obtention d'un ensilage de bonne qualité.

Durant le stockage

Les moisissures ayant en général besoin d'oxygène pour se développer, celles-ci apparaissent dans les zones du silo où de petites poches d'air ont subsisté. Un tassement insuffisant ou irrégulier durant la confection du silo, une vitesse d'avancement trop lente au front d'attaque, un lest insuffisant ainsi que des perforations de la bâche figurent parmi les facteurs à risque de l'implantation de micromycètes. La présence d'air dans le silo peut être limitée par un hachage fin du fourrage, permettant un tassement régulier et énergique et par une fermeture rapide et étanche du silo.

La conservation des ensilages repose également sur l'acidification rapide et suffisante de la masse du fourrage grâce au développement des fermentations lactiques anaérobies. La qualité d'un ensilage est ainsi notamment conditionnée par la teneur en sucres solubles des fourrages à la récolte qui seront transformés par les bactéries lactiques en acide lactique et acétique aux propriétés antimicrobiennes. Le taux de matière sèche (MS) est également un paramètre à surveiller. En règle général, plus le taux de MS du fourrage à la récolte est élevé, plus l'anaérobiose nécessaire au démarrage de la fermentation lactique est difficile à mettre en œuvre. A l'inverse, lorsque le taux de MS est trop faible, l'ensilage libère d'importantes quantités de jus riches en sucres solubles qui ne pourront servir à la fermentation lactique (l'ensilage est « coulant »). Les teneurs en MS optimales se situeraient ainsi entre 350-450 g kg⁻¹ pour l'ensilage d'herbe et entre 320-350 g kg⁻¹ pour le maïs plante entière (lorsque le grain est au stade pâteux-vitreux).

L'emploi d'additifs lors de la confection du silo est également connu pour augmenter la stabilité aérobie des ensilages et limiter le développement de moisissures. Ces produits conservant à base d'acide propionique, de microorganismes ou d'association de microorganismes et d'enzymes agissent en tant qu'inhibiteurs de moisissures ou de stimulateurs de la fermentation. Dans le cadre du projet de recherche, une expérience pratique en mini-silos est mise en œuvre afin d'évaluer l'effet de ces additifs sur la qualité des ensilages de maïs au niveau des contaminations fongiques et de production de mycotoxines. Cette expérience vise à reproduire à l'échelle miniature les phénomènes de développement de moisissures se produisant dans les silos.

A l'ouverture du silo

Après un désilage, le développement de moisissures est assez rapide du fait de la pénétration de l'air dans le silo. De manière à réduire au maximum la surface et le temps d'exposition du silo à l'air il est donc conseillé de garder un front d'attaque net et vertical et de le renouveler assez rapidement (au maximum tous les 3 jours). Pour ce faire, le nombre et la largeur des silos doivent être adaptés à l'effectif du troupeau et au calendrier d'alimentation des vaches (périodes de pâturage, de tarissement, de lactation...).

Si, malgré toutes ces mesures de précaution, le développement de moisissures est observé, les zones moisies doivent être écartées avant leur distribution aux animaux. La destruction des zones moisies se fera en débordant largement, les mycotoxines pouvant diffuser dans l'aliment. Si la contamination n'est pas circonscrite à des zones limitées, rendant le tri difficile, il convient de ne pas distribuer l'ensilage moisi aux animaux en lactation, en gestation ainsi qu'aux jeunes. Si des problèmes sanitaires ou des baisses de production se manifestent au sein du troupeau, les quantités d'ensilage distribuées peuvent être diminuées et compensées par du foin ou un autre aliment adapté aux besoins de la ration. Si les troubles persistent, il est conseillé d'arrêter l'utilisation de l'ensilage et d'éventuellement demander des analyses microbiologiques et /ou toxicologiques sur celui-ci.

Points à retenir

Des moisissures peuvent se développer sur les plantes pendant leur culture ou leur stockage, et produire des toxines qui pourront avoir des conséquences néfastes sur le consommateur des produits végétaux contaminés. A ce risque s'ajoute celui du transfert de résidus toxiques dans les produits animaux destinés à la consommation humaine, lait ou viande, lorsque les animaux reçoivent des aliments contaminés. Les mycotoxines peuvent être produites directement dans le silo ou être présentes au champ et persister dans l'ensilage, même après disparition des moisissures. La baisse des performances zootechniques ainsi qu'une diminution de l'ingestion constituent souvent d'excellents avertissements d'un ensilage de mauvaise qualité.

Le risque de développement de moisissures et de mycotoxicoses du bétail peut être considérablement réduit si les Bonnes Pratiques Agricoles (BPA) sont respectées tout au long de la chaîne de fabrication de l'aliment, depuis la sélection des semences jusqu'à la mangeoire des animaux :

- ensiler des fourrages d'une bonne qualité sanitaire (respect des BPA au champ) ;
- limiter l'incorporation de terre (propreté du silo et du matériel, réglage de la hauteur des barres de coupe) ;
- tasser énergiquement et de manière régulière le silo (d'autant plus que le taux de MS est élevé) ;
- veiller à l'étanchéité du silo (lest de la bâche, lutte contre les attaques de rongeurs et d'oiseaux,...) ;
- favoriser une acidification rapide et suffisante (récolte à un taux de MS optimal, emploi d'additifs,...) ;
- garder un front d'attaque net et vertical et le renouveler régulièrement (adapter le nombre et la largeur des silos à l'effectif du troupeau) ;
- écarter les parties moisies du silo ;
- ne pas distribuer l'ensilage moisi aux animaux en lactation, en gestation ainsi qu'aux jeunes ;
- si des problèmes sanitaires ou des baisses de production se manifestent au sein du troupeau, diminuer les quantités d'ensilages distribuées et les compenser par du foin. Si les troubles persistent, arrêter l'utilisation du fourrage et demander éventuellement des analyses microbiologiques et /ou toxicologiques.