

## Comparaisons de blés fusariés naturellement à des blés sains, dans l'alimentation du porcelet sevré

François GROSJEAN (1), Ionelia TARANU (2), Fabien SKIBA (1), Patrick CALLU (1), Isabelle OSWALD (2)

(1) ITCF. 8 avenue du Président Wilson, 75116 Paris

(2) INRA. Unité de Pharmaco-toxicologie, 180 chemin de Tournefeuille, 31931 Toulouse

### Comparaisons de blés fusariés naturellement à des blés sains, dans l'alimentation du porcelet sevré

Deux essais d'alimentation de porcelets ont été conduits pour mesurer les effets d'aliments à base de différents blés fusariés. Les porcelets, préalablement sevrés à 28 jours ont reçu les aliments expérimentaux de 34 à 69 jours, en loges individuelles. Le premier essai comportait cinq aliments variant sur leur teneur en ergostérol (de 4,3 à 25,2 mg/kg MS), mais ne contenant que peu ou pas de mycotoxines. Le second essai comportait deux aliments contenant respectivement 0 et 3,9 ppm de désoxynivalénol (DON).

Les teneurs en ergostérol et en mycotoxines n'étaient pas corrélées.

Dans le premier essai, les consommations d'aliment et indices de consommation ont été identiques quel que soit le régime.

Dans le deuxième essai, la consommation de l'aliment contaminé par du DON a été inférieure de 11 % à celle de l'aliment témoin. Les indices de consommation ont été similaires avec les 2 aliments. Les concentrations sériques en immunoglobulines A ont été significativement supérieures chez les porcelets ayant consommé du DON pendant 5 semaines. Les concentrations sériques en immunoglobulines G et M étaient semblables pour les deux régimes. Les lymphocytes stimulés par de la phytohémagglutinine A ont eu tendance à plus proliférer chez les animaux ayant consommé du DON pendant 2 semaines. Les niveaux d'expression des cytokines sanguines IL-4, IL-6, IL-10 et IFN- $\gamma$  et des cytokines IFN- $\gamma$  et TNF- $\alpha$  de l'intestin, de la rate et des ganglions mésentériques ne se sont pas révélés différents selon l'aliment.

### Comparisons of different naturally Fusarium-contaminated wheats with uncontaminated wheats in weaned piglet diets

Two feeding trials were carried out with piglets to measure the effects of naturally fusarium-contaminated wheat in wheat-based diets. Piglets weaned on 28 d were individually fed between 34 and 69 d of age with the experimental diets. The first trial compared five diets differing in their ergosterol content (from 4.3 to 25.2 mg/kg DM), but containing little or no mycotoxins. The second trial compared two diets containing 0 and 3.9 ppm deoxynivalenol (DON).

The amounts of ergosterol and mycotoxins were not correlated.

In the first trial, feed consumption and feed conversion ratio were similar for all diets.

In the second trial, feed intake of the DON-contaminated diet was lower (-11 %) than that of the control diet. Growth rate of piglets fed DON was also reduced (-10 %). This meant that feed conversion ratio did not differ between the two treatments.

Serum immunoglobulin A concentrations were significantly higher in the piglets which consumed DON for 5 wks. No differences in Ig G or Ig M were noted. Lymphocytes stimulated with phytohemagglutinin A tended to proliferate more when they came from animals which consumed DON for 2 wks. Expression of blood cytokines (IL-4, IL-6, IL-10 and IFN- $\gamma$ ) and cytokines from the intestine, spleen and mesenteric ganglions (IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ ) were not different between the two diets.

## INTRODUCTION

Les fabricants d'aliments pour animaux sont de plus en plus sensibles à la qualité sanitaire des matières premières qu'ils utilisent. Parmi celles-ci, les céréales à paille constituent un substrat potentiellement favorable au développement de nombreux champignons microscopiques pouvant sécréter des mycotoxines, notamment des espèces du genre *Fusarium* en cours de culture et des *Penicillium* en cours de conservation. Dans les conditions françaises de récolte et de conservation des grains de céréales à paille, le risque de développement des *Penicillium* – et donc de présence d'ochratoxine A – est faible car l'humidité des grains est en général faible à la récolte et bien maîtrisée durant le stockage. En revanche, les conditions agro-climatiques de culture peuvent être favorables au développement de différentes espèces de *Fusarium*. C'est le cas lorsqu'un champ de blé cumule plusieurs des facteurs de risques qui sont une pluie abondante avec une température supérieure à 20°C durant la floraison, un précédent cultural maïs ou sorgho, l'utilisation d'une variété sensible, une absence de labour avant semis et l'utilisation d'une strobilurine seule comme fongicide (BLBP, 2000). Il faut signaler que jusque récemment, il y a eu confusion en matière d'identification et de taxonomie des espèces responsables de 'fusariose des grains de blé' (ASSEMAT et al, 1996 ; IOOS, 2001) puisque *Microdochium nivale* était considéré comme un *Fusarium*. Cette distinction entre les deux genres de champignons est importante puisque *Microdochium nivale* ne produit pas ou quasiment pas de mycotoxines (IOOS, 2001).

La fusariotoxine la plus fréquente dans les blés français est le désoxynivalénol (DON), à des concentrations généralement inférieures à 0,75 ppm (BAKAN et al, 1998 ; GROSJEAN et NIQUET, 1999 ; DGAL, 2001), mais pouvant atteindre 4 voire 5 ppm ; ces concentrations sont donc bien inférieures à celles (15 – 20 ppm) qui peuvent causer des vomissements chez le porc et qui ont valu le surnom de vomitoxine à cette mycotoxine.

Le DON a une toxicité aiguë faible et une toxicité chronique marquée par des effets divers (ROTTER et al, 1996, SCF, 1999). La littérature existante sur l'effet des grains fusariés sur les animaux est abondante et a fait l'objet de synthèses récentes (D'MELLO et al, 1999). Cependant les travaux rapportés peuvent concerner des associations de mycotoxines peu rencontrées dans les conditions françaises de production (PLACINTA et al, 1999).

Nous nous sommes donc proposés de connaître l'effet de lots de blé fusariés naturellement sur les performances des animaux. Nous avons choisi de travailler avec des porcelets puisque l'espèce porcine est plus sensible que les autres espèces animales aux effets du DON (ROTTER et al, 1996 ; PLACINTA et al, 1999), et qu'à l'intérieur de l'espèce porcine, les porcelets sont réputés plus sensibles que des animaux plus âgés. Dans un premier essai de croissance, nous avons testé différents lots de blé fusariés dont la teneur en ergostérol (indicateur de la masse fongique) constituait une gamme, laissant présager une variation du degré de contamination fusarienne. Le critère 'ergostérol' a été choisi car de nom-

breux laboratoires savent doser cette molécule, ce qui n'est pas le cas pour les mycotoxines. Dans un deuxième essai de croissance, nous avons comparé un aliment à base d'un lot de blé fusarié contenant principalement du DON à un aliment à base d'un lot de blé sain. Dans cet essai, nous avons également analysé la réponse immunitaire des animaux puisque les mycotoxines peuvent altérer cette réponse, à des doses inférieures à leur seuil de toxicité (OSWALD et COMERA, 1998).

## 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1.1. Les animaux

Les porcelets étaient de génotype Naïma x P76. Ils sont arrivés sur la station expérimentale ITCF de Pouline (41100) le jour de leur sevrage, âgés de 28 jours. Ils sont entrés en essai 7 jours après leur arrivée à la station, au poids moyen de 8 kg de poids vif. Ils ont été mis en lots sur la base de leur poids vif et de leur sexe, et ont passé 5 semaines en loges individuelles.

Les essais comportaient respectivement 5 régimes avec 9 mâles castrés et 9 femelles par régime, et 2 régimes avec 12 mâles castrés et 12 femelles par régime. Chaque essai était constitué de deux bandes de porcelets.

### 1.2. Les matières premières

Dans le premier essai, 5 lots de blé ont été testés. Leurs origines, teneur en ergostérol et en mycotoxines figurent au tableau 1. Le deuxième lot a été constitué par mélange des lots 1 et 3 dans les proportions 1/3 et 2/3. Les quatrième et cinquième lots provenaient d'un même lot initial dont une partie a été utilisée telle que (lot 4) et le reste a été trié pour contenir plus de petits grains (lot 5).

Dans le deuxième essai, un lot de blé fusarié a été comparé à un lot de blé sain. Ce lot fusarié a été acheté chez un éleveur qui l'avait inerté.

La teneur en ergostérol des blés a été déterminée par l'ITCF avec la méthode NF V18-112 (AFNOR, 1991). Les analyses de mycotoxines ont été sous-traitées et réalisées par HPLC, CPG ou CCM. Les critères de composition ont été déterminés par l'ITCF avec les méthodes décrites par JONDREVILLE et al (2001).

### 1.3. Composition et caractéristiques des aliments

Afin d'augmenter les chances de mesurer les éventuels effets des toxines, nous avons maximisé le pourcentage de blé dans les formules. Pour cela, nous avons formulé les aliments sur la base blé / tourteau de soja / acides aminés industriels / AMV. L'apport des acides aminés industriels a été calculé de sorte que les apports des aliments satisfassent aux normes CORPEN.

La composition centésimale et les caractéristiques des aliments figurent au tableau 2.

**Tableau 1** - Composition des blés

Essai	1					2		Limites de détection des mycotoxines
	Blé	1	2	3	4	5	6	
<b>Origine</b>	Boigneville (91)	mélange 1/3 lot 1 et 2/3 lot 3	Riec/Belon (29)	Luneray (76)	trilage issu du lot 4	Boigneville (91)	Tennie (72)	
Ergostérol (mg/kg MS)	6,5	18,2	24,1	31,3	39,7	7,0	26,1	
PMG (g MS)	34,7	-	31,6	32,0	20,2	-	-	
Mycotoxines (ppm)								
MAS	-	-	-	-	-	<LD	<LD	0,02
DAS	<LD	-	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,03
Toxine T2	<LD	-	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,02
HT2	-	-	-	-	-	<LD	<LD	0,02
Désoxynivalénol (DON)	0,07	-	0,05	<LD	0,03	<LD	5,20	0,02
3 acétyl DON	-	-	-	-	-	-	0,05	0,02
15 acétyl DON	-	-	-	-	-	-	0,10	0,02
Nivalénol						<LD	0,04	0,02
Fusarénone X	-	-	-	-	-	<LD	<LD	0,02
Zéaralénone	<LD	-	0,07	<LD	<LD	<LD	<LD	0,04
Fumonisine B1	<LD	-	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,01
Ochratoxine A	-	-	-	-	-	<LD	0,0017	0,0005
Aflatoxine B1	-	-	-	-	-	<LD	<LD	0,0005
Aflatoxine B2	-	-	-	-	-	<LD	<LD	0,0005
Aflatoxine G1	-	-	-	-	-	<LD	<LD	0,0005
Aflatoxine G2	-	-	-	-	-	<LD	<LD	0,0005

- = toxine ou critère non recherché

#### 1.4. Mesures sur animaux

Dans chaque essai, nous avons mesuré le poids vif des animaux en début d'essai, puis 14 et 35 jours plus tard. Nous avons mesuré la consommation d'aliments pendant les deux semaines de la première partie de l'essai et pendant les trois semaines de la deuxième partie de l'essai.

De plus, dans le deuxième essai, nous avons procédé à des prises de sang, sur 12 mâles castrés (6 par aliments de la deuxième bande) en fin de première quinzaine d'essai et en fin d'essai. A chaque prise de sang, deux tubes ont été prélevés. Le premier a permis de récolter, après coagulation, du sérum pour doser les immunoglobulines de type A, G et M par ELISA (Bethyl, Interchim, Montluçon, France) après dilution au 1/10 000 des sérums.

**Tableau 2** - Composition et caractéristiques des aliments

Essai	1					2		
	Aliment	1	2	3	4	5	1	2
<b>Composition centésimale des aliments (%)</b>								
Blé		70,63	70,63	70,63	70,63	70,63	75,80	73,00
Tourteau de soja 48		25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	19,40	22,30
Lysine HCl		0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,47	0,39
L-Thréonine		0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,19	0,14
DL-Méthionine		-	-	-	-	-	0,14	0,12
AMV		4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
<b>Caractéristiques mesurées des aliments (à 870 g de MS / kg)</b>								
MAT (g/kg)		199,2	189,6	193,1	200,8	197,8	178,8	178,8
Ergostérol (mg/kg)		4,3	9,7	11,0	13,7	25,2	4,5	9,2

**Tableau 3** - Performances de croissance des porcelets du premier essai

Aliment	1	2	3	4	5	Probabilité sous Ho		CVR(%)
						aliment x sexe	aliment	
<b>Période 1</b> (de J34 à J48)								
Poids début essai (kg)	9,3	9,2	9,4	9,4	9,3	NS	NS	2,9
Poids fin de période (kg)	13,6	13,3	13,4	13,4	13,7	NS	NS	6,3
Consommation moyenne (kg/jour)	0,506	0,485	0,463	0,645	0,539	NS	NS	14,7
Gain de poids moyen (kg/jour)	0,308	0,292	0,285	0,289	0,313	NS	NS	17,1
Indice de consommation	1,65	1,66	1,63	1,62	1,73	NS	NS	7,8
<b>Période 2</b> (de J48 à J69)								
Poids fin essai (kg)	24,4	23,9	24,0	24,6	25,4	NS	NS	7,9
Consommation moyenne (kg/jour)	0,983	0,977	0,973	1,015	1,073	NS	NS	10,9
Gain de poids moyen (kg/jour)	0,514	0,501	0,504	0,531	0,555	NS	NS	12,6
Indice de consommation	1,93	1,95	1,94	1,92	1,94	NS	NS	5,9
<b>Période totale</b>								
Consommation moyenne (kg/jour)	0,792	0,783	0,769	0,795	0,859	NS	NS	10,8
Gain de poids moyen (kg/jour)	0,432	0,418	0,416	0,435	0,458	NS	NS	12,1
Indice de consommation	1,84	1,87	1,85	1,84	1,88	NS	NS	4,9

NS :  $P > 0,05$

CVR : coefficient de variation résiduel (= ETR/moyenne)

Consommation et IC sont calculés pour un aliment à 87% MS

Le second tube, contenant de l'héparine de sodium comme anti-coagulant, a permis la mise en culture des cellules sanguines pour doser les ARN messager codant pour plusieurs cytokines (interleukines 4, 6, 10 et interféron  $\gamma$ ) et (dans le cas des prélèvements faits en fin de première quinzaine) à mesurer la prolifération lymphocytaire.

Pour le dosage des cytokines, le sang a été dilué au 1/10 dans du milieu RPMI supplémenté avec 2 mM de L-glutamine, 1 mM de pyruvate, 100 U/ml de pénicilline, 0,1 mg/ml de streptomycine et 0,5  $\mu$ M de  $\beta$ -mercaptoéthanol. En vue de l'extraction des ARN, les cellules sanguines ont été stimulées ou non avec 10  $\mu$ g/ml de phytohémagglutinine A (PHA) (Sigma, Saint-Quentin Fallavier, France). Après une incubation de 24 heures à 37°C sous 5% de CO<sub>2</sub>, les culots cellulaires ont été repris dans 1 ml de Trizol (Invitrogen Life Technology, Groningen, Pays-Bas) pour doser les cytokines comme précédemment décrit par FOURNOUT et al (2000).

Pour la mesure de la prolifération des lymphocytes sanguins, le sang a été dilué au 1/30 dans du milieu RPMI supplémenté décrit ci-dessus et 10% de sérum de veau fœtal, puis incubé en présence ou non de 10  $\mu$ g/ml de PHA pendant 48 heures, puis additionné de thymidine tritiée (Amershampharmacia, Orsay, France). La prolifération lymphocytaire a été mesurée par le dosage de la radioactivité incorporée dans les cellules, 24 heures après.

Enfin, à l'issue du deuxième essai, nous avons sacrifié des animaux (4 par régime alimentaire, parmi les 6 ayant subi des prises de sang) et procédé à des prélèvements d'iléon,

de colon, de ganglions mésentériques et de rate afin de doser les ARN messagers codant pour les cytokines tissulaires (IFN- $\gamma$  et TNF- $\alpha$ ) comme précédemment décrit (FOURNOUT et al, 2000).

## 2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Les teneurs en ergostérol et en mycotoxines des blés et aliments

Dans le premier essai, une gamme de blés à différentes teneurs en ergostérol a bien été constituée, allant de 6,5 à 39,7 mg/kg MS. Ces teneurs sont à comparer au seuil de 8 mg/kg MS estimé par CAHAGNIER et RICHARD-MOLARD (1998) pour attribuer à un lot une qualité correcte. Par contre, les lots fusariés se sont révélés peu contaminés par des fusariotoxines. Aussi, on peut penser que les lots étaient porteurs de *Microdochium nivale* ou bien qu'ils étaient porteurs de *Fusarium* non toxigènes, ou de toxigènes qui n'avaient pas eu les conditions pour sécréter leurs toxines.

Dans le deuxième essai, le lot de blé fusarié avait une teneur en ergostérol de 26,1 mg/kg MS. Cette teneur peut être considérée comme élevée. Ce lot contenait du DON en quantité non négligeable puisque les résultats d'analyse variaient de 1,1 à 6,1 ppm, avec une valeur moyenne proche de 5,2 ppm. Cette variabilité peut provenir d'une hétérogénéité du lot, reflétant une hétérogénéité au champ. Elle peut aussi être due à des difficultés d'analyse comme l'ont déjà fait remarquer FRIEND et al (1982) – difficultés relevant de l'échantillonnage, de la phase d'extraction et/ou

**Tableau 4** - Performances de croissance des porcelets du deuxième essai

Aliment	1	2	Probabilité sous Ho		CVR (%)
			aliment x sexe	aliment	
<b>Période 1</b> (de J34 à J48)					
Poids début essai (kg)	9,8	9,8	NS	NS	3,6
Poids fin de période (kg)	15,0	14,5	NS	*	6,0
Consommation moyenne (kg/jour)	0,638	0,572	NS	**	13,1
Gain de poids moyen (kg/jour)	0,372	0,340	NS	**	17,0
Indice de consommation	1,73	1,70	NS	NS	11,6
<b>Période 2</b> (de J48 à J69)					
Poids fin essai (kg)	28,6	26,7	NS	**	8,2
Consommation moyenne (kg/jour)	1,160	1,026	NS	**	13,9
Gain de poids moyen (kg/jour)	0,649	0,582	NS	***	12,5
Indice de consommation	1,80	1,76	NS	NS	7,6
<b>Période totale</b>					
Consommation moyenne (kg/jour)	0,951	0,845	NS	***	12,8
Gain de poids moyen (kg/jour)	0,538	0,485	NS	***	12,2
Indice de consommation	1,77	1,73	NS	NS	6,3

NS :  $P > 0,05$  ; \* :  $0,01 < P < 0,05$  ; \*\* :  $0,001 < P < 0,01$  ; \*\*\* :  $P < 0,001$

CVR : coefficient de variation résiduel (= ETR/moyenne)

Consommation et IC sont calculés pour un aliment à 87% MS

de l'analyse au sens strict du terme. La valeur moyenne (5,2 ppm) est supérieure aux teneurs habituellement observées dans les blés français. Les autres analyses n'ont pas détecté de monoacétoxiscirpénol (MAS), de diacétoxiscirpénol (DAS), de toxines T2, HT2 et T2 triol, de 3-acétyl-DON et de 15-acétyl-DON, de fusarénone X (FX), d'aflatoxines (AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2) et de zéaralénone (ZEN). Seuls du nivalénol (NIV) et de l'ochratoxine A (OTA) ont été trouvés, respectivement à des teneurs variant de 30 à 45 ppb pour le nivalénol et à 1,7 ppb pour l'ochratoxine A. Ainsi le lot de blé fusarié peut n'être considéré contaminé que par du DON. L'absence d'aflatoxines dans le blé contaminé confirme que le blé ne contient pratiquement jamais d'aflatoxines (RICHARD-MOLARD et CAHAGNIER, 1989). On doit pouvoir en dire autant des fumonisines qui ne sont jamais recherchées sur blé (PLACINTA et al, 1999).

Les aliments avaient respectivement 0 et 3,9 ppm de DON.

## 2.2. Résultats du premier essai de croissance des porcelets

Les performances de croissance n'ont montré aucune interaction bande x aliment, ni sexe x aliment et sont donc présentées au tableau 3, sexes et bandes confondus. Aucune différence significative n'a été observée entre régimes, que ce soit en matière de quantité d'aliment consommé, de vitesse de croissance ou d'indice de consommation. Ce résultat apparaît logique vu que les régimes ne présentaient pas de grandes différences de composition, ni de teneur en myco-toxines.

## 2.3. Résultats du deuxième essai de croissance des porcelets

Les performances de croissance n'ont montré aucune interaction bande x aliment, ni sexe x aliment et sont donc présentées au tableau 4, sexes et bandes confondus. La consommation des porcelets nourris avec l'aliment contenant 3,9 ppm de DON est plus faible que celle des animaux nourris avec l'aliment témoin sans DON, ceci en première période de l'essai comme en deuxième période (respectivement de 10 et 12 %). La vitesse de croissance des porcelets est plus faible avec l'aliment à base de blé fusarié qu'avec l'aliment témoin. Cette diminution de vitesse de croissance des animaux (respectivement de 9 et 10 % en première et en deuxième période d'essai) reflète les différences de consommation du fait que les indices de consommation ne diffèrent pas significativement selon l'aliment, et cela quelle que soit la période d'essai considérée.

La baisse de consommation et la stabilité de l'indice de consommation enregistrées entre les régimes contenant 0 et 3,9 ppm de DON sont dans la moyenne des résultats de la bibliographie, mais il faut souligner que ceux-ci montrent aussi une grande variabilité de la réponse des animaux : en effet, une synthèse des résultats publiés montre que la consommation relative de l'aliment fusarié est comprise entre 104 et 80% de celle de l'aliment témoin et que l'indice de consommation varie de 90 à 110% de celui de l'aliment témoin pour un aliment à 4 ppm de DON (FRIEND et al, 1984 ; FRIEND et al, 1986a ; FRIEND et al, 1986b ; BERGSJO et al, 1992 ; BERGSJO et al, 1993 ; PRELUSKY et al,

1994 ; TRENHOLM et al, 1994 ; ROTTER et al, 1995). Par ailleurs, les mâles castrés et les femelles ont réagi d'une manière similaire à l'aliment contenant du DON, alors que FRIEND et al (1982) avaient noté que les femelles étaient plus pénalisées que les mâles.

#### 2.4. Effet sur la teneur en immunoglobulines du sérum

Les résultats de dosage des immunoglobulines figurent au tableau 5. Les concentrations en immunoglobulines de type A ont été significativement plus fortes dans les sérums des animaux ayant consommé du DON (aliment 2) pendant 5 semaines. Les différences entre aliments n'apparaissent pas significatives dans les analyses réalisées au bout de deux semaines de consommation, probablement du fait des faibles niveaux d'immunoglobulines A chez les jeunes animaux. Les concentrations en immunoglobulines G et en immunoglobulines M des sérums n'ont pas été influencées par la teneur en DON de l'aliment.

L'augmentation de la teneur en Ig A sérique avec l'ingestion d'un aliment contaminé avec du DON confirme ce qui a été observé chez la souris lors d'une intoxication orale pendant 4 ou 8 semaines avec un aliment contenant 25 ppm de DON (RASOOLY et PESTKA, 1992). L'élévation du taux d'IgA reste visible même après arrêt de l'exposition à la toxine lorsque celle-ci a été administrée pendant les 8 premières semaines (DONG et PESTKA, 1993). Chez le porc, BERGSJO et al (1993) ont constaté une augmentation non significative des IgA sériques après 42 et 84 jours d'exposition à 3,8 ppm de DON. L'augmentation de la teneur en IgA n'est pas sans conséquences : en effet, chez les rongeurs, une telle augmentation est associée à une néphropathie (ROTTER et al, 1996 ; HINOSHITA et al, 1997).

#### 2.5. Effet sur la prolifération lymphocytaire

Comme attendu, les lymphocytes non stimulés par la PHA n'ont pas proliféré, et ce quel que soit l'aliment des animaux (tableau 5).

Les lymphocytes stimulés par la PHA ont proliféré et d'une manière non significativement différente selon le régime alimentaire. Cependant, les valeurs obtenues avec l'aliment avec DON ont eu tendance à être plus élevées qu'avec l'aliment sans DON (tableau 5). Une exposition prolongée des animaux aurait été nécessaire pour confirmer ce résultat.

Une légère augmentation de la prolifération cellulaire a déjà été rapportée chez des souris recevant de 0,25 à 1 mg/jour/kg PV de DON pendant 5 semaines (TRYPHONAS et al, 1986) ou chez des porcs alimentés pendant 9 semaines avec un aliment contenant 0,6 à 4,7 ppm de DON (OVERNES et al, 1997). Des études *in vitro* (MILLER et ATKINSON, 1986) montrent qu'à faibles doses (0,005 à 0,5 ng/ml), le DON augmente la prolifération cellulaire alors qu'il la diminue à de fortes concentrations (50 à 100 ng/ml).

#### 2.6. Effet sur les cytokines

Les niveaux d'expression des cytokines sanguines analysées (IL-4, IL-6, IL-10 et IFN- $\gamma$ ) ne se sont pas révélés différents selon le régime alimentaire des porcelets, et ce ni après deux semaines d'essai ni après 5 semaines d'essai.

Les niveaux d'expression des cytokines tissulaires analysées (IFN- $\gamma$  et TNF- $\alpha$ ) ne se sont pas différenciés non plus selon le régime alimentaire des animaux.

**Tableau 5** - Effet du DON sur la concentration sérique des différentes classes d'immunoglobulines et sur la prolifération des lymphocytes sanguins (essai 2)

	Aliment 1	Aliment 2	Effet de l'aliment
<b>Concentration sérique des immunoglobulines après 2 semaines de consommation de DON</b>			
Ig A ( $\mu$ g/ml)	85,1 $\pm$ 6,8	102,7 $\pm$ 30,7	NS
Ig G (mg/ml)	2,62 $\pm$ 0,24	2,36 $\pm$ 0,38	NS
Ig M (mg/ml)	1,61 $\pm$ 0,15	1,64 $\pm$ 0,07	NS
<b>Concentration sérique des immunoglobulines après 5 semaines de consommation de DON</b>			
Ig A ( $\mu$ g/ml)	142,6 $\pm$ 30,7	229,1 $\pm$ 15,7	**
Ig G (mg/ml)	4,53 $\pm$ 0,52	6,23 $\pm$ 1,11	NS
Ig M (mg/ml)	1,70 $\pm$ 0,04	1,73 $\pm$ 0,01	NS
<b>Prolifération des lymphocytes sanguins au bout de 2 semaines de consommation de DON</b> (résultats exprimés en coups par minute)			
Sans phytohémagglutinine A	877 $\pm$ 141	683 $\pm$ 121	NS
Avec phytohémagglutinine A	38052 $\pm$ 9935	51747 $\pm$ 13965	NS

NS :  $P > 0,05$  ; \*\* :  $P < 0,01$

Ces résultats montrent qu'une consommation de faibles doses de DON ne modifie pas la production de cytokines au niveau sanguin et au niveau tissulaire chez des animaux "sains". Ces résultats sont à rapprocher de ceux que nous avons obtenus chez des porcelets intoxiqués avec une autre mycotoxine, la Fumonisine B1 (FOURNOUT et al, 2000). Chez la souris, une exposition prolongée au DON (25 ppm dans l'alimentation pendant 4 semaines) induit une augmentation des ARN messagers codant pour l'IL-2, l'IL-10, l'IFN- $\gamma$  et le TNF- $\alpha$  dans la rate mais n'a pas d'effet sur l'expression de ces cytokines dans le ganglion (ZHOU et al, 1998). Aucune étude abordant les effets du DON sur la production de cytokines n'a été réalisée à ce jour chez le porc.

## CONCLUSION

Un lot de blé visuellement fusarié constitue un risque en alimentation porcine. Ce risque ne peut pas être apprécié correctement par la teneur en ergostérol du lot du fait que la fusariose au champ peut être provoquée par *Microdochium* (qui produit pas ou très peu de mycotoxines) ou par des *Fusarium* capables ou non de sécréter des mycotoxines. Ce risque ne peut être évalué que par le dosage des fusariotoxines présentes dans le lot, bien que le dosage de ces molécules pose problème en l'absence de méthodes officielles ou reconnues d'échantillonnage et de dosage.

Le désoxynivalénol (DON) semble constituer le risque majeur dans les conditions françaises de production des céréales à paille d'un point de vue mycotoxines. Avec un aliment à base de blé et contenant 3,9 ppm de DON (donc plus contaminé qu'avec la majorité des blés français) et ne contenant pas d'autres fusariotoxines en quantités notables, nous avons observé une baisse de consommation de 11 %, une baisse de vitesse de croissance de 10 % des porcelets et une augmentation du taux d'immunoglobulines A. Les autres critères mesurés tels que la prolifération des lymphocytes et la teneur en cytokines sanguines ou tissulaires ne se sont pas trouvés affectés notablement par l'ingestion de DON.

Ces résultats immunologiques méritent d'être approfondis, notamment avec des lots de blés moins chargés en DON d'une part et avec des lots polycontaminés d'autre part. En particulier, il semble intéressant de regarder quelle exposition minimale en temps et en quantité de DON entraîne une élévation significative des IgA sériques chez le porc, et si la réponse des porcelets en matière d'Ig A peut être interprétée comme un marqueur de consommation de DON.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'ANDA et l'ACTA pour leur participation financière à ces travaux.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFNOR, 1991. Norme V18-112. Aliments des animaux, détermination de la teneur en ergostérol.
- ASSEMAT P., DAWSON M., QUENIN H., TREGOU M.P., 1996. *Phytoma*, 479, 22-24.
- BAKAN B., CAHAGNIER B., MELCION D., 1998. *Rev. Méd. Vet.*, 149, 6, 697.
- BERGSJO B., MATRE T., NAFSTAD I., 1992. *J. Vet. Med. A*, 39, 752-758.
- BERGSJO B., LANGSETH W., NAFSTAD I., HOGSET JANSEN J., LARSEN H.J.S., 1993. *Vet. Res. Com.*, 17, 283-294.
- BLBP (Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau), 2000. Risiken durch den Ährenparasiten *Fusarium graminearum* – Ergebnisse eines LBP – Forschungsverbunds. Schriftenreihe der Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau, 3, 107p.
- CAHAGNIER B., RICHARD-MOLARD D., 1998. Analyses mycologiques. In 'Moisissures des aliments peu hydratés'. Coordonnateur CAHAGNIER B., Tec et Doc. Paris. p 152.
- DGAL, 2001. Evaluation de l'exposition des consommateurs de produits issus de l'agriculture biologique et conventionnelle aux résidus de pesticides, métaux lourds, nitrates, nitrites et mycotoxines. *Notre alimentation*, 37.
- D'MELLO J.P.F., PACINTA C.M., MACDONALD A.M.C., 1999. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 80, 183-205.
- DONG W., PESTKA J.J., 1993. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 20, 38-47.
- FOURNOUT S, FAIRBROTHER J., VERNEUIL S., LE BARS P., LAFFITTE J., LE BARS J., OSWALD I., 2000. *Journées Rech. Porcines en France*, 32, 33-37.
- FRIEND D.W., TRENHOLM H.L., ELLIOT J.I., THOMPSON B.K., HARTIN K.E., 1982. *Can. J. Anim. Sci.*, 62, 1211-1222.
- FRIEND D.W., TRENHOLM H.L., YOUNG J.C., THOMPSON B.K., HARTIN K.E., 1984. *Can. J. Anim. Sci.*, 64, 733-741.
- FRIEND D.W., TRENHOLM H.L., THOMPSON B.K., FISER P.S., HARTIN K.E., 1986a. *Can. J. Anim. Sci.*, 66, 765-775.
- FRIEND D.W., TRENHOLM H.L., THOMPSON B.K., PRELUSKY D.B., P.S., HARTIN K.E., 1986b. *Can. J. Anim. Sci.*, 66, 1075-1085.
- GROSJEAN F., NIQUET G., 1999. *Porc Magazine*, 327, 27-28.
- HINOSHITA F, SUZUKI Y, YOKOYAMA K, HARA S, YAMADA A, OGURA Y, HASHIMOTO H, TOMURA S, MARUMO F, UENO Y., 1997. *Nephron.*, 75, 469-78.
- IOOS R., 2000. *Phytoma*, 539, 52-55.
- JONDREVILLE C., BROECKE J. VAN DEN, GATEL F., GROSJEAN F., CAUWENBERGHE S. VAN, SEVE B., 2001. *Anim. Res.*, 50, 119-134.
- MILLER K., ATKINSON H.A., 1986. *Food Chem. Toxicol.* 24, 545-549.
- OSWALD I., COMERA C., 1998. *Rev. Méd. Vet.*, 149, 585-590.
- OVERNES G., MATRE T., SIVERTSEN T., LARSEN H.J., LANGSETH W., REITAN L.J., JANSEN J.H., 1997. *Zentralbl Veterinarmed A*, 44, 539-50.
- PACINTA C.M., D'MELLO J.P.F., MACDONALD A.M.C., 1999. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 78, 21-37.
- PRELUSKY D.B., GERDES R.G., UNDERHILL K.L., ROTTER B.A., JUI P.Y., TRENHOLM H.L., 1994. *Natural Toxins*, 2, 97-104.
- RASOOLY L., PESTKA J.J., 1992. *Food Chem. Toxicol.*, 30, 499-504.
- RICHARD-MOLARD D., CAHAGNIER B., 1989. *Industries des céréales*, avril, 19-26.
- ROTTER B.A., THOMPSON B.K., LESSARD M., 1995. *Can. J. Anim. Sci.*, 75, 297-302.
- ROTTER B.A., PRELUSKY D.B., PESTKA J.J., 1996. *J. Toxicol. Environ. Health*, 48, 1-34.
- SCF (Scientific Committee on Food – European Commission), 1999. Opinion on *Fusarium* toxins, Part 1 : DON, [http://www.europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/scf/index\\_en.html](http://www.europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/scf/index_en.html)
- TRENHOLM H.L., FOSTER B.C., CHARMLEY L.L., THOMPSON B.K., HARTIN K.E., COPPOCK R.W., ALBASSAM M.A., 1994. *Can. J. Anim. Sci.*, 74, 361-369.
- TRYPHONAS H., IVERSON F., SO Y., NERA E.A., MCGUIRE P.F., O'GRADY L., CLAYSON D.B., SCOTT P.M., 1986. *Toxicol. Lett.*, 30, 137-50.
- ZHOU H.R., YAN D., PESTKA J.J., 1998. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 151, 347-58.