

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| Résumé du mémoire | iii |
| Table des matières..... | iv |
| Liste des tableaux..... | vi |
| Liste des figures | vii |
| Remerciements | viii |
| Avant-propos | ix |
| Chapitre 1 : Introduction | 1 |
| Chapitre 2 : Revue des travaux antérieurs | 3 |
| 2.1. Les mycotoxines | 3 |
| 2.1.1. <i>Formation</i> | 3 |
| 2.1.2. <i>Les trichothécènes</i> | 4 |
| 2.2. Le désoxynivalénol..... | 6 |
| 2.2.1. <i>Molécules et dérivés.....</i> | 7 |
| 2.2.2. <i>Absorption intestinale chez le porc.....</i> | 10 |
| 2.2.3. <i>Métabolisme chez le porc.....</i> | 11 |
| 2.2.4. <i>Excrétion.....</i> | 12 |
| 2.3. Effets en élevage du DON chez le porc | 15 |
| 2.3.1. <i>Prise alimentaire et performances de croissance.....</i> | 16 |
| 2.3.2. <i>Synthèse protéique</i> | 17 |
| 2.4. Effet du DON sur le système digestif du porc | 18 |
| 2.4.1. <i>Morphologie.....</i> | 18 |
| 2.4.2. <i>Inflammation de la muqueuse intestinale</i> | 23 |
| 2.4.3. <i>Absorption des nutriments et digestibilité</i> | 25 |
| 2.5. Contrôle des mycotoxines | 30 |
| 2.5.1. <i>Produits anti-mycotoxiniques</i> | 30 |
| 2.5.2. <i>Métabisulfite de sodium (Defusion^{MC})</i> | 31 |
| 2.6. Conclusion..... | 34 |
| 2.8. Liste des ouvrages cités | 35 |
| Chapitre 3 : Effect of Deoxynivalenol (DON) and Defusion™, an Antimycotoxin Additive, on Nutrient Digestibility in Growing Pigs. | 44 |
| Résumé de l'article..... | 44 |
| Abstract..... | 45 |
| 3.1. Introduction..... | 46 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2. Material and methods | 47 |
| 3.2.1. Animals and diets | 47 |
| 3.2.2. Experimental procedures..... | 48 |
| 3.2.3. Laboratory analysis..... | 52 |
| 3.2.4. Data calculation and statistical analysis | 53 |
| 3.3. Results | 54 |
| 3.3.1. First trial – effect of barley source | 54 |
| 3.3.2. Second trial – effect of deoxynivalenol (DON) and Defusion™ additive | 57 |
| 3.4. Discussion..... | 62 |
| 3.4.1. Deoxynivalenol (DON) metabolism..... | 62 |
| 3.4.2. Nutrients digestibility..... | 63 |
| 3.5. Conclusion..... | 66 |
| 3.6. References | 67 |
| Chapitre 4: Conclusion..... | 75 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 2.1. Propriétés physico-chimiques du désoxynivalénol..... | 7 |
| Tableau 2.2. Concentrations de DON et DOM-1 dans le muscle en fonction de la quantité de DON dans l'alimentation et de la forme de l'aliment (farine ou cube) des porcs..... | 15 |
| Tableau 2.3. Performances de croissance des porcs consommant une alimentation contaminée au DON à différents niveaux pendant la période de 60 à 88 jours | 16 |
| Tableau 2.4. Performances de croissance des porcs recevant une alimentation à volonté ou restreinte, avec (+) ou sans (-) DON (7,4 mg/kg)..... | 17 |
| Tableau 2.5. Effet de DON (4 mg DON/kg d'aliment) sur la digestibilité (%) | 28 |
| Tableau 2.6. Effet de DON (7,41 mg DON/ kg d'aliment) sur la digestibilité (%) des nutriments | 29 |
| Tableau 2.7. Tableau des performances de porcs lors de la consommation d'une moulée contaminée au DON (4 mg DON/kg) et complémenté ou non avec du Defusion ^{MC} , un produit antimycotoxinique (Defusion ^{MC} , 0,25 %) | 32 |
| Table 3.8. Composition of experimental diets for the first trial | 49 |
| Table 3.9. Composition of experimental diets for the second trial..... | 51 |
| Table 3.10. Deoxynivalenol (DON) and de-epoxy-DON (DOM-1) concentrations in blood, ileal digesta and faeces and ileal and total absorption of DON in pigs fed barley-DON contaminated or uncontaminated diets | 55 |
| Table 3.11. Effect of barley-deoxynivalenol (DON) diet on apparent ileal (AID) and total digestibility (ATTD) of nutrients in growing pigs | 56 |
| Table 3.12. Deoxynivalenol (DON) concentration in ileum and faeces of pigs fed diets DON-contaminated or uncontaminated, with or without Defusion TM diets ... | 58 |
| Table 3.13. Effect of deoxynivalenol (DON) and Defusion TM on apparent ileal and total digestibility of nutrients | 59 |
| Table 3.14. Specific effect (excluding the effect of barley digestibility) of deoxynivalenol (DON) and Defusion TM additive on ileal and total digestibility of nutrients in growing pigs. | 61 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 2.1. Structure de base des trichothécènes..... | 5 |
| Figure 2.2. Les différentes formes chimiques de DON et les réactions qui y sont associées. | 8 |
| Figure 2.3. Métabolites retrouvées dans les fèces et l'urine de porcelets exposés de façon orale ou intraveineuse (i.v.) à DON ou à glucoronide-3-DON (D3G) (Les valeurs sont exprimées en pourcentage d'équivalent de DON de la dose administrée) | 14 |
| Figure 2.4.Prolifération cellulaire totale au niveau de villosités intestinales en comparaison avec le groupe témoin après 28 jours de traitement avec DON ou DON + NIV | 19 |

Remerciements

Avant tout, j'aimerais remercier certaines personnes sans qui mes études n'auraient pas été aussi agréables.

J'aimerais premièrement remercier mon directeur de recherche, Frédéric Guay pour son soutien, sa disponibilité et sa bonne humeur. Merci de m'avoir permis de faire ce projet et merci d'avoir répondu à toutes mes questions, même si parfois la même question revenait souvent.

Merci à notre professionnel de recherche, Dominic Gagné qui m'a montré les principales manipulations à faire au laboratoire et qui a si bien su rire de mes talents légendaires en calcul mental. Ton «humour» et tes passions similaires aux miennes ont rendu ces deux années beaucoup plus sympathiques.

Merci à toute l'équipe de soutien au laboratoire et à l'animalerie. Isabelle, Nancy, Yolaine, Annick, Annie, Guylaine, pour ne nommer que vous. Votre importance n'est pas toujours assez soulignée mais sans vous, peu de choses seraient possibles.

Merci à tous les membres du département (le chapeau vous va tous) pour les dîners et les activités animées. La belle ambiance du département a été appréciée.

Finalement, merci à nos partenaires financiers, CRSNG, Cargill et Agri-marché, sans qui le projet n'aurait pas pu avoir lieu.

Sans oublier le plus important à mes yeux, j'aimerais remercier sincèrement mes parents, qui ont été d'un soutiensans pareil lors de mes études. D'abord au niveau financier, ce qui m'a permis de poursuivre des études graduées et d'obtenir mon diplôme sans avoir accumulé de dettes, un gros plus pour commencer dans la vie. De plus, la fierté qu'ils m'ont démontrée est la motivation la plus efficace qui soit. Je ne vous dirai jamais assez merci, pour tout.

Avant-propos

Au cours de la présente étude, j'ai moi-même été en charge des animaux lors de la phase animale. Je les ai donc nourris, j'ai veillé à leurs soins et j'ai été en charge de nettoyer leur enclos tout au long de l'expérience. J'ai aussi effectué les collectes de digesta et de fèces.

Pour ce qui est des analyses de laboratoire, j'ai aussi participé activement à leur réalisation avec l'aide de notre professionnel de recherche et des techniciennes de laboratoire. Pour certaines analyses, comme le dosage des acides aminés et des mycotoxines, j'ai fait la préparation des échantillons et le dosage a été fait par une professionnelle de recherche du département dans le cas des acides aminés et dans un laboratoire extérieur pour les mycotoxines.

Mon directeur de recherche s'est chargé de faire les analyses statistiques. J'ai par la suite effectué la compilation des résultats.

Finalement, j'ai effectué la rédaction de l'article inclus dans ce mémoire avec l'aide très appréciée de mon directeur de recherche pour les corrections.

Chapitre 1 : Introduction

Le secteur porcin fait partie des trois principales productions animales au Canada. Ce secteur est très important au pays puisque le Canada est le troisième pays exportateur de viande de porc et est reconnu pour la qualité de ses produits. Près de 64 % de la production de porc au Canada est exportée (AAC, 2015; Canada porc international, 2018). Le Québec, l'Ontario et le Manitoba sont les principales provinces productrices et exportatrices (CDPQ, 2015). Le Québec à lui seul produit près de 7 millions de porcs par année (CDPQ, 2015). Les produits du porc sont principalement exportés vers les États-Unis, la Chine et le Japon (Canada porc international, 2017). Les ventes annuelles se rapportant à l'exportation de porc au Canada se chiffrent à plus de 2,6 milliards de dollars (AAC, 2015)

Ceci dit, la productivité et la compétitivité du secteur sont sur la corde raide. En effet, plusieurs enjeux dans le contexte actuel peuvent venir ébranler le succès du pays. Notamment, la problématique des mycotoxines dans les grains fait partie des enjeux auxquels la production porcine doit faire face. Dans l'est du Canada, certaines mycotoxines sont présentes dans les grains à cause de la contamination de ceux-ci par des champignons, qui sont favorisés dans les climats tempérés et humides que l'on retrouve au pays. La FAO (2016) estime qu'environ 25 % des grains produits annuellement sont contaminés par les mycotoxines. Le porc étant une espèce très sensible aux principales mycotoxines retrouvées dans les grains, leur santé et leurs performances de croissance ou reproductive peuvent être réduites lors de l'ingestion de ces toxines (Goyarts et Dänicke, 2005; Kanora et Maes, 2009; Wu et al., 2015; Pierron et al., 2016). Cette situation engendre donc des pertes économiques importantes pour le secteur des grains, mais aussi pour le secteur porcin.

Le principal aspect sur lequel il faut se concentrer pour rester compétitif est la réduction du coût d'alimentation, qui est la charge la plus importante des entreprises porcines (Les éleveurs de porc du Québec, 2015). Pour ce faire, les programmes alimentaires doivent répondre plus précisément aux besoins des animaux tout en étant moins coûteux. La valorisation des ressources est donc importante afin de réduire cette charge. L'utilisation de grains de moindre qualité, qui sont parfois plus à risque d'être affectés par les mycotoxines, pourrait permettre une réduction du coût d'alimentation, si les performances de croissance ne sont affectées. Il s'agit donc d'une solution envisageable, mais encore difficilement applicable dans le domaine porcin, vu la sensibilité des animaux aux mycotoxines. Une bonne compréhension de l'effet des mycotoxines, principalement

le désoxynivalénol, qui compte parmi les mycotoxines les plus présentes dans les grains en Amérique du Nord, est un premier pas pour contrôler ses effets négatifs (Pinotti et al., 2016).

De plus, pour valoriser les grains contaminés et afin de réduire l'impact négatif des mycotoxines sur les animaux, plusieurs cherchent une façon de rendre la toxine moins dommageable pour l'animal en empêchant, par exemple, son absorption par l'utilisation d'additifs antimycotoxiniques. Les chercheurs et les compagnies de suppléments cherchent donc le produit idéal qui permettrait à l'industrie de pouvoir utiliser les grains et les sous-produits céréaliers contaminés par les mycotoxines et de les valoriser en alimentation animale, sans avoir à subir les baisses de performances présentement observées. Ces produits, en plus d'amenuiser les effets de la toxine sur les performances de croissance, ne doivent toutefois pas interférer au niveau de la disponibilité des nutriments dans les moulées contaminées.

L'objectif de ce travail est de connaître l'effet du désoxynivalénol et d'un produit antimycotoxinique sur la digestibilité chez le porc. Une revue des connaissances actuelles sera d'abord effectuée afin de recenser les effets de cette mycotoxine chez le porc et au niveau de son système digestif.

Chapitre 2 : Revue des travaux antérieurs

2.1. Les mycotoxines

La FAO (2016) estime qu'environ 25 % des grains produits annuellement sont contaminés par les mycotoxines. Plus de 300 mycotoxines sont présentement connues (Zain, 2011). La prévalence des différentes mycotoxines varie selon les régions du monde et selon les conditions climatiques. Dans les climats tempérés et humides comme au Canada, les plus fréquentes sont les trichothécènes, qui incluent le désoxynivalénol (DON), le nivalénol, la toxine T-2 et la toxine HT-2, la zéaralénone (ZEA), la fumonisine B1 (FB1) (de la famille des fumonisines), l'ochratoxine A (de la famille des ochratoxines) et l'ergot (ACIA, 2015). Les effets des mycotoxines sur les animaux sont variables, certaines affectent la consommation et donc les performances de croissance, d'autres ont un effet au niveau de la reproduction. Dans la majorité des cas, ces métabolites sont indésirables, il faut alors effectuer un dépistage au niveau des grains et contrôler la quantité présente dans les rations des animaux.

2.1.1. Formation

La contamination des grains par des champignons peut se faire directement au champ, ou suite à la transformation et à l'entreposage. Au champ, la principale source de contamination est les débris de culture. Ainsi, les problématiques de moisissures sont plus fréquentes lorsqu'il y a un travail minimal du sol et lorsque ce dernier n'est pas labouré (Trenholm et al., 1988). Les spores du champignon, présentes sur les débris de la culture précédente, sont alors dispersés dans l'air ou par les insectes et les oiseaux. Les spores peuvent donc atterrir directement sur les plantes et les contaminer ou encore, peuvent les contaminer plus facilement par le biais des oiseaux et des insectes qui se nourrissent des grains, offrant ainsi une porte d'entrée pour le champignon (Trenholm et al., 1988). En plus des pratiques culturales, les conditions climatiques ont un impact sur la formation des champignons. Ce sont les températures humides prolongées et tempérées qui sont favorables à la formation de moisissures. Dans ces conditions, la croissance de champignons roses ou blancs peut apparaître sur les graminées et indique une infection au *Fusarium graminearum* (Trenholm et al., 1988). Le degré de résistance des cultures au champignon varie selon les cultivars et selon le stade de croissance (Trenholm et al., 1988). Une fois les plantes infectées par le champignon, ce dernier continue de croître et les niveaux de mycotoxines

produites peuvent augmenter (Trenholm et al., 1988). Après la récolte, la croissance du champignon et la production de mycotoxine peuvent se poursuivre si le grain n'est pas immédiatement séché et entreposé adéquatement. Le nettoyage des grains, la ventilation, le séchage adéquat et la prévention des insectes font partie des éléments qui doivent être contrôlés pour assurer un bon entreposage (Magan et Aldred, 2007). Le pourcentage d'humidité et la notion de d'activité de l'eau (eau disponible pour les activité biologiques (Aw)) sont aussi très importants à considérer lors de l'entreposage (Magan et Aldred, 2007; Marin et al., 2013). Effectivement, un pourcentage d'eau trop élevé ($15\text{-}19\%$ d'humidité = $0,75\text{-}0,85$ Aw) entraînera une augmentation de l'activité respiratoire de la plante et donc une augmentation de la température et de la colonisation de la récolte par des champignons thermophiles (Magan et Aldred, 2007).

Les méthodes de contrôle des mycotoxines sont donc souvent basées sur le contrôle de la production de moisissures puisqu'il y a production de mycotoxines seulement s'il y a présence du champignon qui la produit. Plusieurs facteurs influencent la croissance de ces moisissures, notamment les conditions climatiques, les pratiques culturales, le choix des cultivars et l'entreposage (Magan et Aldred, 2007). La prévention peut alors être possible à plusieurs niveaux, en passant d'abord par une bonne gestion au champ afin d'éviter que le champignon inocule les cultures. Toutefois, malgré la grande volonté des producteurs à éliminer ce fléau de leurs champs, la contamination est parfois inévitable.

2.1.2. Les trichothécènes

Les trichothécènes sont un groupe de plus de 180 mycotoxines dont la structure est connue et qui sont produites par certains types de champignons (Pestka, 2007). Malgré le nombre élevé qui a été identifié, les recherches se concentrent surtout sur les principales toxines qui contaminent les aliments. Les trichothécènes peuvent affecter plusieurs variétés de plantes, les céréales sont par contre les plus affectées (Desjardins, 2006).

Le *Fusarium* est le principal champignon qui produit les trichothécènes les plus souvent rencontrées dans l'Est du Canada (Trenholm et al., 1988). Sa formation est principalement favorisée par les changements de température et d'humidité, notamment les conditions humides prolongées et par les pratiques culturales dites sans travail du sol (Pestka, 2007).

Les trichothécènes sont divisées en quatre groupes (A, B, C et D), selon leur structure chimique (figure 2.1). Les mycotoxines du groupe A n'ont pas de radicalcarbonyle au niveau du carbone 8 (C-8), contrairement à celles du groupe B. Pour leur part, les trichothécènes du groupe C ont un autre radicalépoxyde entre le carbone 7 et 8 ou entre le carbone 8 et 9. Ceux du groupe D possèdent un macrocycle entre C-4 et C-15 (Wu et al., 2010). Les groupes A et B sont ceux auxquels la communauté scientifique porte le plus d'attention. Par exemple, parmi les toxines qui composent ces groupes, la toxine T-2 fait partie du groupe A et le désoxynivalénol du groupe B. Au Canada, c'est le désoxynivalénol qui est la trichothécène la plus fréquente, des Maritimes jusqu'au Manitoba (Desjardins, 2006).

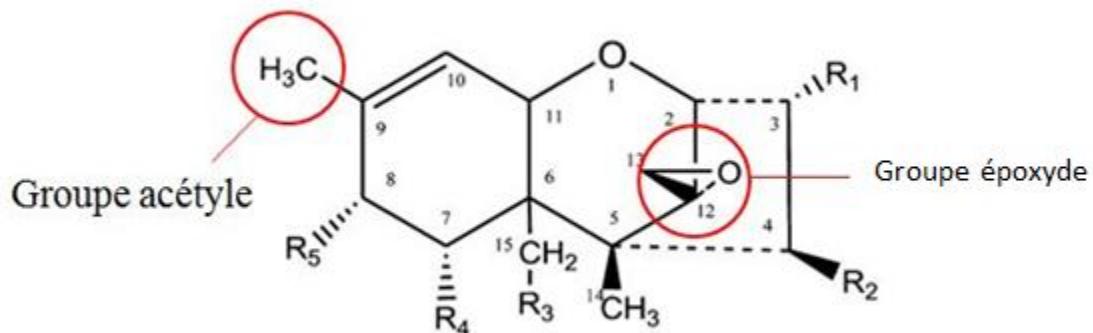


Figure 2.1. Structure de base des trichothécènes

Reprinted from. Trends in Food Science and Technology, 21 /2, He, J., T. Zhou, J. Christopher Young, G. J. Boland and P.M. Scott, Chemical and biological transformations for detoxification of trichothecene mycotoxins in human and animal food chains: a review, Pages No. 68, Copyright (2017), with permission from Elsevier

2.2. Le désoxynivalénol

Le désoxynivalénol (DON), aussi connu sous le nom de vomitoxine, est une trichothécène du groupe B, comme mentionné plus haut, et est produit par les champignons de type *Fusarium*, plus précisément *F. graminearum* et *F. culmorum* (Étienne, 2007). C'est un contaminant souvent présent dans les grains, notamment au Canada et aux États-Unis (Rotter, 1996). Il est probablement la trichothécène la plus commune et la mieux connue (Sobrova et al., 2010; Wu et al., 2010).

Le DON a été isolé pour la première fois au début des années 70 par l'équipe de chercheurs japonais de Morooka (1972) et par l'équipe américaine de Vesonder (1973). En 1972, une bonne quantité du maïs produit aux États-Unis était contaminée, principalement par le champignon *Fusarium graminearum*, dû à des conditions humides hors norme (Vesonder et al., 1973). La contamination des grains par ce champignon entraînait un refus de la consommation des porcs ou un vomissement suite à l'ingestion d'une faible quantité de grains contaminés (Vesonder et al., 1972). C'est d'ailleurs à cause des vomissements qu'il provoque que le nom de vomitoxine a été attribué au désoxynivalénol par l'équipe de chercheurs. Le composé, alors inconnu, a été isolé et sa structure a pu être déterminée par les chercheurs en utilisant les spectres infrarouges et de résonance magnétique nucléaire.

Pour ce qui est des particularités physico-chimiques de cette toxine, le tableau 2.1 les résume. L'une d'entre elles est intéressante à souligner puisqu'elle a un impact sur l'occurrence du DON dans les aliments. Il s'agit de sa très grande résistance à la chaleur, représentée par les points d'ébullition, de fusion et d'éclair qui sont très élevés, ce qui entraîne une stabilité de la molécule. En effet, même après un chauffage de 30 minutes à 170 °C, la concentration en DON reste inchangée (Sobrova et al., 2010). Les processus thermiques utilisés dans les usines ne sont donc pas efficaces pour contrôler la toxine puisqu'un chauffage à une trop haute température altérerait les propriétés nutritives des aliments, notamment en dénatrant les protéines avant d'affecter la toxine.

Tableau 2.1. Propriétés physico-chimiques du désoxynivalénol

| Propriétés | Information |
|---------------------|--|
| Nom | Désoxynivalénol (DON), vomitoxine |
| Formule chimique | 12,13-epoxy-3 α ,7 α ,15-trihydroxytrichothec-9-en-8on |
| Formule moléculaire | H ₁₅ O ₂₀ O ₆ |
| Masse molaire | 296,32 g/mol |
| Stade physique | Fines particules incolores |
| Point d'ébullition | 543,9 ± 50 °C |
| Point de fusion | 151-153 °C |
| Point d'éclair | 206,9 ± 2,5 °C |
| Soluble dans | Solvants organiques polaires |

Adaptée de Sobrova et al., (2010)

Les animaux n'ont pas tous la même sensibilité par rapport à cette toxine. Les différences de sensibilité sont notamment dues aux différences dans le mécanisme d'absorption, le métabolisme, la distribution et l'élimination du DON (Pestka, 2007). Il est connu que les porcs sont des animaux très sensibles, comparativement au poulet et aux ruminants qui sont plutôt résistants. Le seuil maximum de tolérance du DON dans les aliments varient donc selon les espèces, afin d'éviter de rendre les animaux malades et diminuer leurs performances. Au Canada, l'agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA, 2015) suggère des niveaux maximums dans l'alimentation de 5 mg DON/kg pour les poulets et les ruminants et de 1 mg DON/kg pour les porcs, les jeunes ruminants et les animaux en lactation.

2.2.1. Molécules et dérivés

Plusieurs formes d'une même molécule de base, comme le DON, peuvent être retrouvées chez les végétaux et chez les animaux, selon la présence ou l'absence de certains groupements chimiques. La figure 2.2 illustre les différentes formes dont il est question plus bas. Elle représente la structure chimique de DON et de ses dérivés ainsi que les réactions qui lient ces différentes formes.

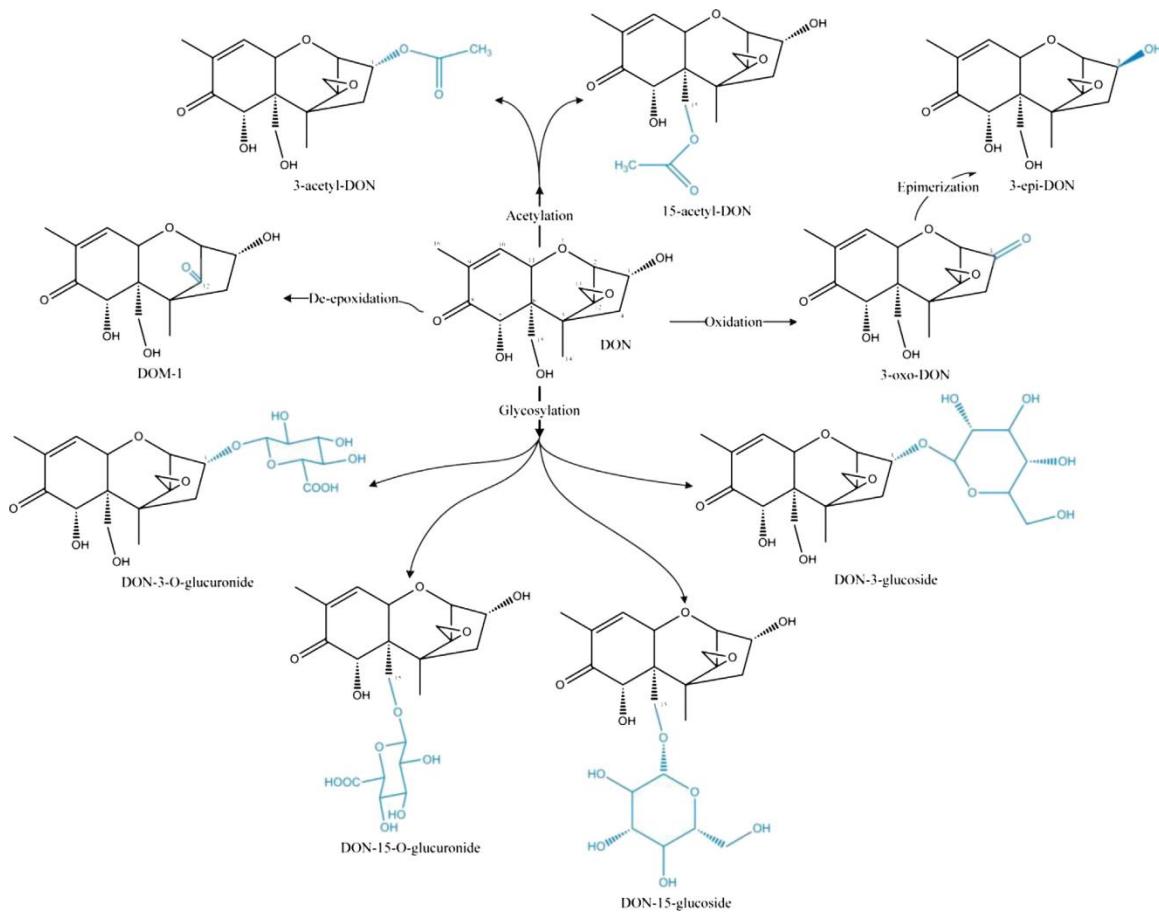


Figure 2.2. Les différentes formes chimiques de DON et les réactions qui y sont associées.

Reprinted from. Food Control, 34 /1, Ran, R., C. Wang, Z. Han, A. Wu, D. Zhang and J. Shi, Determination of deoxynivalenol (DON) and its derivatives: Current status of analytical methods, Pages No. 140, Copyright (2017), with permission from Elsevier

Au niveau de la production des toxines par les champignons, ceux-ci produisent des paires de trichothécènes, qui diffèrent seulement par un radical acétyle. Les formes acétylées, comme l'acétyl-3-désoxynivalénol (A-3-DON) et l'acétyl-15-désoxynivalénol (A-15-DON) et le diacétyl-3,15-désoxynivalénol (A-3,15-DON), sont donc souvent retrouvées avec leur toxine correspondante (DON) dans les céréales (Eriksen et al., 2002; Schmeitzl et al., 2015). Selon les méthodes d'analyse, il est possible de doser DON ainsi que ses dérivés (Ran et al., 2013).

De plus, une des particularités des trichothécènes est qu'elles possèdent un radical époxyde, qui est considéré comme essentiel à leur toxicité (Eriksen et al., 2002). Afin de se protéger de l'effet

toxique de ces composés, les animaux qui en ont la capacité, via l'activité des microorganismes de leur tractus digestif, peuvent métaboliser la toxine en la dé-époxydant. La forme dé-époxy de DON se nomme DOM-1, il s'agit du premier métabolite dé-époxy trichothécène détecté chez les animaux, qui a été originairement trouvé dans les fèces et l'urine de rats ayant reçu une dose orale de DON (Yoshizawa et al., 1983). La structure originellement proposée par l'équipe de recherche de Yoshizawa et al. (1983) est encore actuelle à ce jour. Le processus de dé-époxydation du DON en DOM-1 est en fait le remplacement du pont d'oxygène du radical époxyde par une double liaison carbonée (figure 2.2). En effet, le DOM-1 a donc un poids moléculaire de 16 unités de masse de différence avec le composé d'origine, ce qui correspond à la perte de l'oxygène (He et al., 1992). Cette biotransformation provoque donc une perte significative de l'activité toxique (Wu et al., 2010).

Finalement, un autre des voies biochimiques importants dans le système animal et humain est la conjugaison des trichothécènes, accompli par l'enzyme glucuronyl transférase microsomale (He et al., 2010). Les plantes peuvent aussi métaboliser le DON en ses formes conjuguées, il s'agit d'un processus de détoxicification. Les formes conjuguées des trichothécènes constituent en fait la mycotoxine elle-même qui est liée à des molécules polaires comme les sucres, les acides aminés et les sulfates (Berthiller et al., 2005). Par exemple, dans le cas des glucuronides, la mycotoxine est liée à l'acide glucuronique et dans le cas des glucosides, elle est liée à une molécule de glucose (He et al., 2010). Les formes conjuguées de DON sont moins toxiques que DON lui-même, par contre, une fois hydrolysées elles peuvent redevenir toxique (Berthiller et al., 2005). De plus, Berthiller et al. (2005) estiment que la concentration de DON-3-glucoside représente 14 à 29 % de la concentration en DON total dans les céréales. Cette molécule, alors présente dans les aliments des animaux, augmente la quantité totale de DON dans la ration (Nagl et al., 2014). Il est alors possible que, selon les méthodes d'analyses, la quantité totale de DON dans les céréales soit sous-estimée puisque les formes conjuguées peuvent échapper aux méthodes de détection de routine (Berthiller et al., 2005).

2.2.2. Absorption intestinale chez le porc

Chez le porc, plusieurs s'entendent pour dire que la majorité du DON ingéré est absorbé au niveau de la partie proximale de l'intestin grêle. Cette affirmation a été proposée par Prelusky et al. (1988), qui ont calculés la concentration plasmatique de radioactivité suite à l'administration intra-gastrique de DON marqué au carbone 14 à des porcs canulés de 14 à 17 kg. Ils déduisent que, puisque du carbone radioactif était détecté dans le plasma sanguin 15 à 30 minutes après l'injection, l'absorption intestinale du DON se fait rapidement. En 2004, l'équipe de recherche de Dänicke confirme que l'absorption se fait au tout début du duodénum. Dans cette étude, ils ont collecté le digesta des différents segments du système digestif de porcs, à différents temps (1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 15, 18, 24 heures) suite à l'ingestion d'un repas contaminé par DON (4,2 mg / kg d'aliment) afin de pouvoir suivre le trajet de DON dans le système digestif. Ils ont alors trouvé 88,5 % du DON ingéré au niveau de l'estomac, alors que seulement 1,5 % de ce qui a été ingéré a été retrouvé dans le petit intestin et 10 % dans le gros intestin. La plus forte concentration dans le gros intestin suggère une accumulation du DON dans cette section du système digestif, puisque les porcs avaient été habitués à une alimentation contaminée pendant quelques jours avant la collecte du digesta (Dänicke et al., 2004).

Peu d'études ont été faites sur le mécanisme de transport de DON au travers de l'épithélium intestinal. Selon Dänicke et al. (2004) et Awad et al. (2007), l'absorption de DON dans le système digestif se ferait de façon passive au travers de l'épithélium de l'intestin. Sergent et al. (2006) en viennent aux mêmes conclusions, soit celle d'un transport passif chez l'humain puisque le passage de DON au travers de l'épithélium intestinal est proportionnel à sa concentration et à sa durée d'incubation.

De plus, selon certains, l'absorption de la toxine se fait sous sa forme de base (DON), suite à la dé-acétylation. Notamment, dans l'étude d'Eriksen et al. (2003), chez des porcs recevant un aliment qui contenait 2,5 mg d'acétyl-3-désoxynivalénol (A-3-DON) au début de l'expérience, cette forme n'a pas été retrouvée dans le plasma sanguin, ni dans l'urine ou les fèces (Eriksen et al., 2003). Seul DON et ses formes conjuguées ont été retrouvés au niveau du plasma. Ils concluent donc que l'acétyl-3-désoxynivalénol (A-3-DON) est rapidement dé-acétylé avant d'être absorbé chez le porc. Donc, puisque les porcs semblent avoir la capacité de dé-acétyler les formes acétylés de DON présentes dans les aliments, il est alors raisonnable que les limites maximales

d'incorporation à respecter dans leurs aliments soient faites en fonction de la quantité totale de DON et de ses dérivés acétylés.

2.2.3. Métabolisme chez le porc

Les porcs sont connus comme étant des animaux très sensibles au DON en partie parce que la toxine est rapidement et efficacement absorbée, avant d'être distribuée dans les organes et faiblement métabolisée (Prelusky et al., 1988). La compréhension de l'ensemble des réactions chimiques précédent et suivant l'absorption du DON peut aider à comprendre la grande sensibilité de cette espèce.

Dé-époxydation chez le porc

La toxicité de DON étant en grande partie causée par le radical époxyde, les animaux qui peuvent éliminer ce groupement, créant ainsi la forme nommée DOM-1, diminuent les dommages dus à la toxicité de la molécule. Cette transformation se fait via l'activité des microorganismes du rumen et de l'intestin (He et al., 1992). Chez le porc, ces microorganismes se situeraient donc surtout vers la fin du système digestif. Une des bactéries connues pour sa capacité à rendre les mycotoxines moins toxiques est la bactérie *Eubacterium* sp, qui possède l'enzyme capable de dé-époxyder le DON, soit la déépoxydase microbienne (Awad et al., 2010). Bien que certains affirment l'incapacité de l'espèce porcine à la dé-époxydation, la majorité s'entendent pour dire qu'une certaine transformation de DON en DOM-1 se fait au niveau du côlon.

Dans l'étude d'He et al. (1992), où la capacité de dé-époxydation est comparée entre le poulet et le porc, la transformation de DON en DOM-1 lorsque la toxine est incubée *in vitro* avec le contenu du gros intestin de poulet se fait à 98 %. Par contre, lorsqu'incubé pendant 96 heures avec le contenu du gros intestin de porc, le DON reste inchangé. Dans cette étude, les animaux utilisés étaient des porcs provenant d'une station de recherche.

Au contraire, d'autres études montrent la capacité des microorganismes de la partie distale de l'intestin des porcs à effectuer la dé-époxydation du DON lorsque le digesta distal est incubé avec la toxine (Kollarczik et al., 1994; Eriksen et al., 2002). Notamment, dans l'étude d'Eriksen et al. (2002), lorsque la toxine est incubée avec les fèces de porcs provenant de fermes commerciales,

près de 90 % de la toxine se transforme en sa forme dé-époxy (Eriksen et al., 2002). De plus, ce changement de structure se fait relativement rapidement puisque dans l'étude subséquente de cette équipe de recherche, la plupart des toxines, soit plus de 90 %, étaient transformées sous forme de dé-époxydes durant les 48 heures de la période d'incubation avec des fèces de porcs (Eriksen et al., 2003). Dans le même ordre d'idée, une étude, *in vivo* cette fois, montre que le système gastro-intestinal des porcs a la capacité de faire la dé-époxydation (Dänicke et al., 2004). En effet, selon Dänicke et al. (2004), qui ont collecté le digesta de chaque segment du système digestif de porcs ayant reçus 4,2 mg DON/kg d'aliment pendant 7 jours, la proportion de DOM-1 sur la somme de DON + DOM-1 augmente de 80 % du petit intestin au rectum. La dé-époxydation se fait donc au niveau du côlon, principalement.

La capacité de dé-époxydation chez le porc semble donc se moduler en fonction de l'exposition des animaux à la toxine, probablement via le changement de la population microbienne du système digestif. De plus, puisque le processus de dé-époxydation semble se faire après le site d'absorption intestinal, cette capacité, chez le porc, ne contribue pas vraiment à la détoxicification du DON ingéré (Dänicke et al., 2004). C'est donc une des principales raisons de la grande sensibilité de l'espèce à cette toxine.

2.2.4. Excrétion

L'excrétion du DON se fait surtout au niveau de l'urine (Prelusky et al., 1988; Eriksen et al., 2003). En effet, selon Prelusky et al. (1988), 93,6 % du DON injecté de façon intraveineuse se retrouvait dans l'urine et 3,5 % dans la bile. Seulement des niveaux traces étaient retrouvés dans les fèces. Lorsque le DON était administré de manière intragastrique (voie orale), les doses retrouvées dans l'urine, la bile et les fèces étaient différentes et correspondaient à 68,2 %, 2,2 % et 20,3 % respectivement de la dose initiale. La voie principale d'excrétion est donc l'urine puisque les doses restent assez élevées même par voie gastrique, lorsque DON est exposé à des transformations au niveau du système digestif. Dans le même ordre d'idée, dans l'étude d'Eriksen et al. (2003), une très faible quantité de DON était retrouvée dans les fèces, soit 2 % de la quantité reçue (aliment contenant 2,5 mg de A-3-DON/kg) et 45 % se retrouvait dans l'urine. De plus, l'excrétion est assez rapide puisque huit heures suite à l'injection intraveineuse, plus de 75 % de la dose initiale était retrouvée dans l'urine (Prelusky et al., 1988).

La figure 2.3 illustre bien les changements métaboliques et l'excrétion de différentes formes de DON selon leur méthode d'administration. Au premier coup d'œil, il est possible de remarquer que le DON et ses métabolites sont majoritairement excrétés dans l'urine, ce sur quoi plusieurs scientifiques s'entendent. Il est toutefois aussi intéressant de remarquer que les métabolites retrouvés dans l'urine ne sont pas les mêmes et sont en proportions différentes selon la molécule ingérée au départ, signe des transformations métaboliques de la molécule. Dans cette étude, les porcs ayant reçu une dose orale de DON de 75 µg/kg de poids vif ont excrété 85 % de la dose administrée au niveau de l'urine, dont la majorité était sous forme de DON (Nagl et al., 2014). En comparaison, lorsque les porcs recevaient une dose de 116 µg/kg de poids vif de glucoside-3-DON (D3G), seulement 40,3 % de la dose administrée se retrouvait dans l'urine, dont une très faible quantité du métabolite initial (D3G). Ce métabolite serait donc hydrolysé en DON dans la partie distal de l'intestin puis métabolisé en DOM-1 avant d'être absorbé, ce qui explique la différence entre l'excrétion urinaire selon les métabolites ingérés. La différence d'excrétion peut s'expliquer par le temps d'élimination ou de transformation dans le système digestif, qui est possiblement différent selon les formes. De plus, il est possible de que le marqueur qui n'inclut pas tous les métabolites produit lors de la dégradation de la toxine (Nagl et al., 2014). Selon ces données, Nagl et al. (2014) concluent que le glucoside-3-DON est moins biodisponible pour le porc que le DON, c'est-à-dire moins毒ique (Nagl et al., 2014).

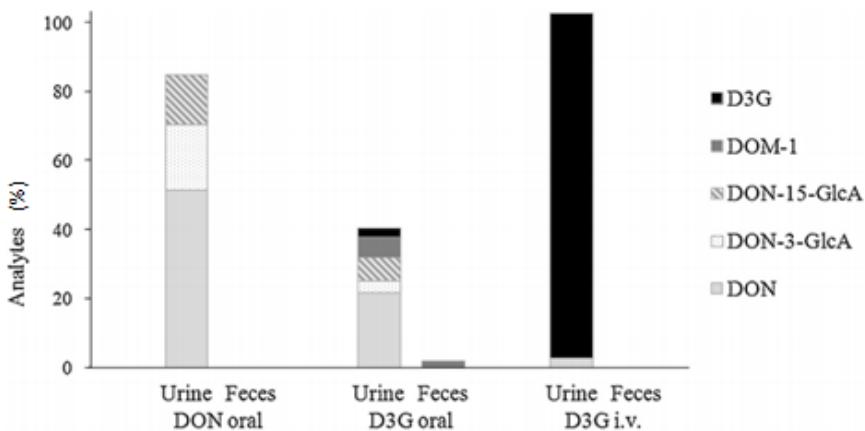


Figure 2.3. Métabolites retrouvées dans les fèces et l'urine de porcelets exposés de façon orale ou intraveineuse (i.v.) à DON ou à glucoronide-3-DON (D3G) (Les valeurs sont exprimées en pourcentage d'équivalent de DON de la dose administrée)

Désoxynivalénol : DON, Dé-époxy-DON : DOM-1, Glucuronide-3-DON : DON-3-GlucA, Glucuronide-15-DON : DON-15-GlucA, Glucuroside-3-DON : D3G

Reprinted from. Toxicology Letters, 229 /1, Nagl, V., B. Woechl, H. E. Schwartz-Zimmermann, I. Hennig-Pauka, W.D. Moll, G. Adam and F. Berthiller, Metabolism of the masked mycotoxin deoxynivalenol-3-glucoside in pigs. Pages No. 195, Copyright (2017), with permission from Elsevier

Une préoccupation plus importante du point de vue de l'alimentation et de la santé publique est la présence de ces toxines au niveau des produits animaux. Étant donnée la grande quantité rapidement excrétée au niveau de l'urine, il est logique de croire que peu de DON s'accumule dans les tissus. D'ailleurs, selon Döll et al. (2008), les résidus de DON dans les carcasses se retrouvent en quantité décroissante dans les organes suivant : bile, reins, sérum, foie et muscle. Dans cette étude, une grande variabilité entre les individus est observée au niveau de la concentration en DON dans les organes. Le tableau 2.2 montre que DON est de 250 à 500 fois moins concentré dans le muscle que dans l'aliment au départ.

Tableau 2.2. Concentrations de DON et DOM-1 dans le muscle en fonction de la quantité de DON dans l'alimentation et de la forme de l'aliment (farine ou cube) des porcs

| Groupe | Aliment ^a | | Muscle | |
|--------|----------------------|--------|-------------------|--------|
| | DON | Forme | DON | DOM-1 |
| | (mg/kg) | | (ng/g) | (ng/g) |
| 1 | 0,05 | Farine | 0 ^c | 0 |
| 2 | 0,07 | Cube | 0 ^c | 0 |
| 3 | 0,57 | Farine | 1,3 ^b | 0 |
| 4 | 0,55 | Cube | 1,7 ^{ab} | 0 |
| 5 | 1,23 | Farine | 4,1 ^a | 0 |
| 6 | 1,13 | Cube | 2,7 ^{ab} | 0 |

^a Un total de 96 mâles d'environ 30 kg ont reçus une alimentation composé d'orge, de tourteau de soya et blé sain ou contaminé avec du DON à différentes concentrations et sous forme de farine ou de cubes.

Adaptée de Döll et al. (2008)

De plus, suite à l'injection intraveineuse de 1 mg DON/kg poids vif à des porcs, Prelusky et Trenholm (1991) ont détecté les plus hauts niveaux de mycotoxine dans le plasma, les reins et le foie, alors que le muscle faisait partie des organes avec les plus faibles concentrations en DON. Dans cette étude, 24 heures après l'administration, DON était indétectable dans plusieurs tissus, incluant les muscles.

2.3. Effets en élevage du DON chez le porc

Il est possible de diluer les grains contaminés avec des grains sains dans l'alimentation pour obtenir un niveau relativement faible de mycotoxine dans les aliments. C'est pour cette raison que, bien que les trichothécènes, comme le DON, puissent être létaux à forte dose, ce sont plutôt les problématiques associées à de faibles niveaux de consommation de la toxine qui intéressent les producteurs (Prelusky et al., 1994).

2.3.1. Prise alimentaire et performances de croissance

Selon la dose de DON consommée, les performances de croissance peuvent être affectées de différentes façons, au fur et à mesure que la dose augmente. Comme le montre le tableau 2.3, tiré de Wu et al. (2015), où 24 porcs de 60 jours ont reçu pendant 21 jours une alimentation contenant différentes doses de DON (0, 3, 6, 12 mg DON / kg d'aliment), les performances de croissance sont différentes entre les groupes. Avec l'augmentation de la dose de DON, on observe une diminution de la prise alimentaire (consommation quotidienne), ce qui peut entraîner la diminution du gain moyen quotidien (GMQ).

Tableau 2.3. Performances de croissance des porcs consommant une alimentation contaminée au DON à différents niveaux pendant la période de 60 à 88 jours

| | Témoin ^a | 3 | 6 | 12 | P |
|----------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------|
| (mg/kg DON) | | | | | |
| GMQ ^b (g) | 421,6 ^a | 417,9 ^a | 378,8 ^a | 236,5 ^b | <0,0001 |
| CMQ ^c (g) | 1021,2 ^a | 1043,2 ^a | 870,1 ^b | 596,1 ^c | <0,0001 |

^aLe groupe témoin recevait un alimentation contenant 0.52mg/kg de DON.

^bGMQ : gain moyen quotidien, ^cCMQ : consommation moyenne quotidienne

Adaptée de Wu et al., 2015

Dans un même ordre d'idée, dans l'étude de Goyarts et Dänicke (2005), 48 porcs étaient séparés en 4 groupes, deux groupes nourris à volonté (avec et sans DON) et deux groupes restreints (avec et sans DON). Les groupes restreints consommaient la même quantité que l'animal ayant la plus faible consommation. Comme il est possible de le voir au niveau du tableau 2.4, en comparant les deux groupes nourris à volonté, le groupe recevant la moulée contaminée à DON (7,4 mg DON/kg d'aliment) avait une consommation volontaire de 15 % inférieure au groupe témoin, un poids de 14 % inférieur et une conversion alimentaire (CA) qui n'était pas affectée. Par contre, lorsqu'on observe les groupes restreints, il y a une différence dans les performances de ceux-ci, lorsque comparées avec les groupes à volonté, mais il n'y a pas de différence entre les deux groupes restreints (avec ou sans DON). L'effet sur les performances serait donc possiblement lié à la diminution de la consommation lorsque la moulée est contaminée. Cet effet a aussi été noté

par Dänicke et al. (2006) qui ont observé un gain de poids vif et une conversion alimentaire similaire lorsqu'une restriction alimentaire est appliquée afin d'avoir une prise alimentaire semblable pour les animaux recevant un aliment contaminé au DON (5,7 mg DON/kg) et ceux recevant un aliment sain.

Tableau 2.4. Performances de croissance des porcs recevant une alimentation à volonté ou restreinte, avec (+) ou sans (-) DON (7,4 mg/kg)

| | DON | consommation | GMQ ^a | CA ^b |
|------------|-----|-------------------|------------------|-------------------|
| | | (kg/d) | (g) | |
| à volonté | - | 2,9 ^a | 987 ^a | 2,76 ^a |
| | + | 2,47 ^b | 851 ^b | 2,73 ^a |
| restreints | - | 1,94 ^c | 747 ^c | 2,48 ^b |
| | + | 1,93 ^c | 744 ^c | 2,48 ^b |

^aGMQ : Gain moyen quotidien, ^bCA : conversion alimentaire.

Adaptée de Goyarts et Danicke, 2005

Dans une autre étude, où les doses de DON étaient plus faibles (entre 0,55 et 1,23 mg DON/ kg d'aliment), soit aux alentours de la dose maximale recommandée par l'ACIA de 1 mg DON/kg, aucune différence au niveau de la prise alimentaire et du poids vif des porcs a été trouvé entre ceux nourris avec une nourriture saine ou ceux nourris avec une nourriture contaminée au DON (Döll et al., 2008).

2.3.2. Synthèse protéique

Les trichothécènes sont connue pour interagir avec la sous-unité ribosomale 60S des cellules eucaryotes, ce qui prévient l'initiation ou l'elongation de chaînes polypeptidiques (Pestka, 2007). La synthèse protéique est donc affectée par ces toxines. Le DON, mycotoxine appartenant à cette famille, ne fait pas exception et peut influencer la synthèse protéique. Plus précisément, le DON se lie à la plus grosse unité du ribosome au niveau du centre de la peptidyl transférase (CPT), un site actif du ribosome (Garreau de Loubresse et al., 2014). Cette liaison inhibe donc la synthèse protéique empêchant la formation d'une liaison peptidique (Arunachalam et Doohan, 2013; Garreau de Loubresse et al., 2014). Les protéines jouant un rôle important à plusieurs niveaux

dans l'organisme, l'altération de la synthèse protéique par le DON peut avoir plusieurs conséquences. Entre autres, l'effet du DON sur les protéines de la muqueuse intestinale a été souvent documenté et est possiblement lié à son effet sur la synthèse protéique (Pinton et al., 2009; 2010; 2012; Halawa et al., 2012).

2.4. Effet du DON sur le système digestif du porc

2.4.1. Morphologie

Le système digestif est la première barrière de protection contre les contaminants alimentaires. Il est donc le premier organe à être en contact avec les mycotoxines lorsque celles-ci font partie de l'alimentation. L'intestin joue un rôle de barrière de protection, mais sa morphologie est aussi importante au niveau de son rôle d'absorption. Son intégrité se doit donc d'être conservée afin que la muqueuse intestinale joue pleinement ses rôles. De nombreux facteurs sont à considérer afin d'évaluer l'impact des mycotoxines sur la morphologie de l'intestin.

Prolifération cellulaire

Une étude *in vivo* et *in vitro* a démontré que l'exposition au DON ou à ses dérivés acétylés, soit l'acétyl-3-désoxynivalénol (A-3-DON) et l'acétyl-15-désoxynivalénol (A-15-DON), avaient un effet sur la morphologie des cellules de l'intestin (Pinton et al., 2012). En effet, l'exposition aux trois toxines inhibe la prolifération des cellules suite à une exposition *in vitro* des cellules de l'intestin pendant 24 heures à différentes doses (0 à 30 µM). La prolifération cellulaire a été mesurée par luminescence, afin de déterminer le nombre de cellules métaboliquement actives, en quantifiant l'ATP présente. La diminution de la prolifération cellulaire entraîne donc une moins grande régénérescence de la paroi intestinale. Selon la forme de la toxine, l'inhibition est plus ou moins importante. À titre informatif, l'exposition de la muqueuse à une dose de 10 µM de DON correspond, selon Cheat et al. (2016) à la consommation d'une moulée contaminée avec 3 mg DON/kg.

De leur côté, Cheat et al. (2016) ont effectué une étude dans le but de déterminer l'effet du DON seul ou associé avec une autre toxine, le nivalénol (NIV), sur le système digestif des porcs. Après une exposition des segments de l'intestin de 24 heures ou de 28 jours via une alimentation contaminée à différentes concentrations des toxines (3,50 mg DON/kg ou 2,89 mg DON/kg + 0,72

mg NIV/kg), ils ont mesurés, entre autre, la prolifération cellulaire. . Leurs résultats démontrent que DON dans l'alimentation diminue la prolifération cellulaire après 28 jours d'exposition mais n'a pas d'effet après 24 heures (figure 2.4). Ces résultats expliquent donc partiellement que la fonction de barrière de l'intestin est affectée par les trichothécènes. Une exposition prolongée au DON, même à des doses assez faibles, entraîne des dommages au tractus digestif.

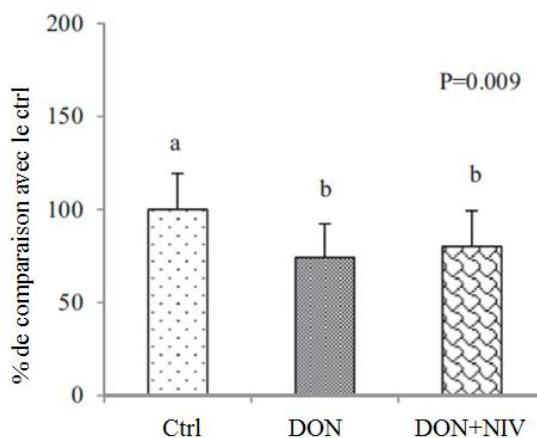


Figure 2.4. Prolifération cellulaire totale au niveau de villosités intestinales en comparaison avec le groupe témoin après 28 jours de traitement avec DON ou DON + NIV

DON : Désoxynivalénol, NIV : Nivalénol

Reprinted from. Food and Chemical Toxicology, 87, Cheat, S., P. Pinton, A.-M. Cossalter, J. Cognie, M. Vilariño, P. Callu, I. Raymond-Letron, I. P. Oswald et M. Kolf-Clauw, The mycotoxins deoxynivalenol and nivalenol show in vivo synergism on jejunum enterocytes apoptosis. Pages No. 52, Copyright (2017), with permission from Elsevier

Adaptée de Cheat et al., 2016

Structure intestinale

La taille des villosités intestinales est affectée par la concentration en DON dans la nourriture. Notamment, dans l'étude de Wu et al. (2015), les deux groupes qui recevaient une plus grande quantité de DON, soit 6 mg/kg et 12 mg/kg, avaient des villosités plus petites que le groupe témoin et celui recevant 3 mg DON /kg (21 jours d'alimentation). Dans l'étude de Le Thanh et al. (2015), la taille des villosités intestinales au niveau du jéjunum était plus petite chez les porcelets recevant une alimentation contaminée avec 4,61 mg DON /kg que les porcelets du groupe témoin. Ces mêmes chercheurs ne notent pas de différence au niveau de la profondeur de la crypte (Le Thanh et al., 2015; Wu et al., 2015). Des résultats opposés ont été trouvés par Dänicke et al. (2012) chez des porcs nourris avec une moulée contaminée avec environ 3 mg DON/kg durant la période d'engraissement. Dans cette étude, la taille des villosités intestinales au niveau de jéjunum n'était pas affectée par le traitement, mais les cryptes étaient plus profondes chez les porcs recevant la moulée contaminée, suggérant un stimulation de la division cellulaire au niveau des cryptes (Dänicke et al., 2012).

Lewczuk et al. (2016) ont, de leur côté, utilisé une très faible dose de DON (0,25 mg/kg d'aliment) pendant 6 semaines et n'ont pas trouvé d'effet du DON qu'il soit seul ou en combinaison avec la zéaralénone (ZEA) (0,25 mg DON/kg + 0,833 mg ZEA/kg d'aliment) sur la structure microscopique générale du duodénum. L'architecture de la muqueuse reste donc inchangée dans cette étude. Ces doses sont toutefois bien en deçà de la limite maximale suggérée par l'ACIA en ce qui concerne le DON, qui est de 1 mg DON/kg dans l'alimentation des porcs. De plus, l'analyse en mycotoxines de l'aliment témoin n'était pas inclus dans l'article, il est donc difficile de savoir à quel niveau de toxines les animaux du groupe témoin ont été exposés. L'administration combinée des deux mycotoxines de *Fusarium* augmente par contre, malgré les faibles doses, l'épaisseur de la sous-muqueuse, ce qui est possiblement dû, selon les chercheurs, à une hyperplasie des glandes de Brunner's, qui peut signifier un mécanisme adaptatif de protection contre les effets des mycotoxines (Lewczuk et al., 2016).

Il faut donc des doses assez élevées, soit à partir d'environ 3 mg/kg afin d'observer un changement au niveau de la structure intestinale. La durée d'exposition joue aussi un rôle en ce qui concerne les dommages à la structure intestinale (Cheat et al., 2016). Il est aussi possible de conclure que la structure intestinale n'est probablement pas être affectée chez les porcs recevant une dose aux alentours de la limite permise par l'ACIA.

Jonctions serrées et protéines de transport de nutriments

Les jonctions serrées de l'intestin sont des protéines situées entre les cellules épithéliales qui forment une liaison entre les cellules afin de limiter le passage de certaines molécules (virus, bactéries, etc.) par voie paracellulaire. Plusieurs données permettent d'évaluer l'effet d'un contaminant sur ces jonctions. Selon Pinton et al. (2009; 2010; 2012), DON et ses dérivés acétylés ont un effet sur l'expression des claudines, une famille de protéines qui forment les jonctions, et sur les protéines kinases activatrices de mitogènes (MAP kinases), protéines impliquées dans l'expression des claudines. Dans les études de 2009 et de 2010 de cette équipe, l'expression des protéines de jonctions (claudines-4) est diminuée *in vivo* (alimentation contaminée avec 2,85 mg DON/ kg pendant 5 semaines) et *in vitro* (différentes doses allant de 0 à 100 µM DON). Les chercheurs notent aussi une différence entre la toxicité des différentes formes de la mycotoxine retrouvées dans la nature (DON et ses dérivés acétylés; l'acétyl-3-DON et l'acétyl-15-DON). Ils notent donc que l'acétyl-15-DON (A-15-DON) a un effet plus marqué pour activer l'expression des claudines (Pinton et al., 2012). L'A-15-DON entraîne aussi une activation plus importante des protéines kinases activatrices de mitogènes (MAP kinase), ce qui résulte en des lésions de l'intestin plus importantes lorsque le tissu intestinal est traité avec cette toxine (Pinton et al., 2012). Le DON et ses dérivés causent donc des effets négatifs au niveau de la morphologie de la muqueuse intestinale, à différentes intensités selon le composé. Selon eux, le DON est donc la toxine de toxicité intermédiaire, l'A-15-DON étant le composé le plus毒ique et l'A-3-DON le moins毒ique (Pinton et al., 2012). Przybylska-Gornowicz et al. (2015) notent aussi que l'expression des claudines et des occludines au niveau des jonctions serrées de l'intestin peut être diminuée, ce qui affecte la perméabilité de la barrière intestinale. Selon eux, cette diminution de l'expression de ces protéines serait lié à l'effet inhibiteur de la synthèse protéique de DON. Donc, par son effet d'inhibition de la synthèse protéique, le DON induit une réponse de stress caractérisée par l'activation de MAP kinase (protéine activatrice impliquée, entre autres, dans l'expression des claudines), ce qui résulte en une diminution de la prolifération cellulaire, c'est-à-dire des dommages à l'intégrité de la muqueuse intestinale (Awad et Zentek, 2015). Dänicke et al. (2012), ont de leur côté analysé l'effet du DON sur une protéine des jonctions serrées, la *zonula occludens-1* (ZO-1) et celle-ci n'était pas affectée lorsque les porcs étaient nourris avec une ration contenant 3 mg DON/kg.

Un changement au niveau de l'expression des protéines de jonctions serrées, peut donc entraîner un changement au niveau de la perméabilité de la barrière intestinale. Les jonctions serrées étant

possiblement moins fonctionnelles pour filtrer les entrées au niveau de la muqueuse, les bactéries du lumen pourraient donc traverser vers la circulation sanguine. Il s'agit aussi d'une des causes possibles de l'augmentation du nombre de lymphocytes dans l'épithélium et la lamina propria suite à six semaines d'exposition à de faibles doses orales de DON ($12 \mu\text{g}/\text{kg}$ poids vif) observée dans l'étude de Przybylska-Gornowicz et al. (2015). Cette augmentation du nombre de lymphocytes peut aussi être reliée à l'activation de la synthèse de cytokines inflammatoires et de chimiokines, des protéines impliquées dans l'activation de la réponse immunitaire (Przybylska-Gornowicz et al. 2015).

De plus, l'effet du DON sur les transporteurs de nutriments au niveau de l'intestin peut aussi être en partie lié à l'inhibition de la synthèse protéique que cause cette mycotoxine (Maresca et al., 2002). L'exposition à certaines mycotoxines, dont le DON, pourrait donc rendre les animaux plus sensibles aux infections et nuire à l'absorption des nutriments. La dose et la durée d'exposition peuvent par contre jouer un rôle sur le niveau d'altération de la barrière intestinale (Pinton et al., 2012).

Étanchéité de la barrière épithéliale

L'étanchéité de la barrière intestinale est mesurée par la résistance électrique transépithéliale. Cette dernière est diminuée par $30 \mu\text{M}$ de DON et par $10 \mu\text{M}$ de A-15-DON (Pinton et al., 2012). Ces quantités sont fort probablement équivalentes à une dose assez élevée puisque $10 \mu\text{M}$ de DON représentent, toujours selon l'estimation de Cheat et al. (2016), une moulée contaminée à 3 mg DON/ kg. L'A-3-DON n'a pas d'effet sur ce paramètre. L'A-15-DON est donc le composé ayant la plus grande influence négative sur la fonction de barrière de l'intestin lorsque comparé avec DON ou A-3-DON puisqu'il en faut une moins grande quantité pour avoir le même effet que DON. Pour ce qui est de DON, plus l'exposition est de longue durée, plus la résistance électrique transépithéliale est diminuée (Pinton et al., 2010).

2.4.2. Inflammation de la muqueuse intestinale

Plusieurs études, ont analysé l'effet du DON et des mycotoxines en général sur l'expression de certains gènes reliés au processus d'inflammation. L'expression des ARNm des cytokines, des protéines de contrôle des réactions immunitaire et inflammatoire, est particulièrement étudiée.

Au niveau des toxines de *Fusarium*, Wan et al. (2013) ont analysé l'effet d'un mélange de 4 toxines provenant du champignon *Fusarium*, soit le DON, le nivalénol (NIV), la zéaralénone (ZEA) et la fumonisine B1 (FB1) sur l'expression *in vitro* des ARNm de protéines pro-inflammatoires utilisant une culture cellulaire intestinal de porc, IPEC-J2. Les toxines seules ou mélangées selon 16 combinaisons différentes, à des concentrations jugée cytotoxiques (2 µM DON, 2 µM NIV, 40 µM ZEA et 40 µM FB1) ou non cytotoxique (0,5 µM DON, 0,5 µM NIV, 10 µM ZEA et 20 µM FB1), représentaient des concentrations équivalentes à ce qui se retrouve probablement au niveau du système digestif lors de l'ingestion d'aliment contaminés. Dans presque tous les cas, une augmentation de l'expression des ARNm des cytokines pro-inflammatoires (IL1 α , IL1 β , IL6, IL8, TNF α et MCP-1) au niveau des cellules épithéliales de l'intestin suite à une exposition de 48 heure, comparé au témoin sans exposition aux toxines a été notée. Dans cette étude, le mélange de différentes mycotoxines, même à des doses cytotoxiques n'entraînait pas nécessairement un effet additif sur la production de cytokines. Les auteurs suggèrent une possible compétition entre les mycotoxines pour les sites réception (Wan et al., 2013). L'augmentation des ARNm de ces protéines signifie donc que leur production est stimulée, ce qui entraîne de l'inflammation.

Une autre étude en lien avec l'expression des ARNm de protéines pro-inflammatoires, en fonction de DON particulièrement cette fois-ci, a aussi démontré que l'expression des ARNm des protéines pro-inflammatoires TNF- α et IL-6 au niveau du foie est augmentée chez le porc, numériquement pour TNF- α et significativement pour IL-6, avec l'augmentation des doses de DON (0 à 2000 nM) (Döll et al., 2009). Dans cette étude, le DON provoquait et modulait clairement les réactions inflammatoires des cellules de foie chez le porc (Döll et al., 2009).

Des résultats similaires ont été obtenus par l'équipe de Lessard et al. (2015). Dans cette étude, des porcelets de 4 semaines d'âge ont été nourris avec une alimentation saine (0 mg DON/kg) ou contaminée (3,5 mg DON/kg) pendant 42 jours. Au bout des 42 jours de traitement, les porcelets ont été euthanasiés et des échantillons de la muqueuse intestinal au niveau du jéjunum et de

l'iléon ont été pris pour mesuré l'expression de gènes associés à une réaction inflammatoire. L'exposition au DON entraînait une augmentation de l'expression de IFNG et des chemokines IL8 et CXCL10 dans l'iléon et des gènes IL4 et CXCL10 dans le jéjunum.

Stress oxydatif

Au niveau cellulaire, plusieurs éléments peuvent entraîner le relâchement de dérivés actifs d'oxygène (ROS, reactive oxygen species), des molécules réactives et des radicaux libres qui peuvent causer plusieurs effets négatifs. Ces molécules sont un produit normal de la chaîne de transport d'électrons lors du processus de respiration aérobie mitochondrial. De plus, ils sont aussi le produit des cytokines inflammatoires (Ray et al., 2012). Lors d'une situation normale, le bon fonctionnement cellulaire tient de la balance entre la production de ROS et la capacité des enzymes anti-oxydantes à neutraliser ces métabolites (Ray et al., 2012). Un stress oxydatif survient lorsqu'il y a un débalancement et que les enzymes anti-oxydantes ne sont plus en mesure de neutraliser les ROS produits (Ray et al., 2012) Plusieurs éléments peuvent causer un stress oxydatif au niveau des cellules.

La stimulation des gènes associés aux cytokines pro-inflammatoire par DON entraîne donc d'un côté la production de ROS (Wan et al., 2013; Lessard et al., 2015). D'un autre côté, DON influence aussi l'expression des gènes associés à certaines enzymes anti-oxydantes. Notamment, Dans l'étude de Lessard et al. (2015), la NOS2, une enzyme oxydative est augmentée au niveau du jéjunum, suite à l'ingestion d'une ration contaminée à 3,5 mg DON/ kg pendant 42 jours. Au contraire, cette enzyme restait inchangée dans l'iléon mais l'expression de gènes codant pour des enzymes anti-oxydantes a été diminuée (GPX3, GPX4, et SOD3) sauf dans le cas de la GPX2, qui encode pour l'enzyme glutathion peroxydase.

Le stress oxydatif est un des mécanismes associé au DON qui pourrait entraîner des dommages au niveau de l'intestin, incluant l'atrophie ou la mort des cellules intestinales (Ghareeb et al., 2015). L'augmentation notée de la présence de protéines pro-inflammatoires dans l'intestin suite au contact de DON avec la muqueuse peut entraîner des problèmes anatomiques et physiologiques. Il va de soi qu'une inflammation du système digestif cause des inconforts chez les animaux. De plus, la stimulation du système immunitaire et la production de cytokines entraîne une diminution de la prise alimentaire et le catabolisme musculaire (Pestka, 2007; Goodband et al., 2014). La présence de DON dans l'alimentation et son effet sur le système

immunitaire de la muqueuse intestinale peut donc en partie expliquer son impact sur les performances de croissance.

2.4.3. Absorption des nutriments et digestibilité

Quelques études ont été réalisées afin d'analyser le rôle de DON au niveau de la digestibilité des nutriments. Ayant un effet négatif sur la morphologie intestinale, et étant soupçonné d'avoir un effet sur les transporteurs de nutriments et sur les protéines de jonction serrées via l'inhibition de la synthèse protéique, DON est souvent suspecté de limiter l'absorption des nutriments.

Concepts de digestibilité

La digestibilité d'un aliment estime la quantité de nutriments absorbés par l'animal, et donc, les nutriments qui sont disponibles pour sa croissance. Par conséquent, la digestibilité est calculée en quantifiant ce qui était dans l'aliment et ce qui est disparu au niveau du tractus digestif. Il s'agit donc d'une estimation de ce qui est absorbé. Plus un aliment est digestible (pourcentage élevé), plus il pourra être utilisé pour la croissance et le développement de l'animal. Plusieurs concepts se rattachent à la digestibilité puisqu'elle peut être calculée de différentes façons. Il est d'abord possible de mesurer la digestibilité totale, qui consiste à mesurer les nutriments contenus dans les fèces et à les soustraire de ceux contenus dans les aliments. Toutefois, puisque chez les monogastriques, l'absorption se fait surtout au niveau du petit intestin et que les microorganismes au niveau du gros intestin utilisent et modifient les nutriments qui n'ont pas servi à leur hôte pour leur propre développement, cette méthode n'est pas toujours représentative des nutriments disponibles pour l'animal. En effet, les nutriments retrouvés dans les fèces peuvent avoir été modifiés par les microorganismes du gros intestin. Autrement, pour amenuiser l'effet des microorganismes et ainsi avoir une mesure plus précise, il est possible de mesurer la digestibilité iléale. Pour ce faire, il faut récolter du digesta à la fin de l'iléon, soit après l'abattage des animaux ou en procédant à une opération chirurgicale pour placer une canule à la fin de l'iléon, ce qui permet de faire la récolte sur des animaux vivants (Stein et al., 2007). Le calcul de la digestibilité iléale à l'aide de canules nécessite toutefois la présence d'un marqueur indigest dans l'alimentation puisqu'il s'agit d'une récolte partielle de digesta (Stein et al., 2007). La formule utilisée pour le calcul de la digestibilité iléale apparente (DIA) est donc celle qui suit :

$$DIA (\%) = [1 - \left(\frac{[nutriment digesta]}{[nutriment aliment]} \right) * \left(\frac{[marqueur aliment]}{[marqueur digesta]} \right)] * 100$$

Stein et al., 2007

De plus, la digestibilité peut être considérée comme «vraie» ou «apparente». Au contraire de la digestibilité apparente, la digestibilité vraie considère les pertes endogènes dans le calcul (Stein et al., 2007). Les pertes endogènes sont les cellules mortes de l'intestin, les sécrétions digestives (estomac, pancréas, vésicule biliaire, intestin), le mucus et les microorganismes du système digestif. Afin de mesurer les pertes endogènes, l'utilisation d'une ration sans le nutriment d'intérêt (protéine, phosphore, calcium, etc.) est la méthode la plus souvent utilisée (Messad, 2016). Une autre méthode est aussi possible et respecte mieux les besoins physiologiques des animaux. Il s'agit de la méthode de régression linéaire, qui consiste à alimenter les animaux avec une ration contenant une concentration croissante en protéine. La valeur des pertes endogènes à une concentration en protéine égale à zéro est alors estimée par extrapolation (Messad, 2016). Les pertes endogènes augmentent donc la quantité de nutriments, retrouvés à l'iléon ou dans les fèces qui ne proviennent pas de l'alimentation, elles causent alors une sous-estimation de la digestibilité de la ration (Hess et al., 2000).

Impact de DON sur l'absorption des nutriments et la digestibilité

La digestibilité peut être mesurée de différentes façons. La quantité digestible, souvent mesurée en pourcentage est donc celle qui est supposément absorbée. Les principales études sur l'effet du DON sur la digestibilité des nutriments sont principalement faites sur la digestibilité apparente totale des nutriments. De plus, certaines études mesurent l'effet du DON sur la perméabilité de la barrière épithéliale et sur l'expression de certains gènes codant pour les transporteurs de nutriments, ce qui permet de faire un lien avec son effet sur l'absorption ou la digestibilité des nutriments.

Awad et Zentek (2015) ont effectué une étude avec 10 poulets afin d'évaluer l'effet de DON sur la perméabilité de la barrière intestinale. Dans cette étude, les auteurs utilisaient la mesure du courant court-circuit (Isc) dans une chambre d'Ussing, une donnée utilisée comme indicateur de transport actif d'ions au travers des tissus. L'exposition ponctuelle de la muqueuse d'une heure au DON (1 mM) entraînait une diminution du courant induit par le glucose et la glutamine, ce qui signifie une moins bonne absorption de ces nutriments en présence de DON. Le constat était

similaire dans l'étude d'Halawa et al. (2012), qui ont noté une inhibition du transport de lalanine et du glucose au travers de la muqueuse des porcs avec des doses de 4 000 ng/ml et 8 000 ng/ml de DON. Cet effet du DON peut être attribué à son effet inhibiteur sur une protéine de cotransport du glucose.

L'équipe de chercheurs de Wu et al. (2015) a quant à elle évalué l'expression des ARNm des transporteurs de nutriments afin d'évaluer l'effet de DON sur la digestibilité des porcs en croissance. Dans leur étude, un groupe témoin (0 mg DON/kg) et 3 doses de DON ont été testés (3, 6 et 12 mg/kg). Ils ont découvert que, suite à 21 jours d'exposition au DON, l'expression des ARNm qui codent pour différents transporteurs de nutriments était plus forte pour le groupe témoin que pour les 3 groupes recevant une alimentation contaminée. Le DON peut donc possiblement diminuer l'absorption de nutriments comme le glucose, les acides aminés et des peptides en inhibant l'expression des ARNm de leurs transporteurs respectifs.

De leur côté, Jo et al. (2016), ont effectués une recherche sur l'effet des mycotoxines (DON et ZEA) sur la digestibilité iléale des acides aminés. Dans cette étude, 12 porcs canulés recevaient une alimentation fortement contaminée avec 10 mg DON/kg (de source purifiée) ou une alimentation témoin (saine) pendant 5 jours d'adaptation à la ration et 3 jours de collecte de digesta. Dans cette étude, DON n'a pas eu d'effet sur la digestibilité de la matière sèche, ni des protéines brutes. Toutefois, DON tendait à diminuer la digestibilité iléale de la lysine ($P = 0,075$), de la thréonine ($P = 0,082$) et de la valine ($P = 0,084$) et diminuait la digestibilité du tryptophane ($P = 0,023$).

Dans l'étude de Le Thanh et al. (2015), les porcelets du groupe témoin, qui recevaient une alimentation saine, avaient une meilleure digestibilité totale de la matière sèche, de l'énergie et du gras brut que ceux recevant une alimentation contaminée avec environ 4 mg DON /kg. Par contre, la digestibilité de l'azote et du phosphore n'étaient pas affectées par le DON et la digestibilité du calcium était meilleure lorsque les porcelets consommaient une alimentation contaminée (Tableau 2.5). Cet effet noté sur la digestibilité totale de la matière sèche et de l'énergie, qui était calculée en récoltant les fèces en cage métabolique, est associé, entre autres, selon les chercheurs, à la diminution de la taille des villosités intestinales observée chez les porcelets recevant une alimentation contaminée (Le Thanh et al., 2015). Une autre étude en cage métabolique montre de son côté que la digestibilité totale des protéines brutes augmente avec l'augmentation des quantités ingérées de DON (0,6; 6,1; 7,7 et 14,6 mg/kg) dans l'alimentation alors que la

digestibilité de la matière organique et de la matière sèche n'était pas affectée par DON (Kong et al., 2015).

Tableau 2.5. Effet de DON (4 mg DON/kg d'aliment) sur la digestibilité (%)

| Composant | Témoin | DON |
|---------------|--------------------|--------------------|
| Matière sèche | 83,12 ^a | 80,32 ^b |
| Énergie | 81,9 ^a | 77,95 ^b |
| Gras | 32,4 ^a | 24,09 ^b |
| Azote | 79,58 ^a | 78,07 ^a |
| Phosphore | 58,97 ^a | 61,38 ^a |
| Calcium | 65,12 ^a | 82,21 ^b |

Adaptée de Le Thanh et al., 2015

Dans l'étude de Goyarts et Dänicke (2005), 10 porcs en cage métabolique recevaient une moulée saine ou contaminée avec 7,41 mg DON/kg d'aliment. Les porcs nourrit avec la moulée saine recevaient une quantité équivalente à la quantité volontairement consommée par les porcs avec la moulée contaminée. Dans cette étude, les digestibilités de l'énergie métabolisable, de la matière organique, des protéines brutes et des gras bruts étaient augmentées avec l'ingestion de la moulée contaminée. De plus, DON augmentait la rétention de l'azote (Tableau 2.6). Étant donnée la différence de provenance entre les grains contaminés ou non utilisés dans cette étude, les auteurs expliquent leur résultats de digestibilité par le fait que les deux sources n'étaient pas complètement comparables.

Tableau 2.6. Effet de DON (7,41 mg DON/ kg d'aliment) sur la digestibilité (%) des nutriments

| Composant | Témoin | DON |
|--|-------------------|-------------------|
| Matière organique | 82,8 ^a | 85,3 ^b |
| Protéine brute | 82,4 ^a | 87,2 ^b |
| Gras bruts | 63,5 ^a | 70,2 ^b |
| Fibres brutes | 30,8 ^a | 38,3 ^a |
| Azote libre | 88,4 ^a | 89,7 ^a |
| Énergie métabolisable | 12,9 ^a | 13,5 ^b |
| Azote retenu (mg/d/kg BW ^{0,75}) | 854 ^a | 936 ^b |

Adaptée de Goyarts et Dänicke, 2005

D'un autre côté, selon une étude de la même équipe de recherche, la digestibilité totale, mesurée en cage métabolique sur 8 porcs ayant reçu une moulée contaminée (5,7 mg DON/ kg) et 5 porcs ayant reçu une moulée saine pendant 4 semaines, n'était pas affectée par la présence de la mycotoxine (Dänicke et al., 2006). De plus, dans l'étude de Dänicke et al. (2012), les digestibilités apparentes totales de la matière organique, des protéines brutes, des fibres brutes et de l'azote n'étaient pas affectées par une dose de 3 mg DON/kg d'aliment servi à des porcs lors de l'engraissement. Par contre, la digestibilité des lipides était significativement plus faible chez les porcs recevant la moulée contaminée.

Comme il est possible de le remarquer, l'effet de DON sur la digestibilité varie selon les études. Vu l'anatomie du porc, l'absorption des nutriments se fait généralement au niveau de l'intestin grêle alors que peu d'absorption se fait dans le côlon. Il est donc possible que les résultats sur la digestibilité iléale, mesurée avec une récolte de digesta chez des porcs canulés, et que la digestibilité totale, mesurée par la récolte des fèces, soient différentes, notamment au niveau de l'effet sur les protéines. En effet, le dosage des nutriments dans les fèces est en fait un dosage de ce qui reste suite à la dégradation et à l'utilisation par les microorganismes. De plus, les doses et les sources de DON utilisées (contamination naturelle ou de source purifiée) pourraient avoir un effet différent sur la digestibilité puisque lors des contaminations naturelles, plusieurs formes de DON peuvent être présentes dans les grains. De plus, en conditions naturelles, d'autres

mycotoxines peuvent être présentes et des effets de synergie entre les mycotoxines peuvent être possibles, sans toutefois être un effet additif (Wan et al., 2013).

2.5. Contrôle des mycotoxines

Vu l'importante proportion de contamination mondiale des grains avec des mycotoxines, les pertes économiques que cela engendre et le risque pour la santé, l'élimination des mycotoxines dans les aliments est une problématique majeure à laquelle des acteurs dans le monde entier s'intéressent. Afin d'éviter les effets négatifs des mycotoxines, il y a trois possibilités à envisager. Premièrement, le meilleur moyen de prévenir les effets des mycotoxines est de prévenir la contamination des grains, en effectuant des pratiques culturales adéquates : sélection d'hybrides, date de semis favorable, densité de culture, rotation de cultures, récolte au bon moment, séchage efficace. Ces méthodes ne sont toutefois pas toujours suffisantes (Magan et Aldred, 2007; Jard et al., 2011). C'est pourquoi des méthodes de détoxicification et d'élimination des mycotoxines sont recherchées. La deuxième et la troisième possibilité à envisager lorsque la contamination est présente sont l'inhibition de l'absorption de la mycotoxine dans le système digestif et la décontamination des toxines contenues dans les aliments (Awad et al., 2010).

2.5.1. Produits anti-mycotoxiniques

Une des approches souvent utilisées pour décontaminer les aliments est d'ajouter des adsorbants aux aliments, qui lient la mycotoxine dans le système gastro-intestinal, la rendant moins biodisponible et l'empêchant d'être absorbée (Awad et al., 2010). La toxine est alors moins biodisponible et n'a pas des effets aussi prononcés chez l'animal. Parmi ces adsorbants, il y a ceux qui sont inorganiques, comme le charbon activé, les aluminosilicates (inclus les argiles) et les polymères synthétiques, et les organiques, par exemple les levures ou les extraits de levures (Jard et al., 2011). Plusieurs recherches ont été faites à ce sujet, mais la plupart des adsorbants trouvés sont efficaces contre certaines mycotoxines, mais souvent inefficaces contre les trichothécènes (Huwig et al., 2001; Dänicke et Döll, 2010; Dänicke et al., 2012). Il est connu que certaines propriétés des adsorbants influencent beaucoup leur efficacité. D'un autre côté leur efficacité dépend aussi des propriétés de la mycotoxine elle-même comme sa polarité, sa solubilité, sa taille, sa forme et sa distribution de charges (Huwig et al., 2001).

Certains produits connus sont utilisés dans l'industrie animale comme agents d'amélioration des performances et ils pourraient servir d'adsorbant organique pour se lier aux mycotoxines, par exemple, le Cel-can® (mélange de produits de levures, bentonite argile), le Biofix Plus® (mélange de produits de levures, bactéries, enzymes et extraits de plantes) et le Integral® (glucomannans, produit de levures). Toutefois, les résultats des recherches sur ces produits et leur efficacité contre le DON ne sont pas concluants (Frobose et al., 2015; Patience et al.; 2014; Le Thanh et al., 2015). Même constat dans l'étude *in vitro* de Döll et al. (2004) où 6 produits disponibles sur le marché et 3 substances utilisées en laboratoire étant considérés comme des adsorbants ont échoué pour la détoxicification de DON. Patience et al. (2014) suggèrent que dû à la rapidité d'absorption du DON dans le système gastro-intestinal, les produits absorbants n'auraient pas assez de temps pour se lier à la toxine et prévenir son absorption.

L'autre approche possible est la détoxicification des mycotoxines par transformation. Avec l'utilisation de ces produits, les mycotoxines sont dégradées en des métabolites moins toxiques. Il est alors possible d'utiliser différents traitements physiques comme les traitements thermiques, la radiation, les processus d'oxydoréduction, l'acidification, la déamination, etc. (Jard et al., 2011). Ces types de traitements sont par contre généralement inefficaces sur le DON puisque celui-ci est stable à de très hautes températures (Tableau 2.1). De plus, ces traitements peuvent être inefficaces puisqu'ils dégradent non seulement la mycotoxine, mais aussi les nutriments présents dans les aliments. Certains agents de transformations pouvant être utilisés sont des éléments biologiques comme des bactéries, des champignons, des levures ou des enzymes (Boudergue et al., 2009) qui agissent alors en transformant les mycotoxines en leur métabolites moins toxiques. Toutefois, dans le cas de DON, la molécule étant très rapidement absorbée, l'efficacité de la transformation par des enzymes est peu envisageable.

2.5.2. Métabisulfite de sodium (Defusion^{MC})

Comme mentionné plus haut, le DON est une toxine difficile à contrer. Certains produits, qui fonctionnent bien sur d'autres mycotoxines n'ont aucun effet sur DON. Présentement, certaines recherches se concentrent sur le métabisulfite de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$), produit capable de diminuer la quantité de DON dans les aliments par un processus d'oxydoréduction qui change la forme de la molécule, la rendant moins toxique (Dänicke et al., 2010a;b; Frobose et al., 2015; 2017). Un produit composé de métabisulfite de sodium, le Defusion^{MC}, semble prometteur puisqu'il a déjà

démontré certains effets positifs sur les performances de croissance, lorsqu'utilisé avec une moulée contaminée au DON (Patience et al., 2014; Le Thanh et al., 2015; Frobose et al., 2017). Le Defusion^{MC} est en fait un mélange d'un agent de conservation, de métabisulfite de sodium, d'antioxydants et d'acides aminés. Son effet positif sur l'amélioration des performances peut donc être dû à plusieurs éléments ou à l'interaction de certains éléments de sa composition. Les agents antioxydants, entre autres peuvent avoir un impact positif au niveau cellulaire afin de protéger la muqueuse intestinal des dommages possibles liés au stress oxydatif qu'entraîne la consommation de DON. Toutefois, le métabisulfite de sodium qu'il contient, diminue la concentration de DON dans l'alimentation en formant du DON sulfoné (DONS), une forme moins毒ique (Dänicke et al., 2010b).

Par exemple, dans l'étude de Le Thanh et al. (2015; Tableau 2.7), le Defusion^{MC}, intégré selon les recommandations du fabricant à 0,25 %, a eu pour effet de maintenir les performances de croissance (GMQ, consommation quotidienne moyenne, efficacité alimentaire) similaires au groupe témoin (DON < 0,50 mg/kg) des porcs recevant une alimentation contaminée avec 4 mg DON /kg .

Tableau 2.7. Tableau des performances de porcs lors de la consommation d'une moulée contaminée au DON (4 mg DON/kg) et complémenté ou non avec du Defusion^{MC}, un produit antimycotoxique (Defusion^{MC}, 0,25 %)

| | Témoin | DON | DON+Defusion ^{MC} |
|---------------------------|--------|------|----------------------------|
| 0-7 jours | | | |
| GMQ ^a (g/d) | 187 | 69* | 148 |
| Conso. ^b (g/d) | 339 | 182* | 260 |
| 7-14 jours | | | |
| GMQ (g/d) | 555 | 365* | 551 |
| Conso. (g/d) | 714 | 669 | 696 |
| 0-14 jours | | | |
| GMQ (g/d) | 373 | 220* | 352 |
| Conso. (g/d) | 497 | 390* | 444 |

Adaptée de Le Thanh et al., 2015

^aGMQ : gain moyen quotidien, ^bConso. : consommation des porcs

Dans le même ordre d'idée, le Defusion^{MC} a donné des résultats intéressants dans l'étude de Frobosse et al. (2015). En effet, le Defusion^{MC}, ajouté à une dose de 0,25 % ou de 0,50 % dans l'alimentation contenant 2 mg DON/kg a amélioré le GMQ de 4 et 6 %, respectivement. Les porcs recevant 0,50 % de Defusion^{MC} dans leur alimentation avaient des performances de croissance semblables à celles du groupe témoin positif (0,7 mg DON/kg). Même constat dans l'étude de Patience et al. (2014) où les porcs nourris avec une alimentation formulée pour contenir 4 mg DON/kg et contenant du Defusion^{MC} avaient des performances de croissances (gain moyen quotidien, prise alimentaire et efficacité alimentaire) au similaires à celles du témoin positif sans DON pour un total de 115 jours de traitement.

2.6. Conclusion

Le DON est une mycotoxine d'importance et très répandue au Québec et au Canada. Le porc est l'espèce d'élevage la plus sensible à cette mycotoxine, principalement à cause d'une absorption rapide au début du système digestif et dû à la faible dé-époxidation de la molécule en sa forme moins toxique, le DOM-1.

Le DON affecte les performances de croissance en élevage, notamment, en diminuant la prise alimentaire, ce qui entraîne un gain de poids plus faible. De plus, la molécule est connue pour avoir un effet inhibiteur sur la synthèse protéique, ce qui peut influencer la sélectivité de la barrière intestinale via une possible altération de la fonction des protéines des jonctions serrées ou des transporteurs de nutriments. Les études se contredisent toutefois pour ce qui est de l'effet du DON sur la digestibilité des nutriments.

Il est connu que les effets des mycotoxines peuvent être amoindris en utilisant des additifs alimentaires qui se lient à la molécule pour en limiter l'absorption ou qui vont transformer la molécule en une forme moins toxique. La plupart des différents produits anti-mycotoxiniques retrouvés sur le marché sont toutefois inefficaces pour contrer les effets du DON ou pour limiter son absorption. Un produit d'exception est, par contre, présentement à l'étude. Il s'agit du Defusion^{MC}, un mélange d'un agent de conservation (métabisulfite de sodium), d'antioxydants et d'acides aminés. Ce produit a permis d'obtenir des performances de croissance semblables au groupe témoin dans des études récentes.

Les nouvelles découvertes sur le Defusion^{MC} et les résultats contradictoires au niveau de l'effet de DON sur la digestibilité ouvrent la porte à d'autres études à ce sujet.

2.8. Liste des ouvrages cités

AAC. 2015. Le porc Canadien. Agriculture et agroalimentaire Canada. <http://www.agr.gc.ca/fra/industrie-marches-et-commerce/exportation-et-achat-de-produits-canadiens/acheter-des-produits-canadiens/le-porc-canadien/?id=1425929147920> (page consultée le 9 mai 2016)

ACIA. 2015. Mycotoxines dans les aliments du bétail. Agence canadienne d'inspection des aliments. <http://www.inspection.gc.ca/animaux/aliments-du-betail/directives-reglementaires/rg-8/fra/1347383943203/1347384015909?chap=1> (page consultée le 9 mai 2016)

Arunachalam, C. et F.M. Doohan. 2013. Trichothecene toxicity in eucaryotes: Cellular and molecular mechanisms in plants and animals. Toxicol. Letters. 217:149-158

Awad, W.A., J.R. Aschenbach, F.M.C.S. Setyabudi, E. Razzazi-Fazeli, J. Böhm et J. Zentek. 2007. In vitro effects of deoxynivalenol on small intestinal D-Glucose uptake and absorption of deoxynivalenol across the isolated jejunal epithelium of laying hens. Poult. Sci. 86: 15-20.

Awad, W.A. et J. Zentek. 2015. The feed contaminant deoxynivalenol affects the intestinal barrier permeability through inhibition of protein synthesis. Arch. Toxicol. 89: 961-965

Awad, W.A., K. Ghareeb, J. Böhm et J. Zentek. 2010. Decontamination and detoxification strategies for the Fusarium mycotoxin deoxynivalenol in animal feed and the effectiveness of microbial biodegradation. Food Addit. Contam. 27: 510-520

Berthiller, F., C. Dall'Asta, R. Schuhmacher, M. Lemmens, G. Adam et R. Krska. 2005. Masked mycotoxins : Determination of deoxynivalenol glucoside in artificially and naturally contaminated wheat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J. Agric. Food Chem. 53: 3421-3425

Boudergue, C., C. Burel, S. Dragacci, M.-C. Favrot, J.-M. Fremy, C. Massimi, P. Prigent, P. Debongnie, L. Pussemier, H. Boudra, D. Morgavi, I. Oswald, A. Perez et G. Avantaggiato.

2009. Review of mycotoxin detoxifying agents used as feed additives : mode of action, efficacy and feed/food safety. EFSA. 6: 1-192

Canada porc international. 2017. Exportations Canadiennes de porc.
<http://www.canadapork.com/fr/information-sur-l-industrie/exportations-canadiennes-de-porc> (page consultée le 18 décembre 2017)

Canada porc international. 2017. La mise en marché du porc Canadien.
<http://www.canadapork.com/fr/information-sur-l-industrie/la-mise-en-marche-du-porc-canadien> (page consultée le 30 mars 2018)

CDPQ. 2015. ABC de la production porcine: Portrait de la production porcine Québécoise. Centre de développement du porc du Québec.
http://www.cdpq.ca/getattachment/Publications-et-documents/Indicateurs-de-performance/2015-12-ABC-prod_Quebec.pdf.aspx (page consultée le 9 mai 2016)

Cheat, S., P. Pinton, A.-M. Cossalter, J. Cognie, M. Vilariño, P. Callu, I. Raymond-Letron, I. P. Oswald et M. Kolf-Clauw. 2016. The mycotoxins deoxynivalenol and nivalenol show in vivo synergism on jejunum enterocytes apoptosis. Food. Chem. Toxicol. 87: 45-54.

Dänicke, S., A.K. Hegewald, S. Kahlert, J. Kluess, H.-J. Rothkötter, G. Breves et S. Döll. 2010a. Studies on the toxicity of deoxynivalenol (DON), sodium metabisulfite, DON-sulfonate (DONS) and de-epoxy-DON for porcine peripheral blood mononuclear cells and the intestinal porcine epithelial cell lines IPEC-1 and IPEC-J2, and on effects of DON and DONS on piglets. Food Chem. Toxicol. 48: 2154-2162

Dänicke, S., B. Brosig, L. R. Klunker, S. Kahlert, J. Kluess, S. Döll, H. Valenta et H.-J. Rothötter. 2012. Systemic and local effects of the Fusarium toxin deoxynivalenol (DON) are not alleviated by dietary supplementation of humic substances (HS). Food. Chem. Toxicol. 50: 979-988.

Dänicke, S. et S. Döll. 2010. A probiotique feed additive containing spores of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* does not prevent absorption and toxic effects of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol in piglets. Food Chem. Toxicol. 48: 152-158

Dänicke, S., H. Valenta et S. Döll. 2004. On the toxicokinetics and metabolism of deoxynivalenol (DON) in pig. Arch. Anim. Nutr. 58: 169-180.

Dänicke, S., M. Beyer, G. Breves, H. Valenta et H.-U. Humpf. 2010b. Effects of oral exposure of pigs to deoxynivalenol (DON) sulfonate (DONS) as the non-toxic derivative of DON on tissue residues of DON and de-epoxy-DON and on DONS blood levels. Food Addit. Contam. 7: 1558-1565

Dänicke, S., T. Goyarts, S. Döll, N. Grove, M. Spolders et G. Flachowsky. 2006. Effects of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol on tissue protein syntheses in pigs. Toxicol. Lett. 165: 297-311.

Desjardins, A.E. 2006. *Fusarium* mycotoxins: Chemistry, genetics and biology. The American Phytopathological Society. Peoria, IL, États-Unis.

Döll, S., J.A. Schrickx, S. Dänicke et J. Fink-Gremmels. 2009. Interactions of deoxynivalenol and lipopolysaccharides on cytokine excretion and mRNA expression in porcine hepatocytes and Kupffer cell enriched hepatocyte culture. Toxicol. Lett. 190: 96- 105

Döll, S., S. Dänicke et H. Valenta. 2008. Residues of deoxynivalenol (DON) in pig tissue after feeding mash or pellet diets containing low concentrations. Mol. Nutr. Food Res. 52: 727-734

Döll, S., S. Dänicke, H. Valenta et G. Flachowsky. 2004. In vitro studies on the evaluation of mycotoxin detoxifying agent for their efficacy on deoxynivalenol and zearalenone. Arch. Anim. Nutr. 58: 311- 324

Étienne, M., 2007. Effets biologiques et physiologiques d'une mycotoxine, le déoxynivalénol (DON), chez le porc. Pages 407-418 dans : 39èmes Journées de la Recherche Porcine. IFIP, INRA (éd.). 6, 7 et 8 février, Paris.

Eriksen, G.S., H. Pettersson et J.E. Lindberg. 2003. Absorption, metabolism and excretion of 3-acetyl DON in pigs. Arch. Anim. Nutr. 57: 335-345

Eriksen, G.S., H. Pettersson, K.Johnsen et J.E. Lindberg. 2002. Transformation of trichothecenes in ileal digesta and faeces from pigs. Arch. Anim. Nutr. 56: 263-274

FAO. 2016. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/a-z-index/mycotoxins/fr/> (page consultée le 21 juillet 2016)

Frobese, H.L., E.D. Fruge, M.D. Tokach, E.L. Hansen, J.M. DeRouchey, S.S. Dritz, R.D. Goodband et J.L. Nelson. 2015. The effects of deoxynivalenol-contaminated corn dried distillers grains with solubles in nursery pig diets and potential for mitigation by commercially available feed additives. J. Anim. Sci. 93: 1074-1088

Frobese, H.L., E.W. Stephenson, M.D. Tokach, J.M. DeRouchey, J.C. Woodworth, S.S. Dritz et R.D. Goodband. 2017. Effects of potential detoxifying agents on growth performance and deoxynivalenol (DON) urinary balance characteristics of nursery pigs fed DON-contaminated wheat. J. Anim. Sci. 95: 327-337.

Garreau de Loubresse, N., I. Prokhorova, W. Holtkamp, M. V. Rodnina, G. Yusupova et M. Yusupov. 2014. Structural basis for the inhibition of the eukaryotic ribosome. Nature. 513: 517-523

Goodband, B., M. Tokach, S. Dritz, J. DeRouchey et J. Woodworth. 2014. Practical starter pig amino acids requirements in relation to immunity, gut health and growth performance. J. Anim. Sci. Biotechno. 5:12

Goyarts, T. et S. Dänicke. 2005. Effects of deoxynivalenol (DON) on growth performance, nutrient digestibility and DON metabolism in pigs. Mycotox. Res. 21: 139-142

Halawa, A., S. Dänicke, S. Kersten et G. Breves. 2012. Effects of deoxynivalenol and lipopolysaccharide on electrophysiological parameters in growing pigs. Mycotox. Res. 28: 243-252

He, J., T. Zhou, J. Christopher Young, G. J. Boland et P.M. Scott. 2010. Chemical and biological transformations for detoxification of trichothecene mycotoxins in human and animal food chains: a review. Trends Food Sci. Tech. 21: 67-76

He, P., L.G. Young et C. Forsberg. 1992. Microbial transformation of deoxynivalenol (vomitoxin). Appl. Environ. Microbiol. 58 (12): 3857-3863

Hess, V., B. Sèvre, S. Langer et G. Duc. 2000. Impact des pertes endogènes iléales sur la rétention azotée corporelle. Vers un nouveau système d'évaluation des protéines. Pages 207-215 dans 32^{èmes} Journées de la Recherche porcine. IFIP, INRA (éd), 1-3 février, Paris.

Huwig, A., S. Freimund, O. Käppeli et H. Dutler. 2001. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. Toxicol. Letters 122: 179-188

Jard, G., T. Liboz, F. Mathieu, A. Guyonvarc'h et A. Lebrihi. 2011. Review of mycotoxin reduction in food and feed: from prevention in the field to detoxification by adsorption or transformation. Food Addit. Contam. 8: 1590-1609

Jo, H., C. Kong, M. Song et B.G. Kim. 2016. Effects of dietary deoxynivalenol and zearalenone on apparent ileal digestibility of amino acids in growing pigs. Anim. Feed. Sci. Tech. 19: 77-82

Kanora, A. et D. Maes. 2009. The role of mycotoxins in pig reproduction : a review. Vet. Med. 54: 565-576

Kollarzick, B., M. Gareis et M. Hanelt. 1994. In vitro transformation of the Fusarium mycotoxins deoxynivalenol and zearalenone by the normal gut microflora of pigs. Nat. Toxins. 2: 105-110

Kong, C., S.Y. Shin, C.S. Park et B.G. Kim. 2015. Effects of feeding barley naturally contaminated with Fusarium mycotoxins on growth performance, nutrient digestibility, and blood chemistry of gilts and growth recoveries by feeding a non-contaminated diet. Asian Austral. J. Anim. 29 : 662-670

Le Thanh, B.V., M. Lessard, Y. Chorfi et F. Guay. 2015. The efficacy of anti-mycotoxin feed additives in preventing the adverse effects of wheat naturally contaminated with Fusarium mycotoxins on performance, intestinal barrier function and nutrient digestibility and retention in weanling pigs. Can. J. Anim. Sci. 95: 197-209

Les éleveurs de porc du Québec. 2015. Étude sur les coûts de production du porc et du porcelet. Rapport de l'étude de coûts de production 2015.
<http://www.leseleveursdeporcsduquebec.com/> (page consultée le 30 mars 2018)

Lessard, M., Savard, C., Deschene, K., Lauzon, K., Pinilla, V.A., Gagnon, C.A., Lapointe, J., Guay, F. et Chorfi, Y., 2015. Impact of deoxynivalenol (DON) contaminated feed on intestinal integrity and immune response in swine. Food Chem. Toxicol. 80, 7-16.

Lewczuk, B., B. Przybylska-Gornowicz, M. Gajecka, K. Targonska, N. Ziolkowska, M. Prusik et M. Gajecki. 2016. Histological structure of duodenum in gilts receiving low doses of zearalenone and deoxynivalenol in feed. Exp. Toxicol. Pathol. 68: 157-166

Magan, N. et D. Aldred. 2007. Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. Int. J. Food Microbiol. 119: 131-139

Marin, S.A., J. Ramos, G. Cano-Sancho et V. Sanchis. 2013. Mycotoxins : Occurrence, toxicology, and exposure assessment. Food Chem. Toxicol. 60: 218-237

Maresca, M., R. Mahfoud, N. Garmy et J. Fantini. 2002. The mycotoxin deoxynivalenol affects nutrient absorption in human intestinal epithelial cells. J. Nutr. 132: 2723-2731

Messad, F. 2016. Prédition de la digestibilité des acides aminés des ingrédients utilisés en alimentation porcine : une approche par méta-analyse. Thèse de doctorat. Université Laval, Québec, QC, Canada.

Morooka, N., Uratsuji, N., Yoshizawa, et T., Yamamoto, H. 1972. Studies on the toxic substances in barley infected with Fusarium spp. J. Food Hyg. Soc. Jpn. 13 : 368–375.

Nagl, V., B. Woechtl, H. E. Schwartz-Zimmermann, I. Hennig-Pauka, W.D. Moll, G. Adam, F. Berthiller. 2014. Metabolism of the masked mycotoxin deoxynivalenol-3-glucoside in pigs. *Toxicol. Lett.* 229: 190-197

Patience, J.F., A.J. Myers, S. Ensley, B.M. Jacobs et D. Madson. 2014. Evaluation of two mycotoxin mitigation strategies in grow-finish swine diets containing corn dried distillers grains with solubles naturally contaminated with deoxynivalenol. *J. Anim. Sci.* 92: 620-626

Pestka, J.J. 2007. Deoxynivalenol : Toxicity, mechanisms and animal health risks. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 137: 283-298

Pierron, A., I. Alassane-Kpembi, I.P. Oswald. 2016. Impact of mycotoxin on immune response and consequences for pigs health. *Anim. Nut.* 2: 62-68

Pinotti, L., M. Ottoboni, C. Giromini, V. Dell'Orto et F. Cheli. 2016. Mycotoxin contamination in the EU feed supply chain : a focus on cereal byproducts. *Toxins.* 8: 45

Pinton, P., C. Braicu, J.-P. Nougayrède, J. Laffitte, I. Tarantu et I.P. Oswald. 2010. Deoxynivalenol impairs porcine intestinal barrier function and decreases the protein expression of claudin-4 through a mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism. *J. Nutr.* 140: 1956-1962

Pinton, P., D. Tsybulskyy, J. Lucioli, J. Laffitte, P. Callu, F. Lyazhri, F. Grosjean, A.P. Bracarense, M. Kolf-Clauw et I.P. Oswald. 2012. Toxicity of deoxynivalenol and its acetylated derivatives on the intestine: Differential effects on morphology, barrier function, tight junction proteins, and mitogen-activated protein kinases. *Toxicol. Sci.* 130: 180-190

Pinton, P., J.-P. Nougayrède, J.-C. Del Rio, C. Moreno, D. E. Marin, L. Ferrier, A.-P. Bracarense, M. Kolf-Clauw et I.P. Oswald. 2009. The food contaminant deoxynivalenol, decreases intestinal barrier permeability and reduces claudin expression. *Toxicol. Appl. Pharm.* 237:41-48

Prelusky, D.B., B.A. Rotter et R.G. Rotter. 1994. Toxicology of mycotoxins. Pages 359-403 dans Mycotoxins in grains: Compounds other than aflatoxin. Miller, J.D. et H.L. Trenholm. Eagan Press. Saint-Paul, MN, États-Unis

Prelusky, D.B et H. L. Trenholm. 1991. Tissue distribution of deoxynivalenol in swine dosed intravenously. *J. Agric. Food Chem.* 39: 748-751

Prelusky, D.B., K.E. Hartin, H.L. Trenholm et J.D. Miller. 1988. Pharmacokinetic fate of 14C-labeled deoxynivalenol in swine. *Fund. Appl. Toxicol.* 10: 276-286

Przybylska-Gornowicz, B., M. Tarasiuk, B. Lewczuk, M. Prusik, N. Ziółkowska, Ł. Zielonka, M. Gajęcki et M. Gajęcka. 2015. The effects of low doses of two Fusarium toxins zearalenone and deoxynivalenol, on the pig jejunum. A light and electron microscopic study. *Toxins.* 7: 4684-4705

Ran, R., C. Wang, Z. Han, A. Wu, D. Zhang et J. Shi. 2013. Determination of deoxynivalenol (DON) and its derivatives: Current status of analytical methods. *Food control.* 34: 138-148

Ray, P.D., B.W. Huang et Y. Tsuji. 2012. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal.* 24: 91-990

Rotter, B.A. 1996. Invited review: Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *J. Toxicol. Env. Health.* 48: 1-34

Schmeitzl, C., B. Warth, P. Fruhmann, H. Michlmayr, A. Malachova, F. Berthiller, R. Schuhmacher, R. Krska et G. Adam. 2015. The metabolic fate of deoxynivalenol and its acetylated derivatives in a wheat suspension culture: Identification and detection of DON-15-O-Glucoside, 15-Acetyl-DON-3-O-Glucoside and 15-Acetyl-DON-3-Sulfate. *Toxins.* 7: 3112-3126

Sergent, T., M. Parys, S. Garsou, L. Pussemier, Y.J. Schneider et Y. Larondelle. 2006. Deoxynivalenol transport across human intestinal Caco-2 cells and its effects on cellular metabolism at realistic intestinal concentrations. *Toxicol. Letters.* 164: 167-176

Sobrova, P., V. Adam, A. Vasatkova, M. Beklova, L. Zeman et R. Kizek. 2010. Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdisc. Toxicol.* 3 (3) : 94-99

Stein, H. H., B. Sève, M. F. Fuller, P. J. Moughan et C. F. M. de Lange. 2007. Invited review : Amino acid bioavailability and digestibility in pig feed ingredients : Terminology and application. *J. Anim. Sci.* 85: 172-180.

Trenholm, H.L., D.B. Prelusky, J.C. Young et J.D. Miller. 1988. Reducing mycotoxins in animal feeds. Agriculture Canada publication 1827E. Ottawa, ON, Canada

Vesonder, R.F., A. Ciegler, et A. H. Jensen. 1973. Isolation of the emetic principle from *Fusarium*-infected corn. *Appl. Microbiol.* 26: 1008-1010

Wan, L.M., C.S. Jackson Woo, P.C. Turner, J. Man-Fan Wan et H. El-Nezami. 2013. Individual and combined effects of Fusarium toxins on the mRNA expression of pro-inflammatory cytokines in swine jejunal epithelial cells. *Toxicol. Lett.* 220: 238-246

Wu, L., P. Liao, L. He, W. Ren, J. Yin, J. Duan et T. Li. 2015. Growth performance, serum biochemical profile, jejunal morphology, and the expression of nutrients transporter genes in deoxynivalenol (DON)- challenged growing pigs. *BMC Vet. Res.* 11: 144-154

Wu, Q., V. Dohnal, L. Huang, K. Kuca et Z. Yuan. 2010. Metabolic pathways of trichothecenes. *Drug Metab. Rev.* 42: 250-267

Yoshizawa, T., H. Takeda et T. Ohi. 1983. Structure of a novel metabolite from deoxynivalenol, a trichothecene mycotoxin, in animals. *Agric. Biol. Chem.* 47: 2133-2135

Zain, M. E. 2011. Impact of mycotoxins on humans and animals. *J. Saudi Chem. Society.* 15:129-144.

Chapitre 3 : Effect of Deoxynivalenol (DON) and DefusionTM, an Antimycotoxin Additive, on Nutrient Digestibility in Growing Pigs.

Résumé de l'article

Le désoxynivalenol (DON) est une mycotoxine produite par les moisissures du genre *Fusarium* qui est connu pour avoir un impact pour l'industrie porcine en réduisant les performances de croissance des animaux. Cette étude avait pour but de tester l'effet du DON (4 mg/kg) et du métabisulfite de sodium (SBS), un produit antimycotoxinique, sur la digestibilité des nutriments. Les porcs ont reçu une ration composée à 55 % d'orge contaminée ou saine, avec ou sans Defusion^{MC}, un produit commercial de SBS. L'expérience a été réalisée avec des porcs munis d'une fistule canulée à l'iléon dans un dispositif de type design croisé pendant des périodes de 10 jours (8 jours d'adaptation et 2 jours de collecte). La digestibilité iléale apparente (DIA) et la digestibilité apparente totale (DAT) de plusieurs nutriments a été mesurée à partir du digesta et des fèces. La DIA du phosphore, du calcium et de certains acides aminés a été augmentée par DON ($P < 0,05$). De plus, DON avait tendance à diminuer la DAT de la matière sèche et de l'énergie ($P = 0,064$ et $P = 0,071$). L'ajout de Defusion^{MC} à la ration a diminué la DIA de la matière sèche, de l'énergie, des fibres ADF, des lipides et du phosphore ($P < 0,05$) en plus de diminuer la DIA du DON ($P < 0,05$). Ce projet a montré un effet positif de la contamination au DON sur la DIA des nutriments, mais une tendance du DON à la diminution de la DAT de l'énergie, ce qui pourrait en partie expliquer son effet négatif sur les performances de croissance. À l'opposé, l'ajout de Defusion^{MC} a réduit l'absorption de DON mais a eu un effet négatif sur la DIA des nutriments. Bien que le Defusion^{MC} soit connu pour améliorer les performances de croissance des porcs ayant consommé une ration contaminée au DON, son effet positif ne serait donc pas associé à une hausse de la digestibilité des nutriments.

Abstract

Deoxynivalenol (DON), a Fusarium mycotoxin, is known to have an impact on the pig industry by reducing growth performances. Only sodium bisulfite and sodium metabisulfite (SBS) had shown positive results as an antimycotoxin additive to reduce the negative effects of DON. The aim of this study was to evaluate an antimycotoxin product containing SBS as an active ingredient and DON from a perspective of nutrient digestibility. Six crossbred castrated pigs were fitted surgically with single-T cannula. According to a crossover design, pigs received one of the four diets composed with contaminated or uncontaminated barley-corn-soybean diets, with or without DefusionTM (a commercial supplement of SBS) for 10 days; titanium oxide was added as an indigestible marker. After 8 days on experimental diets, faeces and ileal digesta were collected on two days. Apparent ileal digestibility (AID) of dry matter, calcium, phosphorus, crude protein, crude fat, ADF, NDF, energy, amino acids and total DON and apparent total tract digestibility (ATTD) of dry matter, ADF, NDF, energy and DON were evaluated. The AID of phosphorus, calcium and some amino acids (alanine, valine, leucine and isoleucine) was increased ($P < 0.05$) by DON. However, DON tended to decrease ATTD of dry matter and energy ($P = 0.064$ and $P = 0.071$). DefusionTM reduced the AID of dry matter, energy, ADF and, fat and phosphorus ($P < 0.05$). For NDF, DefusionTM reduced its AID but only in pigs fed with uncontaminated diets (Interaction, Defusion \times DON, $P < 0.05$). However, DefusionTM had no effect on ATTD of dry matter, energy and fibers. DefusionTM reduced AID of total DON ($P < 0.05$) but had no effect on ATTD of this mycotoxin. This project showed a positive effect of DON contamination in AID of nutrients but reduced ATTD of energy, which could partly explain the negative effect of DON on growth performance previously reported. DefusionTM supplement reduced absorption of DON but did not have a positive effect on AID or ATTD of nutrients. DefusionTM is known to improve the growth performances of pigs fed DON-contaminated but its mode of action would not be associated with better AID or ATTD of nutrients.

3.1. Introduction

Mycotoxins are secondary metabolites of different molds that frequently contaminate food and feed and cause various health problems in animals and humans. The Canadian Food Inspection Agency estimated that about 25% of all grains produced annually worldwide are contaminated by mycotoxins (ACIA, 2015). Deoxynivalenol (DON) is a toxin belonging to the family of trichothecenes, produced by *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum* (Trenholm et al., 1988). In Canada, DON is probably one of the most studied mycotoxins and an important contaminant of food and feed, because of the temperate and humid climate, which promote *Fusarium* development in grains (Rotter et al., 1996; Sobrova et al., 2010).

Among farm animals, pigs are one of the most sensitive species to DON (Rotter et al., 1996). Their sensibility is due to a limited transformation of DON in the gastrointestinal tract by the microflora to its less toxic form, de-epoxy-DON (DOM-1), and a rapid absorption in the proximal part of the small intestine (Dänicke et al., 2004). The impact of DON in pig diet is reduced weight gain that is linked to a decrease in feed intake (Goyarts and Dänicke, 2005; Wu et al., 2015). Furthermore, as the gastrointestinal tract is the first barrier in contact with feed contaminants, the exposition of this tissue to DON cause some disturbances, like inflammation, that can affect the morphology and function of intestinal mucosa (Döll et al., 2009; Wan et al., 2013; Lessard et al., 2015; Wu et al., 2015; Cheat et al., 2016). Indeed, some study had noticed a decrease in intestinal villus height with DON exposition (Le Thanh et al., 2015; Wu et al., 2015). Also, Pinton et al. (2009; 2010; 2012) noted that DON and its derivatives affect the expression of some tight junction proteins, which have a role in the permeability of the intestinal barrier. Because of those intestinal disturbances, DON could have an impact on nutrient digestibility (Le Thanh et al., 2015). However, the results digestibility and nutrient utilization differed between different studies (Goyarts and Dänicke, 2005; Halawa et al., 2012; Le Thanh et al., 2015; Wu et al., 2015; Jo et al., 2016).

There are many strategies to control mycotoxins growth in grains, beginning with the prevention of their formation in the field (Magan and Aldred, 2007). But, even with the best field management, contamination can occur and that is why there is much research to find efficient anti-mycotoxin feed additives. Many anti-mycotoxin additives exist and are often used in pig diets but most of them did not alleviate the negative effect of DON. The most prevalent approach is the inclusion of mycotoxin binding agents or adsorbents which reduce mycotoxin uptake (Jard et al., 2011). However, the efficiency of mycotoxin binders differs depending on the toxin, even if

some show good results against aflatoxin, the majority of binders had no effect on trichothecenes (Huwig et al., 2001; Dänicke and Döll, 2010; Dänicke et al., 2012a). Another possible approach is to transform mycotoxins into non-toxic products by using physical or chemical processes (Jard et al., 2011). One of the chemical processes that cause change in molecular structures and subsequent biological activity is oxidation-reduction reactions. In fact, reduction of DON to DON-sulfonated, a less toxic form, by the use of sodium bisulfite (NaHSO_3) or sodium metabisulfite ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) has showed good results in reducing DON concentration in feed (Dänicke et al., 2005). Positive results have also been obtained using DefusionTM, an antimycotoxin agent containing sodium metabisulfite (SBS) as an active ingredient, in preventing of DON effect on pig growth performance (Patience et al., 2014; Frobose et al., 2015; Le Thanh et al., 2015). According to those results, we wanted to evaluate this product from a perspective of nutrients digestibility.

The aim of this study was to investigate the effect of DON contaminated diet and DefusionTM additive, on the ileal and total apparent digestibility of nutrients in growing pigs. The hypothesis was that DON reduces the digestibility of some nutrients and that DefusionTM will counteract the negative effect of DON on nutrient digestibility.

3.2. Material and methods

3.2.1. Animals and diets

Six crossbred castrated male pigs of about 20 to 25 kg were transferred from a commercial farm to the Laval University research unit. All pigs were kept individually in pens of 1.05 m X 2 m at 20 (± 2) °C with 12 hours of luminosity per day. Pigs had always free access to drinking water. All pens were cleaned daily and the pigs were able to walk freely in the room and play with each other during the cleaning process.

The experiment was divided in two trials. In the first one, the pigs received one of the two diets containing 55% of contaminated or uncontaminated barley for 10 days, according to a crossover design to give 6 observation per treatment (n=6 per treatment). As it shown in Table 3.1, the diets contain barley, corn starch, sucrose, salt and supplements of vitamins and minerals. The barley

was naturally contaminated with *Fusarium* and contained 6.5 mg DON/ kg. Pigs received a daily feed allowance of 4 % BW, divided in two equal meals distributed at 8 AM and 3 PM.

In the second trial, the same pigs as in the first trial were used in a crossover design and received one of four diets that contain 55 % of the same contaminated or uncontaminated barley and other ingredients (Table 3.2), with or without an antimycotxin additive, Defusion™ (Provimi, St-Valérien de Milton, QC), a preservative blend. According to the manufacturer, this product contains some preservatives (ascorbic acid, citric acid, potassium sorbate, SBS), antioxidants (vitamin A acetate, vitamin D₃ supplement, vitamin E supplement), and amino acids. Compositions of the diets are shown in Table 3.2. The daily feed amount was also 4 % BW, distributed at 8 AM and 3PM.

3.2.2. Experimental procedures

Animal care procedures followed the guidelines of the Canadian Council of Animal Care (CCAC, 2009) and the protocol was approved by Laval University Animal Use and Care Committee.

At the arrival of the pigs, they were fed with a commercial diet (Agri-Marché, St-Isodore, Qc, Canada) for growing pigs for an acclimatization period of 7 days. After this period, pigs were fitted surgically with single-T cannula, according to procedure proposed by Wubben et al. (2001). After the surgery, pigs were fed the same commercial diet for approximately 12 days and the feed quantity was increased by 200 g per day until they eat 1.4 kg/d.

For the first trial, the pigs were weighed before the beginning of each feeding phase to establish individual feed allowance. After 8 days on experimental diets, faeces and digesta were collected for two days. Faeces and digesta collections were performed for 8 hours per day. Faeces were collected by grab sampling immediately after defecation. Digesta samples were taken with plastic bags from the cannula and were changed every 30 minutes. Two millilitres of formic acid (5 %) was added to each full bag of digesta during the collection to avoid microorganism growth. Faeces and digesta samples from each pig were collected and frozen at -20 °C in individual packages, until further analysis to determine their chemical composition. Blood samples were taken after pigs consumed their first meal the day of digesta collection.

Table 3.8. Composition of experimental diets for the first trial

| | Barley-control ^a | Barley-DON |
|--------------------------------------|-----------------------------|------------|
| <i>Ingredient (%)</i> | | |
| Control barley | 55.0 | 0 |
| Contaminated barley | 0 | 55.0 |
| Corn starch | 34.15 | 34.15 |
| Sucrose | 10.0 | 10.0 |
| Salt | 0.30 | 0.30 |
| Vitamin mineral premix ^{zy} | 0.25 | 0.25 |
| Titanium oxide | 0.30 | 0.30 |
| <i>Analyzed composition (%)</i> | | |
| Dry matter | 90.8 | 90.1 |
| Gross energy | 3507 | 3494 |
| Crude fat | 0.71 | 0.85 |
| Crude protein | 4.71 | 4.94 |
| ADF | 1.87 | 2.36 |
| NDF | 4.07 | 4.48 |
| Calcium | 0.72 | 0.63 |
| Phosphorus | 0.22 | 0.24 |
| Amino acids | | |
| Isoleucine | 0.31 | 0.33 |
| Leucine | 0.50 | 0.51 |
| Lysine | 0.26 | 0.26 |
| Phenylalanine | 0.31 | 0.30 |
| Threonine | 0.16 | 0.15 |
| Valine | 0.56 | 0.51 |
| Alanine | 0.27 | 0.27 |
| Aspartic acid | 0.42 | 0.41 |
| Glutamic acid | 1.21 | 1.41 |
| Glycine | 0.30 | 0.27 |
| Proline | 0.62 | 0.60 |
| Serine | 0.13 | 0.12 |
| Tyrosine | 0.29 | 0.24 |
| Total DON (mg/kg) | 0.22 | 3.62 |

^a Other mycotoxin concentrations in control diet: AFs: <1 µg/kg, FB: <0.1 mg/kg, OTA: <0.003 mg/kg, T-2: <0.06 mg/kg, HT-2: <0.06 mg/kg, Zearalenone: <0.03 mg/kg. DON-contaminated diet: AFs: <1 µg/kg, FB <0.1 mg/kg, OTA: 0.034 mg/kg, T-2: <0.06 mg/kg, HT-2: <0.06 mg/kg, Zearalenone: 0.03 mg/kg. Mycotoxin analysis was done by LC-MS/MS (Actlabs Agriculture, Ancaster, ON, Canada).

^z Provided per kilogram of diet: vitamin A palmitate 6,000 IU; vitamin D₃ 600 IU; vitamin E acetate 60 IU; menadione sodium bisulfite 3.75 mg; riboflavin 8 mg; niacin 44.0 mg; calcium

pantothenate 25.0 mg;; vitamin B₁₂ 25.0 µg.

^y Provided per kilogram of diet: Zn (as zinc sulfate) 150 mg; Fe (as ferrous sulfate) 150 mg; Cu (as copper sulfate) 30 mg; I (as potassium iodate) 0.30 mg; Mn (as manganous sulfate) 10 mg; Se (as sodium selenite) 0.30 mg.

After the first trial, all the pigs were fed with the commercial diet for 5 days to reduce the effect of the previous treatment. At the beginning of the second trial, one pig was removed from trial because of health problems. The design of this experiment was a crossover with 4 periods to give 5 observations per period per diet. The treatment periods were of 10 days, including 8 days of adaptation and 2 days of digesta and faeces collection. Pigs received randomly one of the four diets composed with contaminated or uncontaminated barley, with or without DefusionTM. To avoid long-term effects of mycotoxin ingestion, pigs did not receive a contaminated diet on two consecutive periods. Digesta and faeces were collected as described for the first trial.

Table 3.9. Composition of experimental diets for the second trial

| | Control | DON | Defusion™ | DON + Defusion™ |
|---------------------------------|---------|-------|-----------|-----------------|
| <i>Ingredient (%)</i> | | | | |
| Control barley | 55.0 | 0 | 55.0 | 0 |
| Contaminated barley | 0 | 55.0 | 0 | 55.0 |
| Corn | 24.03 | 24.03 | 23.73 | 23.73 |
| Soybean meal | 12.60 | 12.60 | 12.60 | 12.60 |
| Soy oil | 5.30 | 5.30 | 5.30 | 5.30 |
| Limestones | 0.90 | 0.90 | 0.90 | 0.90 |
| Monocalcium phosphate | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 |
| Lysine HCl | 0.52 | 0.52 | 0.52 | 0.52 |
| Salt | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 |
| Threonine | 0.11 | 0.11 | 0.11 | 0.11 |
| DL-Methionine | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 |
| Vitamins and minerals | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Defusion™ | 0 | 0 | 0.30 | 0.30 |
| Titanium oxide | 0.30 | 0.30 | 0.30 | 0.30 |
| <i>Analyzed composition (%)</i> | | | | |
| Dry matter | 90.2 | 90.3 | 89.8 | 89.2 |
| Gross energy (kcal/kg) | 3787 | 3766 | 3705 | 3683 |
| Crude fat | 4.77 | 4.72 | 4.59 | 4.32 |
| Crude protein | 12.09 | 12.37 | 12.44 | 12.03 |
| ADF | 3.29 | 3.89 | 2.98 | 3.80 |
| NDF | 8.12 | 7.78 | 6.49 | 7.81 |
| Calcium | 0.60 | 0.61 | 0.59 | 0.57 |
| Phosphorus | 0.59 | 0.65 | 0.61 | 0.58 |
| Amino acids | | | | |
| Isoleucine | 0.96 | 0.91 | 0.85 | 0.91 |
| Leucine | 1.66 | 1.65 | 1.63 | 1.59 |
| Lysine | 1.01 | 1.08 | 1.17 | 1.09 |
| Phenylalanine | 0.82 | 0.80 | 0.80 | 0.78 |
| Threonine | 0.60 | 0.54 | 0.51 | 0.57 |
| Valine | 1.10 | 1.18 | 1.12 | 1.17 |
| Alanine | 0.75 | 0.75 | 0.75 | 0.72 |
| Aspartic acid | 1.33 | 1.26 | 1.31 | 1.14 |
| Glutamic acid | 2.67 | 3.03 | 3.01 | 2.45 |
| Glycine | 0.63 | 0.65 | 0.66 | 0.65 |
| Proline | 1.32 | 1.29 | 1.30 | 1.25 |
| Serine | 0.80 | 0.69 | 0.63 | 0.74 |
| Tyrosine | 0.64 | 0.59 | 0.56 | 0.58 |
| DON (mg/kg) | 0.29 | 4.49 | 0.43 | 3.96 |

^a Other mycotoxin concentrations in control diet: AFs: <1 µg/kg, FB: <0.1 mg/kg, OTA: <0.003 mg/kg, T-2: <0.06 mg/kg, HT-2: <0.06 mg/kg, Zearalenone: <0.03 mg/kg. DON diet: AFs: <1 µg/kg, FB <0.1 mg/kg, OTA: 0.034 mg/kg, T-2: <0.06 mg/kg, HT-2: <0.06 mg/kg, Zearalenone: 0.03 mg/kg. Defusion™ diet: AFs: <1 µg/kg, FB: <0.1 mg/kg, OTA: <0.003 mg/kg, T-2: <0.06 mg/kg, HT-2: <0.06 mg/kg, Zearalenone: <0.03 mg/kg. DON+Defusion™ diet: AFs: <1 µg/kg, FB: <0.1 mg/kg, OTA: <0.003 mg/kg, T-2: <0.06 mg/kg, HT-2: <0.06 mg/kg, Zearalenone: <0.03 mg/kg. Mycotoxin analysis was done by LC-MS/MS (Actlabs Agriculture, Ancaster, ON, Canada).

^z Provided per kilogram of diet: vitamin A palmitate 6,000 IU; vitamin D₃ 600 IU; vitamin E acetate 60 IU; menadione sodium bisulfite 3.75 mg; riboflavin 8 mg; niacin 44.0 mg; calcium pantothenate 25.0 mg;; vitamin B₁₂ 25.0 µg.

^y Provided per kilogram of diet: Zn (as zinc sulfate) 150 mg; Fe (as ferrous sulfate) 150 mg; Cu (as copper sulfate) 30 mg; I (as potassium iodate) 0.30 mg; Mn (as manganous sulfate) 10 mg; Se (as sodium selenite) 0.30 mg.

3.2.3. Laboratory analysis

Ileal digesta and faeces samples were freeze-dried. Then, the samples of each pig for each period were pooled and ground using Cyclotec™ (FOSS, Nanterre) to have particles size less than 1 mm. A subsample of approximately 25 g of every pooled sample was used for all further analysis.

For feed and digesta, dry matter (AOAC method 934.01), titanium, calcium, phosphorus, crude protein, crude fat, ADF and NDF fibers, energy and total DON and DOM-1 were analyzed. For faeces, only dry matter, titanium, ADF and NDF fiber, energy and mycotoxins were analyzed, using the same methods.

Titanium was measured by absorbance using the procedure described by Myers et al. (2004) with 0.05 g of faeces and digesta and 0.1 g of feed. Samples were prepared for quantifying minerals (AOAC method 968.08). Calcium was analyzed according to AOAC method 938.08 by atomic absorption spectroscopy (Perkin Elmer AAnalyst 400, Waltham, MA) and phosphorus was analyzed by colorimetry with molybdoavanadate reagent (AOAC method 965.17). Nitrogen was determined by Kjeldahl digestion method. Crude protein was calculated by using Kjeldahl N value multiply by 6.25 (AOAC method 2001.11). Crude fat extraction was made in ethyl ether using the Soxtec™ 8000 (Foss, Nanterre, France) (AOAC method 2003.05). The NDF and ADF fibers were analysed using the Ankom 200 Fiber Analyzer (Ankom technology, Macedon, NY) (AOAC method 973.18). Gross energy was determined using a calorimeter model 6400 (Parr Instrument Company, Moline, IL). Samples were hydrolysed using an HCl 6 M solution as

described by Guay et al. (2006) and amino acids were analyzed by gas chromatography using commercial kit (Phenomenex, Torrance, CA, USA).

The concentrations of DON and DOM-1 were also evaluated in the faeces and digestas by high performance liquid chromatography (HPLC) following by immunoaffinity column (IAC) according to the method proposed by Valenta et al. (2003). Briefly, 2.5 g of faeces or digestas was incubated with β -glucuronidase (Sigma-Aldrich, Oakville, ON, Canada, G0876) at pH 5.5 (acetate buffer) at 37°C for 12 h. After, 62 ml of acetonitrile were added and the mixture was shaken for 1h and filtrated. A 40 ml of the mixture was defatted with 40 ml of petroleum ether. The aqueous phase was then cleaned with a mixture of charcoal, aluminium oxide and celite for 10 min and filtrated. A sample of 15 ml of the filtrate was evaporated to dryness with the addition of 5 ml of ethanol. In feed, DON and other mycotoxins were analysed by LC-MS/MS in a commercial laboratory (Actlabs Agriculture, Ancaster, ON, Canada).

3.2.4. Data calculation and statistical analysis

Values for total and ileal apparent digestibility of nutrients and energy by pigs fed experimental diets (barley and experimental diet) were calculated using titanium as indigestible marker and according to the following equation (Stein et al., 2007):

$$\text{Total or ileal apparent digestibility (ATTD or AID) (\%)} = [1 - ((\text{Nutrients}_{\text{digesta}} \times \text{Ti}_{\text{feed}})/(\text{Nutrients}_{\text{feed}} \times \text{Ti}_{\text{digesta}})) \times 100]$$

In order to isolate the specific effect of DON on AID and ATTD of nutrients in diets without the effect of barley in the second trial, the digestibility value of the two sources of barley (contaminated and uncontaminated) in the first trial was subtracted from the digestibility values of experimental diets containing or not DON and the Defusion™ according to method proposed by Adeola (2001).

Total or ileal apparent digestibility of nutrients without barley = Digestibility of nutrients in whole diets (second trial) – (Nutrients from barley (first trial) \times barley digestibility for nutrients (first trial)) / Nutrients from the rest of the diet (second trial)

In first trial, data were analysed using the MIXED procedure using pig and period as random effects and barley source as the fixed effect. In the second trial, pig and period were also used as

random effects and DON contamination and DefusionTM supplementation were included as fixed effects in a factorial arrangement. In this study, P -values ≤ 0.05 were considered as significant and P -values < 0.1 as a tendency.

3.3. Results

3.3.1. First trial – effect of barley source

DON concentration in ileal digesta, faeces and serum

The results showed that pigs fed with barley-DON diet had higher ($P < 0.05$) DON concentration in ileal digesta and in faeces than pigs fed control-barley diet (Table 3.3). There was no significant difference of DON contamination on DOM-1 concentration in ileal digesta. However, DOM-1 concentration was higher ($P < 0.05$) in faeces of pigs fed barley-DON diet. DOM-1 concentration was numerically higher in faeces than in ileal digesta whereas DON/ (DON+DOM-1) ratio was lower in faeces than in ileal digesta. The absorption of DON (estimated by digestibility) was high and close to 100 % and was not affected by DON concentration in the diets (Table 3.3). DON concentration was higher ($P < 0.05$) in serum of pigs fed with barley-DON diet than pigs fed barley-control diet (Table 3.3).

Effect of barley-deoxynivalenol (DON) diet on digestibility

Results in table 3.4 showed that barley-DON diet caused an increase ($P < 0.05$) of the phosphorus AID compared to the barley-control diet. In pigs fed barley-DON diet, crude fat AID was also increased ($P < 0.05$). No effect was noted on AID of dry matter, energy, fiber, crude protein, amino acids and calcium.

Pigs fed barley-DON diet had a higher ATTD of ADF than those fed barley-control diet ($P < 0.05$) (Table 3.4) but they had similar ATTD of dry matter, energy and NDF.

Table 3.10. Deoxynivalenol (DON) and de-epoxy-DON (DOM-1) concentrations in blood, ileal digesta and faeces and ileal and total absorption of DON in pigs fed barley-DON contaminated or uncontaminated diets

| | Barley-control ^a | Barley-DON | SEM | P value |
|-----------------------------|-----------------------------|------------|-------|------------------|
| <i>Ileal digesta (ng/g)</i> | | | | |
| DON | 22.0 | 280.9 | 51.2 | 0.020 |
| DOM-1 | 0 | 6 | 3.6 | 0.117 |
| DON + DOM-1 | 22.0 | 286.9 | 52.4 | 0.020 |
| DON/ (DON + DOM-1) | 1 | 0.98 | 0.009 | 0.120 |
| DON AID (%) | 95.5 | 98.9 | 0.3 | 0.192 |
| <i>Faeces (ng/g)</i> | | | | |
| DON | 32.4 | 260.2 | 106.7 | 0.014 |
| DOM-1 | 4.8 | 54.6 | 28.9 | 0.029 |
| DON + DOM-1 | 37.2 | 314.8 | 79.3 | 0.007 |
| DON/ (DON + DOM-1) | 0.84 | 0.70 | 0.13 | 0.212 |
| DON ATTD (%) | 98.4 | 99.2 | 0.3 | 0.125 |
| <i>Serum (ng/mL)</i> | | | | |
| DON | 0.68 | 7.78 | 0.38 | <0.001 |

^aDiets composition: 55 % control or contaminated (6,5 mg DON/kg) barley, 34,15 % corn starch, 10 % sucrose, 0,30 % salt, 0,25 % vitamin mineral premix, 0,30 % titanium

Table 3.11. Effect of barley-deoxynivalenol (DON) diet on apparent ileal (AID) and total digestibility (ATTD) of nutrients in growing pigs

| | Barley-control ^a | Barley-DON | SEM | P value |
|---|-----------------------------|------------|------|--------------|
| Feed intake (kg/d) | 1.46 | 1.44 | 0.05 | 0.228 |
| <i>Apparent ileal digestibility (%)</i> | | | | |
| Dry matter | 83.9 | 84.6 | 1.7 | 0.754 |
| Gross energy | 82.3 | 83.4 | 1.9 | 0.648 |
| ADF | 39.8 | 46.4 | 8.5 | 0.346 |
| NDF | 46.0 | 46.1 | 1.0 | 0.989 |
| Crude fat | 61.3 | 73.4 | 2.8 | 0.012 |
| Crude protein | 63.7 | 65.3 | 3.0 | 0.695 |
| Phosphorus | 57.3 | 67.1 | 1.8 | 0.004 |
| Calcium | 70.3 | 75.7 | 4.8 | 0.193 |
| <i>Apparent total tract digestibility (%)</i> | | | | |
| Dry matter | 90.9 | 90.6 | 0.6 | 0.655 |
| Gross energy | 87.8 | 87.4 | 0.8 | 0.698 |
| ADF | 59.1 | 66.9 | 1.7 | 0.018 |
| NDF | 65.5 | 68.1 | 1.7 | 0.346 |

3.3.2. Second trial – effect of deoxynivalenol (DON) and DefusionTM additive

Deoxynivalenol concentration in ileal digesta and faeces

Results revealed that pigs fed with DON-contaminated diets had higher ($P < 0.05$) DON and DOM-1 concentration in ileal digesta and in faeces than pigs fed control but DefusionTM additive increase DON and DON+DOM-1 concentration in ileal digesta and faeces especially in pigs fed DON-contaminated diets (interaction DON \times Defusion, $P < 0.05$ and $P = 0.053$) (table 3.5). However, DefusionTM additive did not have any effect on DOM-1 concentration in ileal digesta and faeces. DON contamination tended to increased DON ileal digestibility and increased ATTD ($P = 0.053$ and $P < 0.05$) whereas DefusionTM decreased only DON AID ($P < 0.05$) (table 3.5). It should be noted that despite the addition of DefusionTM additive, the apparent absorption of DON remained high at over 97 %. As observed in trial 1, DON/ (DON+DOM-1) ratio was lower in faeces than in ileal digesta.

Effect of deoxynivalenol (DON) and DefusionTM on digestibility

DON contamination had no effect on AID of dry matter, energy, ADF and NDF and crude protein but AID of phosphorus and calcium was increased in pigs fed DON contaminated diets ($P < 0.05$) (table 3.6). DON contamination also tended to increase ($P = 0.088$) crude fat AID and increased AID of alanine, valine, leucine, isoleucine ($P < 0.05$) and tended to increase AID of glycine ($P = 0.089$) (table 3.6). However, DON contamination tended to decrease ATTD of dry matter and energy ($P = 0.064$ and $P = 0.071$) but had no effect on ATTD of ADF and NDF (table 3.6).

The AID of dry matter, energy, ADF, crude fat and phosphorus was lower ($P < 0.05$) in pigs fed DefusionTM diets than those fed unsupplemented diets (table 3.6). For NDF, DefusionTM reduced AID but only in pigs fed uncontaminated diet (Interaction DON \times DefusionTM ($P < 0.05$)). DefusionTM additive also decreased ($P < 0.05$) AID of aspartic acid and tended to decrease AID of leucine, glutamic acid, phenylalanine and proline ($P < 0.09$). For AID of proline DefusionTM tended to decreased digestibility more in uncontaminated diet than in contaminated diet (Interaction DON \times DefusionTM ($P = 0.085$))). DefusionTM additive had no effect on ATTD of dry matter, energy and ADF and NDF.

Table 3.12. Deoxynivalenol (DON) concentration in ileum and faeces of pigs fed diets DON-contaminated or uncontaminated, with or without Defusion™ diets

| | Control ^a | DON | Defusion™ | DON+ Defusion™ | SEM | DON | Defusion™ | P-Value DON x Defusion™ |
|-----------------------------|----------------------|-------|-----------|-------------------|------|--------|-----------|-------------------------------|
| <i>Ileal digesta (ng/g)</i> | | | | | | | | |
| DON | 23.17 | 103.1 | 38.0 | 236.4 | 16.8 | <0.001 | 0.001 | 0.003 |
| DOM-1 | 0 | 15.4 | 0 | 24.3 | 3.2 | 0.001 | 0.165 | 0.195 |
| DON + DOM-1 | 23.8 | 118.2 | 38.1 | 260.9 | 17.5 | <0.001 | 0.001 | 0.002 |
| DON/ (DON + DOM-1) | 1 | 0.88 | 1 | 0.90 | 0.02 | 0.001 | 0.514 | 0.515 |
| DON AID (%) | 97.9 | 99.3 | 97.3 | 97.7 | 0.5 | 0.053 | 0.024 | 0.231 |
| <i>Faeces (ng/g)</i> | | | | | | | | |
| DON | 4.4 | 31.5 | 13.9 | 59.7 | 4.8 | <0.001 | 0.002 | 0.053 |
| DOM-1 | 15.8 | 69.2 | 10.0 | 77.6 | 9.4 | <0.001 | 0.868 | 0.363 |
| DON + DOM-1 | 20.0 | 100.9 | 22.8 | 137.3 | 12.6 | <0.001 | 0.099 | 0.149 |
| DON/ (DON + DOM-1) | 0.16 | 0.33 | 0.66 | 0.46 | 0.1 | 0.682 | 0.005 | 0.029 |
| DON ATTD (%) | 98.8 | 99.6 | 99.1 | 99.2 | 0.2 | 0.018 | 0.681 | 0.067 |

^aBarley (55 %), corn (24,23 %), soybean meal (12,60 %) based diet. DON-contaminated barley contain 6,5 mg DON/kg. Defusion diets contain 0,30 % Defusion™ additive.

Table 3.13. Effect of deoxynivalenol (DON) and DefusionTM on apparent ileal and total digestibility of nutrients

| | Control ^a | DON | Defusion TM | DON+ Defusion TM | SEM | DON | Defusion TM | P-Value DON x Defusion TM |
|---|----------------------|------|------------------------|--------------------------------|------|--------------|------------------------|--|
| Feed intake (kg/d) | 2.45 | 2.47 | 2.45 | 2.47 | 0.31 | 0.269 | 0.836 | 0.895 |
| <i>Apparent ileal digestibility %</i> | | | | | | | | |
| Dry matter | 72.4 | 71.4 | 69.6 | 70.4 | 1.4 | 0.848 | 0.022 | 0.242 |
| Gross energy | 72.2 | 70.6 | 68.0 | 68.6 | 1.4 | 0.506 | 0.002 | 0.176 |
| ADF | 34.7 | 36.6 | 25.2 | 33.0 | 3.3 | 0.115 | 0.047 | 0.313 |
| NDF | 46.9 | 40.1 | 29.6 | 36.6 | 3.7 | 0.993 | 0.005 | 0.036 |
| Crude fat | 86.0 | 86.5 | 81.2 | 83.9 | 1.4 | 0.088 | 0.001 | 0.217 |
| Crude protein | 77.5 | 76.8 | 76.2 | 77.0 | 1.3 | 0.922 | 0.433 | 0.314 |
| Phosphorus | 54.5 | 61.2 | 48.9 | 57.6 | 2.6 | 0.001 | 0.004 | 0.467 |
| Calcium | 71.7 | 77.7 | 69.5 | 77.4 | 3.4 | 0.022 | 0.621 | 0.723 |
| Amino acids | | | | | | | | |
| Isoleucine | 78.3 | 81.2 | 73.4 | 80.7 | 2.5 | 0.042 | 0.242 | 0.327 |
| Leucine | 82.8 | 83.8 | 80.5 | 83.0 | 1.2 | 0.039 | 0.056 | 0.342 |
| Lysine | 84.1 | 90.8 | 88.7 | 87.0 | 2.9 | 0.400 | 0.892 | 0.180 |
| Phenylalanine | 83.1 | 83.1 | 79.9 | 82.2 | 1.6 | 0.235 | 0.055 | 0.254 |
| Threonine | 80.8 | 79.1 | 61.4 | 82.9 | 6.4 | 0.137 | 0.234 | 0.089 |
| Valine | 74.6 | 79.5 | 70.9 | 78.6 | 2.7 | 0.026 | 0.366 | 0.562 |
| Alanine | 73.8 | 76.8 | 74.1 | 77.9 | 1.7 | 0.048 | 0.640 | 0.806 |
| Aspartic acid | 79.7 | 79.7 | 73.5 | 77.2 | 2.1 | 0.221 | 0.014 | 0.239 |
| Glutamic acid | 87.7 | 89.9 | 84.3 | 82.8 | 2.7 | 0.886 | 0.063 | 0.475 |
| Glycine | 58.6 | 64.3 | 63.1 | 66.3 | 3.2 | 0.089 | 0.197 | 0.610 |
| Proline | 81.5 | 80.3 | 78.3 | 80.3 | 1.1 | 0.643 | 0.085 | 0.085 |
| Serine | 88.8 | 92.5 | 73.4 | 92.3 | 6.8 | 0.125 | 0.270 | 0.283 |
| Tyrosine | 74.9 | 85.5 | 84.4 | 82.7 | 4.8 | 0.351 | 0.479 | 0.205 |
| <i>Apparent total tract digestibility (%)</i> | | | | | | | | |
| Dry matter | 85.3 | 81.2 | 83 | 77.2 | 8.2 | 0.064 | 0.213 | 0.726 |
| Gross energy | 82.1 | 77.2 | 78.7 | 71.9 | 2.9 | 0.071 | 0.164 | 0.742 |
| ADF | 65.5 | 57.5 | 56.5 | 48.9 | 5.5 | 0.187 | 0.143 | 0.973 |
| NDF | 73.7 | 63.6 | 63 | 57.3 | 5 | 0.151 | 0.128 | 0.677 |

Specific effect of deoxynivalenol (DON) and DefusionTM additive

As observed in previous experiment, specific effect of DON contamination, shows increased AID of calcium, phosphorus and some amino acids (leucine, valine, aspartic acid, glycine, serine ($P < 0.05$)) and tendance of increased AID of isoleucine ($P = 0.068$)(table 3.7). DON contamination also had no effect on the AID of ADF and NDF, crude fat and crude protein.

The DefusionTM additive also decreased AID of ADF, fat, phosphorus, aspartic acid and serine and tended to decrease AID of leucine ($P = 0.083$), phenylalanine ($P = 0.076$) and glutamic acid ($P = 0.079$). The DefusionTM additive also reduced AID of NDF but its effect was more pronounced in pigs fed uncontaminated diets (Interaction, DON \times Defusion, $P < 0.05$). A similar tendency was observed for proline ($P = 0.061$). Finally, no effect of DON or DefusionTM additive was noted on the ATTD of ADF and NDF.

Table 3.14. Specific effect (excluding the effect of barley digestibility) of deoxynivalenol (DON) and Defusion™ additive on ileal and total digestibility of nutrients in growing pigs.

| | Control | DON | Defusion™ | DON+ Defusion™ | SEM | DON | Defusion™ | P-Value DON x Defusion™ |
|---|---------|------|-----------|-------------------|------|--------------|--------------|-------------------------------|
| <i>Apparent ileal digestibility (%)</i> | | | | | | | | |
| ADF | 28.1 | 24.4 | 1.7 | 11.4 | 6.4 | 0.561 | 0.003 | 0.215 |
| NDF | 48.1 | 31.4 | 4.0 | 24.3 | 7.5 | 0.766 | 0.002 | 0.012 |
| Fat | 90.4 | 88.6 | 84.9 | 86.5 | 1.7 | 0.913 | 0.004 | 0.132 |
| Protein | 86.4 | 84.5 | 83.9 | 85.2 | 2.2 | 0.820 | 0.434 | 0.198 |
| Phosphorus | 52.8 | 57.9 | 44.4 | 51.0 | 4.2 | 0.018 | 0.004 | 0.732 |
| Calcium | 71.9 | 78 | 69.4 | 77.6 | 3.9 | 0.032 | 0.618 | 0.715 |
| Amino acids | | | | | | | | |
| Isoleucine | 83.9 | 87.5 | 76.4 | 86.8 | 4.0 | 0.068 | 0.255 | 0.345 |
| Leucine | 88.1 | 89.5 | 85.1 | 88.5 | 1.8 | 0.046 | 0.083 | 0.345 |
| Lysine | 87.2 | 97.7 | 92.4 | 92.5 | 3.9 | 0.196 | 0.998 | 0.201 |
| Phenylalanine | 90.9 | 90.7 | 86.1 | 89.5 | 2.5 | 0.311 | 0.076 | 0.245 |
| Threonine | 90.0 | 90.6 | 81.1 | 93.8 | 3.8 | 0.112 | 0.462 | 0.140 |
| Valine | 73.3 | 86.0 | 66.0 | 84.7 | 5.3 | 0.009 | 0.379 | 0.538 |
| Alanine | 79.3 | 82.4 | 79.9 | 84.4 | 2.6 | 0.138 | 0.603 | 0.764 |
| Aspartic acid | 85.5 | 88.5 | 76.4 | 85.8 | 3.1 | 0.019 | 0.023 | 0.170 |
| Glutamic acid | 91.7 | 96.1 | 85.6 | 82.9 | 5.3 | 0.866 | 0.079 | 0.480 |
| Glycine | 63.8 | 76.3 | 71.3 | 78.7 | 5.6 | 0.032 | 0.216 | 0.629 |
| Proline | 99.1 | 95.9 | 93.9 | 97.2 | 2.1 | 0.969 | 0.229 | 0.061 |
| Serine | 93.6 | 100 | 81.9 | 98.0 | 3.1 | 0.004 | 0.035 | 0.128 |
| Tyrosine | 71.0 | 93.4 | 89.2 | 88.9 | 8.8 | 0.220 | 0.435 | 0.207 |
| <i>Apparent total tract digestibility (%)</i> | | | | | | | | |
| ADF | 65.4 | 41.2 | 41.4 | 30.8 | 10.3 | 0.124 | 0.129 | 0.526 |
| NDF | 79.3 | 57.5 | 58.9 | 48.5 | 9.3 | 0.122 | 0.154 | 0.560 |

3.4. Discussion

The analyzed concentrations of total DON in the diets were close to the anticipated levels. Other mycotoxins were also analyzed to eliminate the possible interaction effect. Even in naturally contaminated diets, other mycotoxins levels remained low and under the critical level reported to affect growth performances in pigs (ACIA, 2015).

3.4.1. Deoxynivalenol (DON) metabolism

Many authors agree that DON is rapidly absorbed at the beginning of the small intestine (Prelusky et al., 1988; Eriksen et al., 2003; Dänicke et al., 2004). In the present study, digesta were collected at the end of the small intestine, after the absorption site. The small DON amount found at the end of the ileum and the high DON concentration in the blood are in accordance with a strong absorption in the first part of the gastrointestinal tract (Avantaggiato et al., 2004; Dänicke et al., 2004). Furthermore, as expected, DON AID percentages (close to 100%) were found in all diets.

It can also be noted that there was an increase in the DOM-1 concentration from the ileum to the faeces, which is normal considering that de-epoxy DON (DOM-1) is formed by microorganisms present in the large intestine (Kollarczik et al., 1994; Dänicke et al., 2004). Effectively, it is known that the formation of DOM-1 from DON is a reaction of de-epoxidation, which means the epoxy group in the molecule is removed, resulting in a less toxic form (Yoshizawa et al., 1983; Eriksen et al., 2002). Therefore, the rapid absorption combined with the transformation of DON to DOM-1 after the absorption site confirms the high sensibility of the pigs and the subsequent impact of DON on pig health and performances previously reported (Dänicke et al., 2004).

Recent studies have shown that supplementation with DefusionTM additive in a DON-contaminated diet have a positive impact on growth performances, which include the increase of average daily gain and daily feed intake compared to DON-contaminated diet without the additive (Patience et al., 2014; Frobose et al., 2015; Le Thanh et al., 2015). From a perspective of DON digestibility, the inclusion of DefusionTM additive showed a reduction of DON absorption, indicated by a higher DON concentration in ileal digesta and feaces and a reduced DON AID although the absorption remains high at over 97 %.

Other studies showed that DON concentration in feed can be decreased by the addition of DefusionTM additive or its active ingredient, sodium metabisulfite (SBS) with an hydrothermal treatment (or pelleting) (Dänicke et al., 2010a;b; Frobose et al., 2015; Frobose et al., 2017).. In the present study, the diets were not pelleted. Therefore, DON concentrations for DON diet and for DON + DefusionTM diet remain similar in this experiment. Moreover, it is known that the addition of SBS to DON-contaminated diet caused the formation of a less toxic compound, sulfonated-DON (DONS) (Young et al., 1987; Dänicke et al., 2010a; Dänicke et al., 2012b). In the present study, the formation of 10-DONS, present as a mixture of two compounds in equal ratio, was probably the most prevalent form because of its stability in slightly acidic nonthermally treated animal feed (Beyer et al., 2010; Schwartz et al., 2013). However, this form can be maintained in the acidic conditions of the stomach but might partly degrade to DON and its other DONS forms in the neutral or slightly alkaline conditions of the small intestine. Consequently, even if DefusionTM reduced the absorption of DON, some forms like sulfonated-DON (DONS) may not be detected in digesta or faeces and the calculation of DON digestibility may be underestimated in the present study. It can also not be excluded that the sulfonated-DON form is absorbed, but being less toxic than DON has less effect on growth and physiology of the pigs (Dänicke et al., 2010a). Thus, the previously reported results of DefusionTM on pig growth performances could also be attributed to the absorption of less toxic forms (DONS).

3.4.2. Nutrients digestibility

In the first trial, digestibility was evaluated in two different sources of barley, contaminated or uncontaminated with DON. Even if a difference was noted in AID of fat and phosphorus and on ATTD of ADF between the two sources of barley, no difference in AID of protein and amino acids was observed. Some nutritional variations exist between cereals from the same species coming from diverse sources that can lead to differences in digestibility values (Spindler et al., 2016; Wang et al., 2017). It is therefore impossible to determine if the variation in digestibility in the first trial was only linked to DON contamination. In order to isolate the specific effect of DON on AID and ATTD of nutrients, the digestibility values of the first trial were subtracted from those of the second trial. Except for some results about DON on the AID of amino acids, data on nutrient digestibility showed similar results without or with the barley effect (Table 3.6

and Table 3.7), which indicated that the effect of barley source was negligible. The effect of DefusionTM on AID of nutrients was also similar with or without the barley effect.

DON is known to cause intestinal disturbances but little is known about the impact of those disturbances on nutrient digestibility. Some studies had noticed a decrease in the villus height and then absorption surface with DON exposition (Le Thanh et al., 2015; Wu et al., 2015). Others suggested an effect on the intestinal barrier permeability expressed by a reduction of transepithelial electrical resistance (TEER), which is an indicator for the integrity of tight junction proteins (Pinton et al., 2009; 2010; 2012; Halawa et al., 2012). Recent research in pigs and broiler chickens also suspected DON to be linked to the alterations of some nutrient transporter genes (Awad et al., 2011; Wu et al., 2015). Because of these disturbances and in addition to the fact that DON decrease growth performances, the main hypothesis is that DON will have negative effect on nutrient absorption, but its effects are not fully understood (Ghareeb et al., 2015).

Concerning the effect of DON on nutrient digestibility, no effect of DON on AID of dry matter and protein was noted but DON tends to decrease ATTD of dry matter and energy (Table 3.6). The lack of effect of DON on AID of dry matter and protein were in accordance to Jo et al. (2016), who have used a much higher DON concentration (10 mg/kg) in feed than in the present study. The effect of DON on ATTD of dietary components have been investigated in some studies and conclusions differ between studies (Goyarts and Dänicke, 2005; Dänicke et al., 2006; Kong et al., 2015; Le Thanh et al., 2015). However, present results are in accordance with Le Thanh et al. (2015) who also noted a decrease of ATTD of dry matter and energy in pigs fed a DON contaminated diet (4 mg/kg). The absence of effect on AID of dry matter and energy coupled with a tendency to decrease ATTD of these components suggests that DON may have an effect on digestion and absorption of energetic component in the large intestine, including a possible effect on microflora. As reported by Waché et al. (2009) who compared the population of faecal flora, feed contamination with DON can modify the intestinal microbiota.

DON contamination increased AID of calcium and phosphorus, which agrees with the results of Le Thanh et al. (2015). It is interesting to note that Lun et al. (1985) and Bergsjo et al. (1993) showed that DON contamination decreased calcium serum concentration in pigs which could stimulate the intestinal calcium absorption (Gonzalez-Vega and Stein, 2014). Concerning the effect of DON on phosphorus, no previous studies report an effect of DON on AID or ATTD of

phosphorus but some suggest that certain fungi, including *Fusarium*, could increase phytate degradation by phytase production which leads to increase bioavailability of phosphorus (Marlida et al., 2010; Eida et al., 2013).

In the present study, DON tended to increase AID of isoleucine and increased AID of leucine and valine which belong to the category of branched-chain amino acids. DON also increased AID of aspartic acid, glycine and serine when compared to control diet. For serine, Maresca et al. (2002), using human intestinal epithelial cells, noted that DON reduced the absorption of L-serine. Dietrich et al. (2012) also showed that feeding DON contaminated diets at 2.5 mg/kg to broiler chickens leads to a down regulation of genes encoding for nutrients transporter (EXOC4, PITPNCl, SLC2A5) but they observed an upregulation when the DON concentration in feed was increased to 5 mg/kg (SLC41A2, VPS29, KCTD12, CHMP6, SLC7A10). In previous study, Jo et al. (2016) found a decrease or a tendency to decrease the AID of some amino acids. However in their study, concentration of DON added in the diet was higher (10 mg/kg) than levels used in the present study. Indeed, differences between studies may be related to a dose-dependent effect of DON. As reported in previous *in vitro* and *in vivo* studies, a progressive decrease of the intestinal morphology and barrier function is related to an increase of DON concentration in the diet which could explain the differential effect of DON on the digestibility of amino acids (Diesing et al., 2011; Pinton et al., 2012; Yunus et al., 2012).

The present study showed the addition of DefusionTM to a DON-contaminated diet had a negative impact on nutrient and component digestibility. These results did not agree with the positive effect of DefusionTM on growth performances previously reported (Patience et al., 2014; Frobosse et al., 2015; Le Thanh et al., 2015). Studies have been done about the effect of sodium metabisulfite on starch and protein digestibility of sorghum and their results showed that SBS enhance starch and protein digestibility in broiler chickens (Elkhalifa et al., 1999; Selle et al., 2016; Tuong et al., 2016). However, Le Thanh et al. (2015) reported that ATTD of dry matter and energy was reduced in piglets receiving a DON + DefusionTM diet when compared to control diet. Further studies are needed to a better understand of these contradictory results.

3.5. Conclusion

In conclusion, this project showed a positive effect of DON on AID of nutrients, especially phosphorus, calcium and some amino acids. However, DON contamination tended to decrease the ATTD of dry matter and energy, which could partially explain the negative impact of DON on growth performance previously reported.

DefusionTM supplement reduced the absorption of DON suggesting a possible mode of action of this additive against this mycotoxin. However, DefusionTM decreased AID of some nutrients, required possibly adjustment of nutrient concentrations to maintain the level of available nutrients for animal.

3.6. References

- ACIA. 2015. Mycotoxines dans les aliments du bétail. Agence canadienne d'inspection des aliments. <http://www.inspection.gc.ca/animaux/aliments-du-betail/directives-reglementaires/rg-8/fra/1347383943203/1347384015909?chap=1> (page consultée le 9 mai 2016)
- Adeola, O. 2001. Digestion and balance techniques in pigs. In: Lewis AJ, Southern LL, editors. *Swine Nutrition*. CRC Press: Washington DC. p. 903–916
- AOAC. 2016. *Official methods of analysis*, Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA, USA.
- Avantaggiato, G. R. Havenaar and A. Visconti. 2004. Evaluation of the intestinal absorption of deoxynivalenol and nivalenol by an in vitro gastrointestinal model, and the binding efficacy of activated carbon and other adsorbent materials. *Food Chem. Toxicol.* 42: 817-824
- Awad, W.A., W. Vahjen, J.R. Aschenbach and J. Zentek. 2011. A diet naturally contaminated with the Fusarium mycotoxin deoxynivalenol (DON) downregulates gene expression of glucose transporters in the intestine of broiler chickens. *Livest. Sci.* 140: 72-79
- Bergsjo, B., W. Langseth, I. Nafstad, J. Hogset Jansen and H.J.S. Larsen. 1993. The effects of naturally deoxynivalenolcontaminated oats on the clinical condition, blood parameters, performance and carcass composition of growing pigs. *Vet. Res. Commun.* 17: 283-294
- Beyer, M., S. Dänicke, D. Rohweder and H.-U. Humpf. 2010. Determination of deoxynivalenol sulfonate (DONS) in cereals by hydrophilic interaction chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Mycotox. Res.* 26: 109-117
- CCAC. 2009. Canadian Council on Animal Care. Good animal practice in science. <https://www.ccac.ca/Documents/Publications/AnnualReports/2008-09.pdf> [Online]
- Cheat, S., P. Pinton, A.-M. Cossalter, J. Cognie, M. Vilariño, P. Callu, I. Raymond-Letron, I. P. Oswald and M. Kolf-Clauw. 2016. The mycotoxins deoxynivalenol and nivalenol show in vivo synergism on jejunum enterocytes apoptosis. *Food. Chem. Toxicol.* 87: 45-54

Dänicke, S. and S. Döll. 2010. A probiotic feed additive containing spores of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* does not prevent absorption and toxic effects of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol in piglets. Food Chem. Toxicol. 48: 152-158

Dänicke, S., A.K. Hegewald, S. Kahlert, J. Kluess, H.-J. Rothkötter, G. Breves and S. Döll. 2010a. Studies on the toxicity of deoxynivalenol (DON), sodium metabisulfite, DON-sulfonate (DONS) and de-epoxy-DON for porcine peripheral blood mononuclear cells and the intestinal porcine epithelial cell lines IPEC-1 and IPEC-J2, and on effects of DON and DONS on piglets. Food Chem. Toxicol. 48 : 2154-2162

Dänicke, S., B. Brosig, L. R. Klunker, S. Kahlert, J. Kluess, S. Döll, H. Valenta and H.-J. Rothötter. 2012a. Systemic and local effects of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol (DON) are not alleviated by dietary supplementation of humic substances (HS). Food. Chem. Toxicol. 50: 979-988

Dänicke, S., H. Valenta and S. Döll. 2004. On the toxicokinetics and metabolism of deoxynivalenol (DON) in pig. Arch. Anim. Nutr. 58 (2): 169-180

Dänicke, S., H. Valenta, M. Gareis, H.W. Lucht and H. von Reichenbach. 2005. On the effect of a hydrothermal treatment of deoxynivalenol (DON)-contaminated wheat in the presence of sodium metabisulfite ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) on DON reduction and piglet performance. Anim. Feed Sci. Tech. 118: 93-108

Dänicke, S., M. Beyer, G. Breves, H. Valenta and H.-U. Humpf. 2010b. Effects of oral exposure of pigs to deoxynivalenol (DON) sulfonate (DONS) as the non-toxic derivative of DON on tissue residues of DON and de-epoxy-DON and on DONS blood levels. Food Addit. Contam. 7 (11): 1558-1565

Dänicke, S., S. Kersten, H. Valenta and G. Breves. 2012b. Inactivation of deoxynivalenol-contaminated cereal grains with sodium metabisulfite: a review of procedures and toxicological aspects. Mycotox. Res. 28 : 199-218

Dänicke, S., T. Goyarts, S. Döll, N. Grove, M. Spolders and G. Flachowsky. 2006. Effects of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol on tissue protein syntheses in pigs. *Toxicol. Lett.* 165 : 297-311

Diesing, A.K., C. Nossol, S. Dänicke, N. Walk, A. Post, S. Kahlert, H.J. Rothkötter and J. Klüss. 2011. Vulnerability of polarised intestinal porcine epithelial cells to mycotoxin deoxynivalenol depends on the route of application. *Plos One* 6 (2): e17472

Dietrich, B., S. Neuenschwander, B. Bucher and C. Wenk. 2012. Fusarium mycotoxin-contaminated wheat containing deoxynivalenol alters the gene expression in the liver and the jejunum of broilers. *Animal*. 6 (2): 78-91

Döll, S., J.A. Schrickx, S. Dänicke and J. Fink-Gremmels. 2009. Interactions of deoxynivalenol and lipopolysaccharides on cytokine excretion and mRNA expression in porcine hepatocytes and Kupffer cell enriched hepatocyte culture. *Toxicol. Lett.* 190 : 96- 105

Eida, M.F., T. Nagaoka, J. Wasaki and K. Kouno. 2013. Phytate degradation by fungi and bacteria that inhabit sawdust and coffee residue composts. *Microbes Environ.* 8 (1): 71-80

Elkhalifa, A.E.O., A. Chandrashekhar, B.E. Mohamed, A.H. El Tinay. 1999. Effect of reducing agents on the in vitro protein and starch digestibilities of cooked sorghum. *Food Chem.* 66: 323-326

Eriksen, G.S., H. Pettersson and J.E. Lindberg. 2003. Absorption, metabolism and excretion of 3-acetyl DON in pigs. *Arch. Anim. Nutr.* 57 (5) : 335-345

Eriksen, G.S., H. Pettersson, K. Johnsen and J.E. Lindberg. 2002. Transformation of trichothecenes in ileal digesta and faeces from pigs. *Arch. Anim. Nutr.* 56: 263-274

Frobosse, H.L., E.D. Fruge, M.D. Tokach, E.L. Hansen, J.M. DeRouchey, S.S. Dritz, R.D. Goodband et J.L. Nelson. 2015. The effects of deoxynivalenol-contaminated corn dried distillers grains with solubles in nursery pig diets and potential for mitigation by commercially available feed additives. *J. Anim. Sci.* 93:1074-1088

Frobese, H.L., E.W. Stephenson, M.D. Tokach, J.M. DeRouchey, J.C. Woodworth, S.S. Dritz and R.D. Goodband. 2017. Effects of potential detoxifying agents on growth performance and deoxynivalenol (DON) urinary balance characteristics of nursery pigs fed DON-contaminated wheat. *J. Anim. Sci.* 95: 327-337

Ghareeb, K., W.A. Awad, J. Böhm and Q. Zebeli. 2015. Impacts on the feed contaminant deoxynivalenol on the intestine of monogastric animals: poultry and swine. *J. Appl. Toxicol.* 35: 327-337

González-Vega, J.C. and H.H. Stein. 2104. Invited review - calcium digestibility and metabolism in pigs. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 27: 1-9.

Goyarts, T. and S. Dänicke. 2005. Effects of deoxynivalenol (DON) on growth performance, nutrient digestibility and DON metabolism in pigs. *Mycotox. Res.* 21 (2): 139-142

Guay, F., S.M. Donovan and N.L. Trottier. 2006. Biochemical and morphological developments are partially impaired in intestinal mucosa from growing pigs fed reduced-protein diets supplemented with crystalline amino acids. *J. Anim. Sci.* 84 (7): 1749-1760

Halawa, A., S. Dänicke, S. Kersten and G. Breves. 2012. Effects of deoxynivalenol and lipopolysaccharide on electrophysiological parameters in growing pigs. *Mycotox. Res.* 28: 243-252

Huwig, A., S. Freimund, O. Käppeli and H. Dutler. 2001. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicol. Letters* 122: 179-188

Jard, G., T. Liboz, F. Mathieu, A. Guyonvarc'h and A. Lebrihi. 2011. Review of mycotoxin reduction in food and feed: from prevention in the field to detoxification by adsorption or transformation. *Food Addit. Contam.* 8 (11): 1590-1609

Jo, H., C. Kong, M. Song and B.G. Kim. 2016. Effects of dietary deoxynivalenol and zearalenone on apparent ileal digestibility of amino acids in growing pigs. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 19: 77-82

Kollarczik, B., M. Gareis and M. Hanelt. 1994. In vitro transformation of the Fusarium mycotoxins deoxynivalenol and zearalenone by the normal gut microflora of pigs. *Nat. Toxins.* 2: 105-110

Kong, C., S.Y. Shin, C.S. Park and B.G. Kim. 2015. Effects of feeding barley naturally contaminated with Fusarium mycotoxins on growth performance, nutrient digestibility, and blood chemistry of gilts and growth recoveries by feeding a non-contaminated diet. *Asian Autral. J. Anim.* 29 (5): 662-670

Lessard, M., Savard, C., Deschene, K., Lauzon, K., Pinilla, V.A., Gagnon, C.A., Lapointe, J., Guay, F. and Chorfi, Y., 2015. Impact of deoxynivalenol (DON) contaminated feed on intestinal integrity and immune response in swine. *Food Chem. Toxicol.* 80, 7-16.

Le Thanh, B.V., M. Lessard, Y. Chorfi and F. Guay. 2015. The efficacy of anti-mycotoxin feed additives in preventing the adverse effects of wheat naturally contaminated with Fusarium mycotoxins on performance, intestinal barrier function and nutrient digestibility and retention in weanling pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 95 : 197-209

Lun, A.K., L.G. Young and J.H. Lumsden. 1985. The effects of vomitoxin and feed intake on the performance and blood characteristics of young pigs. *J. Anim. Sci.* 61 (5): 1178-1185

Magan, N. and D. Aldred. 2007. Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. *Int. J. Food Microbiol.* 119: 131-139

Maresca, M., R. Mahfoud, N. Garmy and J. Fantini. 2002. The mycotoxin deoxynivalenol affects nutrient absorption in human intestinal epithelial cells. *J. Nutr.* 132: 2723-2731

Marlida, Y., R. Delfita, P. Adnadi and G. Ciptaan. 2010. Isolation, characterization and production of phytase from endophytic fungus its application for feed. *J. Nutr.* 9 (5): 471-474

Myers, W.D., P.A. Ludden, V. Nayigihugu and B.W. Hess. 2004, Technical Note: A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *J. Anim. Sci.* 82: 179-183

Patience, J.F., A.J. Myers, S. Ensley, B.M. Jacobs and D. Madson. 2014. Evaluation of two mycotoxin mitigation strategies in grow-finish swine diets containing corn dried distillers grains with solubles naturally contaminated with deoxynivalenol. *J. Anim. Sci.* 92: 620-626

Pinton, P., C. Braicu, J.-P. Nougayrède, J. Laffitte, I. Taranu and I. P. Oswald. 2010. Deoxynivalenol impairs porcine intestinal barrier function and decreases the protein expression of claudin-4 through a mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism. *J. Nutr.* 140:1956-1962

Pinton, P., D. Tsybulskyy, J. Lucioli, J. Laffitte, P. Callu, F. Lyazhri, F. Grosjean, A.P. Bracarense, M. Kolf-Clauw and I. P. Oswald. 2012. Toxicity of deoxynivalenol and its acetylated derivatives on the intestine: Differential effects on morphology, barrier function, tight junction proteins, and mitogen-activated protein kinases. *Toxicol. Sci.* 130 (1) : 180-190

Pinton, P., J.-P. Nougayrède, J.-C. Del Rio, C. Moreno, D. E. Marin, L. Ferrier, A.-P. Bracarense, M. Kolf-Clauw and I. P. Oswald. 2009. The food contaminant deoxynivalenol, decreases intestinal barrier permeability and reduces claudin expression. *Toxicol. Appl. Pharm.* 237:41-48

Prelusky, D.B., K.E. Hartin, H.L. Trenholm and J.D. Miller. 1988. Pharmacokinetic fate of 14C-labeled deoxynivalenol in swine. *Fund. Appl. Toxicol.* 10: 276-286

Rotter, B.A. 1996. Invited review: Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *J. Toxicol. Env. Health.* 48 (1) : 1-34

Schwartz, H.E., C. Hametner, V. Slavik, O. Greitbauer, G. Bichl, E. Kunz-Vekiru, D. Schatzmayr and F. Berthiller. 2013. Characterization of three deoxynivalenol sulfonates formed by reaction of deoxynivalenol with sulfur reagents. *J. Agr. Food Chem.* 61: 8941-8948

Selle, P.H., H.H. Truong, L.R. McQuade, A.F. Moss and S.Y. Liu. 2016. Reducing agent and exogenous protease additions, individually and in combination, to wheat- and sorghum-

based diets interactively influence parameters of nutrient utilisation and digestive dynamics in broiler chickens. Anim. Nutr. 2: 303-311

Stein, H. H., B. Sèvre, M. F. Fuller, P. J. Moughan and C. F. M. de Lange. 2007. Invited review : Amino acid bioavailability and digestibility in pig feed ingredients : Terminology and application.

Sobrova, P., V. Adam, A. Vasatkova, M. Beklova, L. Zeman et R. Kizek. 2010. Deoxynivalenol and its toxicity. Interdisc. Toxicol. 3 (3) : 94-99

Spindler, H.K., R. Mosenthin, P. Rosenfelder, H. Jorgensen, K.E. Bach Knudsen, N. Sauer, J.K. Htoo and M. Eklund. 2016. Standardized ileal digestibility of amino acids in eight genotypes of barley fed to growing pigs. Animal 10 (12): 1931-1940

Trenholm, H.L., D.B. Prelusky, J.C. Young and J.D. Miller. 1988. Reducing mycotoxins in animal feeds. Agriculture Canada publication 1827E. Ottawa, ON, Canada

Truong, H.H., K.A. Neilson, B.V. McInerney, A.Khoddami, T.H. Roberts, S.Y. Liu and P.H. Selle. 2016. Sodium metabisulfite enhances energy utilisation in broiler chickens offered sorghum-based diets with five different grain varieties. Anim. Feed Sci. Tech. 219: 159-174

Valenta, H., S. Dänicke and S. Döll. 2003. Analysis of deoxynivalenol and de-epoxydeoxynivalenol in animal tissues by liquid chromatography after clean-up with an immunoaffinity column. Mycotox. Res. 19: 51-55

Waché, Y.J., C. Valat, G. Postollec, S. Bougeard, C. Burel, I.P. Oswald and P. Fraval. 2009. Impact of deoxynivalenol on the intestinal microflora of pigs. Int. J. Mol. Sci. 10: 1-17

Wan, L.M., C.S. Jackson Woo, P.C. Turner, J. Man-Fan Wan and H. El-Nezami. 2013. Individual and combined effects of Fusarium toxins on the mRNA expression of pro-inflammatory cytokines in swine jejunal epithelial cells. Toxicol. Lett. 220: 238-246

Wang, H.L., M. Shi, X. Xu, X.K. Ma, L. Liu et X.S. Piao. 2017. Comparative energy content and amino acid digestibility of barley obtained from diverse sources fed to growing pigs. Asian-Australas J. Anim. Sci. 30 (7): 999-1005

Wubben, J. E., M. R. Smiricky, D. M. Albin and V. M. Gabert. 2001. Improved procedure and cannula design for simple-T cannulation at the distal ileum in growing pigs. Contemp. Top. Lab. Anim. Sci. 40 (6): 27-31

Wu, L., P. Liao, L. He, W. Ren, J. Yin, J. Duan and T. Li. 2015. Growth performance, serum biochemical profile, jejunal morphology, and the expression of nutrients transporter genes in deoxynivalenol (DON)- challenged growing pigs. BMC Vet. Res. 11: 144-154

Yoshizawa, T., H. Takeda and T. Ohi. 1983. Structure of a novel metabolite from deoxynivalenol, a trichothecene mycotoxin, in animals. Agric. Biol. Chem. 47: 2133-2135

Young, J.C., H.L. Trenholm, D.W. Friend and D.B. Prelusky. 1987. Detoxification of deoxynivalenol with sodium bisulfite and evaluation of the effects when pure mycotoxin or contaminated corn was treated and given to pigs. J. Agric. Food Chem. 35: 259-261

Yunus, A.W., A. Blajet-Kosicka, R. Kosicki, M.Z. Khan, H. Rehman and J. Bohm. 2012. Deoxynivalenol as a contaminant of broiler feed: Intestinal development, absorptive functionality, and metabolism of the mycotoxin. Poult. Sci. 91: 852-861

Chapitre 4: Conclusion

Le désoxynivalenol est une mycotoxine grandement étudiée vu son impact sur les performances des animaux, principalement chez le porc qui est l'espèce d'élevage la plus sensible. De récentes études ont été réalisées afin de connaître son effet sur la morphologie et les fonctions intestinales. Toutefois, peu d'études ont été faites sur l'impact des changements intestinaux que le DON entraîne sur la digestibilité des nutriments. La présente étude visait donc, dans un premier temps, à tirer un portrait global des études existantes portant sur l'effet du DON sur la muqueuse intestinale et la digestibilité, en plus de celles sur les produits anti-mycotoxiniques. Dans un deuxième temps, une expérience a été réalisée dans le but de tester l'effet du DON et d'un produit anti-mycotoxinique, le Defusion^{MC}, sur la digestibilité des nutriments.

Généralement, les différents auteurs s'entendent sur le fait que la consommation de rations contaminées au DON a pour effet de diminuer les performances de croissance des porcs, principalement la prise alimentaire, ce qui entraîne du même coup une diminution du gain moyen quotidien. De plus, les travaux de recherches publiés jusqu'à maintenant ont démontrés que DON a un effet négatif sur la morphologie de la muqueuse intestinale et un effet inhibiteur de la synthèse protéique, ce qui peut influencer la sélectivité de la barrière intestinale via une possible altération de la fonction des protéines des jonctions serrées ou des transporteurs de nutriments. De plus, peu d'études ont été faites sur l'effet du DON sur la digestibilité apparente iléale. La majorité des études traitent de digestibilité totale et se contredisent sur l'effet du DON sur la digestibilité des nutriments. Il est à noter que plusieurs parlent aussi d'un effet différent selon la dose ingérée. Pour ce qui est des produits anti-mycotoxiniques, un bref survol des différentes catégories de produits a été fait et la plupart des produits ayant déjà été testés contre le DON se sont avérés inefficaces. Parmi les seuls produits ayant donné des résultats intéressants contre cette mycotoxine, le Defusion^{MC}, dont l'ingrédient actif est du métabisulfite de sodium est présentement étudié. Les études précédentes sur ce produit montrent qu'il est possible de ramener les performances de croissance des porcs nourris avec une ration contaminée supplémentée avec cet additif au niveau de ceux nourris avec une ration témoin.

Dans la présente étude, des porcs munis d'une canule à l'iléon ont été alimentés avec une ration composée à 55 % d'orge contaminée ou saine, avec ou sans Defusion^{MC} dans un dispositif de type design croisé. L'expérience a montré un effet positif de la contamination au DON sur la DIA des

nutriments, principalement le calcium, le phosphore et certains acides aminés. Toutefois, une tendance du DON à la diminution de la DAT de l'énergie a été notée. Cette dernière pourrait en partie expliquer l'effet négatif du DON sur les performances de croissance. À l'opposé, l'ajout de Defusion^{MC} a réduit l'absorption apparente de DON, mais a réduit la DIA des composants de l'alimentation. Bien que le Defusion^{MC} soit connu pour améliorer les performances de croissance des porcs ayant consommé une ration contaminée au DON, son effet positif ne serait donc pas uniquement associé à un effet positif sur la digestibilité des nutriments.

Finalement, cette recherche permet d'en savoir plus sur l'impact de l'alimentation des porcs avec des grains contaminés au DON. Les connaissances au niveau de l'effet de cette mycotoxine sur la morphologie intestinale, sur sa sélectivité et sur la digestibilité des nutriments sont encore limitées. Trouver un produit permettant de limiter les effets négatifs du DON sur les performances des porcs serait bénéfique pour l'industrie et pourraient permettre de valoriser une plus grande quantité de grains contaminés. Il est toutefois important de bien connaître le mode d'action de ce genre de produits et l'influence qu'ils peuvent avoir sur différents aspects qui touchent de près ou de loin la nutrition et la physiologie de l'animal. D'autres recherches sont donc nécessaires pour en savoir plus sur l'effet du DON au niveau intestinal et sur le Defusion^{MC}, qui semble un produit prometteur en ce qui a trait aux performances de croissance, mais qui est encore peu connu à d'autres niveaux.