

Impact d'expositions courtes et répétées au déoxynivalénol sur les performances et la composition microbienne fécale du porc en finition

Mathilde LE SCIELLOUR (1), Aira-Maye SERVIENTO (1), Olivier ZEMB (2), David RENAUDEAU (1)

(1) PEGASE, INRAE, Agrocampus Ouest, 35590 Saint-Gilles, France

(2) GenPhySE, INRAE, INPT, ENVT, Université de Toulouse, 31320 Castanet Tolosan, France

david.renaudeau@inrae.fr

Etude réalisée et financée dans le cadre du projet européen Feed-a-Genie (programme H2020 de l'Union Européenne, numéro d'agrément 633531)

Impact d'expositions courtes et répétées au déoxynivalénol sur les performances et la composition microbienne fécale du porc en finition

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact d'expositions courtes et répétées à un aliment naturellement contaminé avec des mycotoxines et notamment de la déoxynivalénol (DON) sur les performances et la composition microbienne fécale de porcs en finition. Au total, 160 porcs issus de deux bandes successives ont été répartis aléatoirement entre quatre traitements expérimentaux. Le groupe témoin a reçu un aliment finition standard (non contaminé) entre 99 et 154 jours d'âge. Les groupes expérimentaux ont reçu un aliment formulé à partir de maïs naturellement contaminé par DON (3,02 mg DON/kg) pendant 7 jours à partir de 113, 134 et à partir à la fois de 113 et 134 jours. Une exposition à DON a entraîné une réduction de l'ingéré (1,90 vs 2,64 kg/j suite à la première période d'exposition et 2,27 vs 3,27 kg/j suite à la deuxième période d'exposition, $P < 0,05$). Il en résulte une diminution du gain de poids mesuré sur l'ensemble de la période de test (0,94 kg/j vs 1,05 kg/j, $P < 0,05$). La composition du microbiote a été analysée par séquençage du gène de l'ARN 16S dans des fèces collectées à 99, 119, 140 et 154 jours d'âge. Une exposition à DON entraîne une modification temporaire de la composition microbienne et des fonctions bactériennes, notamment celles associées à la dégradation de DON dans le tube digestif. Après une période de récupération de 2 semaines, aucune différence n'est observée entre les animaux exposés et les témoins suggérant une forte résilience du microbiote suite à une perturbation liée à l'ingestion d'un aliment contaminé.

Impact of acute and repeated exposure to deoxynivalenol on the performance and fecal microbiota composition of finishing pigs

The objective of this study was to evaluate the impact of acute and repeated exposure to a diet naturally contaminated with mycotoxins (deoxynivalenol, DON) on the performance and fecal microbiota composition of finishing pigs. In total, 160 pigs raised in two successive batches were randomly distributed between four experimental groups. The control group received a standard finishing diet (uncontaminated) from 99 to 154 days of age. The experimental groups were fed a diet formulated with naturally DON-contaminated maize (3.02 mg DON/kg) for 7 days beginning on 113, 134, or both 113 and 134 days of age. Microbiota composition was analyzed using 16S rRNA sequencing applied to fecal samples collected at 99, 119, 140, and 154 days of age. DON exposure decreased daily feed intake (1.90 vs 2.64 kg/d following the first challenge period, 2.27 vs 3.27 kg/d following the second challenge period, $P < 0.05$). This resulted in a decrease in average daily gain measured over the entire experiment (0.94 vs 1.05 kg/d, $P < 0.05$). The DON challenge resulted in short-term modification of microbiota composition and bacterial functions, particularly those related to DON detoxification in the intestinal tract. After a 2-week recovery period, no difference in microbiota composition was observed between control and challenged pigs, suggesting resilience of the microbiota after perturbation caused by ingestion of a contaminated diet.

INTRODUCTION

Le déoxynivalénol (DON) est une mycotoxine produite par *Fusarium* spp., un champignon contaminant entre 50 et 60% des cultures de blé ou de maïs (Schatzmayr et Streit, 2013). Compte tenu de la part importante des céréales dans son alimentation (40-60%), le porc est assez fréquemment exposé à cette mycotoxine. L'ingestion de DON entraîne des dommages au niveau des cellules épithéliales intestinales, une réponse inflammatoire, une détérioration de la santé et l'apparition de diarrhées (Bouhet et Oswald, 2005 ; Sobrova *et al.*, 2010). Ces perturbations peuvent provoquer une réduction des performances des porcs souvent causée par une forte diminution de l'ingestion alimentaire.

Suite à une ingestion chronique de DON, des modifications de la composition du microbiote sont décrites par Waché *et al.* (2008). Cependant, aucune étude n'a actuellement analysé l'impact à court ou long terme d'expositions courtes à DON sur la composition microbienne fécale de porcs pendant la période de finition. De plus, diverses études *in vitro* ont montré que le microbiote participe à la dégradation de DON dans le tube digestif de son hôte (Robert *et al.*, 2017 ; Eriksen *et al.*, 2002). Le microbiote pourrait donc aider l'hôte à mieux tolérer les effets de DON.

Cette étude cherche à décrire les impacts d'expositions courtes et répétées à un aliment naturellement contaminé avec des mycotoxines, notamment DON, sur les performances et la composition microbienne fécale de porcs en finition.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Animaux et protocole expérimental

Un total de 160 porcs mâles castrés et femelles croisés Piétrain x (Large White x Landrace) répartis sur deux bandes consécutives ont été élevés à l'Unité Expérimentale Porcs de Rennes située à Saint-Gilles (35). Quatre groupes expérimentaux ont été constitués de manière aléatoire en répartissant les sexes et les portées d'origine dans chaque groupe. Le groupe témoin (CC) a reçu un aliment de finition conventionnel entre 99 et 154 jours d'âge (Tableau 1). Cet aliment a été formulé à partir de maïs très faiblement contaminé par DON (0,14 mg/kg d'aliment). Les groupes DC, CD et DD ont reçu durant 7 jours un aliment contaminé par DON (3,02 mg/kg) (Tableau 1) à des périodes différentes (à partir de 113 ou 134 jours et à la fois à partir de 113 et 134 jours d'âge ; Figure 1). Hors de ces périodes de challenge, les porcs ont reçu l'aliment conventionnel de finition.

Tableau 1 – Composition des régimes expérimentaux

Régime	Témoin	Contaminé
Ingrédients, %		
Maïs	75,00	-
Maïs contaminé par DON ¹	-	75,00
Son de blé	1,54	1,64
Tourteau de soja	18,10	18,00
Mélasses	2,00	2,00
Autre	3,36	3,36
Composition nutritionnelle calculée		
Lysine digestible, g/MJ EN	0,8	0,8
Protéines brutes, %	14,2	14,1
Energie nette (EN), MJ/kg	10,7	10,7

¹4,8 mg déoxynivalénol (DON) par kg de maïs.

Tous les porcs étaient élevés dans une même salle d'expérimentation. Cette salle était équipée d'automates de pesée et d'alimentation permettant une pesée des animaux à chaque passage et un suivi précis de la consommation journalière. Les automates étaient calibrés chaque semaine. En périodes de challenge, la salle était divisée en deux afin d'empêcher les porcs témoins d'avoir accès à l'aliment contaminé et d'éviter une contamination croisée par les fèces entre les porcs témoins et challengés.

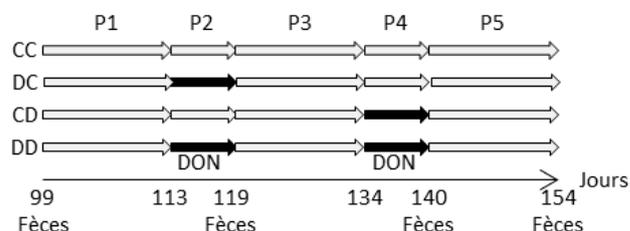


Figure 1 – Protocole expérimental¹

¹Les porcs ont reçu un aliment finition standard durant toute la période d'essai excepté pour les groupes DC, CD et DD ayant reçu un aliment contaminé par du déoxynivalénol (DON) respectivement durant les périodes P2, P4 et à la fois P2 et P4.

Afin de limiter les temps de collecte, des échantillons de fèces ont été prélevés dans le rectum uniquement chez les porcs femelles à 99, 119, 140 et 154 jours. Les échantillons ont été immédiatement congelés dans de l'azote liquide puis stockés à -80°C en vue d'un séquençage de l'ADN. Au total, 277 échantillons de fèces ont été collectés. Lors de la collecte, notamment en période de challenge où les animaux ont pu présenter une diarrhée sévère, certains prélèvements n'ont pas pu être réalisés.

1.2. Séquençage ADN

A partir de 50 mg de fèces, l'ADN a été extrait à l'aide du kit ZR-96 Soil Microbe DNA kit (Zymo Research, Irvine, CA, USA) suivant les instructions du fabricant (Frese *et al.*, 2015). La région variable V3-V4 du gène de l'ARN 16S a été amplifiée par PCR en utilisant les amorces F460 et R460. Le séquençage de cette région du gène a été réalisé sur une plateforme Illumina MiSeq au centre GeT-PlaGE (Toulouse, France). Après suppression des séquences chimères à l'aide du logiciel VSEARCH (Rognes *et al.*, 2016), les séquences ont été regroupées *de novo* par unité taxonomique opérationnelle (OTU) lorsqu'elles présentaient plus de 97% de similarité. L'assignation taxonomique des OTU a été réalisée à l'aide de la base de données SILVA (Quast *et al.*, 2013) via le logiciel Usearch. La procédure PICRUST a été utilisée pour déterminer les fonctions bactériennes à partir des séquences de l'ARN 16S.

1.3. Calculs et analyses statistiques

La consommation moyenne journalière (CMJ) et le gain de poids moyen quotidien (GMQ) sont calculés entre 99 et 154 jours d'âge à partir des données collectées quotidiennement. La moyenne par lot des CMJ et des GMQ est établie pour chaque période (P1 à P5).

L'impact de l'ingestion de mycotoxines sur les performances (CMJ et GMQ moyens) est déterminé par ANOVA en utilisant une procédure MIXED (SAS Inst. Inc., Cary, NC) prenant en compte les effets du groupe expérimental (CC, CD, DC ou DD), du sexe (mâle castré ou femelle), de la bande (n = 2), de la période (n = 5) et de l'interaction groupe x période. Le poids vif à 99 jours est ajouté en covariable. L'unité expérimentale est

le porc. Les estimations moyennes des moindres carrés entre les groupes expérimentaux et pour chaque période sont comparées à l'aide de tests de Tukey (seuil de significativité fixé à $P < 0,05$).

Toutes les analyses statistiques liées au microbiote sont réalisées à l'aide du logiciel R 3.5.1. A partir des données d'OTU raréfiées à 15 924 séquences par échantillon, le nombre d'OTU et l'indice de Shannon établis à l'aide du paquet Phyloseq permettent d'étudier la diversité microbienne de chaque échantillon. La structure générale des communautés microbiennes inter- et intra-groupe expérimental est étudiée sur la base d'une matrice de Bray-Curtis et représentée dans un positionnement multidimensionnel non-métrique (nMDS). Un analogue multivarié du test de Levene permet de vérifier l'homogénéité des variances intra-groupes. Ensuite, une comparaison de la composition microbienne suivant le groupe expérimental et l'âge est réalisée par analyse de variance avec permutation (PERMANOVA) appliquée aux distances Bray-Curtis entre les échantillons. Après 999 permutations, deux groupes sont considérés significativement différents si la P -value corrigée pour les tests multiples (méthode de Benjamin-Hochberg, P_{FDR}) est inférieure à 0,05.

Dans un second temps, l'impact d'un challenge DON sur l'abondance relative du microbiote à l'échelle du phylum, de la famille ou du genre est évalué à l'aide de tests non paramétriques de Wilcoxon. Ces tests comparent les groupes témoins et challengés à 99, 119, 140 et 154 jours.

A l'échelle des OTU, des modèles linéaires généralisés comparent l'abondance relative des OTU entre le groupe CC et les groupes challengés à chaque âge. Cette méthode permet de prendre en compte un effet de la bande. Une OTU est considérée significativement différente si $P_{FDR} < 0,05$. De même, l'impact d'un challenge DON sur l'abondance des fonctions bactériennes est analysé par GLM.

2. RESULTATS

2.1. Performances des porcs

Le poids vif à 99 jours d'âge est en moyenne de 54,8 kg, sans différence significative entre les groupes expérimentaux ($P = 0,67$).

Lors du premier challenge (période P2), les porcs ayant reçu l'aliment contaminé par DON montrent une diminution de la CMJ et du GMQ par rapport aux animaux non challengés ($P < 0,05$) (Figure 2). Lors de la période de récupération (P3), aucune différence significative de CMJ n'est observée entre les animaux des différents groupes expérimentaux. Cependant, les animaux du groupe DD présentent un GMQ plus élevé comparé aux animaux des groupes non challengés CC et CD ($P < 0,05$). En période P4, les animaux des groupes CD et DD montrent une réduction de la CMJ et du GMQ, comparés aux animaux non challengés (CC et CD). La réduction de l'ingéré dans le groupe DD est équivalente lors du premier et du deuxième challenge. Cependant, le GMQ des porcs du groupe CD est plus faible que celui des porcs du groupe DD ayant préalablement été exposés à un premier challenge ($P < 0,05$). Lors de la dernière période de récupération (P5), la croissance des animaux ayant été exposés deux fois à DON (groupe DD) est plus élevée que celles des animaux des groupes CC et DC ($P < 0,05$). A ce stade, les animaux du groupe DD présentent également une CMJ plus élevée, comparés aux groupes CC et DC ($P < 0,05$). Le groupe CD présente un GMQ et une CMJ

intermédiaire entre le groupe DD et les groupes CC et DC. Durant les périodes de récupération P3 et P5, l'analyse des données quotidiennes d'alimentation montre que les animaux challengés ont une CMJ plus élevée que les animaux non challengés à partir du quatrième jour après la fin de l'exposition à DON ($P < 0,05$).

Le GMQ moyen calculé sur la totalité de l'essai est similaire entre tous les animaux challengés ($P > 0,05$) et inférieur chez les animaux challengés par rapport aux animaux témoins (0,94 vs 1,05 kg/j, $P < 0,05$). La CMJ moyenne calculée sur la totalité de l'essai est inférieure chez les animaux challengés en P4 par rapport aux animaux témoins et à ceux challengés en P2 uniquement (2,62 vs 2,83, $P < 0,05$).

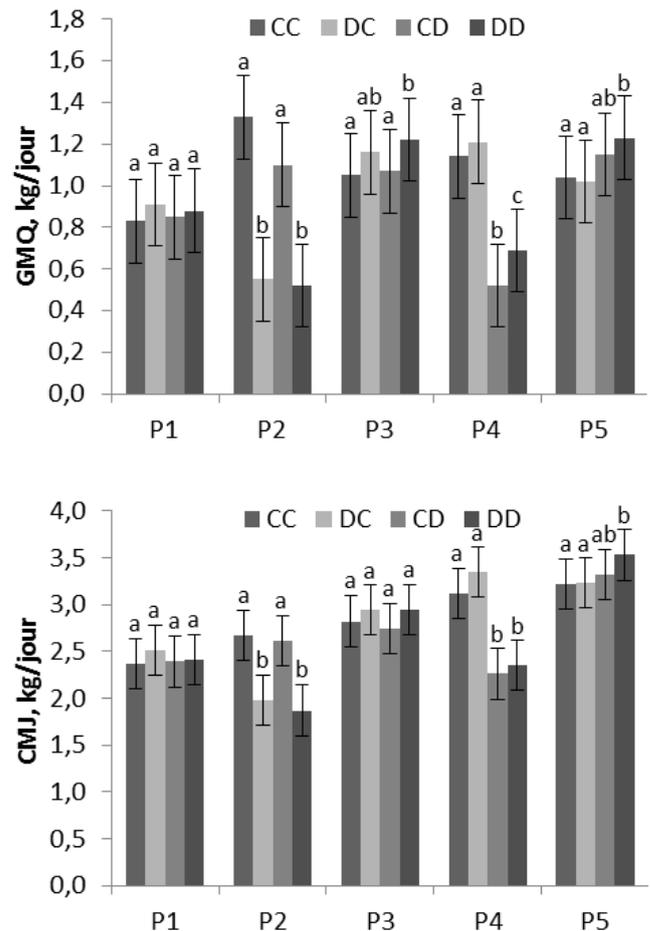


Figure 2 – Effet du groupe expérimental et de la période¹ (P1 à P5 entre 99 et 154 jours d'âge) sur le gain de poids (GMQ) et la consommation alimentaire (CMJ) (moyenne \pm écart-type résiduel)

¹Le groupe témoin (CC, $n = 39$) a reçu un aliment conventionnel de finition. Les groupes DC ($n = 39$), CD ($n = 38$) et DD ($n = 39$) ont reçu, respectivement, un aliment contaminé par du déoxyvalénol entre 113 et 119 jours (P2), 134 et 140 jours (P4) et aux deux périodes P2 et P4. Hors de ces périodes de challenge, les porcs ont reçu l'aliment conventionnel de finition. Des lettres différentes indiquent une différence intra-période significative ($P < 0,05$) entre les groupes.

2.2. Composition du microbiote

Les échantillons fécaux contiennent entre 15 924 et 76 582 séquences bactériennes ($29 482 \pm 11 282$ séquences en moyenne). A 99 jours d'âge, $3 649 \pm 364$ OTU différentes sont identifiées à partir de ces séquences et l'indice de Shannon est égal à $7,13 \pm 0,16$. Quel que soit l'âge, l'exposition à DON n'impacte pas la diversité bactérienne évaluée à partir de la richesse en OTU et l'indice de Shannon ($P > 0,05$).

En début d'essai, les groupes expérimentaux présentent une composition microbienne fécale similaire ($P_{FDR} > 0,52$) (Figure 3 et Tableau 2). A la fin du premier challenge, la composition des groupes challengés tend à être différente de celles des groupes non challengés ($P_{FDR} = 0,07$). A la fin du deuxième challenge, la composition microbienne des groupes challengés diffère de celle des groupes non challengés ($P_{FDR} = 0,01$). Après deux semaines de récupération, à 154 jours d'âge, tous les groupes expérimentaux présentent la même composition microbienne globale ($P_{FDR} = 0,99$).

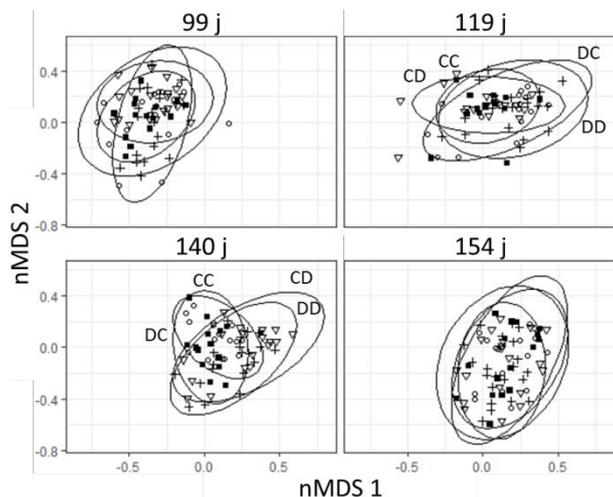


Figure 3 – Positionnement multidimensionnel non-métrique¹ (nMDS) représentant la distance Bray-Curtis entre les échantillons de microbiote suivant le groupe² et l'âge des porcs

¹Les ellipses de confiance regroupent les échantillons des groupes témoin (CC ■) et expérimentaux (DC ○, CD ▽ et DD †).

²Voir Figure 2 pour la définition des groupes.

Tableau 2 – Résultats de comparaison de la composition microbienne fécale de porcs suivant le groupe expérimental¹ et l'âge par analyse de variance avec permutation appliquée aux distances Bray-Curtis entre les échantillons

Age (jours)	Effectifs	P_{FDR} ²				
		CD vs CC	CD vs CC	DD vs CC	DC vs DD	CD vs DD
99	71	0,52	0,52	0,68	0,71	0,52
119	66	0,07	0,82	0,07	0,58	0,06
140	68	0,49	0,01	0,01	0,01	0,39
154	72	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99

¹Voir Figure 1. ²La P-value est ajustée pour les tests multiples par la méthode de Benjamin-Hochberg.

A l'échelle des phyla, les *Firmicutes* représentent 80,10% des séquences, les *Bacteroidetes* en représentent 15,37%. Les *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *Tenericutes* et *Fibrobacteres* sont représentés par moins de 1% des séquences. L'exposition à DON en période P2 tend à diminuer la proportion de *Firmicutes* (76,80 vs 79,22%, $P = 0,07$) sans impacter les proportions des *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* ou *Spirochaetes* observées à 119 jours d'âge. Suite à la deuxième période de challenge (période P4), les animaux challengés (CD et DD) présentent une plus forte proportion d'*Actinobacteria* (0,25 vs 0,17%, $P < 0,01$) et de *Spirochaetes* (0,79 vs 0,60%, $P < 0,05$) et tendent à présenter une plus faible proportion de *Proteobacteria* (0,40 vs 0,46%, $P = 0,06$). La proportion des autres phyla n'est pas impactée. Après deux semaines de récupération, aucun effet du groupe expérimental sur la proportion des phyla n'est observé. A l'échelle de familles bactériennes, l'exposition à DON en

période P2 ou P4 augmente l'abondance relative des *Erysipelotrichaceae* et diminue les abondances relatives des *Ruminococcaceae*, *Streptococcaceae* et *Veillonellaceae* ($P < 0,05$) (Tableau 3). A l'échelle des genres bactériens, l'abondance relative de 11 genres est impactée par l'exposition à DON en période P2, parmi lesquels *Dialister*, *Mitsuokella*, *Streptococcus* et *Turicibacter* (respectivement : 0,12 vs 0,63% ; 0,03 vs 0,15% ; 5,29 vs 9,86% et 1,55 vs 0,90% chez les porcs challengés et témoins ; $P < 0,001$). Celle des *Bacteroides* est réduite chez les animaux challengés en période P4, comparés aux animaux non challengés ($P < 0,05$).

Tableau 3 – Abondance relative (%) des familles bactériennes dans les échantillons de fèces de porc collectés à 119 et 140 jours d'âge après ingestion durant 7 jours d'un aliment contaminé par du déoxynivalénol (animaux challengés) ou d'un aliment conventionnel (animaux témoins).

	Témoins	Challengés	P^1
Effectif prélevé			
A 119 jours	31	35	
A 140 jours	34	37	
Abondance à 119 jours, %			
<i>Erysipelotrichaceae</i>	0,98	1,61	< 0,001
<i>Peptostreptococcaceae</i>	0,14	0,19	< 0,05
<i>Ruminococcaceae</i>	2,78	2,36	< 0,05
<i>Streptococcaceae</i>	9,86	5,29	< 0,001
<i>Veillonellaceae</i>	0,88	0,27	< 0,001
Abondance à 140 jours, %			
<i>Desulfovibrionaceae</i>	0,07	0,10	< 0,01
<i>Erysipelotrichaceae</i>	1,23	1,90	< 0,05
<i>Lachnospiraceae</i>	5,45	4,35	< 0,05
<i>Prevotellaceae</i>	5,49	2,74	< 0,01
<i>Ruminococcaceae</i>	2,53	1,76	< 0,01
<i>Streptococcaceae</i>	9,60	5,49	< 0,001
<i>Veillonellaceae</i>	0,36	0,13	< 0,01

¹La P-value est issue de tests de Wilcoxon.

L'analyse de l'impact d'une exposition à DON sur l'abondance relative à l'échelle des OTU est réalisée sur les OTU représentant plus de 0,01% du nombre total de séquences, c'est-à-dire sur 1 556 OTU. Avant les challenges (à 99 jours d'âge) et après 2 semaines de récupération (à 154 jours), les abondances des OTU entre les porcs du groupe CC et ceux des groupes DC, CD ou DD sont similaires. A 119 jours, 148 OTU diffèrent entre CC et DC et six entre CC et DD. A 140 jours, 15 OTU diffèrent entre CC et CD et 32 entre CC et DD. De plus, à 140 jours, entre les porcs CD et DD (challengés une ou deux fois), seuls deux OTU diffèrent sur les 1 556 du jeu de données. Une représentation graphique de la variation d'abondance de trois OTU impactées par une exposition en périodes P2 (OTU1), P4 (OTU3) ou à la fois P2 et P4 (OTU2) est présentée dans la figure 4.

Etant donné que l'abondance de certaines OTU est modifiée à 119 et 140 jours d'après l'analyse précédente, l'effet du groupe est testé sur les fonctions bactériennes à ces âges. A 119 et à 140 jours, respectivement quatre et 19 fonctions diffèrent significativement entre les animaux challengés et non challengés ($P_{FDR} < 0,05$). Les fonctions associées au métabolisme des xénobiotiques et des composés médicamenteux par le cytochrome P450 sont 1,3 fois plus abondantes en cas d'exposition à DON, la fonction d'absorption et digestion des glucides est 1,3 fois plus représentée en situation témoin.

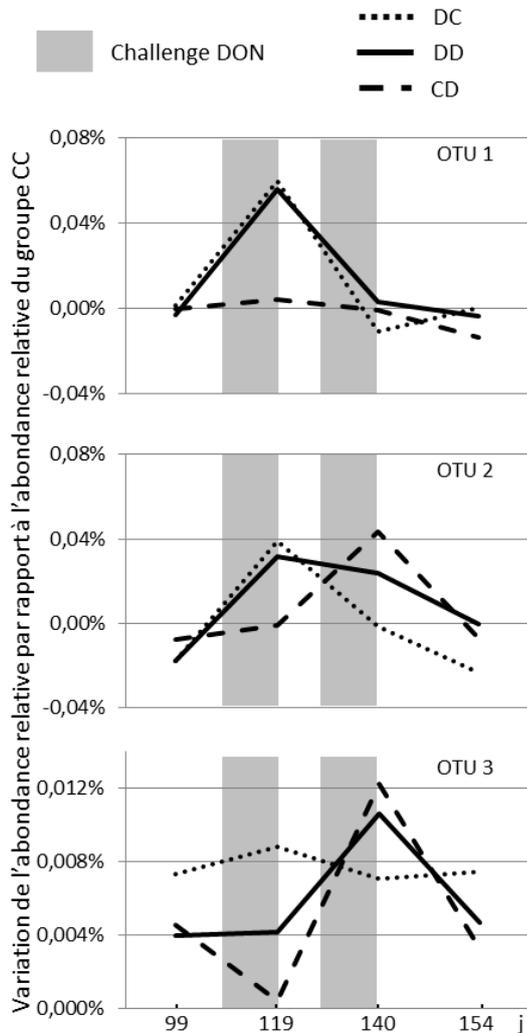


Figure 4 – Variation des abondances relatives¹ d'OTU impactées par un challenge au déoxynivalénol (DON)

¹L'abondance relative de chaque OTU dans le groupe témoin (CC) a servi de référence pour le calcul des variations d'abondances relatives au sein des groupes expérimentaux (voir Figure 2).

3. DISCUSSION

Les effets des challenges DON sur les performances et le comportement des animaux sont discutés en détail par Serviento *et al.* (2018). Dans notre étude, la CMJ des animaux exposés à la mycotoxine est réduite entre 26 et 32% suivant l'âge en comparaison avec les animaux témoins. Des résultats similaires sont obtenus par méta-analyse montrant une réduction de 26% de la CMJ (Andretta *et al.*, 2012). L'ingestion de DON détériore la santé du tube digestif provoquant des diarrhées et une réduction de la CMJ. La réduction de l'ingestion pourrait aussi résulter d'une action de DON sur le système nerveux central qui entraînerait une réduction de l'appétit (Prelusky, 1993 ; Bonnet *et al.*, 2012) ou directement d'une action au niveau du tube digestif qui conduirait à la sécrétion d'hormones de la satiété par les cellules endocrines (Zhou et Pestka, 2015).

La répétition du challenge DON n'impacte pas différemment la CMJ des porcs lors du deuxième challenge dans le groupe DD. Ceci pourrait être en partie lié à la concentration en DON utilisée dans notre étude. En effet, chez des souris, une forte dose de DON (> 5 mg ingéré/kg poids vif, ce qui équivaudrait à 9 mg/j pour des porcs de 100kg) peut entraîner une habitude visible par une CMJ plus élevée lors d'une seconde

exposition, mais cette habitude n'est pas observée pour des doses plus faibles (Flannery *et al.*, 2011). De même qu'aucun phénomène d'habitude n'est observé concernant l'ingestion des porcs, il ne semble pas que la composition microbienne soit soumise à ce phénomène. En effet, lors de la deuxième période de challenge, les porcs exposés pour la première (groupe CD) ou la seconde fois (DD) présentent une composition microbienne similaire.

En périodes de récupération (P3 et P5), les porcs challengés présentent un GMQ qui tend à être ou est significativement supérieur aux porcs non challengés. Il semblerait qu'une croissance compensatrice se mette en place lors de l'arrêt du challenge. Cette compensation est retrouvée quel que soit l'âge lors du challenge. Cependant, cette croissance plus rapide sur deux semaines n'est pas suffisante pour compenser totalement le retard de croissance induit par le challenge. Il a ainsi été montré par Friend *et al.* (1986) que des porcs exposés à DON mettent plus de temps à atteindre leur poids de commercialisation par rapport à des animaux n'ayant pas subi cette perturbation.

L'impact d'une exposition à DON sur l'abondance relative bactérienne diffère selon l'âge des animaux. Les phyla, les genres ou les fonctions bactériennes significativement affectés par DON varient entre 119 et 140 jours d'âge. Bien que certaines familles soient systématiquement impactées en période de challenge à 119 et 140 jours d'âge dans notre étude, celles-ci ne sont pas modifiées chez des porcs mâles castrés de 9 semaines d'âge exposés pendant 4 semaines à DON dans l'essai de Reddy *et al.* (2018). Les écarts entre ces deux études peuvent s'expliquer par une différence d'âge, suggérant un effet âge-dépendant de l'impact de DON, et une différence de sexe. L'interaction entre l'effet DON et le sexe sur la modification de la composition bactérienne reste cependant à confirmer.

Les mycotoxines ingérées par le porc sont en partie absorbées au niveau de l'intestin grêle. Ainsi, entre 45 et 95% de la DON ingérée sont éliminés dans les urines sans avoir été en contact ou transformé par le microbiote dans le gros intestin (Eriksen *et al.*, 2002 ; Nagl *et al.*, 2014). Ceci pourrait expliquer en partie l'impact réduit d'un challenge court aux mycotoxines sur la composition microbienne fécale observé dans le cadre de notre étude. En effet, nous montrons que les abondances de moins de 10% des OTU sont impactées par le challenge ce qui est faible par rapport à l'impact d'autres facteurs alimentaires (ex : régime riche en fibres) pouvant impacter jusqu'à 80% des OTU (Le Sciellour *et al.*, 2018). De plus, dans une précédente étude chez des porcs de 9 semaines d'âge, aucune différence de composition microbienne n'est montrée après une semaine de challenge DON (Waché *et al.*, 2008). L'une des différences entre les études est la concentration en DON, un peu plus élevée dans notre étude (3,02 vs 2,80 mg/kg), ce qui pourrait suggérer un effet dose-dépendant d'un challenge DON sur la composition microbienne. Cet effet dose semble aussi impacter les performances des porcs. En effet, Waché *et al.* (2008) ont montré que les porcs récupèrent entièrement leurs performances après une semaine d'exposition à un aliment naturellement contaminé par DON à une concentration de 2,8 mg/kg. Cependant il a été montré que, dans le cas d'une concentration supérieure à 3,1 mg/kg, les porcs récupèrent des performances normales 5 semaines après un challenge chronique à DON (Cote *et al.*, 1985). Sur la base des profils de consommation journalière de notre étude, les porcs ont commencé à s'adapter au régime alimentaire

contaminé par DON dans les trois jours suivant le début du challenge mais après une semaine, leurs performances sont dégradées par rapport au témoin. D'après les résultats obtenus sur les performances et la composition microbienne, nous pouvons supposer qu'une cinétique d'adaptation similaire aux performances est suivie par le microbiote. Par conséquent, l'absence d'effet très marqué du challenge sur le microbiote pourrait signifier qu'une grande partie des adaptations au niveau du microbiote a lieu après sept jours d'exposition à DON. Cependant, après deux semaines de récupération, la composition bactérienne des animaux challengés ne diffère plus de celle des animaux témoins. Ce résultat semble indiquer que la composition du microbiote est très résiliente suite à une exposition temporaire à DON.

D'un point de vue fonctionnel, les fonctions bactériennes relatives à la digestion sont réduites lors du challenge. De plus, les fonctions microbiennes de dégradation et de métabolisme des xénobiotiques sont plus représentées lors d'un challenge DON. Il semblerait que le microbiote participe à la restauration d'une bonne santé digestive dans le cas d'une exposition aux mycotoxines ce qui permettrait de faciliter un retour à des niveaux d'alimentation et de croissance normaux. La capacité

de détoxification de composés étrangers à l'hôte par son microbiote est ainsi retrouvée chez le poulet (Yu *et al.*, 2010 ; Pierron *et al.*, 2016) et chez le porc (Eriksen *et al.*, 2002 ; Gratz *et al.*, 2018).

CONCLUSION

Cette étude confirme les effets négatifs de l'ingestion de DON sur la consommation alimentaire et la croissance des porcs en période de finition. Une modification transitoire de la composition microbienne est aussi observée. Cependant, aucun phénomène d'habituation n'est mis en évidence lors d'une seconde exposition à DON tant au niveau des performances que de la composition microbienne. A moyen terme, le microbiote semble résilient mais les porcs challengés conservent un retard de croissance.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le personnel de l'UMR PEGASE, de l'UEPR et de l'UMR GenPhySE pour le suivi des animaux, les collectes d'échantillons et pour les analyses en laboratoire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Andretta I., Kipper M., Lehnen C.R., Hauschild L., Vale M.M., Lovatto P.A., 2012. Meta-analytical study of productive and nutritional interactions of mycotoxins in growing pigs. *Animal*, 6, 1476-1482.
- Bonnet M.S., Roux J., Mounien L., Dallaporta M., Troadec J.-D., 2012. Advances in deoxynivalenol toxicity mechanisms: the brain as a target. *Toxins*, 4, 1120-1138.
- Bouhet S., Oswald I.P., 2005. The effects of mycotoxins, fungal food contaminants, on the intestinal epithelial cell-derived innate immune response. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 108, 199-209.
- Cote L.M., Beasley V.R., Bratish P.M., Swanson S.P., Shivaprasad H.L., Buck W.B., 1985. Sex-related reduced weight gains in growing swine fed diets containing deoxynivalenol. *J. Anim. Sci.*, 61, 942-950.
- Eriksen G.S., Pettersson H., Johnsen K., Lindberg J.E., 2002. Transformation of trichothecenes in ileal digesta and faeces from pigs. *Arch. Tierernähr.*, 56, 263-274.
- Flannery B.M., Wu W., Pestka J.J., 2011. Characterization of deoxynivalenol-induced anorexia using mouse bioassay. *Food Chem. Toxicol.*, 49, 1863-1869.
- Frese S.A., Parker K., Calvert C.C., Mills D.A., 2015. Diet shapes the gut microbiome of pigs during nursing and weaning. *Microbiome*, 3, 28.
- Friend D.W., Trenholm H.L., Prelusky D.B., Hartin K.E., Thompson B.K., 1986. Effect of deoxynivalenol (DON)-contaminated diet fed to growing-finishing pigs on their performance at market weight, nitrogen retention and DON excretion. *Can. J. Anim. Sci.*, 66, 1075-1085.
- Gratz S.W., Currie V., Richardson A., Duncan G., Holtrop G., Farquharson F., Louis P., Pinton P., Oswald I.P., 2018. Porcine small and large intestinal microbiota rapidly hydrolyze the masked mycotoxin deoxynivalenol-3-glucoside and release deoxynivalenol in spiked batch cultures in vitro. *Appl. Environ. Microbiol.*, 84, e02106-17.
- Le Scieillour M., Labussière E., Zemb O., Renaudeau D., 2018. Effect of dietary fiber content on nutrient digestibility and fecal microbiota composition in growing-finishing pigs. *PLoS ONE*, 13, e0206159.
- Nagl V., Woechtl B., Schwartz-Zimmermann H., Hennig-Pauka I., Moll W.-D., Adam G., Berthiller F., 2014. Metabolism of the masked mycotoxin deoxynivalenol-3-glucoside in pigs. *Toxicol. Lett.*, 229, 190-197.
- Pierron A., Mimoun L.S., Loiseau N., Lippi Y., Bracarense A.-P., Schatzmayr G., He J.W., Zhou T., Moll W.-D., Oswald I.S., 2016. Microbial biotransformation of DON: molecular basis for reduced toxicity. *Sci. Rep.*, 6, 29105.
- Prelusky D.B., 1993. The effect of low-level deoxynivalenol on neurotransmitter levels measured in pig cerebral spinal fluid. *J. Environ. Sci. Health, Part B*, 28, 731-761.
- Quast C., Pruesse E., Yilmaz P., Gerken J., Schweer T., Yarza P., Peplies J., Glöckner F.O., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41, D590-D596.
- Reddy K.E., Jeong J.Y., Song J., Lee Y., Lee H.J., Kim D.W., Jung H.J., Kim K.H., Kim M., Oh Y.K., Lee S.D., Kim M., 2018. Colon microbiome of pigs fed diet contaminated with commercial purified deoxynivalenol and zearalenone. *Toxins*, 10, 347.
- Robert H., Payros D., Pinton P., Theodorou V., Mercier-Bonin M., Oswald I.P., 2017. Impact of mycotoxins on the intestine: are mucus and microbiota new targets? *J. Toxicol. Environ. Health B*, 20, 249-275.
- Rognes T., Flouri T., Nichols B., Qince C., Mahé F., 2016. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584.
- Schatzmayr G., Streit E., 2013. Global occurrence of mycotoxins in the food and feed chain: facts and figures. *World Mycotoxin J.*, 6, 213-222.
- Serviento A.M., Brossard L., Renaudeau D., 2018. An acute challenge with a deoxynivalenol-contaminated diet has short- and long-term effects on performance and feeding behavior in finishing pigs. *J. Animal Sci.*, 96, 5209-5221.
- Sobrova P., Adam V., Vasatkova A., Beklova M., Zeman L., Kizek R., 2010. Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdiscip. Toxicol.*, 3, 94-99.
- Waché Y.J., Valat C., Postollec G., Bougeard S., Burel C., Oswald I.P., Fravallo P., 2008. Impact of deoxynivalenol on the intestinal microflora of pigs. *Int. J. Mol. Sci.*, 10, 1-17.
- Yu H., Zhou T., Gong J., Young C., Su X., Li X.Z., Zhu H., Tsao R., Yang R., 2010. Isolation of deoxynivalenol-transforming bacteria from the chicken intestines using the approach of PCR-DGGE guided microbial selection. *BMC Microbiol.*, 10, 182.
- Zhou H.-R., Pestka J.J., 2015. Deoxynivalenol (vomitoxin)-induced cholecystokinin and glucagon-like peptide-1 release in the STC-1 enteroendocrine cell model is mediated by calcium-sensing receptor and transient receptor potential ankyrin-1 channel. *Toxicol. Sci.*, 145, 407-417.