

L'ingestion d'aliment contaminé par les alcaloïdes de l'ergot réduit les performances des porcelets et provoque des lésions de l'intestin et du foie

Viviane Mayumi MARUO (1), Ana Paula BRACARENSE (2), Jean-Paul METAYER (3), Isabelle P. OSWALD (4), Philippe PINTON (4)

(1) Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, Brazil

(2) Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brazil

(3) ARVALIS-Institut du végétal, Villerable, France

(4) Toxalim (Research Centre in Food Toxicology), Université de Toulouse, INRA, ENVT, INP-Purpan, UPS, Toulouse, France

philippe.pinton@toulouse.inra.fr

L'ingestion d'aliment contaminé par les alcaloïdes de l'ergot réduit les performances des porcelets et provoque des lésions de l'intestin et du foie.

La contamination des céréales par les alcaloïdes de l'ergot est en recrudescence. Ces toxines sont connues depuis des siècles pour leurs effets sur les systèmes circulatoire et nerveux chez l'homme et l'animal. Leurs teneurs sont réglementées en Europe pour l'alimentation animale (1 g de sclérotines/kg de céréales), mais peu d'études décrivent leurs effets chez le porc. Des aliments contrôlés ou contaminés par 1,2 et 2,5 g de sclérotines/kg d'aliment ont été distribués pendant 28 jours à trois groupes de 24 porcelets. Malgré l'absence de signes cliniques majeurs, les deux aliments contaminés ont significativement altéré les performances zootechniques (réduction du GMQ jusqu'à 16%), et ont eu tendance à augmenter le nombre de globules blancs et de lymphocytes, ce qui peut altérer la réponse immunitaire. Au niveau du jéjunum, une réduction de la hauteur des villosités, une augmentation des lésions de l'épithélium et une diminution du nombre de cellules productrices de mucus ont été observées chez les porcelets exposés. Ces altérations pourraient compromettre la fonction de barrière physique de l'intestin ainsi que sa capacité d'absorption des nutriments. Au niveau hépatique, les alcaloïdes de l'ergot entraînent la désorganisation du tissu, le développement d'infiltrats inflammatoires, la présence de vacuoles, l'apoptose et la nécrose des hépatocytes et l'apparition d'hépatocytes avec mégaloctose. Le rôle du foie dans les processus de détoxification ou le métabolisme énergétique pourrait donc être perturbé. En conclusion, nos résultats montrent que l'ingestion d'alcaloïdes à des doses proches de la limite réglementaire entraîne, chez le porcelet, une réduction des performances et des lésions intestinales et hépatiques.

Ingestion of feed contaminated by ergot alkaloids reduces the performance of piglets and causes damage to the intestine and liver.

The contamination of cereals by ergot alkaloids is on the rise. These toxins have been known for centuries for their effects on the circulatory and nervous systems in humans and animals. They are regulated in Europe for animal feed (1 g of sclerotia/kg of cereals) but few studies describe their effects in pigs. Three groups of 24 piglets were exposed to control feed or feed contaminated with 1.2 or 2.5 g of sclerotia/kg for 28 days. Despite the absence of major clinical signs, the two contaminated feed significantly altered growth performance (daily weight gain reduction up to 16%), and tended to increase the number of white blood cells and lymphocytes, which may alter the immune response. In the jejunum, a reduction in villi height, increased damage to the epithelium and a decrease in the number of mucus-producing cells were observed in piglets exposed to ergot alkaloids. These alterations may compromise the physical barrier function of the intestine and its ability to absorb nutrients. In the liver, ergot alkaloids caused disruption of the tissue, with the development of inflammatory infiltrates, vacuoles, apoptosis and necrosis of hepatocytes and the appearance of hepatocytes with megalocytosis. The role of the liver in the process of detoxification or energy metabolism may thus be disrupted. In conclusion, our results show that ingestion of ergot alkaloids by piglets, at doses close to regulatory limits, reduces performance and induces intestinal and hepatic lesions.

INTRODUCTION

Les alcaloïdes de l'ergot de seigle sont des mycotoxines produites principalement par des champignons du genre *Claviceps*. Ils sont responsables d'une maladie qui a causé des empoisonnements de masse en Europe au Moyen-âge, caractérisée par la gangrène et des convulsions et connue sous le nom d'ergotisme (EFSA, 2012).

Bien que l'intoxication aiguë par les alcaloïdes de l'ergot soit devenue rare, ils restent une source de préoccupation car ces toxines sont toujours présentes dans les céréales et les produits céréaliers en Europe et en Amérique du Nord (Scott, 2009; Di Mavungu *et al.*, 2012). En outre, la fréquence des infections à *Claviceps purpurea* est en augmentation depuis plusieurs années (Krska et Crews, 2008; Tittlemier *et al.*, 2015).

Plus de 50 alcaloïdes de l'ergot ont été identifiés et les principaux produits par *C. purpurea* sont l'ergométrine, l'ergotamine, l'ergosine, l'ergocristine, l'ergocryptine et l'ergocornine. Leur toxicité est principalement liée au fait qu'ils sont des ligands des récepteurs adrénergiques, dopaminergiques et sérotoninergiques du système nerveux. Les récepteurs adrénergiques et dopaminergiques activent le système nerveux sympathique, qui contrôle les activités inconscientes de l'organisme (rythme cardiaque ou contraction des muscles lisses). Les récepteurs sérotoninergiques contrôlent les fonctions de veille (sommeil, prise alimentaire ou thermorégulation) et sont impliqués dans des affections psychiatriques et/ou neurologiques. Leur ingestion entraîne des perturbations de la reproduction, de la croissance, des atteintes des systèmes nerveux et cardiovasculaires (Strickland *et al.*, 2011; Canty *et al.*, 2014; Korn *et al.*, 2014). Les symptômes cliniques typiques des intoxications sont la vasoconstriction qui peut évoluer vers la gangrène et des signes neurotoxiques qui incluent des vertiges et des convulsions (EFSA, 2012).

La réglementation fixe à 0,5 g/kg la quantité maximale de sclérotés d'ergot dans le blé tendre et le blé dur destinés à la transformation pour la consommation humaine et à 1 g/kg la quantité maximale dans les céréales non moulues destinées à l'alimentation animale (European-Union, 2002).

La fréquence de contamination par les alcaloïdes de l'ergot dans le monde renforce l'importance des études toxicologiques pour mieux comprendre comment ils peuvent altérer des systèmes spécifiques, en particulier les fonctions intestinales et hépatiques. Le but de cette étude était d'étudier, chez le porc, les effets de l'ingestion d'aliment contaminé par les alcaloïdes de l'ergot sur les performances, les paramètres biochimiques sanguins, l'histologie et l'expression de gènes dans le foie et le jéjunum. Nous avons choisi de travailler pour un des aliments testés à un niveau de contamination proche de la limite réglementaire.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Composition des aliments et contenu en alcaloïdes de l'ergot

Les aliments ont été préparés à base de maïs, blé, tourteau de soja, huile de soja et aliment minéral vitaminé de façon à obtenir la composition chimique suivante, exprimée en % de matière sèche : matières azotées totales (20%), cellulose brute (2,7%), matière grasse (4,4%), matière minérale (6%). Des céréales non contaminées ont servi à la fabrication du régime contrôle. Deux lots de sclérotés de blé ont été utilisés pour

préparer les deux aliments contaminés à 1,2 et 2,5 g de sclérote/kg d'aliment, correspondant à des teneurs en alcaloïdes totaux de 2,36 et 5,05 mg/kg. La première dose est proche de la limite de 1 g/kg fixée par la directive européenne (European-Union, 2002). Les alcaloïdes totaux ont été identifiés et dosés dans les aliments par le laboratoire Qualtech par technique de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS/MS) (Tableau 1).

Tableau 1. Teneurs en alcaloïdes totaux des aliments contaminés (mg/kg).

Sclérotés (g/kg)	1,2	2,5
alcaloïdes totaux (mg/kg)	2,36	5,05
Ergotamine	0,52	1,03
Ergotaminine	0,24	0,58
Ergosine	0,29	0,58
Ergosinine	0,16	0,34
Ergocristine	0,26	0,47
Ergocristinine	0,18	0,40
Ergométrine	0,17	0,44
Ergométrinine	0,06	0,12
Ergocornine	0,15	0,30
Ergocorninine	0,11	0,29
Ergocryptine	0,13	0,30
Ergocryptinine	0,09	0,21

Dans ces aliments, les alcaloïdes majeurs qui ont été détectés sont l'ergotamine, l'ergosine et l'ergocristine. Leurs épimères (-inine) représentent environ les deux tiers de la quantité totale d'alcaloïdes. Par ailleurs, le déoxynivalénol (DON) était présent à faible concentration dans le blé (19 µg/kg) et le maïs (171 µg/kg). Les autres mycotoxines (dérivés acétylés du DON, nivalénol, toxines T2 et HT-2, zéaralénone et fumonisines) étaient en dessous de la limite de détection.

1.2. Animaux

Les phases d'expérimentation animale ont été réalisées dans les installations d'Arvalis-Institut du Végétal (Villerable, France) en stricte conformité avec la directive Européenne relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques (2010/63/UE). Deux bandes de 36 porcelets (P76 X Naïma), sevrés à 21 jours et âgés de 34 jours ont été répartis en trois groupes de six mâles et six femelles (contrôle, ergot dose 1, ergot dose 2). Logés dans des loges individuelles, ils avaient accès libre à la nourriture et à l'eau.

1.3. Performance de croissance des animaux

Les animaux ont reçu les régimes expérimentaux pendant 28 jours. Le poids et la consommation d'aliment ont été mesurés à l'âge de 34, 48 et 62 jours (J34, J48 et J62, respectivement). Les animaux ont été observés quotidiennement pour détecter des signes possibles d'intoxication et les symptômes possibles dus aux alcaloïdes : troubles de l'équilibre, nécrose des extrémités, diarrhées.

1.4. Prélèvement des échantillons

A la fin de l'expérience, du sang a été prélevé sur tous les animaux pour faire un hémogramme et pour collecter du plasma qui a été congelé pour une analyse biochimique. Six animaux de chaque groupe ont été autopsiés et des échantillons de foie et de jéjunum ont été soit fixés dans du formol tamponné à 10% (Sigma, Saint-Quentin Fallavier, France) pour l'analyse histopathologique, soit congelés dans l'azote liquide et stockés à -80 °C jusqu'à l'extraction d'ARN.

1.5. Hémogramme et biochimie du sang

L'hémogramme a été réalisé par le laboratoire MEDIBIOLAB (Vendôme, France) à l'aide d'un automate SYSMEX XT2000i. Les concentrations plasmatiques de marqueurs du métabolisme basal et des fonctions rénale et hépatique (phosphatase alcaline, alanine aminotransférase, aspartate aminotransférase, amylase, créatine kinase, lactate déshydrogénase, lipase, albumine, bilirubine totale, protéines totales, cholestérol, créatinine, glucose, phosphore et urée) ont été déterminées par la plateforme GenoToul-Anexplo Toulouse (France) à l'aide d'un analyseur Pentra 400 (Horiba, Allemagne).

1.6. Analyse histopathologique et morphométrique

Les échantillons de jéjunum et de foie ont été déshydratés dans des bains d'alcool et inclus dans la paraffine. Des sections de 3 µm ont été colorées à l'hématoxyline-éosine (HE, Sigma) pour une analyse histopathologique. Un score lésionnel a été établi prenant en compte le degré d'importance de la lésion (facteur de gravité) et son étendue (intensité ou fréquence observée), noté entre 0 et 3. L'analyse morphométrique de la muqueuse du jéjunum a été réalisée en mesurant la hauteur de 30 villosités prises au hasard en utilisant un système d'analyse d'images MOTIC 2,0 ML1. Enfin, la coloration par l'acide périodique de Schiff (PAS) a permis d'évaluer la densité des cellules caliciformes dans le jéjunum (Bracarense *et al.*, 2012).

1.7. Analyse de l'expression des gènes par PCR quantitative en temps réel

Des fragments de jéjunum ont été placés dans des tubes lysis-matrix D (MP Biomedicals, Illkirch, France) contenant du phénol et du thiocyanate de guanidine (Extract-All, Eurobio, les Ulis, France). L'ARN a été extrait après la lyse du tissu dans un Fast-Prep FP120 (MP Biomedicals). La concentration, l'intégrité et la qualité de chaque ARN ont été déterminées par spectrophotométrie (OD 260) en utilisant un Nanodrop ND1000 (Labtech International, Paris, France). Les ARN totaux ont été rétro-transcrits en ADN complémentaires en utilisant le kit ADNC-RT High Capacity (Life Technologies, Saint Aubin, France). Les expériences de PCR quantitative en temps réel ont été réalisées dans des plaques de 384 puits dans un thermocycleur ViiA7 (Life Technologies) comme déjà décrit (Cano *et al.*, 2013). Les réactions ont été réalisées en duplicat et la moyenne des valeurs de cycle seuil (Ct) a été utilisée pour déterminer le niveau d'expression des gènes. Le niveau d'expression des gènes a été déterminé par la méthode delta Ct qui correspond au calcul de la différence entre le Ct du gène d'intérêt et celui du gène de référence. Les séquences des amorces utilisées ont été publiées dans des travaux précédents (Arce *et al.*, 2010; Cano *et al.*, 2013; Gourbeyre *et al.*, 2015; Pinton *et al.*, 2015). Les gènes de beta-2-microglobuline (B2M) et peptidylprolyl isomérase A -cyclophiline A (PPIA) ont été utilisés comme gènes de référence pour la normalisation des données après analyse dans le programme NormFinder (Andersen *et al.*, 2004).

1.8. Analyse statistique

Les données obtenues (moyenne ± écart-type) ont été analysées par ANOVA suivie d'un test PLSD Fisher après vérification de l'homoscédasticité. Des valeurs de $P < 0,05$ sont considérées significatives.

2. RESULTATS

2.1. Effets des alcaloïdes de l'ergot sur les signes cliniques et les performances des animaux

Aucun symptôme caractéristique de la toxicité aiguë des alcaloïdes de l'ergot, comme des troubles de l'équilibre ou une nécrose des extrémités, n'a été observé chez les animaux exposés. Les effets sur l'alimentation ont été observés dès le début de l'exposition (Métayer *et al.*, 2015). Durant les 14 premiers jours, la faible consommation moyenne journalière (CMJ) dans le groupe exposé à la dose la plus élevée a entraîné une réduction du gain moyen quotidien (GMQ) de 20,5%. Après 28 jours d'essai, les animaux exposés à 1,2 et 2,5 g de sclérotés/kg aliment ont vu leur CMJ réduite de 9% et 17,8% respectivement et leur GMQ réduit de 6,6% et 15,7% respectivement (Tableau 2).

Tableau 2 – Effet de la teneur en alcaloïdes d'ergot sur les performances de croissance des porcelets

Sclérotés (g/kg)		0	1,2	2,5	P	ETR
Poids (kg)	J34	10,3	10,2	10,2	NS	0,3
	J62	26,8 a	25,8 a	24,2 b	**	2,6
CMJ (g/j)	J34-J48	786 a	735 a	654 b	**	117
	J34-J62	988 a	899 b	812 c	***	142
GMQ (g/j)	J34-J48	496 a	462 a	394 b	**	78
	J34-J62	591 a	554 ab	498 b	**	91
IC (g/g)	J34-J48	1,59	1,59	1,66	NS	0,10
	J34-J62	1,68	1,62	1,64	NS	0,10

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

Les moyennes sans lettre commune sont différentes

ETR : écart type résiduel pour l'analyse de variance

2.2. Effets des alcaloïdes de l'ergot sur les paramètres biochimiques sanguins

L'exposition à la plus forte quantité de sclérotés a entraîné une augmentation significative de la concentration en globules blancs (+13%) et en lymphocytes (+25%) révélant une stimulation de la défense immunitaire. L'analyse biochimique du plasma a mis en évidence, chez les animaux exposés à 1,2 et 2,5 g de sclérotés/kg aliment, une diminution significative de la créatine kinase (respectivement -43% et -61,5%), une diminution significative du cholestérol (-11%) chez les animaux exposés à la faible dose et une augmentation du glucose (+15,7%) chez les animaux exposés à la forte dose. Aucune différence n'a été observée sur les autres paramètres de l'hémogramme et de l'analyse biochimique.

2.3. Effets des alcaloïdes de l'ergot sur la morphologie du jéjunum et l'expression des gènes du foie

Des lésions du jéjunum ont été observées chez les animaux exposés aux alcaloïdes de l'ergot : atrophie des villosités, œdème de la *lamina propria* et vacuolisation du cytoplasme des entérocytes (figure 1). Une augmentation très importante du score lésionnel obtenu sur le jéjunum des animaux exposés à 1,2 et 2,5 g de sclérotés/kg aliment a été observée (150% et

240% respectivement) (figure 2). Le nombre de cellules caliciformes productrices de mucus a significativement diminué (-34%) dans les deux groupes d'animaux exposés aux alcaloïdes (figure 3).

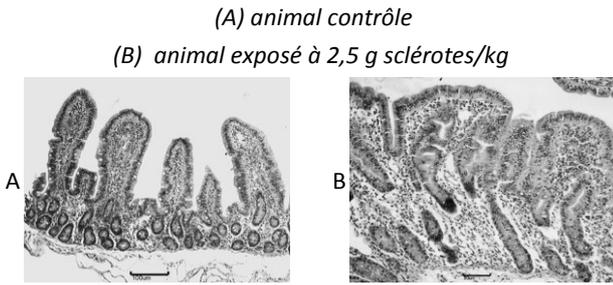


Figure 1 – Coupe de jéjunum

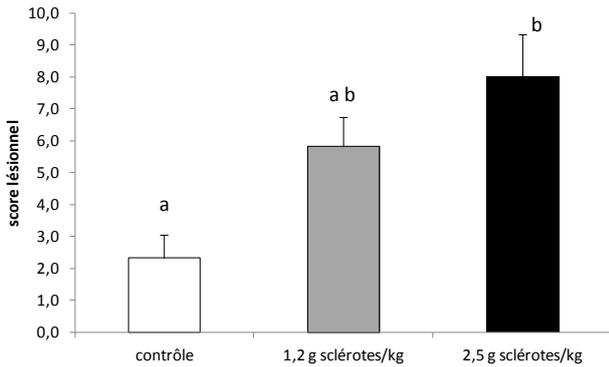


Figure 2 – Score lésionnel obtenu à partir de coupes de jéjunum colorées à l'hématoxyline-éosine. Les moyennes sans lettre commune sont différentes.

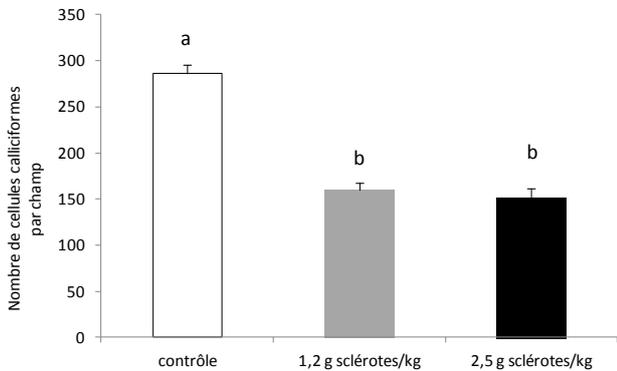


Figure 3 – Nombre de cellules caliciformes dénombrées par champ microscopique sur des coupes de jéjunum colorées au PAS. Les moyennes sans lettre commune sont différentes.

L'exposition du jéjunum aux alcaloïdes entraîne des effets délétères et, compte tenu du peu de données disponibles dans la littérature, nous avons cherché à évaluer l'impact de ces contaminants sur l'expression génique. Nous nous sommes concentrés sur trois groupes de gènes : ceux codant pour des protéines impliquées dans la prolifération ou les jonctions cellulaires, dans la production de mucus, de lysozyme ou d'enzymes de la bordure en brosse ; ceux codant pour certains médiateurs inflammatoires et immunologiques (cytokines) et ceux codant pour des récepteurs, les Toll Like Receptors (TLR), présents à la surface de certains types cellulaires, capables de reconnaître des motifs moléculaires portés par des microorganismes pathogènes bactériens ou viraux.

Nos résultats ont mis en évidence une tendance à l'augmentation de l'expression des gènes du premier groupe (prolifération, jonctions cellulaires et mucus) chez les animaux exposés aux alcaloïdes sans effet évident de la dose.

Le profil d'expression des gènes des cytokines et des TLR montre en revanche une tendance à la diminution liée à la dose (figure 4).

Figure 4 – Expression des gènes dans le jéjunum. Le niveau d'expression chez les animaux contrôle a arbitrairement été fixé à 1.

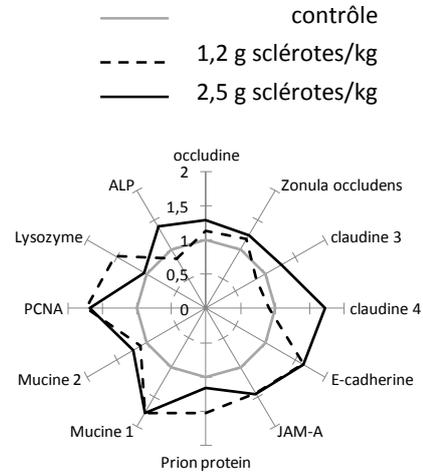


Figure 4a – Expression des gènes codant pour des protéines des jonctions cellulaires

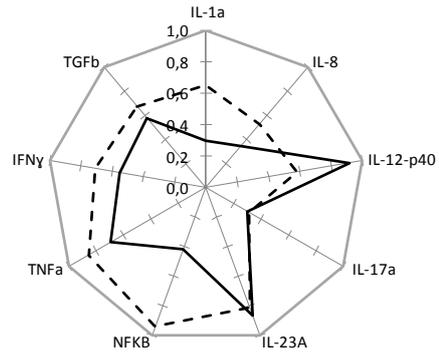


Figure 4b – Expression des gènes codant pour des cytokines

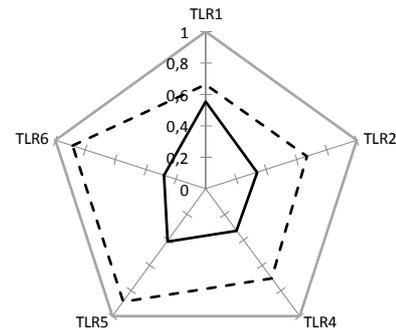


Figure 4c – Expression des gènes codant pour des TLR

2.4. Effets des alcaloïdes de l'ergot sur la morphologie du foie

Des effets délétères ont été également observés sur le foie, notamment la désorganisation du tissu des cordons hépatiques, une inflammation, la vacuolisation nucléaire des hépatocytes, une mégalocytose, l'apoptose et la nécrose des cellules du foie (figure 5). Une augmentation du score lésionnel du foie (+273% et +310%, respectivement), (figure 6) a également été observée.

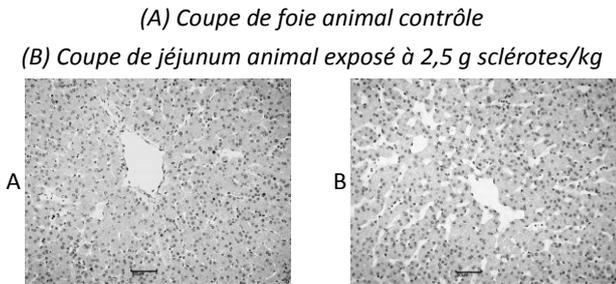


Figure 5 – Examen histologique

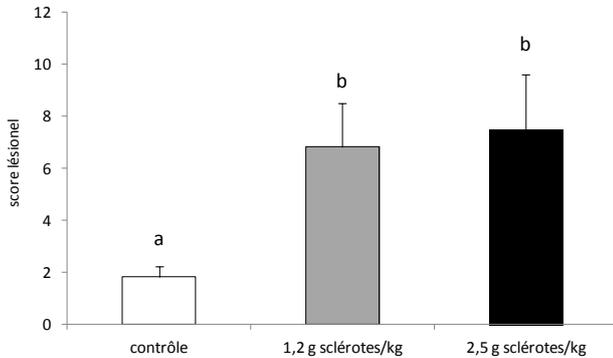


Figure 6 – Score lésionnel obtenu à partir de coupes de foie colorées à l'hématoxyline-éosine. Les moyennes sans lettre commune sont différentes.

3. DISCUSSION

La réglementation actuelle fixe à 1g/kg la quantité maximale de sclérotés dans les aliments composés pour animaux. Dans cette étude, nous avons exposé les porcelets à des doses proches de la réglementation (1,2 g de sclérotés/kg d'aliment) ou double (2,5 g de sclérotés/kg d'aliment), ce qui correspond à une contamination en alcaloïdes totaux de 2,36 et 5,05 mg/kg. L'ergotamine, l'ergosine et l'ergocristine, et leurs épimères sont les principaux alcaloïdes présents dans ces aliments. Cette composition peut varier selon les sources de contamination. Cependant, les effets observés sont d'avantage liés à la teneur totale en alcaloïdes plutôt qu'à leur proportion (Mainka *et al.*, 2007).

La consommation d'aliment quotidienne des animaux exposés à la plus forte dose a diminué pendant toute la période de traitement avec une réduction plus forte du gain moyen quotidien au cours des 14 premiers jours de l'essai. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par Mainka *et al.* (2005), qui ont également observé la réduction des performances chez des porcs exposés à un aliment contenant 10 g d'ergot/kg pendant environ 110 jours, incluant les périodes de croissance et de finition. Des observations identiques ont été faites sur des porcelets exposés à des doses jusqu'à 22 mg d'alcaloïdes totaux/kg d'aliment durant 5 semaines (Danicke et Diers, 2013). La réduction de croissance est très probablement liée à la réduction de la consommation. Cependant, l'impact des alcaloïdes sur l'altération de la motilité gastro-intestinale et sur la digestibilité des nutriments peut jouer un rôle (Strickland *et al.*, 2011; Klotz, 2015).

Le tractus gastro-intestinal est le premier organe en contact avec des contaminants présents dans l'alimentation. Les fonctions intestinales de barrière et immunitaire peuvent être affectées. L'analyse histologique de coupes de jéjunum montre que l'intégrité intestinale est affectée.

L'augmentation du score lésionnel et notamment le raccourcissement des villosités dans le jéjunum des animaux exposés pourrait s'expliquer par l'effet des alcaloïdes sur les récepteurs sérotoninergiques présents dans les cellules épithéliales intestinales, sur les neurones afférents primaires et sur les neurones moteurs sécrétoires de l'intestin (Spiller, 2007). La réduction de la hauteur des villosités reflète une altération de l'équilibre entre la prolifération et l'apoptose des entérocytes. L'évaluation histologique et morphométrique du tissu intestinal est un critère d'effet sensible pour l'évaluation des effets de l'exposition aux alcaloïdes. Sur la base des effets sur les performances, Mainka *et al.* (2007) ont proposé un niveau critique pour l'ingestion quotidienne de 0,09 mg alcaloïdes totaux/kg de poids corporel. Nous avons mis en évidence des effets significatifs sur d'autres marqueurs, notamment la réduction des cellules caliciformes ainsi que le score lésionnel du foie, à un niveau d'exposition très proche que l'on peut estimer, pour la dose la plus faible, en fin d'essai à 0,08 mg alcaloïdes totaux/kg de poids corporel. Cette réduction révèle une insuffisance de la fonction de barrière intestinale car ces cellules sont productrices du mucus qui protège l'épithélium contre l'adhérence et l'invasion par les agents pathogènes (McGuckin *et al.*, 2011). Cette altération, ainsi que celles révélées par les analyses histologiques, pourraient expliquer que, par un mécanisme de compensation, les cellules intestinales accroissent la production d'ARN messagers codant pour les mucines ou certaines protéines des jonctions serrées comme nous l'avons observé.

L'intestin joue également un rôle crucial dans la défense de l'organisme contre les agents pathogènes (Ramiro-Puig *et al.*, 2008). Pour assurer ces fonctions, les cellules intestinales expriment des récepteurs, les Toll Like Receptors, qui se lient spécifiquement à des motifs moléculaires associés aux pathogènes et partagés par divers micro-organismes (Gourbeyre *et al.*, 2015). Ils sont des médiateurs clés pour induire une réponse inflammatoire par l'activation du facteur nucléaire kappa B (NFkB) qui induit l'expression de gènes codant pour des cytokines inflammatoires. Dans cette étude, nous avons montré que les niveaux d'expression de plusieurs TLR et cytokines sont négativement régulés par l'exposition aux alcaloïdes. Par conséquent, on peut émettre l'hypothèse que l'ingestion d'alcaloïdes de l'ergot va entraîner une tolérance réduite vis-à-vis de la microflore commensale et réduire la capacité de l'organisme à induire une réponse inflammatoire contre les agents pathogènes, ce qui pourrait augmenter la sensibilité aux infections (Kumar *et al.*, 2011).

CONCLUSION

La contamination des céréales par les alcaloïdes de l'ergot est en augmentation dans les pays de l'hémisphère Nord et est une source de préoccupation pour la santé humaine et animale. Cette étude visait à évaluer l'effet de deux doses d'alcaloïdes de l'ergot dont une très proche de la réglementation européenne pour l'alimentation animale. Nous avons démontré que les alcaloïdes réduisent les performances des porcs et en absence de signes cliniques majeurs, altèrent l'épithélium intestinal et réduisent le nombre de cellules caliciformes. Ils modulent l'expression des gènes impliqués dans la fonction de barrière et la réponse immunitaire. Ces résultats suggèrent que l'ingestion d'aliments contaminés, au-delà de la diminution des performances, peut prédisposer les animaux à des infections par des agents pathogènes entériques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Andersen C.L., Jensen J.L., Orntoft T.F., 2004. Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. *Cancer Res.*, 64, 5245-5250.
- Arce C., Ramirez-Boo M., Lucena C., Garrido J.J., 2010. Innate immune activation of swine intestinal epithelial cell lines (IPEC-J2 and IPI-2I) in response to LPS from *Salmonella typhimurium*. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 33, 161-174.
- Bracarense A.P., Luciolli J., Grenier B., Drociunas Pacheco G., Moll W.D., Schatzmayr G., Oswald I.P., 2012. Chronic ingestion of deoxynivalenol and fumonisin, alone or in interaction, induces morphological and immunological changes in the intestine of piglets. *Br. J. Nutr.*, 107, 1776-1786.
- Cano P.M., Seeboth J., Meurens F., Cognie J., Abrami R., Oswald I.P., Guzylack-Piriou L., 2013. Deoxynivalenol as a new factor in the persistence of intestinal inflammatory diseases: an emerging hypothesis through possible modulation of Th17-mediated response. *PLoS One*, 8, e53647.
- Canty M.J., Fogarty U., Sheridan M.K., Ensley S.M., Schrunk D.E., More S.J., 2014. Ergot alkaloid intoxication in perennial ryegrass (*Lolium perenne*): an emerging animal health concern in Ireland? *Ir. Vet. J.*, 67, 21.
- Danicke S., Diers S., 2013. Effects of ergot alkaloids on liver function of piglets as evaluated by the (13)C-methacetin and (13)C-alpha-ketoisocaproic acid breath test. *Toxins (Basel)*, 5, 139-161.
- Di Mavungu J.D., Malysheva S.V., Sanders M., Larionova D., Robbens J., Dubrueld P., Van Peteghem C., De Saeger S., 2012. Development and validation of a new LC-MS/MS method for the simultaneous determination of six major ergot alkaloids and their corresponding epimers. Application to some food and feed commodities. *Food. Chem.*, 135, 292-303.
- EFSA, 2012. Scientific opinion on ergot alkaloids in food and feed. *The EFSA Journal*, 10, 2798.
- European-Union, 2002. Directive 2002/32/EC Official Journal of the European Union, Publications Office of the European Union, Luxembourg.
- Gourbeyre P., Berri M., Lippi Y., Meurens F., Vincent-Naulleau S., Laffitte J., Rogel-Gaillard C., Pinton P., Oswald I.P., 2015. Pattern recognition receptors in the gut: analysis of their expression along the intestinal tract and the crypt/villus axis. *Physiol. Rep.*, 3 no. e12225.
- Klotz J.L., 2015. Activities and Effects of Ergot Alkaloids on Livestock Physiology and Production. *Toxins (Basel)*, 7, 2801-2821.
- Korn A.K., Gross M., Usleber E., Thom N., Kohler K., Erhardt G., 2014. Dietary ergot alkaloids as a possible cause of tail necrosis in rabbits. *Mycotoxin Res.*, 30, 241-250.
- Kraska R., Crews C., 2008. Significance, chemistry and determination of ergot alkaloids: a review. *Food. Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk. Assess.*, 25, 722-731.
- Kumar H., Kawai T., Akira S., 2011. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int. Rev. Immunol.*, 30, 16-34.
- Mainka S., Danicke S., Bohme H., Ueberschar K.H., Liebert F., 2007. On the composition of ergot and the effects of feeding two different ergot sources on piglets. *Animal Feed Sci. Tech.*, 139, 52-68.
- Mainka S., Danicke S., Bohme H., Ueberschar K.H., Polten S., Huther L., 2005. The influence of ergot-contaminated feed on growth and slaughtering performance, nutrient digestibility and carry over of ergot alkaloids in growing-finishing pigs. *Arch. Anim. Nutr.*, 59, 377-395.
- Métayer J.P., Callu P., Pinton P., Oswald P.I., 2015. Impact de la masse d'ergot et de la teneur en alcaloïdes dans l'aliment sur les performances de croissance du porcelet sevré. *Journées Rech. Porcine*, 47, 111-112.
- McGuckin M.A., Linden S.K., Sutton P., Florin T.H., 2011. Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nat. Rev Microbiol.*, 9, 265-278.
- Pinton P., Graziani F., Pujol A., Nicoletti C., Paris O., Ernouf P., Pasquale E.D., Perrier J., Oswald I.P., Maresca M., 2015. Deoxynivalenol inhibits the expression by goblet cells of intestinal mucins through a PKR and MAP kinase-dependent repression of the resistin-like molecule beta. *Mol. Nutr. Food Res.*, 59, 1076-1087.
- Ramiro-Puig E., Perez-Cano F.J., Castellote C., Franch A., Castell M., 2008. [The bowel: a key component of the immune system]. *Rev. Esp. Enferm. Dig.*, 100, 29-34.
- Scott P.M., 2009. Ergot alkaloids: extent of human and animal exposure. *World Mycotoxin Journal* 2, 141-149.
- Spiller R., 2007. Recent advances in understanding the role of serotonin in gastrointestinal motility in functional bowel disorders: alterations in 5-HT signalling and metabolism in human disease. *Neurogastroenterol.Motil.*, 19 Suppl 2, 25-31.
- Strickland J.R., Loofer M.L., Matthews J.C., Rosenkrans C.F., Jr., Flythe M.D., Brown K.R., 2011. Board-invited review: St. Anthony's Fire in livestock: causes, mechanisms, and potential solutions. *J. Anim.Sci.*, 89, 1603-1626.
- Tittlemier S.A., Drul D., Roscoe M., McKendry T., 2015. Occurrence of Ergot and Ergot Alkaloids in Western Canadian Wheat and Other Cereals. *J. Agric. Food Chem.*, 63, 6644-6650.