

Note préliminaire sur les effets expérimentaux de l'aflatoxine chez les bovins tropicaux.

Effets de l'aflatoxine sur la vache laitière et sur le jeune nourri à la mamelle

par

H. CALVET, R. BOUDERGUES, E. DISCACCIATI et Mme M. CLICHE

RÉSUMÉ

Cette première expérimentation se situe dans le cadre d'un programme à long terme sur les effets de l'aflatoxine chez les bovins tropicaux.

Elle a pour but de rechercher chez la vache en lactation, recevant une dose expérimentale volontairement forte de 1,5 mg d'aflatoxine par jour, les désordres susceptibles d'être produits, chez la mère et chez le jeune.

Alors que les adultes semblent résister à l'intoxication, les répercussions sont plus sensibles chez le jeune qui accuse un retard de croissance significatif. Les troubles observés chez les veaux à la mamelle paraissent liés à la présence d'aflatoxine dans le lait.

Depuis la mise en évidence par les chercheurs anglais ALLCROFT, SARGEANT et CARNAGHAN en 1960 (1) (2) (3) (4) (5) (6) de la présence d'aflatoxine, métabolite de l'*Aspergillus flavus* Link, dans des tourteaux d'arachides ayant provoqué des mortalités parfois très lourdes dans divers élevages européens, avec pour caractère commun une atteinte spécifique du foie, la contamination des arachides par ce champignon, et, par voie de conséquence la présence de sa mycotoxine dans les tourteaux, revêt une grande importance pour les pays producteurs.

Les tourteaux d'arachides entrant pour une part de plus en plus grande dans l'alimentation du bétail, il devenait indispensable d'entreprendre une expérimentation visant à déterminer les limites exactes de la toxicité de l'aflatoxine sur différentes espèces animales.

Dans le cadre d'un programme à long terme, cette note a pour objet de présenter les résultats obtenus au cours d'une première série de recherches sur la toxicité de l'aflatoxine effectuées sur

l'organisme de la vache en lactation et sur le jeune nourri à la mamelle. Le toxique est administré journallement, dès la mise bas, à la vache en lactation.

EXPÉRIMENTATION

Matériel et méthodes.

L'expérimentation a porté sur 12 génisses gestantes, de race ndama, âgées de 4 à 5 ans. Ces animaux ont été répartis au hasard en deux lots : un lot témoin et un lot d'animaux traités recevant chaque jour 1,5 mg d'aflatoxine contenu dans le tourteau toxique obtenu au laboratoire, administré directement par voie orale, dès le lendemain de la mise bas.

Les deux lots sont soumis à la même alimentation comprenant du foin de prairie naturelle de France, donné à volonté, auquel on ajoute un supplément de 300 g de tourteau d'arachide commercial, titrant moins de 0,2 mg/kg d'aflatoxine.

L'expérimentation est poursuivie en étable durant 4 mois. Cependant, certaines vaches ont été retirées des lots prématurément, soit à la suite de la mort du jeune, soit en raison d'un tarissement précoce.

Les adultes sont pesés une fois par semaine, les veaux, avant et après chacune des deux tétées journalières, ce qui permet de déterminer la quantité de lait produite.

Chaque semaine, tous les animaux sont soumis à une prise de sang en vue des analyses et tests de contrôle suivants : numération globulaire hématocrite, protéines totales du sérum, lipides totaux du sérum, transaminases sériques, test de Mac Lagan. Sur les urines, l'albumine, les sels et les pigments biliaires, l'urée font également l'objet d'un dosage hebdomadaire.

Méthodes utilisées.

Ces méthodes intéressent d'une part la production de l'aflatoxine, d'autre part, les techniques utilisées pour les tests hépatiques de contrôle. Elles portent également sur la recherche de l'aflatoxine dans le lait, les viscères et les muscles des animaux traités.

1. Production d'aflatoxine.

Les quantités d'aflatoxine extraites des tourteaux et arachides naturellement contaminés sont trop faibles pour couvrir les besoins relativement importants de l'expérimentation. Aussi l'obtention du facteur toxique par culture d'*Aspergillus flavus* a été recherchée et plusieurs milieux ont été successivement utilisés.

Les milieux synthétiques liquides (milieu Czapek, milieu Brian) permettent un bon développement du champignon mais fournissent, après extraction, des taux d'aflatoxine nuls (Czapek) ou faibles (Brian : moins de 90 p. p. m.).

Le rendement de la culture sur tourteau d'arachides est encore plus faible (10 p. p. m.).

Finalement, le meilleur résultat (taux d'aflatoxine 300 p. p. m. environ) est obtenu sur arachides broyées. La technique a déjà été exposée (*). Il n'en sera rappelé que les points essentiels.

Les arachides broyées, étalées en couches minces dans les grandes boîtes de Pétri, sont stérilisées en autoclave à 110 °C. Après réhumidification à 20 p. 100 d'eau en poids, l'ensemencement est effectué et les boîtes sont disposées en étuve à 30 °C + 1 °C pendant 10 jours.

Une nouvelle stérilisation au four Pasteur à 140 °C est nécessaire pour détruire le champignon et supprimer tout danger de contamination.

Le contenu des boîtes de Pétri est alors mis en cartouches de Soxhlet pour être dégraissé pendant 6 heures à l'éther de pétrole.

Le produit obtenu est un tourteau riche en aflatoxine sur lequel un dosage physico-chimique et un contrôle de toxicité par une méthode biologique sont effectués.

Dosage physico-chimique.

La technique adoptée est celle qui a été mise au point par « The Tropical Products Institute » (9). Dix grammes de tourteau sont traités en Soxhlet par l'alcool méthylique pendant 4 heures. L'aflatoxine est extraite du milieu par du chloroforme. Cette phase chloroformique est évaporée et chromatographiée sur Kieselgel et on recherche les spots fluorescents caractéristiques de l'aflatoxine. Des dilutions successives jusqu'à extinction des spots permettent de déterminer les taux d'aflatoxine par comparaison avec une solution témoin d'aflatoxine B₁ à 0,1 mg/l.

Dosage biologique.

La fluorescence n'étant pas toujours en relation directe avec la toxicité, ce dernier facteur a dû être contrôlé, sur chaque lot de tourteau produit, par des tests biologiques.

Test sur caneton.

Le réactif biologique est constitué par des canetons reçus de France par avion. La technique d'administration utilisée est celle qui a été décrite par THEODOSSIADES (8) sur caneton de 1 jour. A Dakar, sur canetons de 3 à 8 jours, la dose léthale 50, déduite de plusieurs essais, se situe aux alentours de 80 µg/jour. Cette posologie entraîne la mort de 50 p. 100 du lot dans un délai de 8 jours et les foies présentent des lésions d'hépatite nécrosante caractéristique de l'intoxication par l'aflatoxine.

(*) Rapport annuel du Laboratoire national de l'Élevage de Hann 1964, p. 146-47.

Test sur œuf embryonné.

Moins onéreuse que la précédente, la technique utilisée est celle de J. VERRET et Coll. (10). La DL₅₀ pour l'embryon de poulet est de 0,025 µg d'aflatoxine B₁ injectée dans la poche à air.

2. Tests biochimiques.

Ils sont utilisés pour contrôler l'état de santé des animaux et son évolution en cours d'expérience. L'aflatoxine étant connue comme un facteur toxique agissant essentiellement au niveau des fonctions hépatiques et rénales, les analyses permettant de diagnostiquer une atteinte de ces fonctions ont été principalement retenues.

a) *Transaminases sériques.*

Les transaminases glutamo-oxalacétique (T. G. O.) et glutamo-pyruvique (T. G. P.) ont été dosées chaque semaine sur les animaux traités et tous les 15 jours sur les témoins. La méthode de REITMAN-FRANKEL a été retenue. Plusieurs essais ont permis de déterminer les normes moyennes qui sont de :

	T.G.O.	T.G.P.
vaches	40 u/ml	20 u/ml
veaux	30 u/ml	20 u/ml

En médecine humaine, on note des élévations du taux de ces transaminases dans les nécroses hépatiques et dans les atteintes aiguës de la cellule hépatique.

b) *Test de Mac Lagan.*

Ce test, non spécifique, d'altération des synthèses protéiques du foie, a été emprunté à la médecine humaine.

Sur les animaux témoins, les valeurs normales semblent être les suivantes :

vaches	densité optique	0,40
veaux	—	— 0,40

c) *Lipides totaux du sérum.*

L'augmentation des lipides sériques indique généralement une lésion hépatique. Les lipides totaux du sérum ont été dosés par la méthode de Delsal. Beaucoup moins constante que la glycémie, la lipémie chez l'animal normal, à jeun, dans des conditions identiques de prélèvement, a varié entre 2,5 et 4 g/l chez la vache et 2,5 et 4,5 g/l chez le veau.

d) *Protéines totales du sérum.*

L'abaissement de leur taux est un signe de disfonctionnement hépatique. Leur dosage, fait par réfractométrie, a permis d'obtenir les valeurs normales de 70 à 85 g/l.

e) Les numérations globulaires et les hématocrites ont été établis suivant les méthodes classiques. Il en a été de même pour la recherche de l'albumine, des sels et pigments biliaires dans l'urine. L'uréomètre de Bourriez a servi au dosage de l'urée urinaire.

3. Recherche de l'aflatoxine dans le lait.

L'aflatoxine ingérée par la vache laitière passe dans la mamelle et se retrouve dans la fraction caséine du lait. Ces résultats corroborent les conclusions des auteurs anglais (1) (3).

Le procédé suivant a permis le dosage du toxique dans la production laitière des animaux traités.

On dépose sur une plaque de Kieselgel G des spots de 2,5 à 10 microlitres de lait dégraissé. Une première chromatographie, dans l'éther sulfurique, est suivie d'une deuxième dans le solvant chloroforme-alcool méthylique (95-5). Les spots fluorescents sont visibles en lumière U. V. à des Rf variant de 0,2 à 0,30 correspondant à la « Milk Aflatoxin » décrite par de LONG et Coll. (7). Le dosage est fait par appréciation de l'extinction par rapport à une solution étalon d'aflatoxine B₁. Cependant, la toxicité de l'aflatoxine présente dans le lait à un taux très bas (0,08 à 0,3 mg/l) n'a pu être confirmée par un test biologique. L'obtention de lésions sur le caneton de 1 jour aurait nécessité des ingestions trop importantes de lait. Les protéines du lait injectées dans la poche à air des œufs provoquent la mort immédiate de l'embryon.

4. Dosage de l'aflatoxine dans la viande et les viscères des animaux.

200 grammes de produits à analyser (muscles ou viscères) sont broyés puis triturés avec du sulfate d'ammonium jusqu'à consistance pulvérulente. Le produit obtenu est mis à macérer pendant 40 heures avec 250 ml de méthanol et agité en permanence. Le résidu est exprimé au travers d'une gaze et le liquide d'expression filtré sur papier filtre.

L'extrait méthanolique est repris par du chloroforme selon la technique classique et la phase chloroformique obtenue, concentrée à 20 ml, est chromatographiée sur couche mince de Kieselgel G. Il est à noter ici aussi que les spots apparaissent à des Rf de 0,3 à 0,4.

RÉSULTATS

Les résultats obtenus porteront sur :

- les variations pondérales enregistrées chez les adultes et les jeunes ;
- la production du lait : quantité, qualité et présence d'aflatoxine ;
- les modifications biochimiques survenues dans le lot traité ;
- l'aspect général des animaux d'expérience ;
- les lésions notées à l'autopsie et la présence de l'aflatoxine dans la carcasse et les viscères des animaux morts ou sacrifiés.

a) Variations pondérales.

Chez les adultes, le tableau 1 et le graphique 1 bis font apparaître une perte de poids dans les deux lots, particulièrement nette jusqu'à la onzième semaine. Cette variation est cependant plus sensible dans le lot traité que dans le lot témoin. Cependant, l'analyse de variance ne permet pas de conclure, compte tenu du faible nombre d'animaux en expérience, à une différence significative (Tableau I).

Observations : Le graphique 1 a été établi en portant en abscisse les moyennes par lots de pourcentages de variations du poids. Ces moyennes ont été calculées en éliminant :

- dans le lot témoin, la 223 abattue à la suite d'une fracture ;
- dans le lot aflatoxine, la 221 morte à la 4^e semaine à la suite d'une infection utérine.

Chez les veaux, au contraire, les graphiques (II et III) montrent un net retard de croissance chez les animaux appartenant au lot traité par rapport au lot témoin (Tableau II).

L'analyse des variances fait apparaître une différence significative au seuil de 5 p. 100.

Le calcul a été réalisé par établissement des droites de régression des poids de chaque veau et analyse de la variance des pentes des droites obtenues.

Il semble donc que l'administration d'aflatoxine à la vache laitière et la dose de 1,5 mg/jour, si elle ne se traduit pas par un effet notable sur le poids de la femelle adulte qui l'ingère, entraîne en revanche, un retard de croissance sur le jeune nourri à la mamelle.

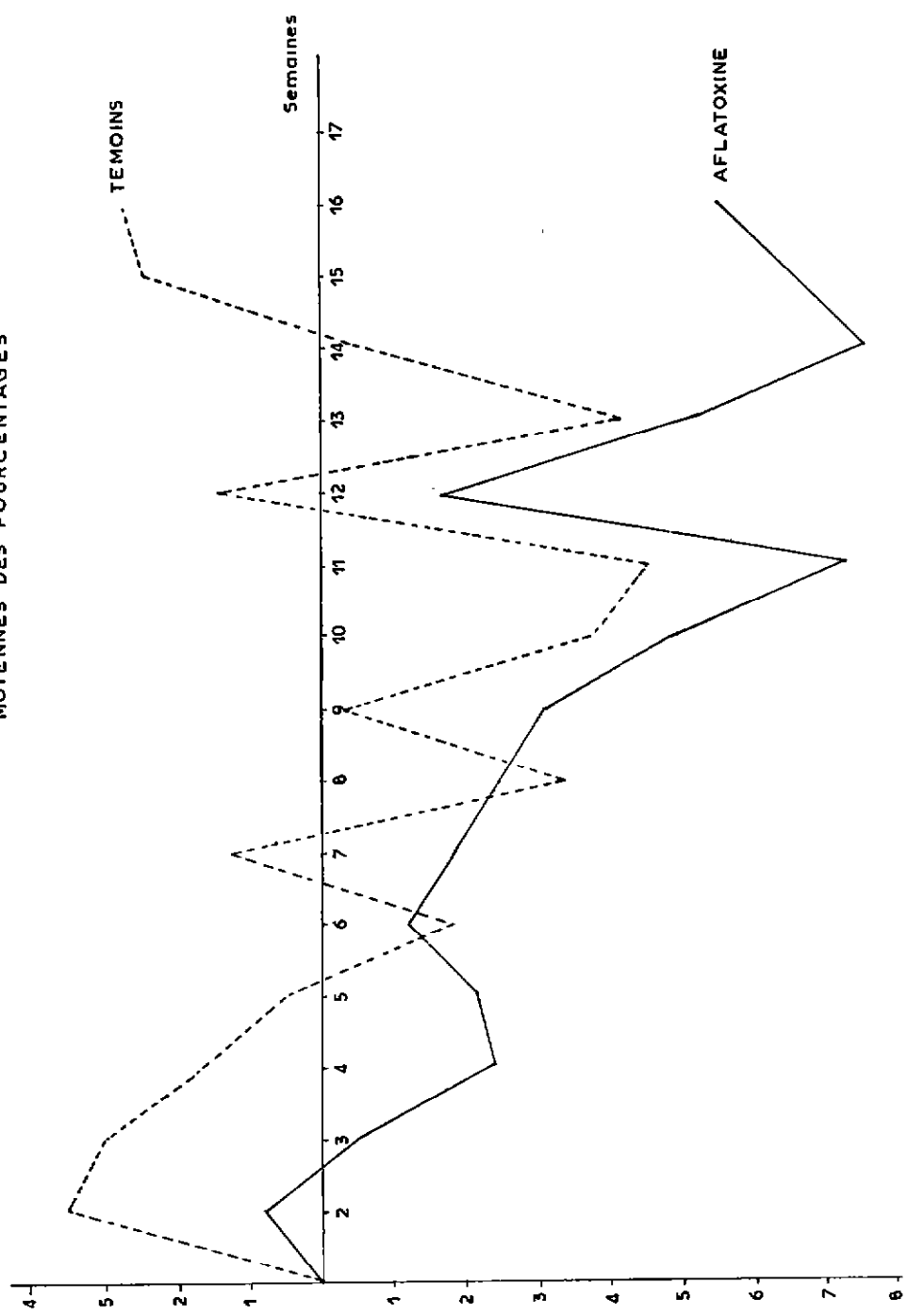
Il faut constater en outre qu'au cours de l'expérimentation, 3 veaux appartenant au lot traité sont morts, après avoir présenté des troubles digestifs et dans un délai compris entre 4 et 8 semaines.

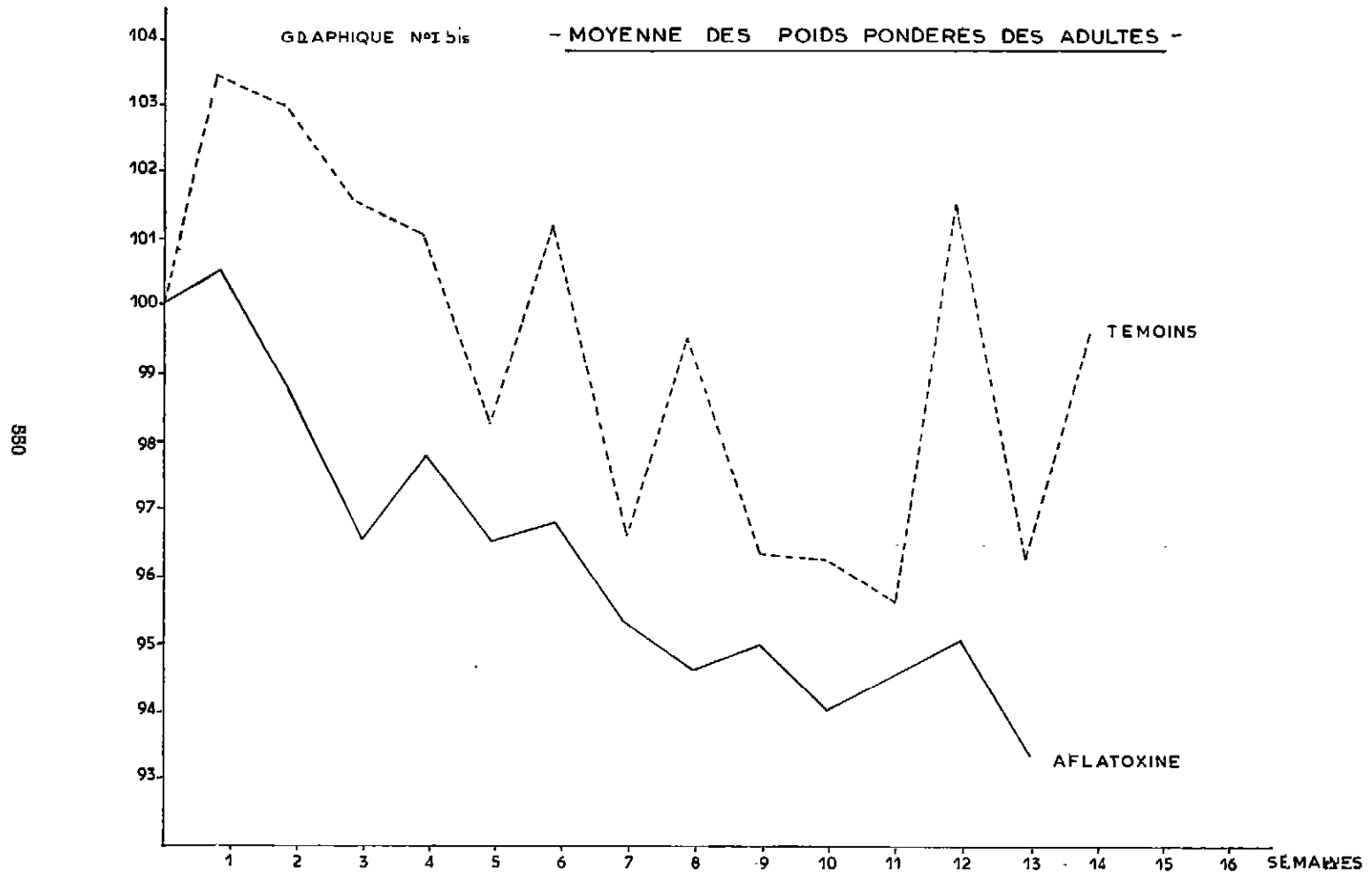
La perte de 3 veaux sur les 5 du lot en expérience, comparativement à l'absence de mortalité dans le lot témoin, ne constitue cependant

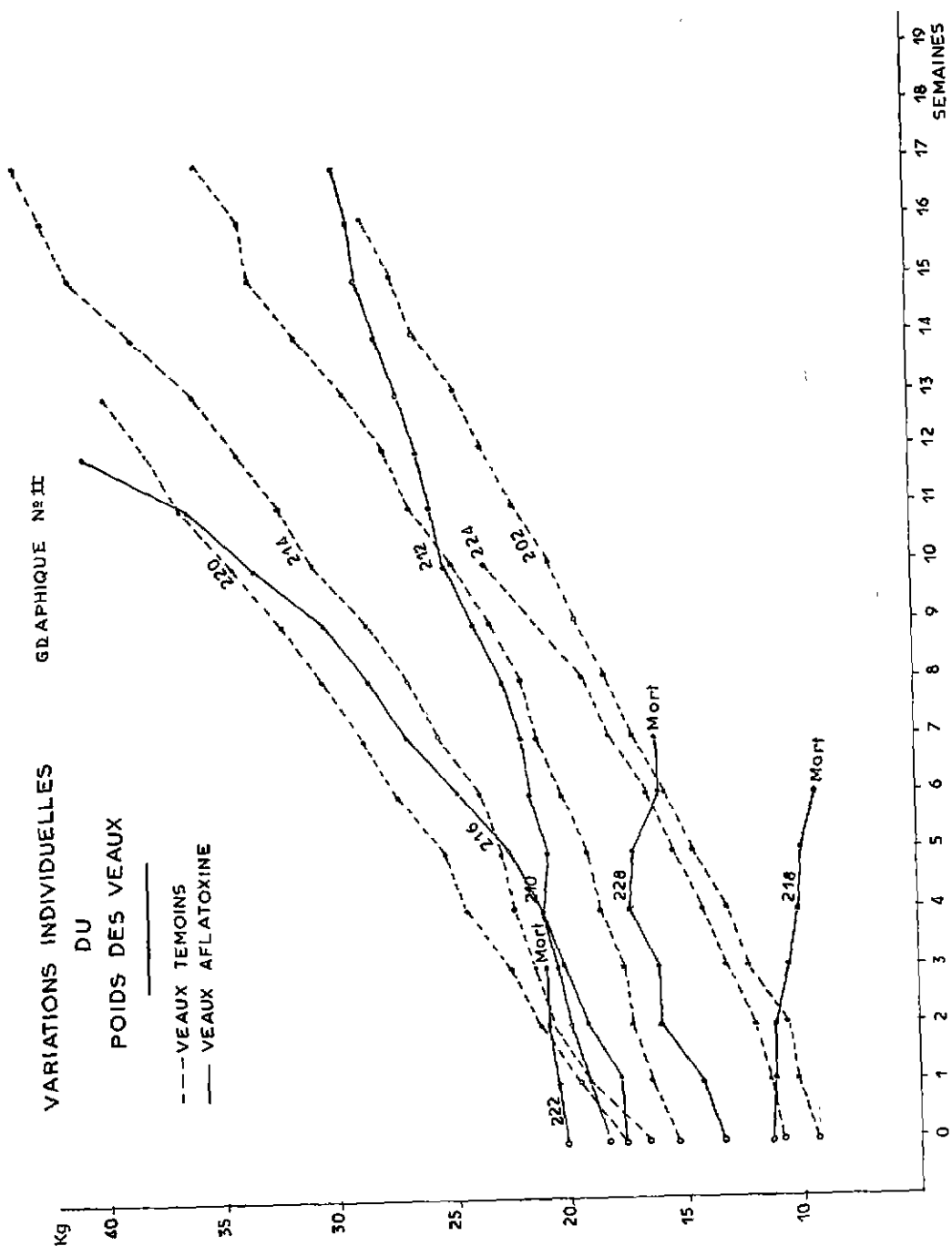
TABLEAU N°I

N° des animaux semaines	Lot témoin					Lot aflatoxine					
	207	211	213	219	223	209	215	217	221	227	205
1	235	175	211	217	169	170	196	155	233	215	214
2	250	190	214	212	157	175	202	155	217	212	211
3	249	180	219	216		177	197	148	212	214	201
4	240	180	220	211	150	172	197	134		205	200
5	241	175	215	212	171	166	201				200
6	237	175	208	205	160	170	211	134		206	197
7	240	176	213		160	172	209	140		194	203
8	238	163	213	197	morte	170	212	133		192	198
9	237	175	215	208		163	210	135			188
10	235	170	206	196		160	215	146		176	
11	233	166	199	203		169	220	151		173	183
12	243	178	209			156	228				186
13	235	165	207	200		151	226				173
14	239	171	216	208		155	215			185	178
15	247	179	216	217		159					
16	247	178	217	220		169					192

GRAPHIQUE N° 1
- VARIATIONS DES POIDS DES ADULTES -
MOYENNES DES POURCENTAGES



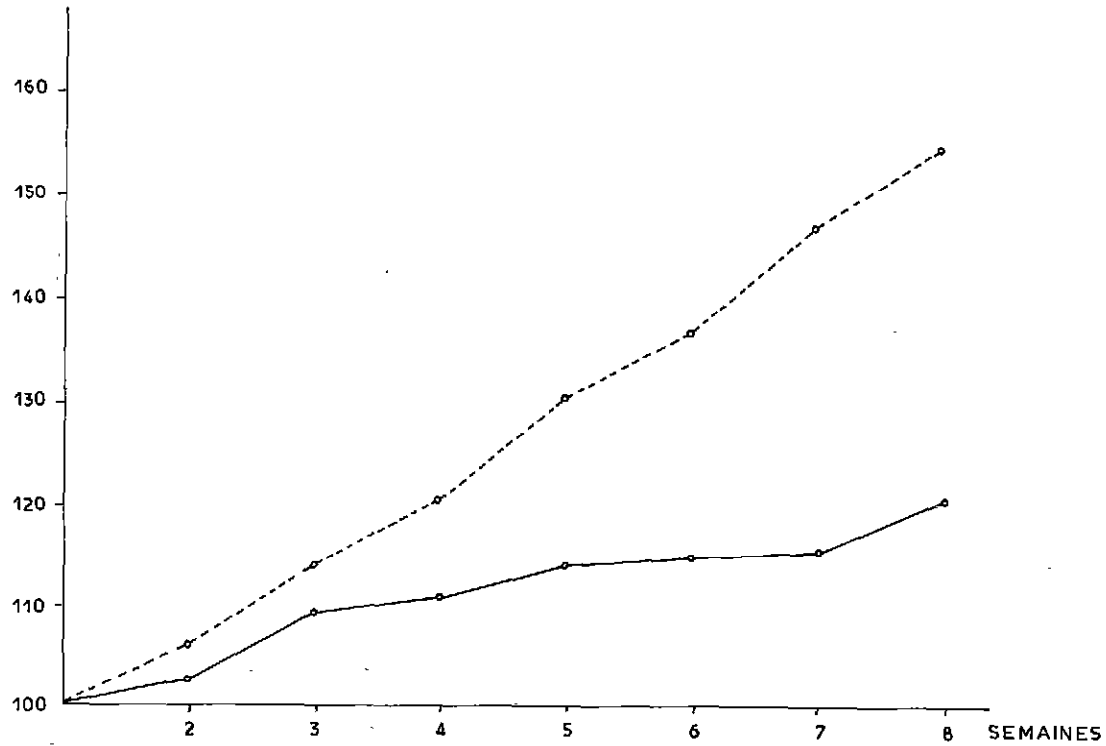




GRAPHIQUE N°III

- POIDS DES VEAUX -
VARIATIONS DES MOYENNES PONDEEES

----- VEAUX TEMOINS
—— VEAUX AFLATOXINE



562

TABLEAU N°II
Poids des jeunes

N° des animaux semaines	Lot témoin					Lot aflatoxine				
	202	212	214	220	224	210	216	218	222	228
1		15,2	16,8	17,7	11,0	18,6	17,5	11,1	20,3	13,6
2	9,7	16,6	19,3	19,6	11,1	19,3	17,8	11,1	20,8	14,4
3	10,2	17,4	20,8	21,2	12,0	20,2	19,6	11,1	21,1	16,3
4	10,8	17,7	21,5	22,6	13,4	20,6	20,4	10,7	21,0	16,3
5	12,4	18,9	22,4	24,5	14,3	21,3	21,0	10,1	mort	17,5
6	13,2	19,3	22,9	25,3	15,5	21,0	22,9	10,0		17,2
7	14,8	20,3	23,8	27,4	16,7	21,8	24,7	9,5		15,9
8	15,9	21,4	25,5	28,9	18,2	22,0	26,8	mort		16,5
9	17,2	22,0	26,9	30,6	19,3	22,8	28,3			16,5
10	18,1	23,3	28,6	32,1		24,0	30,2			mort
11	19,8	25	30,8	34,2	23,5	25,1	31,6			
12	20,7	26,7	32,2	36,6		25,8	33,1			
13	22,1	27,6	34,0	38,0		26,2	36,0			
14	23,5	29,3	35,9	39,6		27,0	37,5			
15	24,8	31,4	38,5			28,0	40,8			
16	26,6	33,0	41			28,8	43,6			
17	27,2	33,8	42,1			29,0				
18	28,9	35,2	43,3			29,7				

pas une donnée ayant une signification statistiquement valable.

Cet effet nocif de l'aflatoxine sur la croissance des veaux a été signalé par d'autres auteurs. Ruth ALLCROFT et Gwyneth LEVIS en particulier, observent un net retard de croissance accompagné de mortalité au bout de 10 à 12 semaines chez des veaux recevant un supplément à base de farines d'arachide très toxiques (5).

Discussions concernant ce résultat.

Quelles peuvent être les causes du retard de croissance observé chez les veaux dont les mères absorbent de fortes doses d'aflatoxine ?

On peut invoquer successivement :

- une baisse de la production laitière chez la vache traitée,
- une modification qualitative du lait,
- la présence du facteur toxique dans le lait absorbé par le jeune.

a-a) Production de lait (Tableau III).

La lactation a fait l'objet d'un contrôle portant sur 17 semaines pour 4 vaches du lot témoin et 2 du lot traité. Dans ce dernier lot, en effet, la mort du jeune a entraîné un tarissement rapide de la sécrétion lactée de 3 vaches.

Durant ce laps de temps et sur le petit nombre d'animaux restés en expérience, l'analyse de la variance des moyennes de poids de lait ne permet pas de conclure à une différence significative entre les deux lots.

Il convient de souligner que ces résultats ont été obtenus sur des vaches dont les capacités laitières sont normalement très faibles, le maximum de production journalière restant inférieur à 2 litres. Chez des femelles Ayrshire (5), par contre, des essais comparables effectués par Ruth ALLCROFT et Gwyneth LEWIS ont souligné une augmentation significative de la vitesse de chute de la production laitière chez des animaux recevant dans leur alimentation des farines d'arachide toxiques.

Quoi qu'il en soit, dans les conditions de l'expérience, il ne semble pas que le retard de croissance observé chez les veaux soit dû à une diminution de la production de lait chez les mères.

a-b) Qualité du lait.

Des analyses de lait ont été régulièrement effectuées, mais la grande variabilité des résultats obtenus, en particulier en ce qui concerne les matières grasses, n'a permis aucune interprétation. L'important problème de la vitamine A n'a pu davantage être abordé. ROPPER et CHAFFNER rapportent que lors de la maladie chronique du foie, la vitamine A peut complètement disparaître de cet organe. Ruth ALLCROFT et Gwyneth LEWIS (5) montrent que d'autre part, une des modifications les plus importantes survenant chez les jeunes veaux intoxiqués par des farines d'arachide toxiques est la diminution sensible de la teneur de leur foie en vitamine A.

TABLEAU N°III
Production laitière moyenne (en kg/jour)

semaines	Lot témoin					Lot aflatoxine					
	207	211	213	219	223	209	215	217	221	227	205
1	1,5	1,97	2,35	2,40	1,15	1,18	1,95	0,80	0,97	2,18	2,55
2	1,75	1,70	2,09	2,17	0,95	0,83	1,70	0,70	1,47	1,82	2,43
3	1,66	1,53	1,97	2,12	1,82	0,90	1,65	0,53	0,72	1,84	1,08
4	1,28	1,28	1,80	2,24	1,75	0,84	1,62	0,40		1,43	1,96
5	1,16	1,38	1,83	1,73	1,73	1,0	1,86	0,78		1,87	2,13
6	1,56	1,12	1,63	2,08	1,55	1,12	1,83	0,55		1,63	2,14
7	1,48	1,26	1,76	1,68	1,97	1,55	2,08			1,72	1,90
8	1,28	1,18	1,65	1,76	1,73	1,10	1,67				2,74
9	1,20	1,12	1,85	1,70	1,53	1,23	1,76				2,33
10	1,35	1,10	1,76	1,92	abat	0,86	1,68				2,02
11	1,22	0,96	1,66	2,18		0,78	1,58				1,44
12	1,25	1,05	1,85	1,77		0,78	1,72				
13	1,21	1,53	2,0	1,68		0,83	1,98				
14	1,30	1,71	2,02	1,78		0,83	1,86				
15	1,25	1,27	1,93	2,18		0,88	2,08				
16	1,02	1,52	1,77	2,02		0,90	1,94				
17	1,55	1,52	1,50	1,88		0,66					
18	1,38			1,95		0,66					
Total	24,40	23,20	31,42	35,24	14,18	16,93	28,96	3,76		12,49	22,72
moyenne	1,38	1,36	1,85	1,96	1,58	0,94	1,81	0,63		1,78	2,15

Malgré le manque de preuves dans ce domaine, il est cependant possible d'envisager l'hypothèse d'une modification qualitative du lait en particulier, dans sa teneur en vitamine A, après ingestion d'aflatoxine. Les modifications au niveau de la peau et des phanères survenues chez les veaux traités pourraient suggérer l'intervention d'une carence de ce facteur.

a-c) Aflatoxine dans le lait.

Le dosage de l'aflatoxine dans le lait a donné les résultats suivants (Tableau IV) :

TABLEAU N°IV

Vache	J + 15	+30	+45	+60	+75	+90
209	0,20mg/l	0,20	0,30	0,30	0,20	0,30
215	0	0,08	0	0	0,08	0,08
217mort	0,20mg/l	0,30	0,30			
221mort	0,30mg/l	0,3				
227mort	0,20mg/l	0,20	0,26	0,20	0,24	
205	0,15	0,12	0	0,12	0,15	

Il convient de souligner :

— les différences individuelles importantes du taux d'aflatoxine dans le lait alors que les vaches absorbent la même dose de toxique ;

— la mortalité en cours d'expérience des 3 veaux nourris par les mères dont le lait contenait le taux d'aflatoxine le plus élevé (entre 0,20 et 0,30 mg/l) ;

— le cas de la vache 215 dont le lait, au cours des dosages, ne révélait que des traces d'aflatoxine. Or, il se trouve que son veau (n° 216) est celui qui, dans le lot des animaux traités, a présenté la meilleure croissance.

Il semble donc qu'on puisse établir une corrélation nette entre la teneur du lait en aflatoxine et la vitesse de croissance des animaux qui l'absorbent. Le facteur toxique contenu dans le lait paraît responsable en grande partie du retard de croissance des animaux traités par rapport aux témoins.

b) Tests biochimiques.

Les résultats des hémocrites, des numérations globulaires, des taux de protéines totales, du test de Mac Lagan ne font pas apparaître de différence significative entre les deux lots.

Les graphiques montrant les variations des transaminases T. G. O. et des lipides totaux offrent un plus grand intérêt.

TABLEAU N° V A

Adultes

Lot témoin										Lot aflatoxine											
207		211		213		219		223		209		215		217		221		227		205	
TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP
35	20	35	20	40	20	18	20	35	20	40	20	40	20	30	20	40	20	40	20	40	20
														Aflatoxine							
														50	20						
40	20	40	20	40	20	72	20	50	20	140	20	150	20	80	20	150	20	135	20	120	29
										40	20	81,5	25	68	20	215	20	50	20	80	20
30	20	45	20	55	20	55	20	80	20	30	20	36	20	135	20			25	20	37	20
										142	20	81	20	75	20			129	20	135	27
36	20	40	20	75	29	14	20			81,5	20	95	20	36	20			68,5	20	62	20
		55	20			55	25			36	20	120		68	20			45	20	62	20
										68	20	115						68	20	68	20

TABLEAU N° V B

Jeunes

Lot témoin										Lot aflatoxine											
202		212		214		220		224		210		216		218		222		228		206	
TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP	TGO	TGP
30	20	4	20	18	20	11	20	7	20	22	20	16	20	33	20	33	20	11	20	40	20
										22	20	45	20	-	-	mort		-	-	15	20
30	20	62	20	60	20	20	20	60	20	95	20	180	40	190	20			88	20	95	20
										22	20	215	55	mort				mort		62	20
50	20	19	20	40	20	50	20			45	20	215	60							68,5	20
						45	20			50	20	95	30							68	20
		20	20			45	24			41	20	108	32							68	20
						60	20			62	20	100	22								
		10										95	20								

b-a) *Transaminases* (Tableaux V A et V B, graphiques IV, V, VI et VII).

Deux augmentations très sensibles apparaissent dans le taux des transaminases sériques T. G. O. Elles sont parallèles chez les adultes et chez les jeunes. Les pics se situent, l'un dans la première quinzaine, l'autre vers le 2^e mois. En fin d'expérience, le taux des transaminases reste plus élevé chez les animaux traités que chez les témoins.

Ces deux augmentations des T. G. O. laissent supposer une atteinte précoce de la cellule hépatique. Dans un premier temps, les désordres pourraient être d'ordre fonctionnel et seraient suivis, par exemple, lors de l'élévation progressive, de troubles définitifs.

b-b) *Lipides totaux* (Tableaux VI A et VI B, graphiques VIII et IX).

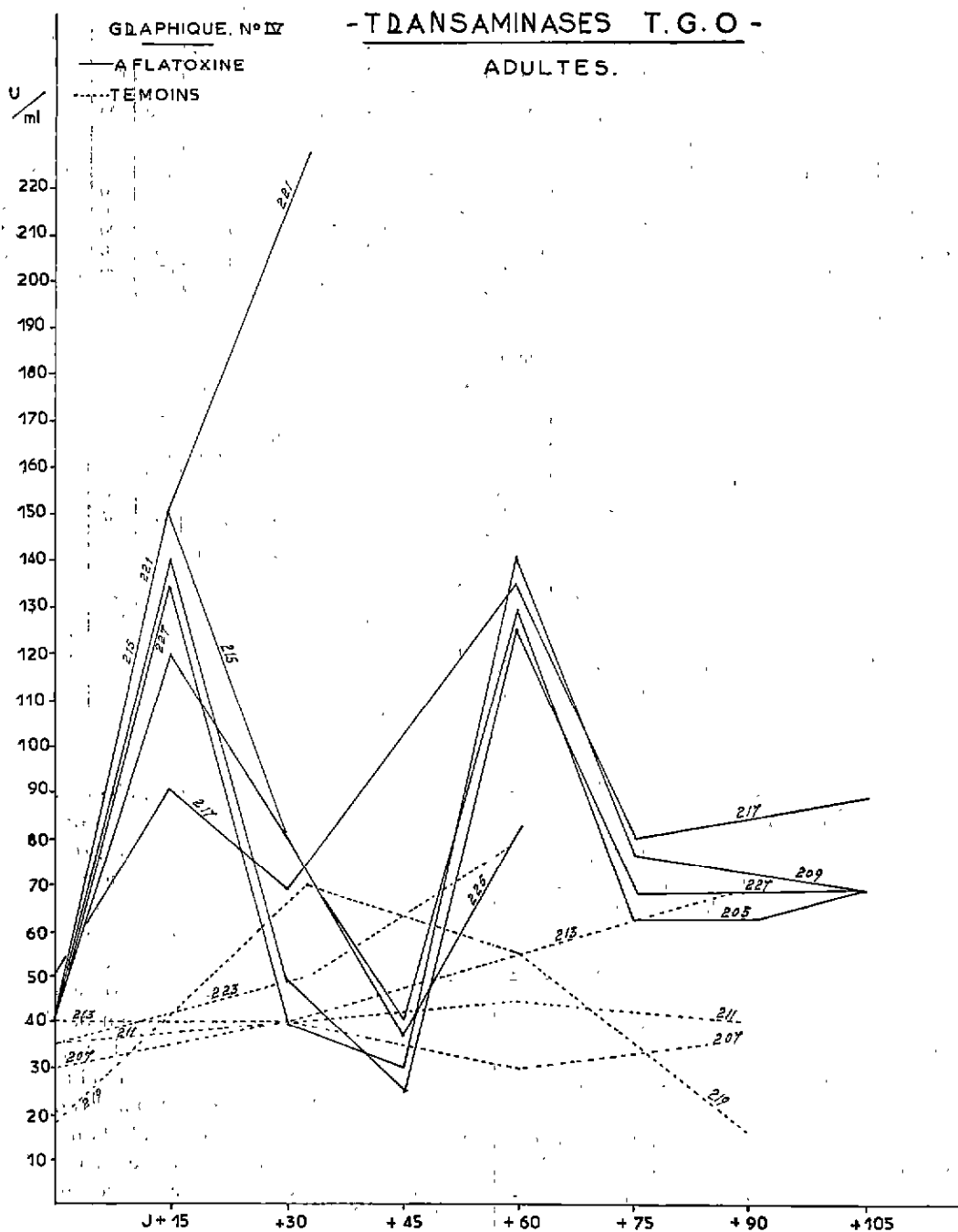
L'administration d'aflatoxine produit chez les

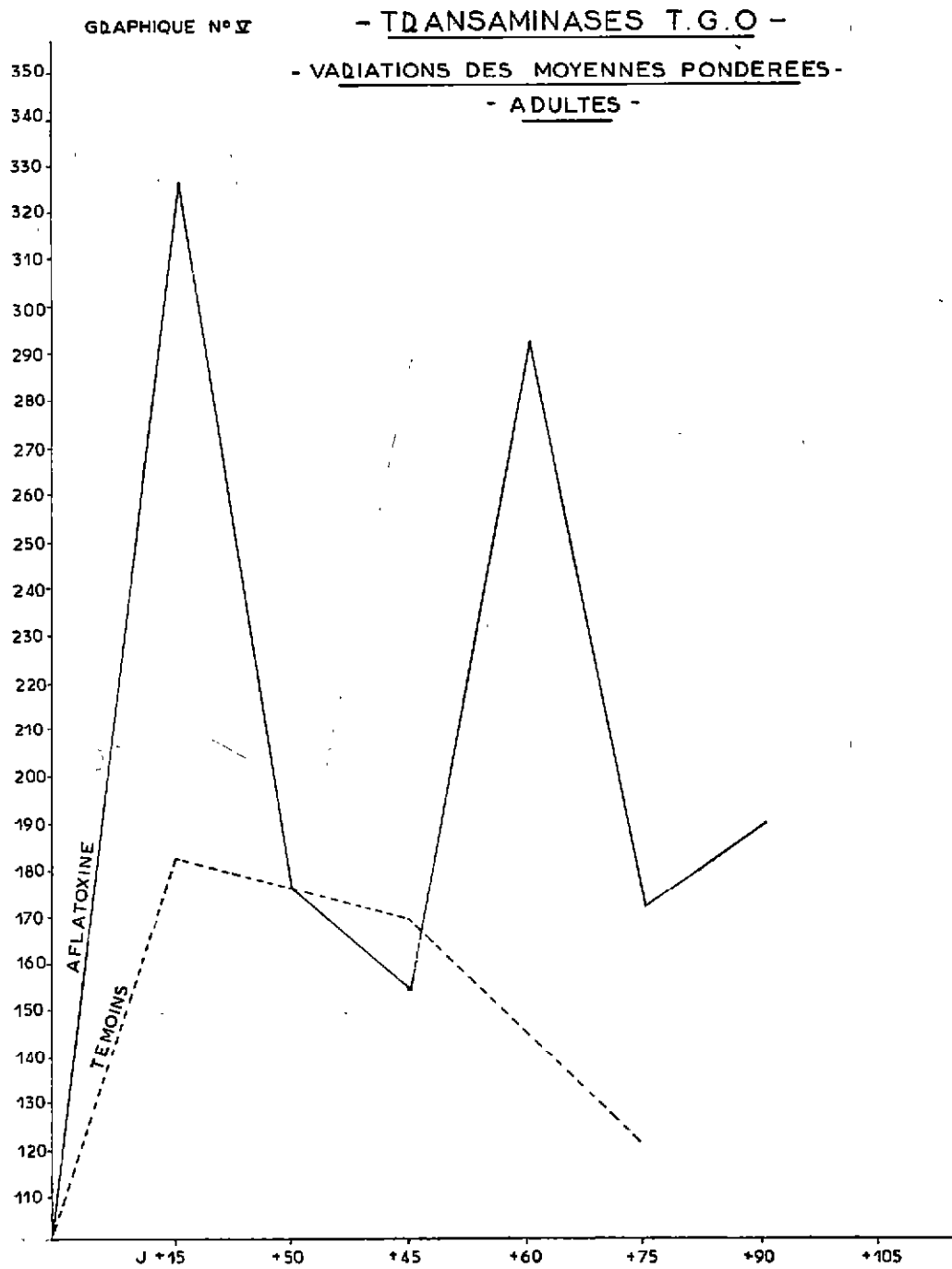
vaches adultes une diminution précoce du taux des lipides sanguins, compensée rapidement par la suite, par une augmentation progressive. Les animaux traités présentent alors un taux sensiblement plus élevé que les témoins.

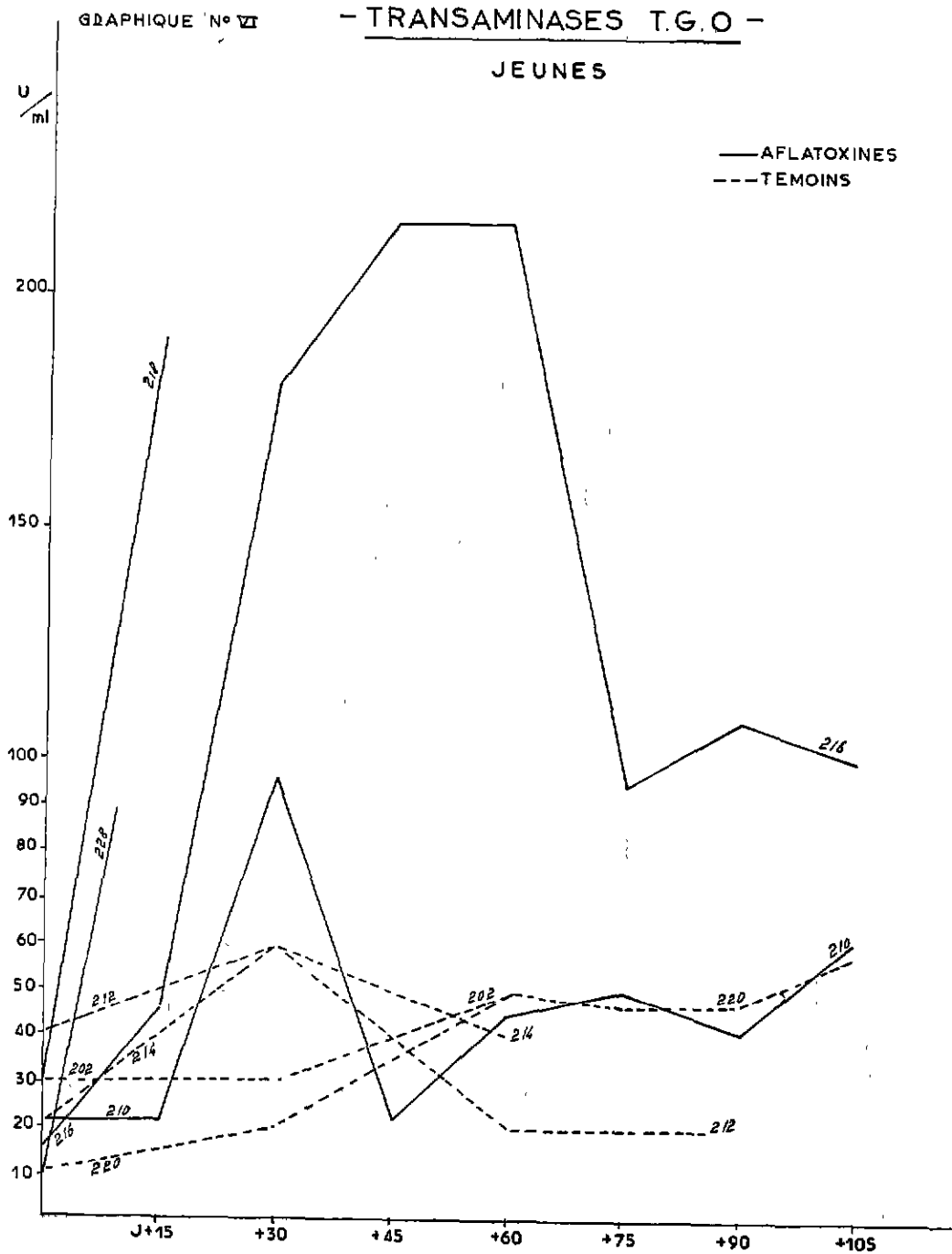
Chez les veaux, témoins et traités; on note une augmentation importante du taux des lipides sanguins au cours du premier mois.

Ces variations de la lipémie et en particulier, la chute observée dans les premiers jours de l'expérience, sont d'interprétation difficile. On sait que l'hyperlipémie se rencontre, en médecine humaine, dans certaines affections hépatiques (ictères par rétention ou néoplasique) et dans certaines intoxications par le phosphore ou le benzène.

Il est donc logique de rapporter l'augmentation du taux des lipides observée dans la seconde partie de l'expérience à une atteinte hépatique chez les vaches traitées.







- TRANSAMINASES T.G.O -

GRAPHIQUE N° VII

VARIATIONS DES MOYENNES PONDEREES
JEUNES

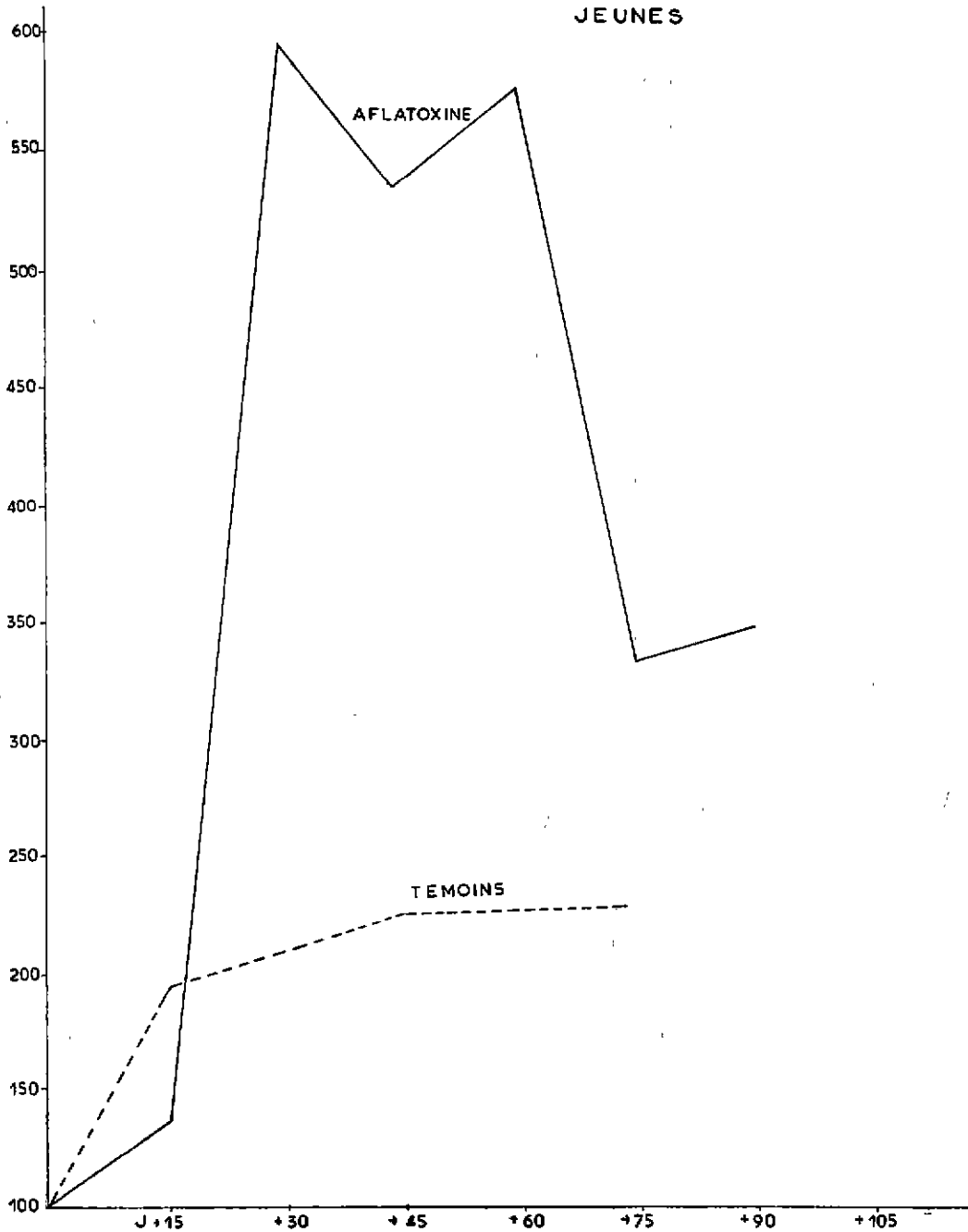


TABLEAU N°VI A

Adultes

Lot témoin					Lot aflatoxine					
207	211	213	219	223	209	215	217	221	227	205
4,5	3,4	2,1	3,0	2,7	3,5	2,05 2,20	3,35 3,30	5,8	2,4	4,5
3,9	3,5	2,7	2,9 3,0	2,9	1,3 2,2	2,90 5,10	1,95 2,90	1,0 0,65	1,2 1,8	2,5 2,4
3,6	4,0	3,1	3,5	3,0	3,7	5,5	5,20		2,8	4,3
4,5	4,6	4,0	5,4		4,7	6,75	5,50		3,9	5,6
	4,2		4,7		4,8	7,0	5,0			6,1
	4,2				5,0	6,75	4,20		5,1	5,8
					4,1	6,50			4,8	4,2
					3,9	6,70			4,2	3,6
					4,3	6,7				3,7
					4,2	7,6				4,4

TABLEAU N°VI B

Jeunes

Lot témoin					Lot aflatoxine					
202	212	214	220	224	210	216	218	222	228	206
3,3	4,35	6,6	2,75	5,05	5,10	3,75	5,15	3,15	4,15	4,65
7,0	7,45	8,65	5,25	5,0	6,35	7,45	5,60	mort	mort	5,2
					7,3	8,3	mort			8,2
					7,0	8,3				5,0
	7,25		6,80		8,6	7,5				6,0
	6,75		6,85		8,3	5,2				6,1
	7,75		7,20		6,25	5,2				4,0
	6,95		7,50		6,0	6,7				3,95
					6,65	7,6				3,50
					5,65					

b-c) Résultats des analyses d'urine.

Albumine.

Les recherches d'albumine sur les urines des animaux témoins ou traités sont restées négatives tout au long de l'expérience. Exception faite pour la vache 205 qui a présenté de l'albumine trois semaines après le début du drogage. Le taux est allé en augmentant jusqu'à la fin de l'expérimentation.

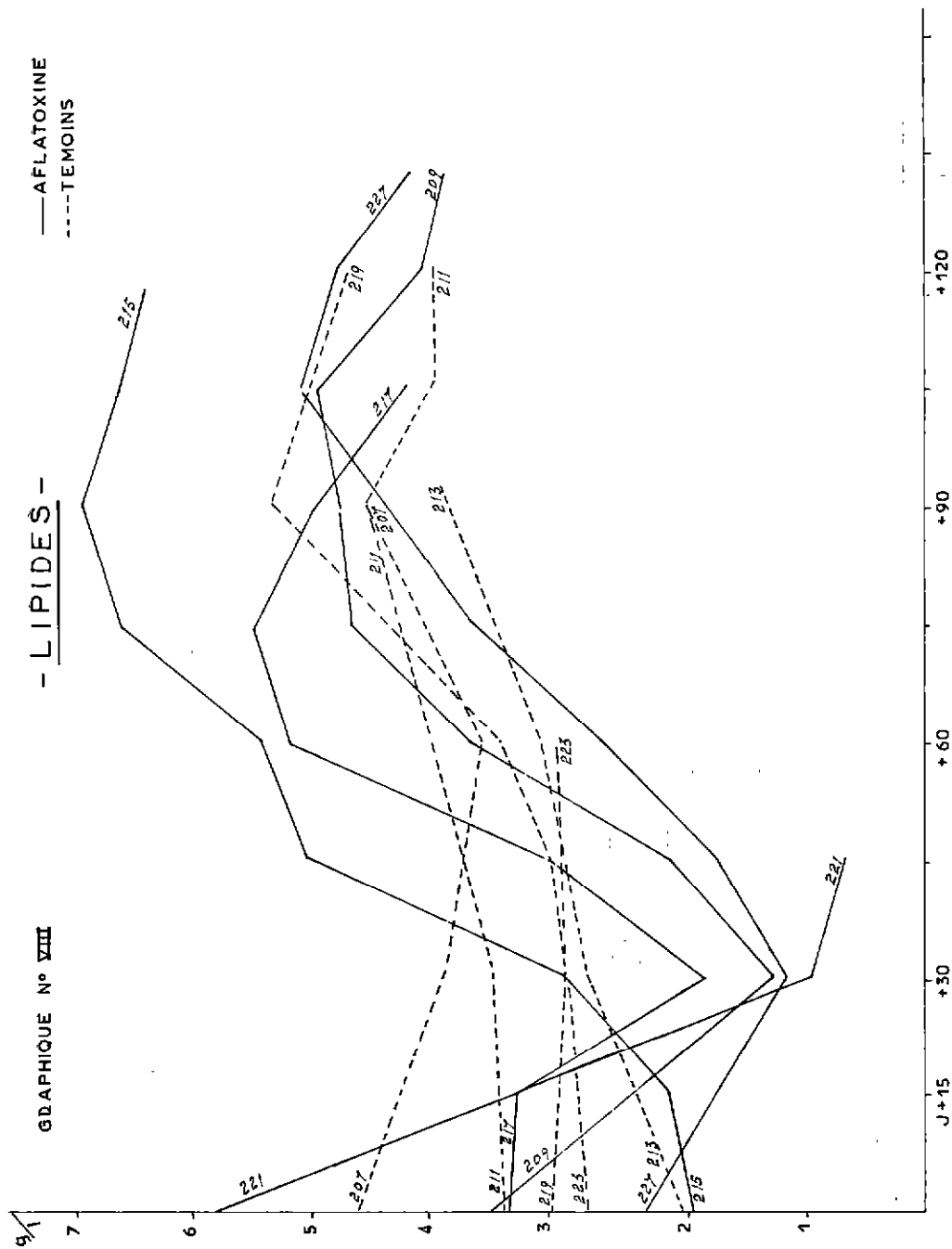
Urée urinaire (Tableau VII).

Il apparaît nettement que le taux d'urée urinaire diminue sensiblement chez les animaux traités.

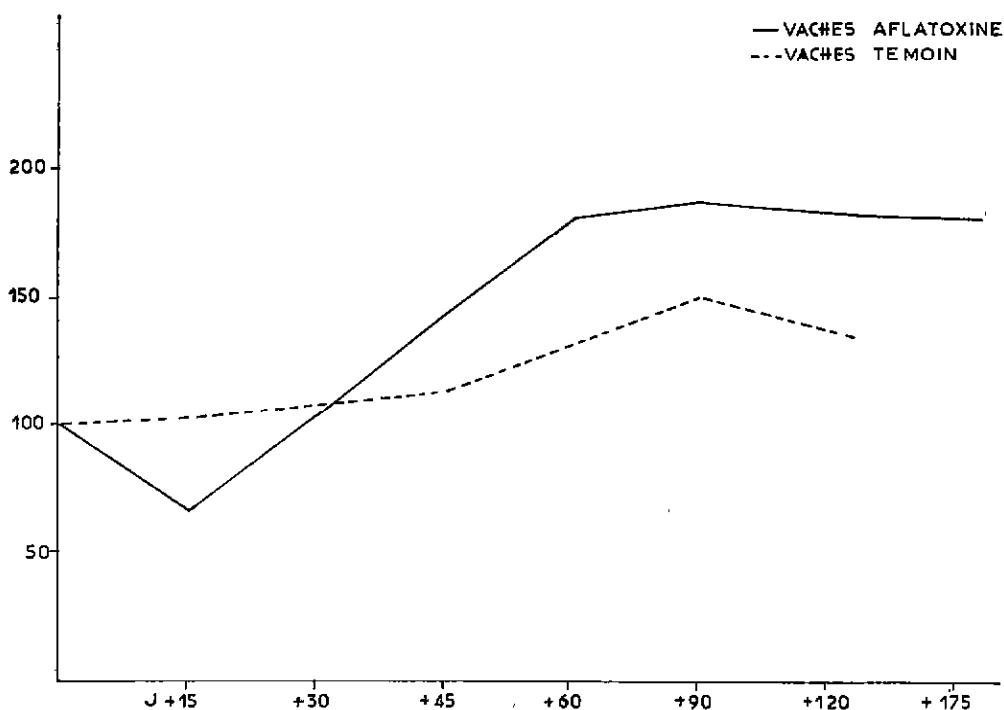
Ce phénomène peut être rapporté soit à une déficience de la fonction urogénétique du foie, soit à une élimination moindre de l'urée sanguine au niveau des reins.

TABLEAU N°VII

Lot témoin					Lot aflatoxine					
207	211	213	219	223	205	209	215	217	221	227
27	27	26,5	29	21,5	25	30	28	30	20,5	26
26	25	25,5	27	22	22	25	29	27	20	24
					12	10		15	22	20
14	22	22	13	18	10	9	17	10	mort	12
					7	7	9	7,5		7
					6	7	10	8		13
					7	8	2	8		10
						3				



GRAPHIQUE N° IX

- LIPIDES -- VARIATIONS DES MOYENNES PONDEREES -c) *Remarques sur l'état général des animaux.*

Les différences, portant sur l'aspect général des animaux traités et des témoins, ont été peu sensibles pendant les premières semaines de l'expérience. Mais en fin d'expérience, les vaches ayant absorbé de l'aflatoxine se signalent par un mauvais aspect général et par un manque de lustre de la robe dont le poil est hérissé et piqué sur le dessus.

Les anomalies dans l'aspect de la peau et des phanères sont particulièrement nettes chez les jeunes. Les deux survivants dans le lot traité présentent en outre une papillomatose cutanée étendue qui n'est pas observée chez les témoins.

d) *Anatomie pathologique.*

Les lésions anatomo-pathologiques rencontrées chez les vaches adultes sacrifiées et autopsiées en fin d'expérience sont très discrètes.

Seule la vache 205 qui a émis pendant longtemps des urines albumineuses révèle des lésions rénales et viscérales. Les reins présentent un aspect dégénéré, couleur feuille morte, avec des suffusions sanguines en surface. On note, en outre, de petites formations kystiques en saillie sous la capsule.

La vessie présente tous les signes d'une cystite aiguë avec épaissement de la paroi.

Les analyses histologiques effectuées sur les foies de ces animaux ne révèlent rien de particulier.

Sur un des veaux autopsiés, des lésions hépatiques caractéristiques sont apparues. L'analyse histologique a révélé une dégénérescence des cellules hépatiques de certaines parties de l'organe ainsi qu'une dégénérescence de la partie corticale du rein. L'analyse histologique a montré une néphrite épithéliale aiguë. Dans un autre cas, de légères ulcérations ont été rencontrées au niveau de la caillette.

e) Recherche de l'aflatoxine dans la viande et les viscères des animaux.

Les recherches ont porté sur la carcasse et les viscères de 2 vaches et 2 veaux provenant du lot traité.

200 grammes de viande ou de viscères (foie et rein) sont broyés puis triturés avec du sulfate d'ammonium jusqu'à consistance pulvérulente.

Le produit obtenu est mis à macérer 48 h avec 250 cm³ de méthanol en agitant fréquemment. Le résidu est exprimé au travers d'une gaze et le liquide d'expression filtré sur papier filtre.

L'extrait méthanol est repris par du chloroforme selon la technique classique et la phase chloroformique obtenue concentrée à 20 cm³ est chromatographiée sur couche mince Kiesel-G.

La toxicité des extraits de viscères et de viande a également été contrôlée par le test sur œuf embryonné.

Les extraits chloroformiques utilisés pour le dosage physico-chimique sont évaporés et repris par du propylène-glycol de façon à avoir des solutions titrant :

- 0,050 γ d'aflatoxine par 0,04 ml de solution pour l'extrait viscère,
- 0,025 γ d'aflatoxine par 0,04 ml de solution pour l'extrait viande.

On compare avec des extraits identiques d'animaux n'ayant pas reçu d'aflatoxine.

Pour les adultes, dans un cas, les recherches d'aflatoxine effectuées sur les viscères et la viande ont été positives au taux suivant :

$$\begin{aligned} \text{viscères} &= 30 \mu\text{g/kg} \\ \text{viande} &= 8 \mu\text{g/kg}. \end{aligned}$$

Dans l'autre cas, seuls les viscères contenaient le facteur toxique. Dans le foie, la teneur était de 20 μg/kg, dans le rein de 7 μg/kg.

Chez les veaux, les recherches dans les viscères et la viande sont demeurées négatives.

CONCLUSION

Pour éviter toute tendance aux généralisations hâtives, une remarque préalable s'impose. Il convient, en effet, de souligner que les résultats obtenus sont valables seulement dans le cadre

du protocole exécuté. Or, cette expérimentation se caractérise :

1^o Par l'administration d'une dose volontairement forte d'aflatoxine, 1,5 mg par jour et par animal, dose qui équivaut à l'administration dans des conditions normales d'élevage de 500 g de tourteaux à 3 p. m. (taux très élevé pour des tourteaux commerciaux). De plus au Sénégal le taux de contamination des tourteaux toxiques le plus couramment rencontré étant de 0,2 à 0,3 p. m., cela équivaudrait à donner 5 kg de tourteaux par jour et par animal, ce qui s'écarte donc des conditions usuelles de l'élevage.

2^o Par l'administration de l'aflatoxine sous forme d'un concentré toxique pris en une seule fois, non mélangé au reste de l'alimentation, ce qui aurait pu en atténuer l'effet.

Compte tenu de cette remarque, on peut dire que, d'une façon générale, les adultes ont assez bien résisté à cette intoxication. Les seules réactions produites ont été mises à jour par certains tests biochimiques ; en particulier, les dosages portant sur les transaminases T. G. O. et le taux des lipides semblent mettre en évidence une atteinte suivie très rapidement d'une période d'adaptation.

A ce stade, apparaît déjà l'importance des réactions individuelles vis-à-vis du toxique. Certains animaux paraissent dotés d'une certaine capacité à détoxifier l'aflatoxine. La vache 215 semble une illustration de cette hypothèse. Elle a en effet, maintenu son poids tout au long de l'expérience. L'aflatoxine a été retrouvée dans son lait irrégulièrement ou à l'état de trace. Le veau qu'elle a nourri a eu une courbe de croissance normale.

Au contraire, chez le jeune, les répercussions paraissent plus sensibles. Un retard de croissance significatif a été observé chez les veaux dont les mères absorbaient la forte dose de 1,5 mg de toxique. Cette déficience et les mortalités observées paraissent dues essentiellement à la présence de l'aflatoxine dans le lait qui était leur seule nourriture.

Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux — Maisons-Alfort

Laboratoire national de l'Elevage et de Recherches vétérinaires — Dakar-Hann

SUMMARY

Foreword on the experimental effects of aflatoxin in tropical cattle. Effects of the aflatoxin on the dairy cow and the sucking calf

This first experimentation has been carried out in the framework of a long term project on the effects of aflatoxin in cattle from tropical countries. Its object is to research the disorders which can arise in the milk cow and its calf, when the cow is given an experimental willingly strong dose of 1,5 mg/day aflatoxin.

When the adults seemed to be more resistant to the intoxication, the calves were more susceptible and showed a significantly lower growth rate.

The disorders which occurred in the sucking calves seemed to be related to the presence of aflatoxin in the blood.

RESUMEN

Nota preliminar sobre los efectos experimentales de la aflatoxina en los bovinos de las regiones tropicales. Acción de la aflatoxina en la vaca lechera y en el ternero de pecho

Esta primera experimentación hace parte de un programa de mucho empeño y trabajo sobre la acción de la aflatoxina en los bovinos de las regiones tropicales.

Tiene por objeto demostrar los desordenes que podrían ocurrir en la vaca en lactación y en su ternero al recibir una dosis experimental voluntariamente elevada de 1,5 mg de aflatoxina por día.

Los adultos parecen resistir a la intoxicación pero el joven es más sensible y su crecimiento significativamente es más tarde. Los desordenes observados en los terneros de pecho parecen ligados con la presencia de aflatoxina en la leche.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLCROFT (R.) et CARNAGHAN (R. B. A.). — Toxicité des arachides. Recherche de la toxine dans les productions animales utilisées dans l'alimentation humaine et provenant d'animaux nourris avec des farines toxiques (Groundnut toxicity. An examination for toxin in human food products from animals fed toxic groundnuts meal). *Vet. Rec.*, 1963, **75** (19) : 259-265.
2. ALLCROFT (R.) et CARNAGHAN (R. B. A.). — Produits toxiques dans les arachides. Effets biologiques (Toxic products in groundnuts. Biological effects). *Chemistry and Industry*, 1963, **2** : 50-53.
3. ALLCROFT (R.) et CARNAGHAN (R. B. A.). — Toxicité de l'arachide. Toxine de l'*Aspergillus flavus* (aflatoxine) dans les produits animaux. Communication préliminaire. (Groundnut toxicity. *Aspergillus flavus* toxin (aflatoxin) in animal products : preliminary communication). *Vet. Rec.*, 1962, **74** (31) : 863-864.
4. ALLCROFT (R.), CARNAGHAN (R. B. A.), SARGEANT (K.) et O'KELLY (J.). — Un facteur toxique dans les farines d'arachides en provenance du Brésil (A toxic factor in Brazilian groundnut meal). *Vet. Rec.*, 1961, **73** (17) : 428-429.
5. ALLCROFT (R.) et LEWIS (G.). — Toxicité de l'arachide sur le bétail. Empoisonnement expérimental des veaux et rapport sur les effets cliniques des bovins adultes (Groundnut toxicity in cattle : Experimental poisoning of calves and a report on clinical effects in older cattle). *Vet. Rec.*, 1963, **75** (19) : 487-493.

6. ALLCROFT (R.) et LEWIS (G.). — Intoxications par l'aflatoxine chez l'animal dues à la présence d'une mycotoxine dans certains lots d'arachides (Aflatoxinosis in animals caused by a mycotoxin present in some batches peanuts *Arachis hypogea*). *Bioch. J.*, 1963, 88 (3) : 58 p.
7. IONGH (H. de), VLES (R. O.) et VAN PELT (J. G.). — Lait de mammifères nourris avec des rations contenant de l'aflatoxine (Milk of mammals fed an aflatoxin containing diet). *Nature*, 1964, 202 : 466-467.
8. THEODOSSIADES (G.). — Utilisation des canetons pour tester la toxicité des tourteaux d'arachide (Use of ducklings for the detection of toxicity of groundnut cake). *Rev. Elev. Méd. vét. Pays Trop.*, 1963, 16 (2) : 229-236.
9. TROPICAL PRODUCTS INSTITUTE. — Une méthode de détection de l'aflatoxine dans les arachides et les dérivés d'arachides (A method for the detection of aflatoxin in groundnuts and groundnuts products). T. P. I., report n° 30-62.
10. VERRETT (M. J.), MARLAC (J. P.) et LAUGHLIN (Mc J. Jr.). — Emploi d'embryon de poulet pour tester la toxicité de l'aflatoxine (Use of the chicken embryo in the assay of a aflatoxin toxicity). *J. Ass. off. agric. Chem., Wash.*, 1964, 47 (6) : 1003-1006.