

## Effets des fumonisines sur la santé du porc : sensibilité aux salmonelles et statut immunitaire

Maël TANGUY (1), Christine BUREL (1), Philippe PINTON (2), Philippe GUERRE (3), François GROSJEAN (4),  
Marilyne QUEGUINER (1), Roland CARIOLET (1), Didier TARDIEU (3), Jean-Claude RAULT (1),  
Isabelle P. OSWALD (2), Philippe FRAVALO (1)

(1) AFSSA - Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, Zoopôle des Côtes d'Armor,  
BP 53, 22440 Ploufragan

(2) INRA - Unité de Pharmacologie-Toxicologie, BP3, 31931 Toulouse Cedex

(3) ENVT - Département de mycotoxicologie, 23 chemin des Capelles 31076 Toulouse cedex

(4) ARVALIS - Institut du végétal, 27 rue de la Vistule 75013 Paris

*m.tanguy@ploufragan.afssa.fr*

### Effets des fumonisines sur la santé du porc : sensibilité aux salmonelles et statut immunitaire

Les fumonisines (FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>, FB<sub>3</sub>, FB<sub>4</sub>) sont des mycotoxines communément rencontrées dans certaines matières premières d'origine végétale, et plus particulièrement le maïs, le sorgho et le riz. La FB<sub>1</sub> est la mieux connue. Chez le porc, l'intoxication liée à la FB<sub>1</sub> est caractérisée par des dommages pulmonaires, hépatiques, mais aussi immunitaires. Cet effet immunosuppresseur pourrait entraîner chez le porc une plus grande sensibilité à des bactéries intestinales pathogènes, notamment les salmonelles. Celles-ci sont généralement présentes dans les élevages de porcs sous forme de portage asymptomatique et constituent alors un risque de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) lors d'erreurs d'éviscération à l'abattoir.

Quarante huit porcelets ont été répartis suivant un plan factoriel 2x2 afin de tester l'effet croisé d'une alimentation naturellement contaminée par 8,5 ppm de FB<sub>1</sub> et 2,8 ppm de FB<sub>2</sub> et d'un portage asymptomatique de *Salmonella* Typhimurium. L'effet de l'exposition à la FB<sub>1</sub> vis à vis de *Salmonella* a été étudié sur des porcelets de 10 semaines d'âge durant 9 semaines précédant l'abattage.

L'augmentation du rapport sphinganine/sphingosine au cours de notre étude a confirmé l'intoxication des porcs suite à l'ingestion de l'aliment naturellement contaminé. Cependant, l'exposition à 8,5 ppm de FB<sub>1</sub> et 2,8 ppm de FB<sub>2</sub> n'a pas eu d'effet notable que ce soit sur la consommation d'aliment, la croissance ou la santé des animaux. De plus, les fumonisines n'ont pas eu d'effet sur la réponse immunitaire et n'ont engendré aucun effet sur le portage asymptomatique de *Salmonella*. En conclusion, dans nos conditions expérimentales, l'exposition à une dose moyenne de fumonisines via l'aliment n'a pas induit d'effet notable sur la santé des porcs et n'a pas induit d'augmentation du risque *Salmonella* malgré une exposition chronique à ces toxines durant toute la période d'engraissement.

### Effects of fumonisins on pig health: Immune status and sensitivity to salmonella

Fumonisin (FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>, FB<sub>3</sub>, FB<sub>4</sub>) are frequently encountered mycotoxins in vegetal feedstuffs, and especially in maize, sorghum and rice. FB<sub>1</sub> is the most well-known. Pig intoxication due to FB<sub>1</sub> is characterized by pulmonary and hepatic damages as well as immune disorders. The FB<sub>1</sub> immunosuppressor effect may lead to a higher susceptibility of pigs to gut pathogens such as *Salmonella*. These latter are basically encountered, as asymptomatic carriage, in pig farms. This leads to greater risks of collective food-borne diseases (or infections) due to uncontrolled contamination of the carcasses subsequently to evisceration at the slaughterhouse.

Forty eight piglets were clustered following a 2x2 "factorial scheme" in order to analyse the consequences of a feeding regimen naturally contaminated with 8,5 ppm of FB<sub>1</sub> and 2,8 ppm of FB<sub>2</sub> associated with an asymptomatic carriage of *Salmonella* Typhimurium. The effect of FB<sub>1</sub> onto *Salmonella* has been investigated onto 10 week old piglets and during the 9 weeks prior to slaughtering.

In this study, intoxication of the pigs by the contaminated feeding has been confirmed by the increase of the ratio sphinganine/sphingosine. However, the 8,5 ppm concentration of FB<sub>1</sub> had no effect on either the feed intake, the growth, nor the animal's health. Furthermore, FB<sub>1</sub> had no effect on the immune response and did not lead to changes in the asymptomatic carriage of *Salmonella*. Therefore under our experimental conditions, exposure to a medium concentration of fumonisin via the feeding regimen had no effect on the pig health and did not increase the "*Salmonella* risk" even under chronic exposure to these toxins all along the growth period.

## INTRODUCTION

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires des champignons susceptibles de contaminer l'alimentation animale et humaine à tous les stades de la chaîne alimentaire. Elles sont capables d'affecter le système immunitaire à des doses inférieures à leur seuil de toxicité (Oswald et al., 2005). La fumonisine B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>), produite par *Fusarium moniliforme* et *F. proliferatum*, est la mycotoxine la plus fréquemment rencontrée dans le monde. Elle est à l'origine de leucoencéphalomalécies chez le cheval et d'œdèmes pulmonaires chez le porc (Kriek et al., 1981; Marasas et al., 1988) et serait par ailleurs un facteur favorisant des cancers oesophagiens chez l'homme (Fink-Gremmels, 1999). La FB<sub>1</sub>, par une analogie de structure avec la sphingosine et la sphinganine, induit une inhibition de la biosynthèse sphingolipidique et provoque de nombreux bouleversements biochimiques (Tran et al., 2003). Il a récemment été démontré que l'ingestion d'une faible quantité de FB<sub>1</sub> augmente en outre la sensibilité des porcelets à l'infection cobacillaire par une diminution de la réponse inflammatoire locale et une plus grande perméabilité de l'épithélium intestinal (Oswald et al., 2003; Bouhet et al., 2004). Cet effet immunosuppresseur pourrait alors entraîner chez le porc une plus grande sensibilité à des bactéries intestinales pathogènes, notamment les salmonelles.

Les salmonelles possèdent des sérovars ubiquistes qui peuvent contaminer indifféremment les espèces animales et humaine (D'Aoust, 1994). La contamination dans la filière porcine est liée à un portage asymptomatique de *Salmonella* dans le tube digestif des porcs infectés. Les porcs porteurs sains et excréteurs de salmonelles arrivant à l'abattoir constituent alors le principal risque de contamination des carcasses notamment par l'éventuelle dispersion de matières fécales lors d'erreurs d'éviscération. Ils constituent alors un risque majeur de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) (Beloel et al., 2004a, 2004b).

L'objectif de cette étude était donc de mesurer les effets d'une exposition chronique à une dose moyenne de fumonisines via l'ingestion d'un aliment contenant du maïs naturellement contaminé, sur des porcs infectés ou non par *Salmonella* spp. L'effet d'une exposition à la FB<sub>1</sub> a été étudié sur les performances zootechniques des porcs, leur état de santé, les ratios sphinganine/sphingosine (Sa/So) évaluant le niveau d'exposition des porcs à la FB<sub>1</sub>, leur réponse immunitaire, et leur statut bactériologique.

## 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1.1 Animaux et protocole expérimental

Quarante huit porcelets de 4 semaines d'âge et issus de la porcherie EOPS (Exempt d'Organismes Pathogènes Spécifiés) de l'AFSSA de Ploufragan ont été utilisés. Le schéma expérimental suivait un plan factoriel 2x2 afin de tester l'effet croisé d'une ingestion de fumonisine B<sub>1</sub> et d'une inoculation par *Salmonella* Typhimurium. Les 48 porcelets ont été répartis en 4 lots de 12 porcs après randomisation le jour du sevrage, selon le schéma expérimental suivant :

- 12 porcelets FB<sub>1</sub> (-) *Salmonella* (-)
- 12 porcelets FB<sub>1</sub> (+) *Salmonella* (-)
- 12 porcelets FB<sub>1</sub> (-) *Salmonella* (+)
- 12 porcelets FB<sub>1</sub> (+) *Salmonella* (+)

L'aliment FB<sub>1</sub> (+) contenait 15 % d'un maïs naturellement contaminé par des fumonisines, fourni par ARVALIS-Institut du Végétal, pour une dose finale de  $8,5 \pm 1,1$  ppm de FB<sub>1</sub> et  $2,8 \pm 1,3$  ppm de FB<sub>2</sub> (moyennes des doses mesurées par 3 laboratoires d'analyse différents). L'aliment FB(-) contenait du maïs sain. Les porcs étaient nourris *ad libitum* pendant toute la durée de l'étude.

A 11 semaines d'âge, après une semaine d'exposition à l'aliment contaminé ou à l'aliment sain, la moitié des porcs a été infectée par une dose unique de  $5,10^4$  UFC/porc de *Salmonella* Typhimurium administrée par voie orale, alors que les autres ont reçu un placebo. L'essai a duré 9 semaines. Un abattage de 4 porcs parmi les 12 de chaque lot a été réalisé 48 heures post-inoculation de *Salmonella* Typhimurium. Les huit porcs de chacun des lots ont ensuite été abattus à la fin de l'essai (56 jours post-inoculation).

Un suivi clinique quotidien comprenant la prise de température rectale et l'examen de la consistance des matières fécales a été réalisé. La consommation d'aliment a été enregistrée par lot et les porcs ont fait l'objet d'une pesée individuelle hebdomadaire.

Les porcs ont été autopsiés et des échantillons de muscle (diaphragme), de ganglions mésentériques, de foie, de rate, de rein et de jonction iléo-cæcale ont été prélevés, ainsi que des échantillons des contenus du jéjunum, du cæcum et du colon. Des prises de sang ont été réalisées toutes les deux semaines environ et des matières fécales ont été prélevées toutes les semaines.

### 1.2. Mesure du rapport sphinganine/sphingosine

La sphinganine libre (Sa) et la sphingosine (So) ont été mesurées dans les sérums, les reins et les foies par HPLC selon la méthode décrite par Riley et al. (1993) avec modification mineures (Tran et al., 2003). La détermination du rapport Sa/So a permis de tester l'intoxication des porcs suite à l'ingestion de l'aliment naturellement contaminé.

### 1.3. Paramètres immunitaires

La détection de la séroconversion a été obtenue par une modification de la méthode mise au point par Proux et al., (2000). Les plaques ont été sensibilisées avec le seul LPS de *Salmonella* Typhimurium (Sigma). Les résultats, lus à 630 nm, ont été exprimés en fonction d'un sérum de référence avec un seuil de positivité de 0,4.

L'évaluation de la capacité des lymphocytes à proliférer en présence d'agents mitogènes (Concanavalline A et PMA ionomycine) ou en présence d'un antigène spécifique (Lipopolysaccharide (LPS)) a été réalisée selon la méthode décrite par Pinton et al. (2004).

## 1.4. Evaluation du statut bactériologique des porcs

La recherche et le dénombrement de *Salmonella* ont été réalisés dans le foie, la rate, le muscle, les ganglions mésentériques, les fèces et les contenus intestinaux des porcs (jéjunum, caecum, colon) selon les méthodes décrites par Fravalo et al. (2003a, 2003b).

## 2. RÉSULTATS

### 2.1. Dosage des bases sphingoides

L'effet chronique de la FB<sub>1</sub> sur le ratio Sa/So après les 9 semaines de traitement est présenté dans le tableau 1. Le pourcentage du rapport Sa/So a augmenté significativement au cours du temps entre les lots témoins et les lots ayant reçu une alimentation fusariée que ce soit dans le rein, le foie ou le sérum (Tableau 2). On observe en effet une augmentation du rapport de 0,17 à 0,24 et 0,13 à 0,33 entre les lots FB<sub>1</sub>(-) et FB<sub>1</sub>(+) dans le sérum, deux jours post-inoculation de *Salmonella* et à l'abattage de fin d'essai, respectivement.

## 2.2. Performances zootechniques et état de santé

Aucune mortalité ni maladie liée à une éventuelle mycotoxicose n'a été observée au cours des 9 semaines chez les animaux nourris avec l'aliment naturellement contaminé avec 8,5 ppm de FB<sub>1</sub> et 2,5 ppm de FB<sub>2</sub>. Les porcs n'ont pas manifesté d'hyperthermie ni de diarrhée en la présence de FB<sub>1</sub> ou suite à l'inoculation de *Salmonella*. A l'autopsie, aucun œdème pulmonaire n'a été observé. Par ailleurs, les performances de croissance des porcs, ainsi que leurs consommations alimentaires ont été régulières et non significativement différentes entre les 4 lots. Le gain moyen quotidien (GMQ) des individus durant la période d'exposition (56 jours jusqu'au moment de l'abattage final) ont été de :

- 1065 ± 115 g/jour pour le lot FB<sub>1</sub>(-)Salmo(-)
- 1082 ± 66 g/jour pour le lot FB<sub>1</sub>(+)Salmo(-)
- 1044 ± 98 g/jour pour le lot FB<sub>1</sub>(-)Salmo(+)
- 1071 ± 78 g/jour pour le lot FB<sub>1</sub>(+)Salmo(+)

Exprimées par porc et par jour, les consommations d'aliment durant la même période étaient de :

**Tableau 1** - Concentration de sphinganine et de sphingosine dans les lots de porcs exposés à la FB<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>(+) Salmo(-) et FB<sub>1</sub>(+) Salmo(+)) par rapport aux lots non exposés (FB<sub>1</sub>(-) Salmo(-) et FB<sub>1</sub>(-) Salmo(+)) dans le rein, le foie, et le sérum, en fonction du temps

	Jours avant ou après inoculation	Jours après exposition à la FB <sub>1</sub>	Dosage	Rein (en nmol/L)	Foie (en nmol/L)	Sérum (en nmol/L)
Lots FB <sub>1</sub> (-)	J-5	jour+2	Sphinganine	ND	ND	15,357
	J+2	jour+9	Sphinganine	0,3165	0,3975	12,6465
	J+56	jour+63	Sphinganine	0,3305	0,3075	7,1425
	J-5	jour+2	Sphingosine	ND	ND	76,6665
	J+2	jour+9	Sphingosine	5,86	3,3155	76,454
	J+56	jour+63	Sphingosine	6,876	2,936	54,341
Lots FB <sub>1</sub> (+)	J-5	jour+2	Sphinganine	ND	ND	16,56
	J+2	jour+9	Sphinganine	0,4595	0,963	13,147
	J+56	jour+63	Sphinganine	0,7165	0,4685	18,1005
	J-5	jour+2	Sphingosine	ND	ND	77,0665
	J+2	jour+9	Sphingosine	7,1835	5,3085	54,9115
	J+56	jour+63	Sphingosine	9,275	3,0445	55,7825

ND : Non Déterminé

**Tableau 2** - Pourcentage de l'augmentation du rapport Sa/So dans les lots de porcs exposés à la FB<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>(+) Salmo(-) et FB<sub>1</sub>(+) Salmo(+)) par rapport aux lots non exposés (FB<sub>1</sub>(-) Salmo(-) et FB<sub>1</sub>(-) Salmo(+)) dans le rein, le foie, et le sérum, en fonction du temps

Jours avant ou après inoculation	Jours après exposition à la FB <sub>1</sub>	Rein	Foie	Sérum
J-5	jour+2	ND	ND	+6%
J+2	jour+9	+19%*	+50%*	+45%*
J+56	jour+63	+54%*	+60%*	+149%*

\* augmentations significatives comparées aux animaux témoins (lots FB<sub>1</sub>(-)) (ANOVA et test de Tuckey)

ND : Non Déterminé

- $2668 \pm 349$  g/jour pour le lot  $FB_1(-)Salmo(-)$
- $2687 \pm 105$  g/jour pour le lot  $FB_1(+)Salmo(-)$
- $2587 \pm 336$  g/jour pour le lot  $FB_1(-)Salmo(+)$
- $2845 \pm 229$  g/jour pour le lot  $FB_1(+)Salmo(+)$

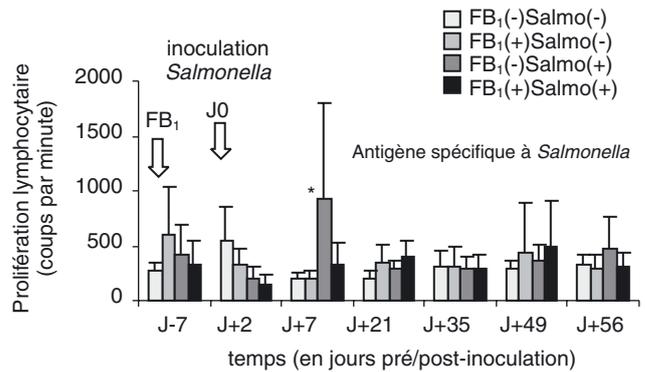
L'efficacité alimentaire résultante est restée également comparable entre les lots de porc, variant de 0,38 à 0,40.

### 2.3. Statut immunitaire des porcs

Les fumonisines n'ont pas affecté la capacité des lymphocytes à proliférer en présence des deux agents mitogènes (Con A et PMA/iono) testés chez les porcs exposés. Dans notre étude, 8,5 ppm de  $FB_1$  et 2,5 ppm de  $FB_2$  n'ont donc pas affecté la réponse immunitaire cellulaire non spécifique.

### 2.4. Effet de la fumonisine et/ou de *Salmonella* sur la réponse immunitaire spécifique

La séroconversion apparaît dans les 14 jours suivant l'inoculation sans qu'une différence n'ait été notée selon le type d'aliment distribué (Figure 1). Le X moyen du sérum qui traduit le pourcentage de séroconversion par rapport à un même sérum positif en éliminant la variabilité inter plaques a en effet montré que l'intensité de la séroconversion était identique entre les deux lots  $FB_1(-)Salmo(+)$  et  $FB_1(+)Salmo(+)$  pour les animaux positifs ( $X > 0,4$ ). Une réponse cellulaire spécifique de *Salmonella* des animaux du lot  $FB_1(-)Salmo(+)$  a été observée à J+7. Les lymphocytes ont en effet proliféré plus intensément suite à l'exposition d'un antigène spécifique de *Salmonella*, les valeurs mesurées passant de 200 coups par minute à 1600 coups par minute



\* augmentations significatives (ANOVA et test de Tuckey)

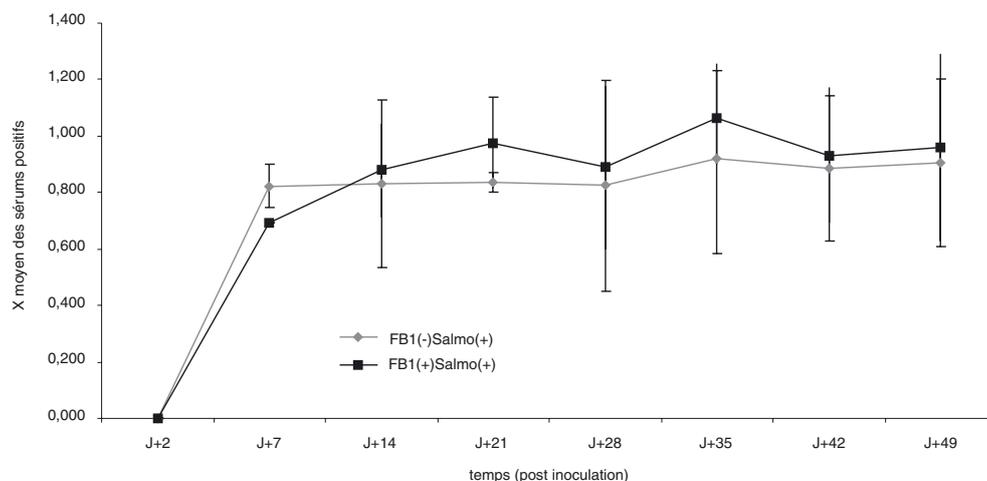
**Figure 2** - Capacité des lymphocytes à proliférer en présence du LPS en fonction du temps chez les lots de porcs exposés ou non à la  $FB_1$  et inoculés ou non avec *Salmonella*. Les valeurs sont exprimées par leurs moyennes et écart-types

pour plusieurs animaux de ce lot (Figure 2). Cette réponse était cependant hétérogène puisqu'elle n'a pas touché l'ensemble des animaux du lot. Elle a par ailleurs été transitoire, car elle est revenue à un niveau basal la semaine suivante.

### 2.5. Statut bactériologique des animaux

L'inoculation a contaminé la plupart des animaux des lots inoculés  $FB_1(-)Salmo(+)$  et  $FB_1(+)-Salmo(+)$  (Tableau 3). L'inoculation a également entraîné la contamination d'une proportion importante de ganglions mésentériques chez les animaux de ces deux lots : elle était supérieure à 50 % à J+2.

Temps (en jours)	J+2	J+7	J+14	J+21	J+28	J+35	J+42	J+49
$FB_1(-)Salmo(+)$	0/8	0/8	1/8	7/8	7/8	7/8	7/8	7/8
$FB_1(+)-Salmo(+)$	0/8	0/8	2/8	4/8	2/8	3/8	3/8	4/8



Avec X du sérum :  $(DO \text{ sérum testé} - DO \text{ sérum négatif}) / (DO \text{ sérum positif} - DO \text{ sérum négatif}) \times DO \text{ sérum positif de la plaque} / \text{moyenne des DO sérums positifs sur toutes les plaques}$ .

**Figure 1** - Evolution du nombre de séroconversions spécifiques à *Salmonella* au cours du temps dans les lots  $FB_1(-)Salmo(+)$  et  $FB_1(+)-Salmo(+)$  (n total=8) et évolution des X moyens des sérums de porcs des lots  $FB_1(+)-Salmo(+)$  et  $FB_1(-)Salmo(+)$  ayant séroconverti

**Tableau 3** - Recherche de *Salmonella* Typhimurium dans les contenus et les organes de porcs des lots FB<sub>1</sub>(-) Salmo(+) et FB<sub>1</sub>(+) Salmo(+) 2 jours et 56 jours après l'inoculation

	2 jours post inoculation				56 jours post inoculation			
	FB <sub>1</sub> (-) Salmo(+)		FB <sub>1</sub> (+) Salmo(+)		FB <sub>1</sub> (-) Salmo(+)		FB <sub>1</sub> (+) Salmo(+)	
	Nbr porcs <sup>1</sup>	Concentration (Log) <sup>2</sup>						
Foie, rate, muscle	0/4	0	0/4	0	0/8	ND	0/8	ND
Ganglions mésentériques	2/4	1,3	3/4	1,6	0/8	ND	2/8	ND
Iléum	3/4	1,7	2/4	2,4	3/8	2,1	3/8	2,7
Colon	3/4	0,5	3/4	2,0	6/8	1,6	3/8	2,4
Caecum	3/4	<0,11	3/4	2,1	7/8	2,1	3/8	2,6

<sup>1</sup> Nombre de porcs ayant des organes et des contenus intestinaux contaminés par *Salmonella*

<sup>2</sup> Niveaux de contamination (en Log) par *Salmonella*

ND : Non Déterminé

Les évaluations quantitatives réalisées à cette date sur ces contenus intestinaux ont montré toutefois une différence de 1,4 Log entre les deux lots FB<sub>1</sub>(-) Salmo(+) et FB<sub>1</sub>(+) Salmo(+), cette différence entre les lots exposés ou non à FB<sub>1</sub> n'a toutefois pas atteint le seuil de significativité (p=0,09) et reste une tendance (Tableau 3).

La proportion de contenus intestinaux positifs à j+56 semblait inférieure à celle obtenue à J+2, mais cette différence est non significative (5/8 pour le lot FB<sub>1</sub>(-) Salmo(+) contre 3/8 pour le lot FB<sub>1</sub>(+) Salmo(+)). De plus, en terme d'intensité, les niveaux d'excrétion des porcs positifs étaient similaires entre les deux lots (Tableau 3).

La proportion de porcs excréteurs n'a pas varié significativement au cours de l'essai entre les lots FB<sub>1</sub>(-) Salmo(+) et FB<sub>1</sub>(+) Salmo(+). On note néanmoins pour les données obtenues à deux jours post inoculation, que seuls 3 des 12 porcs ont eu une excrétion dénombrable dans le lot FB<sub>1</sub>(-) Salmo(+) contre 9 sur 12 dans le lot FB<sub>1</sub>(+) Salmo(+), mais cette différence n'est pas significative et a disparu dès 7 jours post inoculation. De J+7 à J+56, *Salmonella* était dénombrable sur 75-100 % des porcs excréteurs.

### 3. DISCUSSION - CONCLUSION

Les effets toxiques des fumonisines sont connus depuis longtemps chez plusieurs espèces animales et elles sont présentes sous toutes les latitudes (Amérique du Nord, Amérique du Sud, Afrique du Sud, Chine, Europe), mais la découverte de la FB1 est récente (1988). Comme elle a été classée comme potentiellement cancérigène pour l'homme (www.inchem.org), la Commission Européenne élaboré en 2005 un projet de réglementation de la FB<sub>1</sub> dans les céréales à destination de l'alimentation. La Commission a également demandé une opinion à l'EFSA (European Food Safety Authority) concernant l'alimentation animale (EFSA, 2005) qui a conclu à un manque de données sur l'occurrence des fumonisines dans les matières premières destinées aux animaux d'élevage, mais qui a souligné leur toxicité avérée chez ces animaux. La quasi-totalité des études de toxicité ont porté sur la FB<sub>1</sub>, mais de nombreux auteurs sug-

gèrent une toxicité équivalente des autres fumonisines (FB<sub>2</sub>, FB<sub>3</sub>, FB<sub>4</sub>). Le maïs utilisé dans cette étude contenait 8,5 ppm de FB<sub>1</sub> et 2,5 ppm de FB<sub>2</sub>, les FB<sub>3</sub> et FB<sub>4</sub> n'ayant pas été dosées.

L'intoxication à la FB1 est susceptible de modifier le caractère infectieux de certains microorganismes, y compris *Salmonella* (Oswald et al., 2003 ; Deshmukh et al., 2005 ; Halloy et al., 2005). Or, une des priorités actuelle en Europe (règlement 2160/2003) est la maîtrise de *Salmonella* en tant qu'agent zoonotique porcin. Cette étude vise donc à déterminer l'impact d'une ingestion chronique de doses moyennes de FB<sub>1</sub> sur des porcs soumis à un portage asymptomatique de *Salmonella enterica*.

L'augmentation statistiquement significative du rapport Sa/So au cours de notre étude a confirmé l'intoxication des porcs suite à l'ingestion de l'aliment FB<sub>1</sub>(+). Elle a confirmé en outre l'effet de la contamination sur le métabolisme sphingolipidique aux doses de 8,5 ppm de FB<sub>1</sub> et 2,5 ppm de FB<sub>2</sub> que ce soit dans le rein, le foie ou le sérum des porcs après plusieurs semaines d'exposition. Ces résultats sont en concordance avec ceux d'études montrant que les bases sphingoides sont relarguées dans le sérum chez des porcs recevant une alimentation contenant de faibles doses de FB<sub>1</sub> (supérieures ou égales à 5 ppm) (Riley et al., 1993).

Dans le cadre de notre étude, l'aliment contaminé avec FB<sub>1</sub> à la dose de 8,5 ppm n'a pas eu d'effet, que ce soit sur la consommation d'aliment, la croissance ou la santé des animaux. Ces résultats sont en concordance avec ceux d'études préalables réalisées sur des porcelets recevant un aliment contenant de 1 à 10 ppm de FB<sub>1</sub> pendant 4 à 8 semaines. Ces études n'avaient pas montré d'effets délétères de la FB<sub>1</sub> que ce soit sur les performances zootechniques ou la santé des porcelets (Zomborszky et al., 2000, ; Zomborszky-Kovacs et al., 2002 ; Grosjean et al., 2005).

Cette étude permet d'aborder l'influence d'une alimentation naturellement contaminée par des fumonisines à la fois sur l'immunité, sur l'excrétion de *Salmonella*, mais aussi sur la contamination des organes que ce soit en périphérie du

contexte infectieux (quelques jours après l'inoculation) mais également en fin de vie des animaux. L'ensemble des paramètres relevés a permis de conclure que dans nos conditions expérimentales, une alimentation contenant 8,5 ppm de FB<sub>1</sub> et 2,5 ppm de FB<sub>2</sub> n'engendrait d'une part, aucun effet sur le portage asymptomatique de *Salmonella enterica*, et d'autre part, n'aurait eu aucun effet sur la réponse immune cellulaire non spécifique. Ces résultats vont cependant à l'encontre de plusieurs études récentes. Celles-ci avaient montré au contraire que l'ingestion de FB<sub>1</sub> à la dose de 5 ppm était à l'origine d'une augmentation de la colonisation intestinale de *Escherichia coli* chez des porcs (Oswald et al., 2003), et de l'augmentation de l'infection des animaux par un pathogène respiratoire secondaire du porc, *Pasteurella multocida* (Halloy et al., 2005). Une étude très récente a par ailleurs montré que, à de très fortes doses (150 ppm), la FB<sub>1</sub> peut augmenter la sévérité d'une infection par *Salmonella gallinarum*, un sérovar typhoïde, sur des cailles (Deshmukh et al., 2005).

En conclusion, dans nos conditions expérimentales, une exposition orale des porcs à 8,5 ppm de FB<sub>1</sub> et 2,5 ppm de FB<sub>2</sub> dans l'aliment naturellement contaminé n'a pas induit d'altération des performances zootechniques et de la santé (étude clinique et réponse immunitaire) des animaux et n'a pas influé sur le risque *Salmonella*, malgré une exposition chronique durant tout l'engraissement. Il serait intéressant de tester des doses de fumonisines supérieures et d'élargir ce type d'études à d'autres mycotoxines d'intérêt (deoxynivalénol, ochratoxine, etc.), seules ou en association.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la région Bretagne pour sa participation financière à cette étude ainsi que Catherine Houdayer, Gaëlle Bourbao, Eric Boilletot, Gilbert Postollec, Valérie Rose, Agnès Jamin, Francesc Accensi, Anne Marie Cossalter et toutes les personnes ayant participé au projet pour leur collaboration.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Beloeil P. A., Chauvin C., Proux K., Madec F., Fravallo P., Alioum A., 2004a. Impact of the *Salmonella* status of market-age pigs and the pre-slaughter process on *Salmonella* caecal contamination at slaughter. *Vet. Res.*, 35, 513-530.
- Beloeil P. A., Fravallo P., Fablet C., Jolly J. P., Eveno E., Hascoet Y., Chauvin C., Salvat G., Madec F., 2004b. Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* shedding by market-age pigs in French farrow-to-finish herds. *Prev. Vet. Med.*, 63, 103-120.
- Bouhet S., Hourcade E., Loiseau N., Fikry A., Martinez S., Roselli M., Galtier P., Mengheri E., Oswald I. P., 2004. The mycotoxin fumonisin B1 alters the proliferation and the barrier function of porcine intestinal epithelial cells. *Toxic. Sci.*, 77, 165-171.
- D'Aoust J. Y. 1994. *Salmonella* and the international food trade. *Int. J. Food Microbiol.*, 24, 11-31.
- Deshmukh S., Asrani R. K., Jindal N., Ledoux D. R., Rottinghaus G. E., Sharma M., Singh S. P., 2005. Effects of *Fusarium moniliforme* culture material containing known levels of fumonisin B-1 on progress of *Salmonella gallinarum* infection in Japanese quail: Clinical signs and hematologic studies. *Avian Diseases*, 49, 274-280.
- EFSA, 2005. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to fumonisins as undesirable substances in animal feed. *The EFSA Journal*, 235, 1-32.
- Fink-Gremmels J., 1999. Mycotoxins: their implications for human and animal health. *Vet. Q.*, 21, 115-120.
- Fravallo P., Cariolet R., Proux K., Salvat G. 2003a. le portage asymptomatique de *Salmonella enterica* par des porcs : résultats issus de la constitution d'un modèle en conditions expérimentales. *Journées Rech. Porcine*, 35, 393-400.
- Fravallo P., Hascoet Y., Le fellic M., Queguiner S., Petton J., Salvat G., 2003b. Convenient method for rapid and quantitative assessment of *Salmonella enterica* contamination : The MINI-MSRV MPN technique. *J. rapid Methods Automation Microbiology*, 11, 81-88.
- Grosjean F., C. J. G., Marin D. et Oswald I. 2005. Effet des fumonisines et d'une association avec du déoxynivalénol sur les performances de croissance de porcelets. *Journées Rech. Porcine*, 37, 245-252.
- Halloy D. J., Gustin P. G., Bouhet S., Oswald I. P., 2005. Oral exposure to culture material extract containing fumonisins predisposes swine to the development of pneumonitis caused by *Pasteurella multocida*. *Toxicology*, 213, 34-44.
- Kriek N. P., Kellerman T. S., Marasas W. F., 1981. A comparative study of the toxicity of *Fusarium verticillioides* (= *F. moniliforme*) to horses, primates, pigs, sheep and rats. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 48, 129-131.
- Marasas W. F., Kellerman T. S., Gelderblom W. C., Coetzer J. A., Thiel P. G., van der Lugt J. J., 1988. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 55, 197-203.
- Oswald I. P., Desautels C., Laffitte J., Fournout S., Peres S. Y., Odin M., Le Bars P., J. Le Bars, Fairbrother J. M., 2003. Mycotoxin fumonisin B1 increases intestinal colonization by pathogenic *Escherichia coli* in pigs. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 5870-5874.
- Oswald I. P., Marin D. E., Bouhet S., Pinton P., Taranu I., Accensi F., 2005. Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals. *Food. Addit. Contam.*, 22, 354-360.
- Pinton P., Royer E., Accensi F., Marin D. E., Guelfi J. F., Bourgès-Abella N., Granier R., Grosjean F., Oswald. I.P; 2004. Effets zoonotiques et immunitaires de la consommation d'aliment naturellement contaminé par du Déoxynivalénol (DON) chez le porc en phase de croissance ou de finition. *Journées Recherche Porcine*, 36, 301-308.
- Proux K., Houdayer C., Humbert F., Cariolet R., Rose V., Eveno E., Madec F., 2000. Development of a complete ELISA using *Salmonella* lipopolysaccharides of various serogroups allowing to detect all infected pigs. *Vet. Res.*, 31, 481-490.
- Riley R. T., An N. H., Showker J. L., Yoo H. S., Norred W. P., Chamberlain W. J., Wang E., Merrill Jr. A. H., Motelin G., Beasley V. R. et al., 1993. Alteration of tissue and serum sphinganine to sphingosine ratio: an early biomarker of exposure to fumonisin-containing feeds in pigs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 118, 105-112.
- Tran S. T., Bailly J. D., Tardieu D., Durand S., Benard G., Guerre P., 2003. Sphinganine to sphingosine ratio and predictive biochemical markers of fumonisin B1 exposure in ducks. *Chem. Biol. Interact.*, 146, 61-72.
- Zomborszky M. K., Vetesi F., Repa I., Kovacs F., Bata A., Horn P., Toth A., Romvari R., 2000. Experiment to determine limits of tolerance for fumonisin B1 in weaned piglets. *J. Vet. Med. B, Infect. Dis. Vet. Public Health*, 47, 277-286.
- Zomborszky-Kovacs M., Vetesi F., Horn P., Repa I., Kovacs F., 2002. Effects of prolonged exposure to low-dose fumonisin B1 in pigs. *J. Vet. Med. B, Infect Dis. Vet. Public Health*, 49, 197-201.
- <http://www.inchem.org>