

MOISSISSURES DES ENSILAGES ET CONSÉQUENCES TOXICOLOGIQUES

L E MOT « MYCOTOXINE » EST DÉRIVÉ DU GREC « MYKES », QUI VEUT DIRE CHAMPIGNON, ET DU LATIN « TOXICUM », QUI VEUT DIRE POISON. LES CHAMPIGNONS QUI PRODUISENT DES MYCOTOXINES À PARTIR DES FOURRAGES ET DES DENRÉES ALIMENTAIRES ENTRENT HABITUELLEMENT DANS LA CATÉGORIE DES MOISSISSURES. LE REGAIN D'INTÉRÊT POUR LES DANGERS REPRÉSENTÉS PAR LES MYCOTOXINES S'EST SURTOUT TRADUIT PAR L'EXAMEN DE LA CONTAMINATION FONGIQUE DES OLÉAGINEUX ET DES CÉRÉALES AU COURS DE LEUR CONSERVATION. CEPENDANT, IL CONVIENT DE SOULIGNER QUE, L'ERGOTISME EXCEPTÉ, LES PREMIÈRES MYCOTOXICOSES ÉTUDIÉES, LA MALADIE DU MÉLILOT GÂTÉ (SCHOFIELD, 1924) ET LA STACHYBOTRYOTOXICOSE (MOSELIANI, 1940) FURENT PROVOQUÉES PAR DES FOURRAGES ALTÉRÉS PAR DES MOISSISSURES.

En ce qui concerne les ensilages, la question de la présence de moisissures dans les silos convenablement confectionnés est restée sans réponse jusqu'à une date récente (ESCOULA, LE BARS, 1973) ; alors que de nombreux auteurs (BUCHANAN, 1910 ; BURMEISTER et al., 1966 ; MITROIU et al., 1962 ; LYNCH et al., 1970 ; SMITH et LYNCH, 1973 ; BRITT et HUBER, 1973) avaient signalé la présence de moisissures, sans chercher à apprécier l'importance écologique et les risques qu'elles pouvaient faire encourir aux animaux qui consommaient ces fourrages. Le danger peut être lié au développement du champignon au cours de la végétation du végétal ou de sa conservation sous forme d'ensilage.

Nous envisagerons successivement l'étude des principales moisissures qui contaminent les fourrages en végétation, puis les espèces fongiques de stockage, c'est-à-dire la mycoflore des ensilages.

I. — PRINCIPALES MOISSURES DES FOURRAGES EN VÉGÉTATION

Ce sont essentiellement des champignons phytopathogènes (LE BARS, ESCOLLA, 1973). Dans le tableau I, nous avons fait figurer ceux qui peuvent se retrouver dans les ensilages.

TABLEAU I

PRINCIPALES ESPÈCES FONGIQUES DES FOURRAGES EN VÉGÉTATION SOUPÇONNÉES DE PROVOQUER DES INTOXICATIONS DU BÉTAIL

<i>Espèces fongiques</i>	<i>Fourrages</i>	<i>Conditions favorisant la toxicité</i>
<i>Claviceps purpurea</i>	Ray-grass	Août, septembre Prairies naturelles après floraison des graminées
<i>Fusarium tricinctum</i>	Grande fétuque	Hiver Missouri (U.S.A.)
<i>Rhizoctonia leguminicola</i> ..	Trèfles Luzerne	Principalement en automne Fourrage de seconde coupe Terrains acides
<i>Pseudopeziza medicaginis</i> ..	Luzerne Trèfles	Été, automne Pays froids et humides Certaines régions méditerranéennes
<i>Fusarium graminearum</i>	Maïs	Automne frais et humide Récolte tardive
<i>Ustilago maydis</i>	Maïs	Automne (surtout après les grêles de printemps)

98 Ces champignons sont à l'origine d'accidents que nous avons regroupés par symptômes prédominants.

1) La gangrène sèche des extrémités.

L'ergot :

Quelques cas d'intoxication de bovins et d'ovins par des sclérotés d'ergot (*Claviceps*) ont été décrits ou cités au pâturage (MARCHIONATTO, 1930 ; DILLON, 1955 ; CLEGG, 1959 ; BROOKS, 1966 ; CLARKE, 1967) et avec des ensilages (McKEON et al., 1971) ; la plupart ont été provoqués par l'espèce *Claviceps purpurea* abondante sur le ray-grass. Les symptômes observés dépendent des concentrations respectives des différents alcaloïdes de l'ergot, concentrations variant avec l'espèce et la race physiologique de *Claviceps* et de l'hôte (GROGER, 1972) ; ils sont principalement de deux types ; d'une part, l'ergotisme convulsif, rare chez les bovins, avec ataxie et tremblements, d'autre part, consécutivement à l'effet vasoconstricteur sur le système circulatoire périphérique (ergotamine) et à l'altération de l'endothélium des capillaires, une raideur des articulations, puis une insensibilité et la gangrène sèche des extrémités (GUILHON, 1955). Si les risques d'intoxication par l'ergot sont pratiquement nuls en prairies artificielles du fait que les fourrages sont coupés ou pâturés avant la floraison, il n'en est peut-être pas toujours de même, du moins en intoxication chronique, dans les prairies naturelles et en pâturage extensif.

La gangrène sèche de la fétuque (fescue foot disease).

Cette maladie des bovins a été décrite depuis plusieurs années aux Etats-Unis. Elle ne survient que sur certains pâturages de grande fétuque (*Festuca arundinacea* Schreb.) principalement en hiver ; elle se manifeste par une faiblesse anormale des cornes et des ongles, pouvant aboutir à la chute de ces derniers. Ces symptômes rappellent la forme gangréneuse de l'ergotisme ; mais dans les différents cas rapportés, une recherche des sclérotés d'ergot s'est révélée négative ; en outre, cette maladie non infectieuse est différente des gelures des extrémités et de l'empoisonnement par le sélénium (YATES, 1969, 1972). La cause exacte de cette maladie n'est pas encore déterminée avec certitude, mais les chercheurs américains ont de bonnes raisons de penser qu'elle est provoquée par des champignons qui, en se développant sur la fétuque, produisent ou provoquent l'apparition d'une toxine entraînant une réduction de la circulation sanguine au niveau des extrémités. Une des espèces fongiques les plus toxiques isolées de ces pâturages est le *Fusarium*

tricinatum (SNYDER et HANSEN ; YATES et al., 1969) qui élabore au moins trois toxines (buténolide toxine T2 et une toxine inconnue) ; le buténolide provoque certes le symptôme de nécrose, mais l'ensemble des signes cliniques n'a pu encore être reproduit (YATES, 1972).

2) La sialorrhée des ruminants.

En 1959, O'DELL et al. font état de désordres nouveaux chez les bovins et des ovins consommant du foin de trèfle violet de seconde coupe ; très rapidement, les animaux manifestent une sialorrhée et refusent l'aliment ; puis apparaissent les symptômes suivants : diarrhée, météorisation, raideur des articulations et parfois la mort ; les mêmes accidents ont été rapportés par BYERS et BROQUIST (1960, 1961), SMALLEY et al. (1962) et CRUMP et al. (1963). Le principe toxique inconnu a été dénommé « salivation factor » ou « slobber factor » (S.F.). Les recherches avancèrent vite du jour où SMALLEY et al. (1962), CRUMP et al. (1963) mirent en évidence que cette toxine, dénommée Slaframine par AUST et al. (1966), était en fait produite par le *Rhizoctonia leguminicola*. La Slaframine nécessite une activation au niveau du foie, pour provoquer son action parasymphomimétique (cholinergique). En général, les accidents sont provoqués par des fourrages de seconde coupe, en particulier par du trèfle violet, que ce soit sous forme de pâture, de foin ou d'ensilage (BROQUIST et SNYDER, 1972).

3) Syndromes œstrogéniques.

Un certain nombre de champignons parasites des luzernes et des trèfles provoquent un accroissement brutal de la teneur en coumestrol et de l'activité œstrogénique de ces fourrages (HANSON et LOPER, 1964 ; BICKOFF et al., 1967 ; SHEMESH et al., 1969 ; WONG et LATCH, 1971 ; SABA et al., 1972) : *Pseudopeziza medicaginis*, *Ps. trifolii*, *Leptosphaerulina briosiana*, *Uromyces trifolii*... Ainsi, la teneur en coumestrol est de 40,4 et 183,7 p.p.m. dans la luzerne présentant en moyenne respectivement une ou deux macules de *Pseudopeziza medicaginis* par foliole, tandis que, pour les plantes saines, la concentration était de 1,2 p.p.m. (HANSON et LOPER, 1964). Cet accroissement de la concentration en coumestrol ne paraît d'ailleurs pas spécifique d'un agent phytopathogène particulier, elle semble plutôt caractéristique de la réponse de ces légumineuses à leur attaque (SABA et al., 1972). Il convient de remarquer que ni la teneur en coumestrol ni celle en isoflavones œstrogènes (daïdzéine, formononétine, génistéine et biochanine A) (GUGGOLZ et al., 1961) ne rendent pas toujours compte de l'activité de ces plantes (BICKOFF et al., 1960 ; SABA et al., 1972). Certes, de nombreux facteurs provoquent une augmentation du pouvoir œstrogénique de ces fourrages mais, lors d'accidents de fertilité en été et en automne, l'action de parasites foliaires est une cause éventuelle qu'il ne faut point écarter.

Une autre substance œstrogénique, la zéaralénone ou F.2, est produite par le *Fusarium graminearum* ; cette mycotoxine est principalement élaborée au

cours du stockage, à des températures relativement basses (12-14 °C) (CHRISTENSEN et al., 1965 ; MIROCHA et al., 1967 ; MIROCHA et al., 1971) ; toutefois, ce champignon peut se développer sur les maïs encore sur pied les années où la récolte est tardive. La zéaralénone provoque une vulvovaginite chez le rat, le cobaye et le porc ; elle entraîne une baisse de fertilité chez la truie (CHRISTENSEN et al., 1965 ; MIROCHA et al., 1967). Elle a été retrouvée dans du fourrage ayant occasionné un fort accroissement du nombre d'inséminations nécessaire pour obtenir la fécondation dans un troupeau de bovins (MIROCHA et al., 1968).

4) Syndromes divers.

Un grand nombre d'observations relatant des troubles chez des animaux ayant consommé des « végétaux rouillés » ne paraît plus laisser de doutes quant à leur pouvoir pathogène (GAIN et BROCCQ-ROUSSEU, 1912). Cet auteur rapporte les symptômes suivants observés sur des chevaux, des vaches, des moutons et des porcs : rougeurs, inflammation de la peau, des lèvres et des joues, urticaire avec prurit, conjonctivite, larmolement ; ces symptômes inflammatoires se retrouvent sur toute la muqueuse digestive ; les animaux sont faibles et présentent parfois une paralysie du train postérieur. Toutefois, malgré la fréquence de l'abondance de ces maladies cryptogamiques sur les fourrages, il n'existe pas, à notre connaissance, d'expérience démonstrative de la toxicité des urédinales, si ce n'est l'accroissement d'activité œstrogénique de légumineuses (WONG et LATCH, 1971).

Le maïs charbonné (*Ustilago maydis* D.C. Cda) présente-t-il des risques pour l'animal ? Telle est la question périodiquement posée par les éleveurs. Il convient de se rapporter à la mise au point de FERRANDO et HENRY (1968) qui, devant les avis contradictoires et à la lumière de leurs essais effectués avec le professeur LE BARS, confirmant les travaux de LEVENBERG et NOSKOV (1966), concluent à l'inocuité d'une telle denrée ; ils conseillent toutefois de rester prudents et de limiter la dose de maïs charbonné à 5 % de la ration. Un examen critique complémentaire de la bibliographie (MORINI, 1884 ; MARCHIONATTO, 1930 ; MAYERHOFER et DRĂGISIC, 1938 ; NICCOLINI, 1942 ; HUNT et THOMPSON, 1938) permet d'aboutir à la même conclusion ; en effet, les travaux de LEVENBERG et NOSKOV (1966) sont confirmés par ceux de SARKISOV et al. (1972), et YAKUSHEVA et IBRAGIMOV (1972). Tout ceci concerne la toxicité intrinsèque des spores charbonneuses ou une toxicité indirecte due à la réaction de la plante à l'attaque parasitaire ; mais il convient de remarquer que les plantes charbonnées sont bien souvent envahies secondairement par des champignons saprophytes, certains d'entre eux étant connus pour être toxigènes. Enfin, l'action abrasive ou érosive des spores sur la muqueuse digestive des jeunes animaux (MORINI, 1884 ; YAKUSHEVA et IBRAGIMOV, 1972) pourrait favoriser l'absorption de substances toxiques d'origine diverse ou la pénétration de germes microbiens. Ces deux dernières hypothèses permettraient d'expliquer

les divergences entre les auteurs et les rares accidents qui nous ont été signalés en France à la suite de la consommation d'ensilages contenant du maïs charbonné.

II. — MOISSURES DES ENSILAGES

1) Écologie de la mycoflore.

Lors de la mise en silo, les moisissures des fourrages en végétation vont régresser voire même disparaître pour laisser la place à une mycoflore dite de stockage ; cette dernière flore se trouve dans le champ sous une forme végétative (spores) ou de résistance (chlamydo-spores).

Les fourrages ensilés paraissent convenir à un assez grand nombre de moisissures, une soixantaine d'espèces (ESCOULA et al., 1972) avec une fréquence et une abondance variables.

Dans les ensilages dont la confection remonte à moins de trois à quatre mois, on peut distinguer des espèces occasionnelles (*Neurospora crassa*, *Penicillium canescens*, *P. purpurogenum*, *Aspergillus niger*) et des espèces essentielles (*M. hiemalis*, *A. corymbifera*, *Aspergillus fumigatus*, *P. cyclopium*, *Trichoderma viride*).

A l'intérieur de cette mycoflore, il existe des espèces sociables ou compatibles, telles qu'*A. fumigatus*, *M. hiemalis*, *P. granulatum* ; cependant, cette communauté peut évoluer en se simplifiant pour aboutir finalement à la dominance d'un nombre limité d'espèces telles que *Fusarium* sp. ou *Trichoderma* sp.

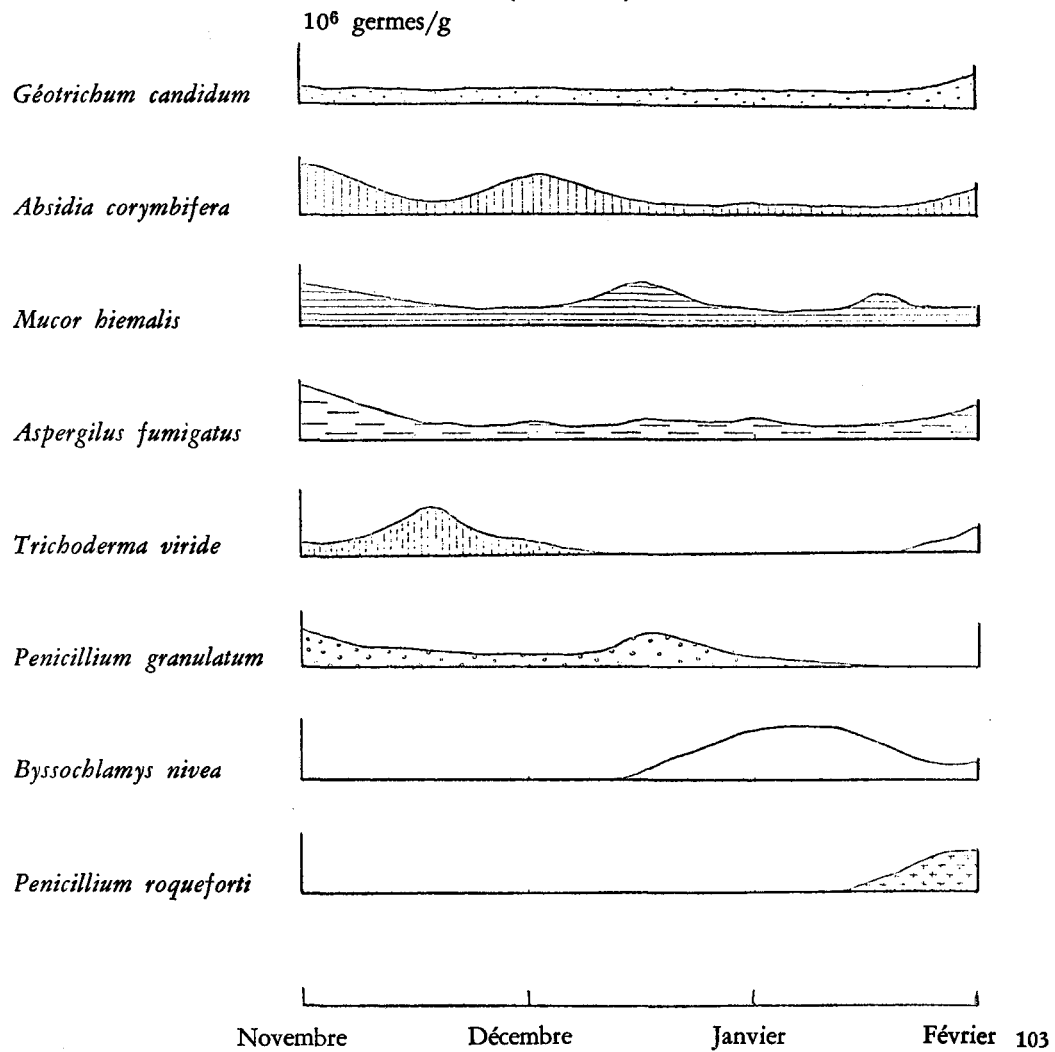
Si le temps de conservation est supérieur à trois mois, la fréquence d'isolement de *P. granulatum* et de *P. cyclopium* régresse au profit de celle de *P. roquefortii* et de *Byssochlamys nivea* ; cette dernière espèce pouvant constituer, seule ou associée au *P. roquefortii*, la flore exclusive de silos dont la confection remonte à plus de trois mois et demi (figure 1). Quant aux Mucorales qui sont fréquemment isolées des fronts de coupe, elles se rencontrent tout au long du stockage mais sont généralement associées à d'autres espèces. D'après nos essais *in vitro*, (ESCOULA, LE BARS, 1973), on peut raisonnablement avancer que suivant la composition de la communauté observée au départ, il existe au moins quatre catégories de champignons :

- ceux qui sont capables de se développer au centre du silo ;
- ceux qui subissent un effet biostatique, mais dont la sporulation serait favorisée après l'ouverture du silo ;
- ceux qui subissent un effet biostatique, mais qui ne pourront jamais être des espèces abondantes ;
- enfin ceux pour lesquels l'anaérobiose a un effet fongicide et dont l'isolement au cours des analyses mycologiques traduit vraisemblablement une contamination secondaire accidentelle.

FIGURE 1

ÉVOLUTION DE LA MYCOFLORE DES FRONTS DE COUPE
D'UN ENSILAGE DE MAIS SUIVI DEPUIS SON OUVERTURE
JUSQU'A SON ÉPUISEMENT

(essai n° 1)



Dans le tableau II, nous avons retenu les principales moisissures de stockage et rapporté pour chacune d'entre elles les caractéristiques des mycotoxicoses que l'on pourrait éventuellement rencontrer sur des animaux consommant des ensilages pollués. Pour la plupart, il ne s'agit uniquement que de suspicions car la mycotoxine responsable n'a jamais été détectée dans les ensilages.

2) Présence de mycotoxines dans les ensilages :

A ce jour, seules deux mycotoxines ont été retrouvées dans les ensilages.

La F2 (ou zearalenone) :

Cette toxine est élaborée par *Giberella zeae* (forme parfaite de *Fusarium graminearum*) ; elle a été retrouvée dans des fronts d'ensilages de maïs de la région de Château-Thierry à des concentrations variant de 1 à 8,6 p.p.m. (GOUSSE et al., 1973), ces analyses ont fait suite à l'apparition des signes de l'œstrus chez des génisses gravides. Cette intoxication se manifeste par une hypertrophie considérable de la vulve, avec prolapsus du vagin et, secondairement, du rectum ; les jeunes femelles ont une vulve œdémateuse, les glandes mammaires sont gonflées ; par contre, les ovaires sont atrophiés et les avortements sont fréquents. Des coupes histologiques montrent que les cellules vaginales sont quinze fois plus grosses que normalement.

Chez les mâles, on constate soit un gonflement plus ou moins prononcé, parfois suffisamment sévère pour gêner l'émission d'urine, soit des désordres mammaires.

Ce sont les porcs qui présentent le plus fréquemment l'ensemble des symptômes. Chez les bovins, son effet se traduit essentiellement par de l'infertilité. Par contre, à doses faibles, elle manifeste un effet anabolisant, surtout chez les ovins.

Patuline :

Au cours des essais d'alimentation de moutons par de l'ensilage de maïs menés en 1973 dans la région Midi-Pyrénées, nous avons constaté l'existence d'une certaine corrélation entre le degré de contamination fongique des ensilages et la fréquence des incidents observés chez les animaux. Ces incidents étaient de natures variées avec cependant une prédominance manifeste de signes nerveux. La listériose est une affection qui offre des signes cliniques

TABLEAU II

CARACTÉRISTIQUES DES PRINCIPALES MYCOTOXICOSES
OCCASIONNÉES ÉVENTUELLEMENT PAR LES MOISSURES ISOLÉES DES ENSILAGES

<i>Principales espèces capables de se développer au centre du silo</i>	<i>Mycotoxines et autres produits biologiquement actifs</i>	<i>Syndromes prédominants</i>	<i>Animaux réputés sensibles</i>
<i>Byssochlamys nivea</i> <i>Paecilomyces varioti</i>	Patuline, pyrénophorol Acide byssochlamique	Neurotoxicose Hémorragies	Bovins
<i>Mucor hiemalis</i> <i>Mucor racemosus</i> <i>Absidia corymbifera</i> <i>Absidia ramosa</i> <i>Rhizopus stolonifer</i>		Hémorragies Effets œstrogènes ou abortifs Hémorragies Gastroentérotoxicose	Poules pondeuses Bovins Bovins, porcs Chevaux, ovins
<i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium poae</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium moniliforme</i> <i>Cephalosporium acremonium</i>	Diacetoxyscirpenol, T ₂ toxine Neosolaniol Poïne Acide gibbérellique, zearalénone Céphalosporine P ₁	Effets œstrogènes	
<i>Geotrichum candidum</i>			
<i>Principales espèces capables de se développer uniquement sur les fronts de coupe</i>			
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Gliotoxine, acide helvolique Fumigalline Quinones, fumigatine Acide pénicillique Acide cyclopiazonique	Hémorragies Toxine trémogène	Tous Ovins chevaux
<i>Penicillium cyclopium</i> <i>Penicillium granulatum</i> <i>Penicillium roqueforti</i> <i>Penicillium brevicompactum</i>	Acide pénicillique, P.R. toxine Acide mycophénolique Acide pénicillique Trichodermine	Hémorragies Hématotoxicose Gastroentérotoxicose	Porcs, chevaux, ovins
<i>Trichoderma viride</i> <i>Grappium sp.</i>			

à peu près similaires à ceux observés ; cependant, il était légitime de suspecter la présence éventuelle de patuline dans la ration consommée ; cette mycotoxine peut être élaborée par *Byssochlamys nivea* Westling que l'on retrouve souvent de façon exclusive sur les fronts de coupe dont la confection remonte à plus de trois mois.

50 % des ensilages suspects examinés présentent de 1,5 à 40 p.p.m. de patuline (tableau III). La mycotoxine est détectée dans seize ensilages de maïs sur vingt-six et dans un ensilage de sorgho sur deux ; les échantillons le seigle et de graminées de prairies temporaires analysés sont exempts de trace détectable de patuline.

Les taux les plus élevés de toxine sont généralement retrouvés dans des échantillons apparemment monocontaminés par *Byssochlamys nivea* ; cette moisissure est blanche et prend en masse l'ensilage de maïs.

a) Production de patuline dans un modèle d'ensilage : Cet essai a eu pour but de vérifier si la toxine était produite dans un ensilage convenablement confectionné ou uniquement au niveau des poches d'air ou sur le front de coupe lorsque celui-ci n'est pas suffisamment renouvelé (temps de renouvellement supérieur à quarante-huit heures).

La végétation de *Byssochlamys nivea* en anaérobiose et en culture pure sur fourrage vert stérilisé ou dans des conditions écologiques très voisines de celles des ensilages s'accompagne d'une production de patuline (figure 2).

En culture pure et en anaérobiose (essai E. ana.), *Byssochlamys nivea* produit 42,5 p.p.m. de patuline au quarantième jour de conservation.

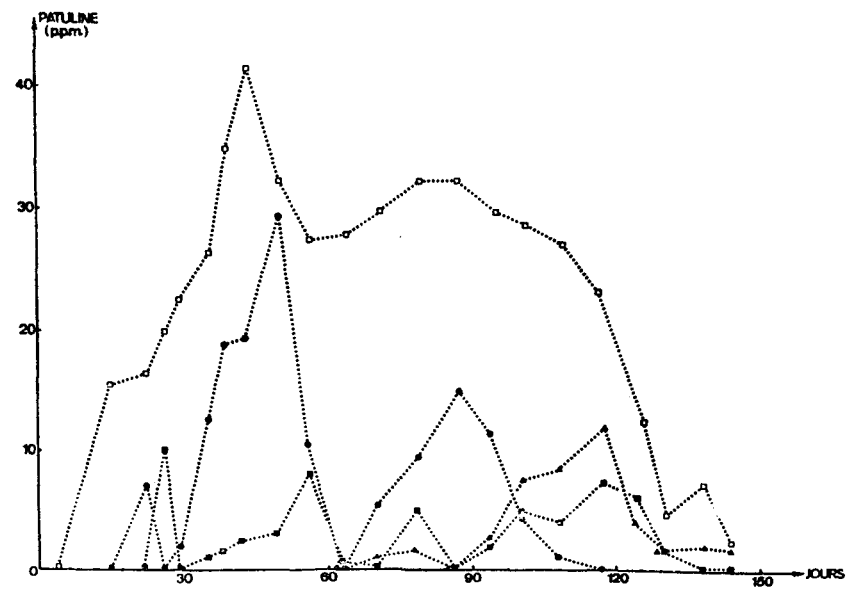
En compétition avec d'autres moisissures (essai E. ster.) ou en présence de la microflore complexe des ensilages (essai E. f.), la production de toxine par *Byssochlamys nivea* est irrégulière et inférieure à celle détectée dans l'essai E. ana., ; le maximum de patuline est obtenu respectivement le quarante-cinquième et le quatre-vingt-deuxième jour entre les divers micro-organismes ou bien encore une fixation de la patuline sur des radicaux sulfhydryles.

La cinétique de production de mycotoxine laisse présager que le risque de pollution des ensilages est important surtout après trois mois de conservation.

b) Reproduction de l'intoxication patulinique. Dans un premier temps, nous avons réalisé l'intoxication aiguë de quatre moutons par un extrait de

FIGURE 2

CINÉTIQUE DE PRODUCTION DE PATULINE
PAR *BYSSOCHLAMYS NIVEA* WESTLING
DANS LES CONDITIONS DE STOCKAGE D'UN ENSILAGE DE MAIS
RÉALISÉ AU LABORATOIRE



- ▲.....▲ ensilage témoin (E. tf.).
-■ ensilage frais + *Byssochlamys nivea* (E. f.).
-□ ensilage stérilisé + *Byssochlamys nivea* (E. ana.).
-● ensilage stérilisé + 5 espèces fongiques associées à *Byssochlamys nivea* (E. stér.).

TABLEAU III

PRÉSENCE DE PATULINE (p.p.m.) DANS TRENTE-QUATRE ENSILAGES
CONTAMINÉS PAR DES MOISSURES

Echantillons analysés	Nature de l'ensilage	Principales espèces isolées			Patuline (p.p.m.)
		<i>Byssochlamys nivea</i>	<i>Byssochlamys fulva</i>	Autres espèces	
E 1	M	+	—		15
E 2	M	—	+		8
E 3	M	+	—		20
E 4	M	+	—	<i>Fusarium</i> sp.	30
E 5	M	+	—		40
E 6	M	—	+	<i>Fusarium</i> sp.	N.D.
E 7	M	+	—		7,5
E 8	M	+	—		4
E 9	M	+	—		3,5
E 10	M	+	—		2,5
E 11	M	+	—	<i>Mucor mucedo</i> ; <i>Aspergillus fumigatus</i>	2
E 12	M	+	—	<i>Mucor hiemalis</i>	2
E 13	Se	—	—	<i>P. roqueforti</i> ; <i>Geotrichum candidum</i>	N.D.
E 14	M	—	—	<i>Monascus purpureus</i>	N.D.
E 15	M	—	—	<i>Absidia corymbifera</i> ; <i>Monascus pur- pureus</i>	2
E 16	M	+	—	Levures sp. ; <i>Geotrichum candidum</i>	N.D.
E 17	Se	—	—	<i>P. roqueforti</i> ; Levures sp. ; <i>Geotrichum candidum</i>	N.D.
E 18	M	+	—	<i>Penicillium</i> sp.	6
E 19	M	+	—	<i>Mucor hiemalis</i>	N.D.
E 20	H	—	—	Mycélium stérile de Basidiomycète	N.D.
E 21	H	—	—	<i>Acremonium</i> sp. ; <i>Mucor</i> sp.	N.D.
E 22	M	—	—	<i>Penicillium roqueforti</i> ; <i>Mucor mucedo</i> ; <i>Geotrichum candidum</i>	N.D.
E 23	M	+	—	<i>Mucor mucedo</i> ; <i>Aspergillus fumigatus</i>	12
E 24	H	—	—	<i>Aspergillus terreus</i> ; <i>Geotrichum can- didum</i> ; <i>Absidia corymbifera</i> ; <i>Scopu- lariopsis brevicaulis</i>	N.D.
E 25	So	—	—	<i>Mucor</i> sp. ; <i>Penicillium</i> sp.	N.D.
E 26	M	+	—	<i>Mucor mucedo</i> ; <i>P. roqueforti</i> ; <i>Geotri- chum candidum</i>	N.D.
E 27	M	—	—	<i>Aspergillus clavatus</i> ; <i>Mucor mucedo</i> ; <i>Penicillium</i> sp.	N.D.
E 28	So	+	—	<i>Geotrichum candidum</i> ; mycélium sté- rile de Basidiomycète	1,5
E 29	M	—	—	<i>Penicillium roqueforti</i>	N.D.
E 30	M	—	—	<i>Mucor mucedo</i> ; <i>Penicillium</i> sp.	N.D.
E 31	M	—	—	<i>Mucor hiemalis</i> ; <i>Geotrichum candidum</i>	N.D.
E 32	Se	—	—	<i>P. roqueforti</i> ; <i>Absidia corymbifera</i>	N.D.
E 33	M	+	—	<i>Monascus purpureus</i> ; <i>Penicillium roqueforti</i>	2,5
E 34	M	+	—	<i>Monascus purpureus</i>	16

M : ensilage maïs ; H : ensilage graminées prairies temporaires ;

108 So : ensilage sorgho ; Se : ensilage seigle ; N.D. : non détectable

culture de *Byssocblamis nivea* contenant la patuline par administration per os, au pistolet doseur ou à la sonde œsophagienne, à des doses variant de 15 à 50 mg de patuline par kilo de poids vif.

La dose de 20 mg/kg administrée au pistolet doseur a provoqué la mort d'un mouton dans les huit heures suivantes, alors que la dose de 50 mg/kg administrée à la sonde œsophagienne n'a entraîné que des troubles modérés et passagers.

L'intoxication se traduit par du jetage, l'arrêt de la rumination, une sensibilité douloureuse rétro-sternale, une inappétence prolongée et de l'amaigrissement.

A l'autopsie, on relève un exsudat péritonéal séro-fibrineux et une hémorragie importante au niveau de la caillette.

Les examens anatomo-pathologiques précisent l'existence de lésions du foie et du rein.

Les examens biochimiques ont mis en évidence une hémococoncentration suivie d'une anémie et une baisse importante des protéines du sérum.

Le taux d'urée augmente sensiblement vingt-quatre heures après et atteint un maximum à la trentième heure (50 à 200 %).

Au cours de ces intoxications aiguës, aucun trouble du système nerveux n'a été observé.

Nous pensons reproduire prochainement une intoxication avec des concentrations en patuline et des séquences équivalentes à celles que l'on pourrait rencontrer avec des ensilages naturellement contaminés par la toxine.

III. — MOYENS DE LUTTE CONTRE LES CHAMPIGNONS ET LES MYCOTOXINES

Pour empêcher ou du moins limiter le développement des moisissures dans les ensilages, un certain nombre de précautions peuvent être prises :

- laver à l'eau de javel le sol et les parois du silo ;
- veiller à ne pas souiller le fourrage de terre avec les roues des tracteurs ou des remorques lors du remplissage ;
- réduire au minimum les manœuvres, en dehors du silo, du tracteur qui tasse le fourrage ;
- dans les silos-couloir, laisser descendre la bache de couverture entre la paroi du silo et le fourrage.

L'emploi de conservateur peut diminuer, voire même inhiber le développement des moisissures. SHERWOOD et PEBERDY (1974) ont démontré qu'en présence de 0,8 à 1,5 % d'acide propionique, les grains de maïs peuvent être stockés pour une période supérieure à six mois sans que le *Fusarium graminearum* puisse se développer et produire la zéaralénone.

Par contre, les essais réalisés en ce sens avec *Byssochlamys nivea* montrent qu'il est nécessaire d'avoir des doses de 2 % d'acide propionique ou de 0,6 % d'acide formique pour obtenir l'absence d'élaboration de patuline. La solution paraît cependant extrêmement coûteuse. Il semble également que la présence d'acide lactique dans les ensilages soit un facteur de détoxification des silos. Selon REISS (1975), 0,5 % d'acide citrique et 0,75 % d'acide lactique empêchent la formation d'aflatoxines par *Aspergillus parasiticus* ; ces doses sont de 0,25 à 0,50 % pour la production de stérigmatocystine par *A. versicolor*.

D'une manière générale, il est nécessaire de renouveler les fronts de coupe régulièrement : une durée de vingt-quatre heures paraît la mieux convenir car elle permet d'éviter le développement sur le front d'attaque des champignons qui ne peuvent pas se développer dans les conditions d'anaérobiose du silo.

Il semble exister une corrélation entre l'état sanitaire des troupeaux et le degré de contamination des ensilages qu'ils consomment.

Est-il possible de dépasser ce stade de la constatation et d'incriminer directement une moisissure isolée d'un ensilage, à propos de troubles plus ou moins équivoques ? Il faudrait pour cela avoir une meilleure connaissance des capacités de production de toxines par les moisissures dans les conditions de stockage d'un fourrage ensilé. Car, excepté pour la patuline, on connaît très mal les aptitudes éventuelles des champignons à produire leur toxine dans des conditions de confinement, voire même d'anaérobiose. Il serait souhaitable aussi, après isolement et identification des toxines obtenues dans ces conditions, d'en confirmer la toxicité sur les herbivores en prenant les concentrations retrouvées naturellement et les séquences d'intoxication du milieu.

Souignons cependant qu'il n'est pas besoin que des accidents prennent une allure spectaculaire pour susciter une certaine inquiétude, car le risque d'intoxication chronique, en dégradant à la fois les performances zootechniques et la rentabilité de la production animale, constitue sans nul doute la forme la plus insidieuse et la plus dangereuse de ces manifestations dans la mesure où, le plus souvent méconnue, elle peut alors exercer des méfaits à l'insu de l'éleveur.

L. ESCOULA,
Station de Pharmacologie-Toxicologie
de Toulouse (I.N.R.A.).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- AUST S.D., BROQUIST H.P. et RINEHART K.L. (1966) : « Slaframine structural studies of a parasymphomimethic alkaloid of fungal origin », *J. Amer. Chem. Soc.*, 88, 2879-2880.
- BICKOFF E.M., LIVINGSTONE A.L., BOOTH A.N., HENDRICKSON A.P. et KOHLER G.O. (1960) : « Estrogenic activity in dehydrated and suncured forages », *J. Anim. Sci.*, 19, 189-197.
- BRITT D.G., HUBER J.J. (1975) : « Fungal growth during fermentation and refermentation of non protein nitrogen treated cor ». *J. Dairy Sci.*, 58, 1666-1671.
- BROOKS (1966) : « Fugal toxins affecting mammals », *Ann. Rev. Phytopathol.*, 4, 171-194.
- BROQUIST H.P. et SNYDER J.J. (1972) : « Rhizoctonia toxin », in KADIS S., CIEGLER A. et AJL S. : *Microbial toxins*, t. VII, 319-383. Academic Press, N.Y. and London.
- BUCHANAN R.E. (1910) : « *Monascus purpureus* in silage », *Mycologia*, 2, 99-110.
- BURMEISTER H.R., HARTMAN A. et SAUL A.R. (1966) : « Microbiology of ensiled high moisture corn », *Appl. Microbiol.*, 14, 31-34.
- BYERS J.H. et BROQUIST H.P. (1960) : « Studies on excessive salivation in ruminants fed certain leguminous forages », *J. Dairy Sc.*, 43, 873-874.

- BYERS J.H. et BROQUIST H.P. (1961) : « Further studies on a salivation factor (S.F.) in leguminous forages », *J. Dairy Sci.*, 44, 1179.
- CAMGUILHEM R., ESCOULA L., HENRY M. (1976) : « Toxines de *Byssochlamys nivea* Westling. - II. Etude préliminaire de la toxicité chez le mouton », *Ann. Rech. Vétér.* (sous presse).
- CHRISTENSEN C.M., NELSON G.H. et MIROCHA C.J. (1965) : « Toxicity to animals of feeds invaded by Fungi - 1. Increase in weight of uteri of white rat due to a toxin produced by *Fusarium* and isolation of the toxin », *Appl. Microbiol.*, 13, 653.
- CLARKE E.G.C. et CLARKE M. (1967) : *GARNER's Veterinary toxicology*, 3^e édition, London, Ballière, Tindall et Cassel, 350-352.
- CLEGG F.G. (1959) : « A convulsive syndrome in sheep », *Vet. Rec.*, 71, 824-826.
- CRUMP M.H., SMALLEY E.D., HENNING J.N. et NICHOLS R.E. (1963) : « Mycotoxicosis in animals fed legume hay infested with *Rhizoctonia leguminicola* », *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 143, 996-997.
- DILLON B.E. (1955) : « Acute ergot poisoning in cattle », *J. Amer. Vet. Med., Ass.*, 126, 136.
- ESCOULA L., LE BARS J. et LARIEU G. (1972) : « Etudes sur la mycoflore des ensilages. Mycoflore des fronts de coupe d'ensilages de graminées fourragères », *Ann. Rech. vétér.*, 3, (3), 469-481.
- ESCOULA L., LE BARS J. (1973) « La mycoflore des ensilages. Croissance d'espèces fongiques en anaérobies », *Ann. Rech. vétér.* (sous presse).
- ESCOULA L. (1974) : « Moisissures toxigènes des fourrages ensilés - I. Présence de patuline dans les fronts de coupe d'ensilages », *Ann. Rech. vétér.*, 5, 423-432.
- ESCOULA L. (1975) : « Moisissures toxigènes des fourrages ensilés - III. Production de patuline et d'acide byssochlamique par *Bissochlamys nivea* Westling sur un modèle d'ensilage réalisé en laboratoire », *Ann. Rech. vétér.*, 6, 219-226.
- FERRANDO R. et Mlle HENRY N. (1968) : « Intoxications causées chez l'animal par le charbon du maïs », *L'Alimentation et la Vie*, 56, 274-276.
- GAIN E. et BROCCQ-ROUSSEU D. (1912) : *Traité des foins*, Librairie Baillière et Fils, Paris.
- GOUSSE R., BERNARD C.R., WEIL A. (1973) : « Œstrogénisme d'origine alimentaire en élevage, la F2 (ou zéaralénone) », *Industr. Aliment. animal.*, 11, 11-19.
- GROGER D. (1972) : « Ergot », in KADIS et al., t. VIII, p. 321-373.
- GUGGOLZ J., LIVINGSTONE A.L. et BICKOFF E.M. (1961) : « Detection of daidzein, formononetin, genisteine and biochanine A in forages », *J. Agric. Fd. Chem.*, 9, 330-332.

- GUILHON J. (1955) : « L'ergotisme des animaux domestiques », *Rev. Pathol. gén. comp.*, 13, (12), 3-4.
- HANSON Ch. et LOPER G.M. (1964) : « Leafspot and plant hormone », *U.S. Dept. Agric. Res.* 13, 57-63.
- HUNT W.H. et THOMPSON M.R. (1938) : « A pharmacological study of Ustilago », *J. Amer. Pharm. Assoc.*, 27, 740-752.
- LE BARS J. et ESCOLLA L. (1973) : « Champignons toxigènes des fourrages secs et ensilés », *Bull. Off. int. Epiz.*, 79, 1213-1246.
- LEVENBERG J.G. et NOSKOV A.I. (1966) : « Safety of feeding maize infested with smut fungus *Ustilago zeae* », *Veterinarya* (Moscou), 43, 82-83.
- LYNCH G.P., JAVOBY M.M., BENJAMIN C.R., SHALKOP W.P. et CHANGE C.M. (1970) : « Feeding high moisture, ensiled, moldy shelled corn », *J. Dairy Sci.*, 53, 1292-1295.
- MARCHINATTO J.B. (1930) : « Sobre algunos parasitos de las gramineas toxicos para el ganado », *Bol. Min. Agr. Argentine*, 29, 457-460.
- MAYERHOFER E. et DRAGISIC B. (1938) : « Weiterer Bericht über kindliche Maisbrandvergiftungen (Ustilagoinismus) », *Z. Zinderbeik*, 59, 543-552.
- McKEON F.W., EGAN D.A. (1971) : « Lameness in cattle fed Ergotised silage », *Irish Veterinary J.*, 25, 67-69.
- MIROCHA C.J., CHRISTENSEN C.M. et NELSON G.H. (1967) : « Estrogenic metabolite produced by *Fusarium graminearum* in stored corn », *Appl. Microbial.*, 15, 497-503.
- MIROCHA C.J., HARRISON J., NICHOLS A.A. et McCLINTOCK M. (1969) : « Detection of a fungal oestrogen (F₂) in Hay associated with infertility in dairy cattle », *Appl. Microbial.*, 16, 797-798.
- MIROCHA C.J., CHRISTENSEN C.M. et NELSON G.H. (1971) « F₂ (Zearalenone) estrogenic mycotoxin from *Fusarium* », in KADIS et al., pp. 107-138.
- MITROIU P., MINCIUMA et DANCIU S. (1962) : « Cercetari on privire la flora mico-tica a furajelor insilorote (Research concerning the mycologic flora of ensiled fodder) », *Lucr. Inst. Cerc. veter. Bioprep. Pasteur*, 1, 711-714.
- MORINI F. (1884) : « Carbone delle piante », *Clinica veterinaria*, Milan, 493-513.
- MOSELIANI D.V. (1940) : « La stachybotryotoxicose des chevaux », *Veterinarija*, 17, 42-44.
- NICCOLINI P. (1942) : « Il principio ipotensore contenuto nell' *Ustilago maydis* », *Arch. Ital. Sci. Farmacol.* 137-152.

- REISS J. (1975) : « Prevention of the formation of Mycotoxins in whole wheat Bread by citric acid and lactic acid (Mycotoxins in food stuffs IX) », *Experientia*, 32, 2, 168-169.
- SABA N., DRANF H.M., HEBERT C.N., NEWTON J.E. et BETTS J.E. (1972) : « Effect of disease on the œstrogenic activity and coumestrol content of white clover and lucerne », *J. of Agric. Sci.*, 78, 471-475.
- SARKISOV A. Kh. : In « Mycotoxicoses of Man and Agricultural animals » ; BILAI V.I. Ed., pp. 140-151, *Izd. Akad. Nauk. Ukr. S.S.R.* Kiev.
- SARKISOV A. Kh., RUKHLYADA V.V., CHERNOV D.S. et IBRAGIMOV E. (1972) : « Results of studies on toxicity of smut fungi to different species of farm animals and poultry », *Bjull. Vsesoj. ord. Lenina Inst. eksp. Vet.*, 12, 65-69.
- SHEMESH M., LINDER H.R. et AYALON N. (1969) : « Coumestrol and 4'O-methylcoumestrol in alfafa grown in northern Israel. Possible effect of a folier pathogen (*Pseudopeziza medicaginis* Lib.) », *Refuah Vet.*, 26, 1-7.
- SHERWOOD R.F., PEBERDY J.F. (1974) : « Production of the mycotoxin, zearalenone, by *Fusarium graminearum* Growing on stored grain - II. Treatment of wheat grain with organic acids », *J. Sci. Fd. Agrc.*, 25, 1089-1093.
- SCHOFIELD F.W. (1924) : « Damaged sweet clover : the cause of a new disease in cattle simulating hemorrhagic septicemia and blackleg », *J. Amer. vet. Ass.*, 64, 553-575.
- SMALLEY E.B., NICHOLS R.E., CRUMP M.H. et HENNING J.N. (1962) : « Physiologic disturbance in animals resulting from ingestion of *Rhizoctonia leguminicola* infected red clover forage », *Phytopathology*, 52, 153.
- SMALLEY E.B., MARASAS W.F.O. et DAUGHERTY S. (1972) : « Development of *Aspergillus flavus* and aflatoxins in harvested forage », Research Div., Coll. Agricult. and Life Sci., Univ. Wisconsin, Madison, R 2412, 1-24.
- SMITH D.F., LYNCH G.P. (1973) : « *Aspergillus fumigatus* in samples of moldy silage », *J. Dairy Sci.*, 56, 828-829.
- WONG E. et LATCH G.C.M. (1971) : « Effect of fungal diseases on phenolic contents of white clover », *New Zealand J. of Agric. Res.*, 14, 633-638.
- YAKUSHEVA O.V. et INBRAGIMOV E. (1972) : « Histology in studies of toxicity to sheep and fowl of a common bunt of wheat and covered smut of barley », *Bjull. Vsesoj. ord. Lenina Inst. eksp. Vet.*, 12, 70-71.
- YATES S.G., TOOKEY H.I., ELLIS J.J., TALLENT W.H. et WOLFF I.A. (1969) : « Mycotoxins as a possible cause of fescue toxicity », *J. Agric. Food. Chem.*, 17, 437-442.
- YATES S.G. (1972) : « Toxin producing fungi from fescue pasture », in KADIS et al., t. VIII, 191-206.