

# SOMMAIRE

<b>Résumé</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Introduction</b>	<b>01</b>
<b>Chapitre 1 : revue bibliographique</b>	
<b>1. Généralités sur les mycotoxines</b>	<b>03</b>
I.1. Caractérisation des mycotoxines	<b>05</b>
I.2. Aflatoxines	<b>07</b>
I.3. Les mycotoxines de Fusarium	<b>07</b>
I.3.1. Trichothécènes	<b>08</b>
<b>2. Déoxynivalénol (vomitoxine – DON)</b>	<b>08</b>
2.1 . Dérivés du DON	<b>09</b>
2.2. Distribution	<b>09</b>
2.3. Propriétés physico-chimiques	<b>10</b>
<b>3. Mycotoxicoses</b>	<b>11</b>
3.1 Toxicologie expérimentale	<b>13</b>
3.2. Toxicocinétique et résidus du DON	<b>13</b>
3.2.1. Toxicocinétique	<b>13</b>
3.2.1.1. Absorption	<b>14</b>
3.2.1.2. Distribution plasmatique et tissulaire	<b>15</b>
3.2.1.3. Voies métaboliques du DON	<b>16</b>
3.2.1.4. Élimination des métabolites du DON	<b>18</b>
3.2.2. Résidus	<b>18</b>
<b>4. Toxicité générale</b>	<b>18</b>
4.1. Carcinogénicité et génotoxicité	<b>19</b>
4.2. Reproduction	<b>20</b>
4.3. Flore intestinale	<b>20</b>
4.4. Immunotoxicité	<b>20</b>
4.4.1. Effets paradoxaux du DON sur les fonctions immunitaires	<b>20</b>
4.4.2. Cas particulier des IgA	<b>21</b>

4.5. Mécanismes moléculaires	21
------------------------------	----

## **Chapitre 2 : matériels et méthodes**

<b>Partie expérimentale</b>	<b>24</b>
<b>1. MATERIEL UTILISE</b>	<b>24</b>
1.1. Animaux et leur entretien	24
1.2. Produits et réactifs	24
<b>2. Etude de la toxicité subchronique du déoxynivalénol (DON)</b>	<b>27</b>
2.1. Evaluation de la toxicité aiguë	27
2.1.1. Détermination de la DL 50	27
a- Chez les souris mâles	27
b- Chez les souris femelles	28
c- Observation clinique	28
2.2. Toxicité subchronique du DON	28
<b>3. Protocole expérimental</b>	<b>28</b>
3.1. Première phase	28
3.1.1. Suivi et observation de la toxicité subchronique	29
3.2. Deuxième phase	31
3.2.1 Prélèvement sanguin	31
3.2.1.1. Dosage des paramètres hématologiques et biochimiques	31
<b>4. Dosage des paramètres biochimiques</b>	<b>31</b>
4.1. Dosage de l'urée : (Méthode de Berthelot 1960) (Kit CHRONOLAB)	31
4.2. Dosage de la créatinine (Kit SPINREACT)	32
4.3. Dosage de l'acide urique : (Kit CHRONOLAB)	32
4.4. Dosage des protéines totales : (Kits CHRONOLAB)	32
4.5. Dosage du cholestérol total : Méthode de Fasce [1982] (kit SPINREACT)	33
4.6. Dosage des triglycérides (TG):	33
<b>5. Prélèvement d'organes de souris</b>	<b>34</b>
<b>5.1 Etude histologique</b>	<b>34</b>
5.1.1. Traitement des échantillons	35
5.1.1.1. Fixation	35
5.1.1.2. Déshydratation	35
5.1.1.3. Clarification	35
5.1.1.4. Inclusion	35

5.1.1.5. Coupes	35
5.1.1.6 Etalement sur lames	36
5.1.1.7. Déparaffinage	36
5.1.1.8. Réhydratation	36
5.1.1.9. Coloration	36

### **Etude statistique** 38

1-Analyse statistique	38
2- Modélisation et simulation numérique	38
2.1 Logiciels de programmation	39

## **Chapitre 3 : résultats**

### **1. Etude toxicologique** 43

1.1. Consommation moyenne journalière de l'aliment par souris	43
1.2. Consommation quotidienne de la solution de DON par les souris	43
1.3. Dose moyenne journalière de déoxynivalénol consommée par souris	43
1.4. Croissance pondérale	45
1.5. Taux de mortalité et les transformations morphologiques et comportementales	47
1.6. Effet du DON sur le poids absolu des différents organes	47
1.7. Effet du DON sur le poids relatif des différents organes	52

### **2. Etude histologique** 55

2.1- Effet du DON sur la structure histologique des reins	55
2.2- Effet du DON sur la structure histologique du foie	57
2.3- Effet du DON sur la structure histologique du cerveau	59

### **3. Effet du DON sur les paramètres hématologiques** 64

3.1. Nombre des globules rouges (GR)	64
3.2. Nombre de globules blancs (GB)	64
3.3. Nombre de plaquettes (PL)	64

### **4. Effet du DON sur les paramètres biochimiques sériques** 64

4.1. Teneur en albumine	64
4.2. Teneur en cholestérol total	67
4.3. Teneur en urée	67
4.4. Teneur en créatinine	67
4.5. Teneur en acide urique	67
4.6. Teneur en transaminases TGO	67

4.7. Teneur en transaminases TGP	68
<b>5. Modélisation et simulation numérique</b>	<b>71</b>
5.1. Principaux contributeurs à la DJA de 1 µg/kg de poids corporel par jour	71
5.2. Contribution des dérivés du DON à l'exposition totale	74
5.3. Les niveaux d'exposition de DON dans les différents groupes de population	74

## **Chapitre 4 : Discussion**

<b>Discussion</b>	<b>77</b>
<b>Conclusion</b>	<b>87</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>90</b>
<b>Résumé</b>	

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

<b>3-ADON:</b>	<i>3-acétyl-DON</i>
<b>5HT3:</b>	<i>Récepteur ionotrope activé par la sérotonine</i>
<b>15-ADON:</b>	<i>15-acétyl-DON</i>
<b>AFB1:</b>	<i>Aflatoxine B1</i>
<b>AFs:</b>	<i>Aflatoxines</i>
<b>AP-1:</b>	<i>Activator Protein-1</i>
<b>BMDL10:</b>	<i>Benchmark-dose (BMD) associated with a 10% response adjusted for background (est la dose de référence (DMO) associée à une réponse de 10% ajustée pour le Contexte)</i>
<b>C/EBP:</b>	<i>CAAT Enhancer-Binding Protein</i>
<b>Ca+:</b>	<i>Calcium</i>
<b>CCM:</b>	<i>Chromatographie sur Couche Mince</i>
<b>CIRC:</b>	<i>Centre International de Recherche sur le Cancer</i>
<b>COX-2:</b>	<i>Cyclooxygénase-2</i>
<b>CPG:</b>	<i>Chromatographie en Phase Gazeuse</i>
<b>CSAH:</b>	<i>Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine</i>
<b>DAR:</b>	<i>Dose aiguë de référence</i>
<b>DAS :</b>	<i>Diacétoxyscirpénol, angite</i>
<b>DJMTP:</b>	<i>Dose journalière tolérable maximale provisoire</i>
<b>DJA:</b>	<i>Dose journalière admissible</i>
<b>DL50:</b>	<i>Dose Létale 50</i>
<b>DOM-1:</b>	<i>De-époxy-déoxynivalénol</i>
<b>DON:</b>	<i>Déoxynivalénol</i>
<b>DON-3-Glc:</b>	<i>DON-3-glucoside</i>
<b>EC50:</b>	<i>Concentration effective à 50%</i>
<b>EDTA:</b>	<i>Éthylène Diamine Tétra-Acétique</i>
<b>EFSA:</b>	<i>Autorité Européenne de Sécurité des Aliments</i>
<b>ERK 1/2:</b>	<i>Extracellular Signal Regulated Protein Kinase</i>
<b>FAO:</b>	<i>Food Agricultural Organisation</i>
<b>FBI:</b>	<i>Fumonisine B1</i>
<b>FNS:</b>	<i>Formule Numération Sanguine</i>
<b>gr:</b>	<i>Gramme.</i>
<b>HCT:</b>	<i>Hématocrite.</i>
<b>HGB:</b>	<i>Hémoglobine.</i>
<b>HPLC:</b>	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
<b>HT-2:</b>	<i>Mycotoxine de la famille des trichothécènes</i>
<b>IARC:</b>	<i>Centre international de recherche sur le cancer</i>
<b>IgA:</b>	<i>Immunoglobulines A</i>
<b>IgG:</b>	<i>Immunoglobulines G</i>
<b>IgM:</b>	<i>Immunoglobulines M</i>
<b>IL:</b>	<i>Interleukine</i>
<b>IP3:</b>	<i>Inositol 1,4,5-triphosphate</i>
<b>IPA:</b>	<i>Institut Pasteur d'Alger</i>
<b>I.V:</b>	<i>Intraveineuse</i>
<b>JECFA:</b>	<i>Comité Mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires</i>
<b>JNK 1/2:</b>	<i>c-Jun N-terminal Kinases</i>
<b>K<sup>+</sup>:</b>	<i>Potassium</i>
<b>Kg:</b>	<i>Kilogramme.</i>

<b>lbs :</b>	<i>Livre (liBra)</i>
<b>LCR:</b>	<i>Liquide céphalo-rachidien</i>
<b>LPNSA:</b>	<i>Laboratoire de Physiologie de la Nutrition et de la Sécurité Alimentaire</i>
<b>LPS:</b>	<i>Lipopolysaccharides</i>
<b>MAPKs:</b>	<i>Mitogen-Activated Protein Kinases</i>
<b>MCH:</b>	<i>Teneur Corpusculaire en Hémoglobine.</i>
<b>MCHC(CCMH):</b>	<i>Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.</i>
<b>MCV (VGM):</b>	<i>Volume Globulaire Moyen</i>
<b>mg:</b>	<i>Milligramme</i>
<b>min:</b>	<i>Minute</i>
<b>MIP-2:</b>	<i>Macrophage Inflammatory Protein</i>
<b>mM:</b>	<i>Millimolaire</i>
<b>mm<sup>3</sup>:</b>	<i>Millimètre cube.</i>
<b>mmol:</b>	<i>Milli-mole</i>
<b>MO:</b>	<i>Microscope optique</i>
<b>Na<sup>+</sup>:</b>	<i>Sodium</i>
<b>NF-B:</b>	<i>Nuclear factor –B</i>
<b>NIV:</b>	<i>Nivalénol</i>
<b>nm:</b>	<i>Nanomètre.</i>
<b>NO:</b>	<i>Nitric Oxyde</i>
<b>NOAEL:</b>	<i>Dose journalière sans effet indésirable observé</i>
<b>OMS:</b>	<i>Organisation mondiale de la santé</i>
<b>ONAB:</b>	<i>Office national des aliments du bétail</i>
<b>OTA:</b>	<i>Ochratoxine A</i>
<b>PAT:</b>	<i>Patuline</i>
<b>pc:</b>	<i>Poids corporel</i>
<b>PBS:</b>	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
<b>PLT:</b>	<i>Plaquettes.</i>
<b>ppm:</b>	<i>Partie par million</i>
<b>PV:</b>	<i>Poids vif</i>
<b>RBC:</b>	<i>Red Blood Cells.</i>
<b>SCF:</b>	<i>Société Chimique de France</i>
<b>SD:</b>	<i>Standard Deviation</i>
<b>SEM:</b>	<i>Standard Error of Mean</i>
<b>TCT:</b>	<i>Trichothécènes</i>
<b>TDI:</b>	<i>Tolerable Daily Intake ou Dose Journalière Tolérable (DJT)</i>
<b>TG :</b>	<i>Triglycerides</i>
<b>TGI :</b>	<i>Tractus gastro-intestinal</i>
<b>TGP:</b>	<i>ALAT = Alanine Amino Transférase</i>
<b>TGO:</b>	<i>ASAT = Aspartate Amino Transférase</i>
<b>TNF:</b>	<i>Facteur de nécrose tumorale</i>
<b>uma :</b>	<i>Unité de masse des atomes (soit 1/12, de la masse d'un atome de C12)</i>
<b>WBC:</b>	<i>Wight Blood Cells.</i>
<b>ZEa:</b>	<i>(ZEN) Zéaralénone</i>
<b>χ<sup>2</sup> :</b>	<i>Khi-deux</i>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Structure chimique du déoxynivalénol (DON) .....	10
<b>Figure 2.</b> Distribution plasmatique et tissulaire du déoxynivalénol après l'administration intraveineuse d'une dose de 1 mg/kg de poids vif chez le porc (Prelusky et Trenholm, 1991).....	15
<b>Figure 3.</b> Évolution des concentrations de déoxynivalénol dans le plasma, la bile et les urines après administration d'une dose de 1 mg/kg par voie I.V. chez le porc (Prelusky et Trenholm, 1991).....	18
<b>Figure 4.</b> Description des mécanismes moléculaires et des signaux de transduction impliqués dans la toxicité induite par le DON (d'après Pestka <i>et al.</i> (2004)).....	22
<b>Figure 5.</b> Répartition des souris composant les groupes expérimentaux recevant le déoxynivalénol à 1% dans l'eau de boisson et les groupes témoins.....	30
<b>Figure 6.</b> Consommation du déoxynivalénol (ml/j/souris) diluée dans l'eau de boisson à la dose de 1% pendant 90 jours d'expérimentation. Les témoins sont abreuvés avec de l'eau sans déoxynivalénol (n=10 pour chaque groupe).....	44
<b>Figure 7.</b> Croissance pondérale (g/semaine/souris) des souris mâles recevant pendant 90 jours le DON à la dose de 1%. Le groupe témoin reçoit de l'eau sans DON.....	46
<b>Figure 8.</b> Croissance pondérale (g/semaine/souris) des souris femelles recevant pendant 90 jours du DON à la dose de 1%. Le groupe témoin reçoit de l'eau sans DON.....	46
<b>Figure 9.</b> observation au microscope photonique des coupes histologiques des reins des souris mâles traités à 1% de DON (B, C, D, E), et coupes histologiques des reins témoins (A) (G×40, coloration de l' hématoxyline éosine).....	56
<b>Figure 10.</b> Observation au microscope optique des coupes histologiques des foies des souris mâles traités à 1% de DON (B, C, D, E), et coupes histologiques des foies témoins (A) (G×40, coloration de l' hématoxyline éosine).....	58
<b>Figure 11.</b> Observation au microscope optique des coupes histologiques des cerveaux des souris mâles traités à 1% de DON (B, C, D, E), et coupes histologiques des cerveaux témoins (A) (G×40, coloration de l' hématoxyline éosine).....	60
<b>Figure 12.</b> Observation au microscope optique des coupes histologiques des reins des souris femelles traités à 1% de DON (B, C, D) et coupes histologiques des reins témoin (A) (G×40, coloration à l'hématoxyline éosine).....	61

<b>Figure 13.</b> Observation au microscope optique des coupes histologiques des foies des souris femelles traités à 1% de DON (B, C, D, E), et coupes histologiques des foies témoins (A) (G×40, coloration de l' hématoxyline éosine).....	62
<b>Figure 14.</b> Observation au microscope optique des coupes histologiques des cerveaux des souris femelles traités à 1% de DON (B, C, D, E), et coupes histologiques des cerveaux témoins (A) (G×40, coloration de l' hématoxyline éosine).....	63
<b>Figure 15.</b> Nombre de globules rouges (106/mm <sup>3</sup> ) des souris traités pendant 13 semaines par le DON comparé à celui des souris témoins (n=10 pour chaque groupe)...	65
<b>Figure 16.</b> Nombre de globules blanc (103 /mm <sup>3</sup> ) des souris traités pendant 13 semaines par le DON comparé à celui des souris témoins (n=10 pour chaque groupe)...	65
<b>Figure 17.</b> Nombre de plaquettes (105 /mm <sup>3</sup> ) des souris traités pendant 13 semaines par le DON comparé à celui des souris témoins (n=10 pour chaque groupe).....	66
<b>Figure 18.</b> Teneur en albumine (g/l) chez les souris témoins et les souris expérimentales intoxiquées par le DON (n=10).....	66
<b>Figure 19.</b> Teneur en cholestérol (mmol/l) chez les souris témoins et les souris expérimentales intoxiquées au DON (n=10).....	68
<b>Figure 20.</b> Teneur en urée sérique (mmol/l) chez les souris témoins et les souris expérimentales intoxiquées au DON.....	68
<b>Figure 21.</b> Teneur en créatinine (μmol/l) chez les souris témoins et les souris expérimentales intoxiquées au DON (n=10).....	69
<b>Figure 22.</b> Teneur en acide urique (mg/l) chez les souris témoins et les souris expérimentales intoxiquées au DON (n=10).....	69
<b>Figure 23.</b> Teneur en TGO (U/l) chez les souris témoins et les souris expérimentales intoxiquées au DON (n=10).....	70
<b>Figure 24.</b> Teneur en TGP (U/l) chez les souris témoins et les souris expérimentales intoxiquées au DON (n=10).....	70
<b>Figure 25.</b> contribution relative minimum et maximum de grains (en pourcentage) à l'ensemble limite inférieure des moyens d'exposition DON dans les enquêtes et les groupes d'âge.....	71
<b>Figure 26.</b> contribution relative minimum et maximum de grains de fraisage (en pourcentage) à la limite inférieure d'ensemble des moyens d'exposition DON dans les enquêtes et les groupes d'âge.....	72



<b>Figure 27.</b> contribution relative minimale et maximale des céréales du petit déjeuner (en pourcentage) à l'ensemble limite inférieure des moyens d'exposition DON dans les enquêtes et les groupes d'âge.....	72
<b>Figure 28.</b> contribution relative minimum et maximum de produits de boulangerie fine (en pourcentage) à l'ensemble limite inférieure des moyens d'exposition DON dans les enquêtes et les groupes d'âge.....	73
<b>Figure 29.</b> Gamme de Contribution alimentaire exprimée en mg/kg p.c / jour (d) 10%.....	73
<b>Figure 30.</b> Gamme de Contribution alimentaire exprimée en mg/kg p.c / jour (d) 05%.....	74
<b>Figure 31.</b> Pourcentage de la contribution de 3-Ac-DOWN à l'exposition total.....	75
<b>Figure 32.</b> Contribution en pourcentage du 15-Ac-DOWN à l'exposition totale.....	75
<b>Figure 33.</b> Pourcentage de la contribution de DON à l'exposition totale.....	76

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b> Limites réglementaires des AFs et les limites recommandées de quatre principales mycotoxines retrouvées dans les rations alimentaires pour les porcs aux États-Unis, en Europe et au Canada.....	06
<b>Tableau 2.</b> Résidus de DON dans les muscles, le foie et le rein suite à une administration unique chez le porc.....	19
<b>Tableau 3.</b> Composition de l'aliment pour rongeurs ONAB.....	24
<b>Tableau 4.</b> Composition qualitative et quantitative de l'aliment pour rongeurs ONAB...	25
<b>Tableau 5.</b> Spécifications du déoxynivalénol (Merck Index., 1996).....	26
<b>Tableau 6.</b> Contribution relative minimale et maximale des groupes d'aliments (en pourcentage) à l'exposition globale moyenne au DON dans l'ensemble des enquêtes et des groupes d'âge.....	40
<b>Tableau 7.</b> Alimentation contribuant à plus de 10% de 1 µg/kg de poids corporel.....	41
<b>Tableau 8.</b> Contribution en pourcentage de 3-Ac-DON, 15-Ac-DON et le DON l'exposition totale.....	42
<b>Tableau 9.</b> Consommation quotidienne moyenne de déoxynivalénol établie par unité de poids corporel pour chaque essai, sur 90 jours d'expérimentation.....	45
<b>Tableau 10.</b> Effet de don sur le poids absolu des organes (g) chez les souris mâles après 90 jours de consommation .....	49
<b>Tableau 11.</b> Effet de don sur le poids absolu des organes (g) chez les souris femelles après 90 jours de consommation .....	50
<b>Tableau 12.</b> Effet de don sur le poids relatif des organes (g) chez les souris mâles après 90 jours de consommation .....	53
<b>Tableau 13.</b> Effet de don sur le poids relatif des organes (g) chez les souris femelles après 90 jours de consommation .....	54

# INTRODUCTION GENERALE

## **Introduction**

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par des champignons qui peuvent infecter tous les stades de la chaîne alimentaire. Leur présence mondiale est considérée comme un facteur de risque majeur pour la santé humaine et animale. Jusqu'à 25% de la production agricole mondiale pourrait être contaminée par des mycotoxines (CAST 2003). Les syndromes toxicologiques causés par l'ingestion de mycotoxines vont de l'induction du cancer et de la carence en croissance jusqu'à la mort (CAST 2003; Bryden, 2007). La consommation de toxines fongiques peut également réduire la résistance aux maladies infectieuses (Oswald et al., 2005).

Le déoxynivalénol (DON) est une mycotoxine de la famille des trichothécènes B, produit par le champignon *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*, dont le développement est favorisé par certaines conditions de température et d'humidité. Contaminant naturel des céréales et de leurs dérivés, il a été isolé pour la première fois par une équipe japonaise à partir d'orge infecté par *Fusarium graminearum* (Morooka et al., 1972) et qui a causé des vomissements chez les porcs qui ont consommé du maïs contaminé par ce champignon (Vesonder et al. 1973). L'équipe a caractérisé le composé actif comme étant un trichothécène et lui a donné le nom de "vomitoxine".

Plus récemment, plusieurs cas de mycotoxicose chez l'homme et le bétail ont été attribués à la consommation de céréales contaminées par le déoxynivalénol (DON) au Japon (Morooka et al., 1972). En Inde, le DON a également été impliqué en tant qu'agent causal chez des résidents de la vallée du Cachemire qui ont consommé du pain à base de maïs moisi (Bhat et al., 1989). Les symptômes incluaient des nausées, des douleurs à l'estomac, des vomissements et une irritation de la gorge.

Une reproduction expérimentale a démontré le rôle du DON dans le refus de la nourriture, provoquant également une congestion de la doublure de l'estomac et de l'intestin grêle, la dégénérescence hydropique des hépatocytes et la vacuolation des cellules du tubule alvéolaire distal (Marpegan et al., 1988).

La législation sur les mycotoxines se déroule progressivement, mais tous les pays ne sont pas au même stade de la fixation des doses maximales car l'introduction de la législation dépend de plusieurs facteurs scientifiques et socioéconomiques.

Compte tenu de ces observations et d'études toxicologiques, la réglementation a été développée, limitant la contamination des aliments. Malheureusement, cette mesure législative est loin d'être respectée par tous si bien que d'autres études sont nécessaires pour mieux évaluer le risque de contamination alimentaire.

Les habitudes alimentaires diffèrent d'un pays à l'autre, le stockage des denrées alimentaires et le dosage technique de cette mycotoxine, ainsi que les données publiées par les auteurs occidentaux et anglo-saxons ne peuvent pas refléter la situation d'autres pays d'Afrique et du Moyen Orient.

A notre connaissance, aucun travail n'a été encore réalisé à l'échelle régionale, en particulier dans le nord-Afrique sur l'organisme et les fonctions, sachant que le climat de ces régions, les conditions de stockage des céréales et les habitudes alimentaires sont des facteurs qui font de nous une population plus exposée à cette mycotoxine que n'importe quelle autre population.

Notre travail a pour objet :

\_ D'évaluer le risque toxicologique du déoxynivalénol à moyen terme chez des souris de la souche Swiss, utilisées comme modèle toxicologique. Il s'agit en particulier d'évaluer les conséquences de la consommation subchronique de cette mycotoxine sur certains paramètres biochimiques sériques, hématologiques, sur le poids relatif des organes et sur l'architecture tissulaire de certains organes cibles (foie, reins, et cerveau).

\_ D'évaluer par une modélisation numérique basée sur une enquête statistique menée par l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) en 2013, la meilleure estimation du risque du DON sur la population en tenant compte: des habitudes alimentaires, de la contribution des métabolites dans la contamination alimentaire et de l'âge de la population cible.

## CHAPITRE 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

## 1. Généralités sur les mycotoxines

Lors de la croissance des végétaux et de leur stockage, les aliments peuvent être un substrat pour le développement de moisissures qui, souvent sous certaines conditions d'humidité, peuvent produire des mycotoxines. Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par une grande variété de moisissures, principalement les genres *Fusarium spp*, *Aspergillus spp* ou *Penicillium spp*, se développant sur différents types d'aliments bruts (céréales, oléoprotéagineux, fruits, noix, amandes, grains, fourrages) (Bennett et Klich, 2003; Glenn, 2007). Et dans des situations écologiques très diverses. Du fait de leur transfert dans la chaîne alimentaire végétale et animale, elles peuvent se retrouver dans l'alimentation humaine.

De plus, les mycotoxines sont des composés très stables durant le stockage, mais également au cours des traitements de transformation. Elles sont thermostables et ne sont pas détruites par les procédés technologiques de préparation des aliments comme la cuisson et la stérilisation. Les mycotoxines restent donc présentes dans l'aliment «fini», même après la disparition des moisissures (Cast, 2003). Elles sont retrouvées dans les céréales du petit déjeuner (Molinié *et al.*, 2005 ; Ibáñez-Vea *et al.*, 2011), dans les pâtes (Raiola *et al.*, 2012), dans le café (Tozlovanu & Pfohl-Leszkowicz, 2010). L'ochratoxine A (OTA) est retrouvée dans une large gamme de produits alimentaires (céréales, vin, café, cacao, épices, fruits secs) (Battacone *et al.*, 2010; Ozden *et al.*, 2012).

De part leur grande stabilité thermique, les mycotoxines constituent un danger pour la santé de l'Homme et des animaux. Elles constituent un groupe de substances toxiques présentant notamment des activités mutagènes, cancérogènes, tératogènes, immunotoxinogènes, et de perturbateurs endocriniens (Peraica, 1999; Castegnaro & Pfohl-Leszkowicz, 2002).

Elles affectent les animaux d'élevage consommant les aliments bruts contaminés. Leur capacité à se lier aux protéines plasmatiques et leur lipophilie en font des toxiques capables de persister dans l'organisme. Des similitudes ont été observées entre la néphropathie porcine et aviaire en Bulgarie et la néphropathie endémique des Balkans (Stoev, 2008 ; Stoev *et al.*, 2010).

Certaines mycotoxines comme l'ochratoxine A (OTA) et la fumonisine B1 (FB1) semblent être impliquées dans l'intoxication (Stoev *et al.*, 2011).

La zéaralénone (ZEA) se trouve aussi fréquemment dans de nombreux produits alimentaires et perturbe la reproduction des porcs entre autre. La ZEA et ses métabolites peuvent agir en tant que perturbateurs endocriniens en altérant la production d'hormones (Frizell *et al.*, 2011). La ZEA et ses dérivés modifient plusieurs paramètres de la réponse cellulaire humorale et immunitaire chez le porc (Marin *et al.*, 2011).

Ces mycotoxines se retrouvent assez souvent en co-contamination et provoquent de graves problèmes de santé publique et économique. La présence simultanée de fumonisine B1 (FB1) et d'aflatoxine B1 (AFB1) conduit à une augmentation du cancer hépatique dû au fait de l'effet promoteur de la FB1, vis-à-vis de l'effet initiateur de l'AFB1 ainsi qu'au fait que la FB1 par son action d'initiateur rend les cellules hépatiques plus sensibles (Gelderblom *et al.*, 2008).

Les mycotoxines, et en particulier celles qui sont cancérogènes, devraient être exclues des aliments. La législation sur les mycotoxines se met progressivement en place, mais tous les pays n'en sont pas au même stade, car la fixation de doses maximales et la mise en place d'une législation dépendent de plusieurs facteurs à la fois scientifiques et socio-économiques. Dans l'Union Européenne, le règlement 2006/1881/CE fixe les teneurs maximales pour certaines mycotoxines dans les denrées alimentaires pour l'alimentation humaine. En ce qui concerne les aliments pour animaux, la directive 2002/32/CE modifiée fixe les teneurs maximales uniquement pour l'aflatoxine B1. Pour les autres mycotoxines, des teneurs maximales sont simplement recommandées, mais pas encore imposées. Actuellement, aucune législation ne prend en compte le risque de co-contaminations.

La mise en place de mesures de prévention (bonnes pratiques agricoles incluant le choix des variétés, le suivi tout au long de la chaîne alimentaire...), peut parfois se révéler insuffisante, d'où le besoin de trouver des moyens de désactivation après les traitements technologiques. Différentes procédures de décontamination ont été explorées (physiques, chimiques et biologiques).

Si les effets *in vitro* de certaines mycotoxines sont bien documentés, leur efficacité *in vivo* en tant que contaminant alimentaire n'est pas toujours aussi claire. Plusieurs explications peuvent être avancées. Le faible nombre d'études et leur disparité (composition, durée d'administration, paramètres mesurés...) peut expliquer les discordances concernant leurs toxicité. Par ailleurs, depuis la fabrication de l'aliment jusqu'à leur absorption intestinale, les mycotoxines sont soumises à une myriade d'événements qui peuvent réduire leur activité. Des études toxicocinétique sont également nécessaires pour connaître le devenir de ces toxines dans l'organisme, et ainsi comprendre leurs effets.

Les mycotoxines sont des substances toxiques sécrétées par des champignons microscopiques ou moisissures telles que les genres *Aspergillus*, *Penicillium* ou *Fusarium*. Ce sont des composés de faibles poids moléculaires non volatils à température ambiante. Il existe environ entre 200.000 et 300.000 espèces de moisissures, et entre 300 et 400 mycotoxines (Bhatnagar *et al.*, 2002; Mattsson, 2007). Parmi ces mycotoxines, certaines ont attiré une attention particulière, c'est-à-dire que leur quantité dans les aliments est réglementée en fonction de leur prévalence élevée dans les matières premières (céréales, fruits, boissons, café, produits d'origine animale) ou que leur toxicité est élevée



chez les humains et les animaux (Maresca et Fantini, 2010). Les mycotoxines considérées comme les plus importantes du point de vue agro-alimentaire et sanitaire sont les aflatoxines (AF), principalement AFB<sub>1</sub>; les ochratoxines, surtout l'ochratoxine A (OTA); les trichothécènes tels que la toxine T-2 et le **déoxynivalénol (DON)**; les fumonisines, comme FB<sub>1</sub>; la patuline (PAT) et la zéaralénone (ZEN) (Osweiler, 2000; Pineiro, 2003; Bryden, 2007). En effet, l'intoxication par ces toxines à des doses élevées entraîne une cytotoxicité générale liée habituellement à l'inhibition de la synthèse de macromolécules (Creppy, 2002; Calvert et al., 2005; Bouaziz et al., 2006). À des faibles doses, la cytotoxicité est en lien avec des altérations subtiles des fonctions des tissus et organes, telles que les couches épithéliales de l'intestin, du foie et des reins, mais aussi les systèmes nerveux, reproducteur et immunitaire (Smith et al., 1995; Peraica et al., 1999; Bondy et Pestka, 2000; Bennett et Klich, 2003; Campbell et al., 2004; Fung et Clark, 2004; Bouhet et Oswald, 2005; Fuchs et Peraica, 2005; Rocha et al., 2005; Richard, 2007; Zinedine et al., 2007).

### 1.1. Caractérisation des mycotoxines

Les mycotoxines présentes dans les aliments ne peuvent pas être totalement détruites par la cuisson ou les technologies modernes de traitement des denrées alimentaires. Les produits et aliments d'origine animale tels que le lait, le sang, les abats et les produits dérivés peuvent contenir des traces de mycotoxines ou des métabolites des mycotoxines contenues dans les aliments ingérés par les animaux d'élevage. Dans un groupe structural de toxines, la toxicité peut varier considérablement d'une toxine à une autre et n'est pas toujours liée à la toxine elle-même, mais peut aussi provenir de ses métabolites. Grâce aux nouvelles méthodes d'analyse et à l'intérêt croissant dans ce domaine, plus de 350 différentes mycotoxines ont été différenciées à ce jour (Erber et Binder, 2004). Parmi elles, les aflatoxines (AFs), les trichothécènes, la ZEN, les OTA et les fumonisines ont fait plus fréquemment l'objet de recherche par les centres de recherche et l'industrie alimentaire. La même mycotoxine ou le même groupe de mycotoxines peuvent causer les différents dommages sur la même espèce animale. Les limites réglementaires de cinq principales mycotoxines dans les rations pour les porcs aux États-Unis, en Europe et au Canada sont présentées dans le tableau 1 (Erber et Binder, 2004; Jacela et al., 2010).

**Tableau 1.** Limites réglementaires des aflatoxines (AFs) et les limites recommandées de quatre principales mycotoxines retrouvées dans les rations alimentaires pour les porcs aux États-Unis, en Europe et au Canada (Henry, 2006; Jacela et al., 2010; ACIA, 2012).

Groupe	Aflatoxine ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )	Fumonisines ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	Déoxynivalénol ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	Ochratoxine A ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )	Zéaralénone ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )
<i>Aux États-Unis</i> <sup>†</sup>					
Porcelets	20	10	1	N/A	N/A
Engraissement (> 100 lbs de poids vif)	200	10	1	N/A	N/A
Reproducteurs	100	10	1	N/A	N/A
<i>En Europe</i> <sup>‡</sup>					
Porcelets	20	5	0.9	50	N/A
Engraissement (> 100 lbs de poids vif)	20	5	0.9	50	N/A
Reproducteurs	-	5	0.9	50	100-250
<i>Au Canada</i> <sup>§</sup>					
Porcelets	20	N/A	1		N/A
Engraissement (> 100 lbs de poids vif)	20	N/A	1		N/A
Reproducteurs	20	N/A	1	< 2000	< 1000-3000
<sup>†</sup> Source: (en): Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine (Henry, 2006). Les concentrations des mycotoxines ont été calculées par kg d'aliment.					
<sup>‡</sup> Source: Caractéristiques et réglementations en vigueur pour les principales mycotoxines retrouvées dans les céréales (Wache, 2009)					
<sup>§</sup> Source: Agence canadienne d'inspection des aliments (RG-8, 2012)					
N/A: non applicable. Note: un minimum de 0,20 $\text{mg.kg}^{-1}$ de l'ochratoxine A peut causer la réduction du gain de poids et des lésions légères aux reins chez le porc d'engraissement à l'abattoir, et un minimum de 1 $\text{mg.kg}^{-1}$ de la zéaralénone peut causer la vulvo vaginite et le prolapsus chez les cochettes pré-pubères (Osweiler, 2006).					

### 1.2. Aflatoxines (AFs)

Parmi les mycotoxines, le groupe des AFs est le plus connu, le mieux étudié et le plus réglementé. Les AFs ont été isolées pour la première fois chez des dindonneaux nourris avec des tourteaux contaminés (Blout, 1961; Goldblatt, 1961). Les AFs sont des dérivés de la difuranocoumarine. Elles sont produites par les *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus* qui prolifèrent sur les grains entreposés en conditions chaudes et humides.

Dans le domaine agricole, *A. flavus* est un contaminant fréquent. A moindre échelle, les *A. bombycis*, *A. ochraceoroseus*, *A. nomius* et *A. pseudotamari* sont aussi des espèces productrices d'AFs (Goto et al., 1996; Klich et al., 2000; Peterson, 2001). Ces mycotoxines sont surtout problématiques en climat tropical ou subtropical. Avec le climat frais et humide, ces mycotoxines sont peu présentes et, la présence des AFs dans nos aliments est souvent détectée dans les ingrédients importés de régions se trouvant plus au sud.

### 1.3. Les mycotoxines de *Fusarium*

Le genre *Fusarium* a été nommé par Link en 1809 il y a près de 200 ans et englobe une diversité d'espèces importantes qui sont des pathogènes dévastateurs des plantes (Merhej, 2010). Les principales mycotoxines produites par les espèces *Fusarium* sont les trichothécènes, les fumonisines, et la ZEN soulevant des inquiétudes quant à leur pouvoir pathogène (Fink-Gremmels et Malekinejad, 2007; Krska et al., 2007; Morgavi et Riley, 2007; Pestka, 2007). L'infection des céréales par *Fusarium* a un impact sur la disponibilité des éléments nutritifs et l'activité enzymatique de la céréale affectant à son tour, la disponibilité des éléments nutritifs pour les animaux (Dänicke et al., 2007b; Matthaus et al., 2004).

Les trichothécènes ont été isolées des champignons *Trichothecium roseum* la première fois en 1949. Actuellement, plus de 40 trichothécènes naturelles sont attribuées à l'espèce *Fusarium* (Grove, 1988 ; Desjardins, 2006). Les trichothécènes de *Fusarium* identifiées comprennent la diacétoxyscirpénol venant de *F. scirpi*, la nivalénol (NIV) produite par *F. nivale*, mais maintenant classée dans *F. kyushuense*, la toxine T-2 produite par *F. tricinctum*, maintenant classée dans *F. sporotrichioides* et le DON venant de *F. roseum* et maintenant classée dans *F. graminearum* (Glenn, 2007).

Le DON, l'agent mycotoxique le plus répandu, est produit par *F. graminearum*, *F. pseudograminearum*, et *F. culmorum* (Glenn, 2007). C'est un composé stable qui ne se dégrade pas en conditions extrêmes (températures élevées) pendant le traitement des aliments ou leur stockage (Scott, 1991). En Amérique du Nord, les souches de *F. graminearum* produisent le 15-acétyl-DON

(15-ADON) et la ZEN oestrogénique, tandis que la plupart des souches japonaises et australiennes produisent soit la nivalénol (NIV), la fusarénol-X et la ZEN ou le DON, le 3-acétyl-DON (3-ADON) et la ZEN (Miller et al., 1991). Selon les informations d'Avantaggiato *et al.* (2004), la fréquence de la présence des mycotoxines de *Fusarium* dans les denrées alimentaires de l'Union Européenne était de 57 % pour le DON et 16 % pour la NIV, et ceci pour plusieurs milliers d'échantillons analysés.

### 1.3.1 Trichothécènes

Les trichothécènes constituent une famille d'environ 160 dérivés issus principalement de nombreuses espèces de *Fusarium*, et sont divisés en quatre groupes A, B, C et D (Chu, 1998). Dans le groupe A, la toxine T-2 est soluble dans les solvants organiques polaires comme l'acétone ou l'acétonitrile. Le DON est soluble dans l'éthanol, le méthanol, l'acétate d'éthyle et l'eau. Les trichothécènes du groupe D sont des lactones époxydées. Ce sont des molécules neutres, liposolubles et peu hydrosolubles (Marasas et al., 1984).

Du point de vue de la nutrition animale, les mycotoxines revêtent une importance capitale car elles peuvent contaminer les lots d'aliments et ainsi provoquer des intoxications chez les animaux d'élevage qui les consomment. Parmi les mycotoxines produites par *Fusarium*, il y a le déoxynivalénol (DON).

## 2. Déoxynivalénol (vomitoxine – DON)

Le déoxynivalénol, aussi appelé vomitoxine, est produit par les souches de *F. graminearum* (Miller et al., 1983) ou *F. culmorum* (Greenhalgh et al., 1986). Ce sont des agents pathogènes courants pour les céréales produits en particulier dans les régions tempérées nordiques (Bottalico et Perrone, 2002; Logrieco et al., 2002). Le DON a été isolé la première fois par des chercheurs japonais (Morooka et al., 1972; Ueno, 1985, 1988) sur de l'orge infecté par *Fusarium* spp. Les effets émétiques du DON ont d'abord été décrits chez les hommes japonais qui consommaient de l'orge moisie contaminée par des champignons de *Fusarium* en 1972. Vesonder *et al.* (1972) ont également isolé cette toxine sur du maïs infecté venant du nord-ouest de l'Ohio (Vesonder et al., 1973).

C'est à la suite de vomissements constatés sur des porcs ayant consommé du maïs contaminé par ce même champignon, que Vesonder *et al.* (1973) ont caractérisé le composé actif comme étant un trichothécène et lui ont donné le nom de «vomitoxine».

Lors d'une infection par *Fusarium* spp., le blé présente un aspect mou et ratatiné, souvent décoloré en rose. Sur les grains, le champignon est visible comme une moisissure rougeâtre sur la pointe de l'épi. Ces moisissures sont capables de résister à des conditions climatiques rigoureuses et

leurs productions de toxines sont fortement stimulées par un passage à basse température ainsi qu'une grande humidité ambiante. Ces événements peuvent survenir en culture ou durant les récoltes, mais aussi lors d'un stockage en condition humide avant le séchage des grains.

Le déoxynivalénol (DON) se produit principalement dans les céréales telles que le blé, l'orge, l'avoine, le seigle et le maïs, et moins souvent dans le riz, le sorgho et le triticale. Les grains de céréales peuvent être contaminés à la fois sur le terrain et pendant le stockage. Le déoxynivalénol DON est chimiquement stable et dans une certaine mesure, résistant à l'alimentation humaine et le traitement thermique (Kabak, 2009). Ainsi, le déoxynivalénol (DON) peut également être trouvé dans les aliments à base de céréales (Schothorst et al, 2005; Sirot et al, 2013) et des produits alimentaires prêts à la consommation (Döll et al, 2011; Streit et al 2012).

### **2.1. Dérivés du DON**

Les dérivés acétylés du DON, le 3-acétyl DON (3-Ac-DON), le 15-acétyl DON (15-Ac-DON), généralement considérés comme des dérivés de métabolites fongiques, ont été rapportés à se produire ensemble avec le DON, mais à des niveaux beaucoup plus faibles (Pestka, 2010). Le DON-3-glucoside (DON-3-Glc), un métabolite de la plante de DON, a également été détecté dans les grains de céréales et de produits à base de céréales (Berthiller et al., 2013). Il est à craindre que le DON-3-Glc peut être métabolisé dans le tractus gastro-intestinal par les humains et les animaux (Nagl et al., 2012) et peut ainsi contribuer à l'exposition globale au DON.

### **2.2. Distribution**

Parmi l'ensemble des mycotoxines produites par *Fusarium* spp., le DON est un des contaminants les plus fréquents du blé, de l'orge et du maïs et, selon un récent rapport de la FAO (Food Agricultural Organisation), le plus largement répandu à travers le monde dans les denrées alimentaires (JECFA, 2007). A titre d'exemple, aux Etats Unis, des analyses faites entre 1993 et 2003, sur 2106 lots d'orge et 2524 lots de blé, ont montré que 47,1% et 40,4% des lots d'orge et de blé, respectivement, présentaient une contamination en DON supérieure à 1000 µg/kg (ppm) de céréales.

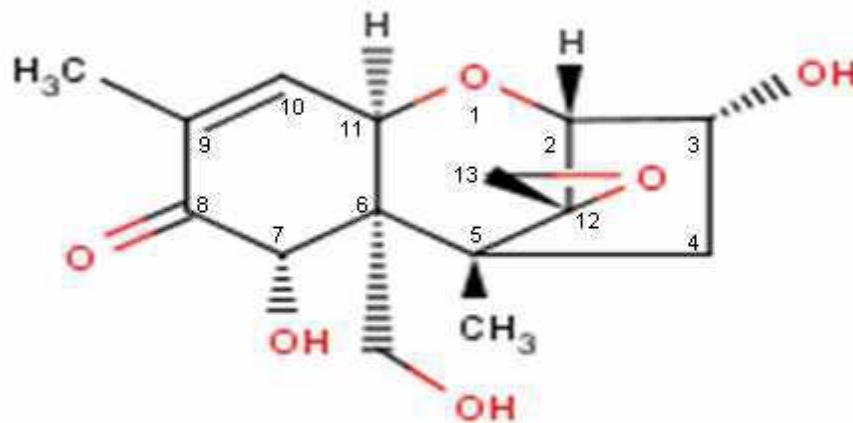
Une étude réalisée en Russie sur 2166 échantillons de céréales prélevés entre 1989 et 2001 a montré que 69% des lots étudiés étaient contaminés par du DON (Tutelyan, 2004). Une étude réunissant l'ensemble des résultats relatifs aux contaminations de plusieurs récoltes céréalières issues de 12 pays européens a montré que 57% de 11022 échantillons de céréales (blé, orge, maïs, avoine,

seigle) étaient contaminés par le DON, dont 7% avec des concentrations supérieures à 750 ppm (SCOOP, 2003).

### 2.3. Propriétés physico-chimiques

Comme pour l'ensemble des trichothécènes B, le DON est un composé sesquiterpénique (15 atomes de carbone), possédant un squelette tricyclique, appelé trichothécène, formé d'un cyclopentane, d'un cyclohexane, d'un cycle à six chaînons oxygénés et de groupements méthyles. Il possède une double liaison en C9-10, une fonction cétone en C8 ainsi qu'un groupement époxyde en C12-13 caractéristique des 12,13 époxy-trichothécènes (Vidal, 1990).

Comparé aux autres trichothécènes B, Le DON présente un groupement hydroxyle (OH) en C3 et en C7 (Figure 1).



**Figure 1:** Structure chimique du déoxynivalénol (DON)

Le DON est un composé polaire très peu soluble dans l'eau, incolore, cristallisable, et soluble dans des solvants polaires (méthanol et acétonitrile aqueux). Son poids moléculaire est de 296,32 uma et il est chimiquement très stable, même conservé longtemps à température ambiante. De plus, il n'est pas dégradé pendant les procédés de moutures de grains, de stérilisation du lait (15 minutes à 118°C) ou de cuisson des aliments. Le DON est stable à 120°C, modérément stable à 180°C et se décompose en 30-40 minutes à 210°C (Vidal, 1990).

### 3. Mycotoxicooses

Semblable à d'autres trichothécènes, l'effet toxique principal de DON est l'inhibition de la synthèse des protéines (Shephard, 2011). L'ingestion d'aliments fortement contaminés par des animaux peut entraîner des symptômes gastro-intestinaux tels que vomissements aigus (vomissements), anorexie et une diarrhée sanglante. Les effets les plus fréquents de l'exposition alimentaire à long terme des animaux au DON sont la suppression du gain de poids, l'anorexie et l'efficacité nutritionnelle modifiée. Les effets aigus du DON chez les humains sont semblables à ceux des animaux. Le DON a été impliqué dans un certain nombre d'incidents d'intoxication humaine en Asie. Il n'y a aucune preuve expérimentale ou épidémiologique pour des propriétés mutagènes et / ou cancérogènes du DON. Le DON a été examiné par l'Agence Internationale pour la Recherche sur le Cancer (CIRC) comme inclassable quant à sa cancérogénicité pour l'homme (Groupe 3) (IARC, 1993).

La consommation de produits contaminés par des trichothécènes peut provoquer, chez l'homme et l'animal, des maladies appelées mycotoxicooses, suite à une toxicité aiguë ou chronique des mycotoxines. Chez l'homme, la mycotoxicose la plus connue associée à l'ingestion de céréales contaminées par *Fusarium* spp. a été rapportée dans les années 1940, où des cas graves d'aleucie toxique alimentaire ont provoqué le décès de 10% de la population du district d'Orenburg. Cette pathologie est caractérisée par des diarrhées et des vomissements dans les premiers stades puis s'accompagne de leucopénies sévères, d'angine ulcéronécrotique, de septicémie et d'aplasie médullaire. Des années plus tard, ce phénomène a été attribué principalement à la consommation des champignons *Fusarium poae* et *sporotrichoïdes*, qui produisent un autre trichothécène, la toxine T-2 (Leonov, 1977).

Plus récemment, plusieurs cas de mycotoxicooses chez l'homme et des animaux d'élevage ont été attribués à la consommation de céréales contaminées par du DON au Japon (Morooka *et al.*, 1972). En Inde, le DON a également été mis en cause en tant qu'agent étiologique dans des intoxications chez des habitants de la vallée du Kashmir ayant consommé du pain fabriqué à partir de

blé moisi (Bhat *et al.*, 1989). Les symptômes de la maladie incluaient des nausées, des douleurs gastriques, des vomissements et des irritations au niveau de la gorge.

Enfin, chez les animaux, les mycotoxicoses associées au DON sont principalement décrites chez le porc, les autres animaux étant beaucoup moins sensibles à son ingestion. Les principaux symptômes sont liés à un refus alimentaire et à des vomissements. Parmi les cas signalés, certains éleveurs australiens ont constaté un refus alimentaire chez des porcelets, une diminution de consommation alimentaire des porcs plus âgés ainsi qu'une apparition de vulves rouges et œdémateuses chez plusieurs truies de 30-50 kg. Les recherches effectuées sur l'aliment ont révélé la présence de zéaralène (ZEA) et de DON dans les céréales, conduisant à une double intoxication des animaux, la ZEA provoquant les symptômes d'oestrogénisme et le DON le refus de l'aliment (Moore *et al.*, 1985). Durant l'été 1986 en Argentine, des porcs nourris avec plus de 40% de blé, après une saison froide et humide, ont présenté un refus alimentaire sévère associé à une chute de croissance des animaux. Les analyses ont démontré la présence de nombreuses souches de *Fusarium* et de niveaux de contamination variable de DON (1-20 ppm) dans le blé et l'aliment. Une reproduction expérimentale a démontré le rôle du DON dans le refus de l'aliment, entraînant également une congestion de la muqueuse de l'estomac et de l'intestin grêle, une dégénérescence hydropique des hépatocytes et une vacuolisation des cellules du tubule contourné distal (Marpegan *et al.*, 1988).

En ce qui concerne la sécurité humaine, le Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine (CSAH) a établi une dose journalière admissible (DJA) temporaire de 1 µg/kg de poids corporel (pc) par jour sur la base d'un sans effet indésirable observé (NOAEL) de 100 µg/kg de poids corporel par jour pour une diminution du gain de poids corporel rapportée dans une étude d'alimentation de 2 ans chez la souris (SCF, 2002). Cette dose journalière tolérable (TDI) était en conformité avec la dose journalière tolérable maximale provisoire (DJMTP) rapportée par le comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA) en 2001 (JECFA, 2001). En 2010, le JECFA a étendu cette DJMTP au groupe de DON et ses dérivés acétylés 3-Ac-DON et 15-Ac-DON. En raison du manque d'information, DON-3-Glc n'a pas été inclus dans le groupe DJMTP. Le Comité a également tiré un groupe dose aiguë de référence (DAR) pour le DON et ses dérivés acétylés de 8 µg/kg de poids corporel en utilisant la limite inférieure la plus basse sur la dose de référence pour une réponse de 10% (BMDL10) de 0,21 mg/kg de poids corporel par jour pour les vomissements chez les porcs (JECFA, 2010).



### **3.1. Toxicologie expérimentale**

De nombreuses études ont été réalisées sur des animaux de laboratoire afin de pouvoir évaluer plus précisément le risque concernant la santé publique lié à la présence éventuelle de DON dans les aliments.

Les effets observés du DON dans les études de toxicité aiguë et subaiguë sont semblables à ceux décrits pour les trichothécènes du groupe A (les toxines T-2, HT-2 et diacétoxyscirpenol) qui réduisent les performances de croissance (5-10 mg/ kg de la toxine T-2) (Harvey et al., 1990, 1994). Ces produits causent des effets néfastes sur la reproduction porcine tels que l'augmentation de la mortalité chez les porcelets (Vanyi et al., 1991) ainsi que sur les autres organes tels que les reins, le foie et la rate (JECFA, 2001), mais de façon moins marquée. La DL50 du DON administré par voie orale chez la souris varie de 46 à 78 mg/kg de poids vif. De nombreux cas d'intoxication chez le porc par des céréales contaminés par cette toxine ont été rapportés, notamment aux Etats-Unis. Chez le porc, espèce considérée comme la plus sensible, la consommation d'aliments contaminés (3 à 5 mg.kg<sup>-1</sup> de DON) peut provoquer la diminution de la croissance pondérale, des vomissements, des diarrhées, des symptômes neurologiques, des lésions dermatologiques et une réduction de la réponse vaccinale (Rotter et al., 1996; D'Mello et al., 1999; Avantaggiato et al., 2004). Le DON est cytotoxique pour une variété de cellules, dont les fibroblastes et les lymphocytes, avec des concentrations variées allant de 0,1 à 2 µg/mL de DON (Ueno, 1983; Abbas et al., 1984; Visconti et al., 1991).

Les ruminants semblent assez bien protégés contre le DON grâce aux micro-organismes du rumen qui sont capables de diminuer de façon notable la toxicité du DON à travers des réactions complexes (Rotter et al., 1996).

Chez les volailles, les signes d'intoxication aiguë au DON (5 mg/kg) sont dominés par des troubles nerveux (hyperpnée, léthargie, perte d'équilibre) et digestifs (diarrhée, refus d'aliment) et les signes de l'intoxication chronique par une altération de la croissance, de la production d'œufs parfois accompagnés de lésions cutanées (Vesonder et al., 1976; Forsyth et al., 1977; Dänicke et al., 2001; EFSA, 2004).

### **3.2. Toxicocinétique et résidus du DON**

#### **3.2.1. Toxicocinétique**

Des effets toxiques variables de DON chez le porc ont été rapportés dans la littérature malgré que les animaux ont été nourris avec des concentrations alimentaires similaires (Dänicke et al., 2001). Par conséquent, il serait intéressant de savoir si cette variation dépend de la biodisponibilité de DON à partir des sources différentes. Quelques études ont été réalisées pour évaluer les

paramètres de toxicocinétique du DON chez le porc (Coppock et al., 1985; Prelusky et al., 1988; Prelusky et al., 1990), mais ces expériences ont été faites avec du DON pur à des doses élevées (300-1000 µg/kg de poids vif) administrées par voie intraveineuse (I.V) ou intra-gastrique (voie orale).

Après une injection I.V, le DON atteint les organes les plus irrigués tels que les poumons, le myocarde, les reins et le cerveau. Prelusky *et al.* (1990) ont constaté que le DON traverse rapidement la barrière hémato-encéphalique parce que les paramètres cinétiques de DON dans le liquide céphalo-rachidien reflètent généralement le profil du plasma (Prelusky et al., 1990). Le pic de concentration de DON ( $C_{max} = 582 \pm 175$  ng/mL) dans le liquide céphalo-rachidien a été observé de 30 à 60 minutes après l'administration I.V de DON à 1 mg/kg de poids vif chez des porcs pesant de 20 à 26 kg. Ce pic a été noté plus tard dans le liquide céphalo-rachidien ( $t_{max} = 270 \pm 64,8$  min), à une teneur cinq fois plus faible ( $C_{max} = 113 \pm 28$  ng/mL) lorsque la même dose a été donnée par voie intra-gastrique (Prelusky et al., 1990; Atroshi et al., 2000).

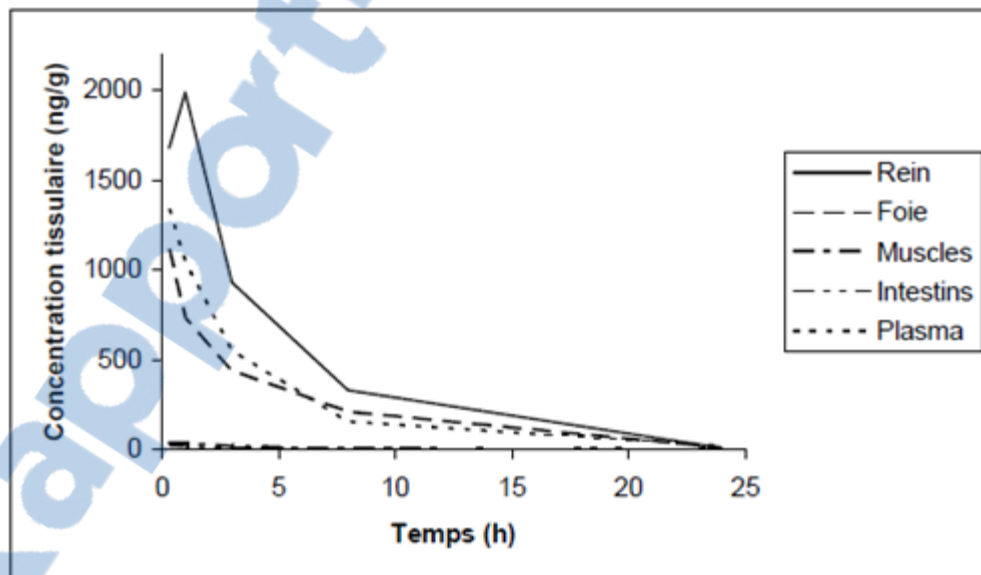
Le DON inhibe la motilité de l'intestin grêle chez les rongeurs; une activité médiée par les récepteurs 5HT<sub>3</sub> (Fioramonti et al., 1993). Prelusky et Trenholm (1993) et Fioramonti et al. (1993) ont aussi rapporté qu'il y avait au moins une partie du mécanisme d'action du DON qui implique les récepteurs périphériques 5HT<sub>3</sub> trouvés dans le tractus gastro-intestinal, Les rôles de récepteurs 5HT<sub>3</sub> ont été identifiés les plusieurs zones du cerveau, surtout dans le tronc cérébral dont le réflexe de vomissement est souvent impliqué dans ces zones telles que la zone « postrema » et le noyau du faisceau solitaire (Tecott et al., 1993; Miquel et al., 2002). Les récepteurs 5HT<sub>3</sub> régissent également la motilité de l'intestin, la sécrétion et le péristaltisme dans le système nerveux entérique, et ils sont impliqués dans le transfert d'information dans le tractus gastro-intestinal (Galligan, 2002).

### **3.2.1.1. Absorption**

Le DON présente une biodisponibilité rapide chez les rongeurs. En effet, il a été montré que 37 % des doses orales de [<sup>14</sup>C] DON ont été retrouvées dans les urines de rat 24 heures après l'administration (Meky et al., 2003). Chez le porc, l'étude de l'absorption, de la distribution, du métabolisme et de l'excrétion de DON a été réalisée dans plusieurs expériences. Un pic de concentration plasmatique était atteint dès 15 à 30 minutes après avoir consommé une ration contaminée avec 4 mg/kg de DON (Prelusky et al., 1988). La biodisponibilité était de  $54,9 \pm 8,4$  % malgré les vomissements qui ont pu diminuer l'absorption (Bauer et al., 1985; Prelusky et al., 1988).

### 3.2.1.2. Distribution plasmatique et tissulaire

Dans une des études de Prelusky *et al.*, (1988), il a été montré que le pourcentage de DON fixé aux protéines plasmatiques chez le porc était de  $9,15 \pm 3,9$  %. Cette proportion est indépendante de la concentration de DON dans l'aliment et du temps d'incubation des différents types de cellules telle que la muqueuse intestinale. Après avoir administré une dose de 0,30 mg/kg de [ $^{14}$ C] DON par voie I.V., le volume apparent de distribution du DON plasmatique chez le porc était de 1,35 L/kg (Coppock *et al.*, 1985; Prelusky *et al.*, 1988). Prelusky et Trenholm (1991) ont également observé une distribution rapide dans tout l'organisme du porc suite à l'injection I.V. de 1 mg/kg de poids vif de DON (Figure 2). Le pic de concentration tissulaire est compris entre 20 minutes et une heure pour la plupart des tissus. Le rein, le foie, l'urine et la bile sont des réservoirs importants pour le DON. Aucun cycle entéro-hépatique n'a été observé sur le profil de distribution. D'autres tissus tels que le tissu adipeux, le poumon, les surrénales, la rate et les testicules contiennent des concentrations élevées de DON. La décroissance des concentrations tissulaires et plasmatiques était rapide. La majorité des organes ne retenait que des traces de toxine 24 heures après l'administration de DON (Prelusky et Trenholm, 1991).



**Figure 2.** Distribution plasmatique et tissulaire du déoxynivalénol après l'administration intraveineuse d'une dose de 1 mg/kg de poids vif chez le porc (Prelusky et Trenholm, 1991)

### 3.2.1.3. Voies métaboliques du DON

Plusieurs recherches ont été réalisées chez les porcs pour mettre en évidence les voies métaboliques du DON (Wu et al., 2010). Quatre-vingt-huit pour cent du DON ingérés ont été absorbés via l'estomac tandis qu'il y a seulement 1,5 % à 10 % du DON absorbés dans l'intestin grêle (duodénum et jéjunum) et le gros intestin (Dänicke et al., 2004b). Ces derniers auteurs ont supposé que le DON a été libéré des aliments contaminés lorsqu'il est mélangé au moins en partie avec l'eau dans l'auge. En outre, l'absorption du DON au travers de l'estomac pourrait avoir contribué à la disparition rapide du DON. Eriksen et al. (2003) ont également rapporté que les résidus du DON ont été détectés dans le sang du porc dès 20 minutes après l'exposition orale de 3-acétyl-DON. De même, les concentrations maximales de DON radio-marqué ont été trouvées dans le sang du porc 15 à 20 minutes après l'administration intra-gastrique et sont restées à ce niveau pour les 9 h suivantes avant de commencer à diminuer. Pour les trichothécènes, la dé-époxydation est l'étape la plus importante pour détoxifier le DON parce que sa toxicité est liée à l'époxyde. Toutefois, cette réaction semble restreinte à des bactéries anaérobies (Karlovsy, 2011). Chez le rat, cette dé-époxydation est faite par la microflore gastro-intestinale. En fait, le DON est dé-époxydé en DOM-1 par la flore intestinale et non par les microsomes hépatiques, et le DOM-1 est 50 fois moins toxique que la toxine d'origine (Worrell et al., 1989; Eriksen et al., 2003). Toutefois, la microflore intestinale du porc ne peut métaboliser que peu de DON rendant cette espèce animale probablement plus sensible à cette mycotoxine (Prelusky et al., 1988). Une étude du bilan de DON a été faite et a montré que chez les porcs alimentés avec le traitement contaminé par le DON (3,7 mg/kg), un total de 52,3% du DON ingéré a été éliminé tel quel dans l'urine, tandis que 2,6% du DON ingéré a été excrété dans l'urine sous la forme de métabolite DOM-1. De plus, ces deux résidus ont représenté environ 98% de la récupération totale du DON de l'urine et des fèces. Ceci indique le rôle important de la voie d'élimination urinaire (Dänicke et al., 2004a). De même, un ratio similaire de 5 % de DOM-1 a été détecté dans l'urine des porcs nourris avec un régime alimentaire contaminé au DON (14,4 mg/kg) (Razzazi et al., 2002) (cité par Dänicke et al. (2004b)). Ces résultats ont montré qu'il y a seulement un peu de DOM-1 transformé et absorbé dans le tractus gastro-intestinal (TGI) et finalement excrété par l'urine.

Cependant, le DON est conjugué aux glucuronides dans le foie et les métabolites obtenus se trouvent dans les tissus animaux ou les fèces (Gareis et al., 1987). Cette observation est en accord avec les observations réalisées *in vitro* parce que le foie et la flore digestive de l'espèce porcine sont peu capables de transformer du DON en DOM-1 (Cote et al., 1987; Prelusky et al., 1988; He et al., 1992).

Toutefois, les concentrations les plus élevées de DON ont été rapportées dans l'urine, qui a été identifiée comme la voie d'excrétion principale (Coppock et al., 1985; Prelusky et al., 1988; Dänicke et al., 2004d). Prelusky *et al.*, (1988) ont trouvé que 54 à 85 % d'une dose de DON radioactive administrée par voie intra-gastrique chez les porcs ont été excrétées dans l'urine dans les 24 heures suivantes. Des résultats similaires ont également été publiés dans des études plus récentes (Eriksen et al., 2003; Dänicke et al., 2004a; Dänicke et al., 2004c) lors d'analyses d'urine pour évaluer l'excrétion de DON et de DOM-1. Dans une autre recherche basée sur les différentes concentrations de DON dans du blé contaminé donné aux porcs, Dänicke *et al.* (2004d) ont rapporté qu'il existe une corrélation entre la concentration de DON et de DOM-1 présents dans l'urine et la concentration de DON dans les rations. Dans une expérience similaire avec le DON dans du maïs, la concentration de ces toxines dans l'urine a augmenté lorsque le niveau de contamination de DON dans les rations augmentait (Döll et al., 2003).

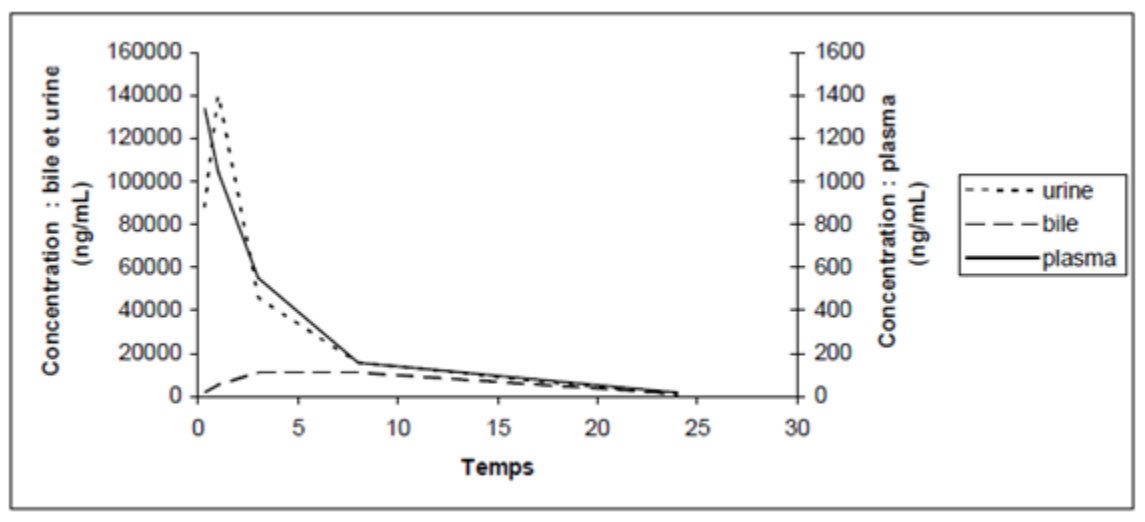
Les porcs ainsi que les moutons présentent des différences cinétiques dans l'absorption et l'élimination de DON au niveau du liquide céphalo-rachidien (LCR) (Prelusky et al., 1990). Il existe des preuves que le refus de se nourrir et les effets émétiques de DON se produisent au niveau du système nerveux central. Plusieurs recherches ont démontré que cette toxine peut induire des changements de la concentration des neurotransmetteurs spécifiques du cerveau chez le porc, dont on soupçonne fortement la médiation de certaines conditions physiologiques, tels que le comportement alimentaire (Prelusky, 1994; Rotter et al., 1996). L'effet émétique peut être causé par l'interaction directe avec la zone de déclenchement des chimiorécepteurs trouvés dans la région du tronc cérébral. Après l'administration par voie I.V., on a estimé qu'il y avait au moins 2,5 fois la quantité de toxine traversant la barrière hémato-encéphalique qui parvient au LCR du porc par rapport au LCR du mouton. Après l'administration orale de DON à des porcs, une corrélation étroite entre les concentrations de DON dans le plasma et celles dans le LCR a été observée. La toxine mesurée dans le LCR atteint un maximum à 20 h après l'administration. Chez les moutons recevant une dose orale, le DON ou ses métabolites n'ont pas été détectés dans le LCR (Prelusky, 1994; Rotter et al., 1996).

En résumé, le porc a une activité limitée de transformation de DON en DOM-1. La flore intestinale du porc est peu capable de réaliser cette biotransformation. Les dé-époxydes sont retrouvés en faibles concentrations dans le plasma, les fèces, l'urine et la bile de porcs. Cette observation est cohérente avec les observations réalisées *in vitro* puisque le foie et la flore digestive de cette espèce sont peu capables de réaliser la dé-époxydation du DON (Cote et al., 1987; Prelusky et al., 1988; He et al., 1992).

### 3.2.1.4. Élimination du DON

L'élimination plasmatique de DON a tendance à être moins rapide chez les porcs, elle est environ sept fois plus longue que chez les moutons, deux fois plus longue que chez les vaches, et légèrement plus longue que chez les poules pondeuses après l'exposition à une dose unique par voie orale (Rotter et al., 1996).

Après avoir administré une dose de DON de 1,81 mg/min/kg de poids vif par voie I.V., à des porcs, 94 % de la dose a été récupérée dans les urines après 24 heures sous forme non-conjuguée. D'un autre côté, il y avait seulement 3,5 % de la dose injectée récupérée dans la bile. Cette élimination était rapide parce qu'on a récupéré presque 75 % de la dose administrée dans les 8 heures suivant l'injection. Après une injection I.V., le pic d'élimination de cette toxine était à une heure dans l'urine et entre trois et huit heures dans la bile (Figure 3). Pour l'administration de DON par voie orale, il se situait respectivement entre une à trois heures et une à quatre heures pour l'urine et la bile (Coppock et al., 1985; Prelusky et al., 1988; Prelusky et Trenholm, 1991).



**Figure 3.** Évolution des concentrations de déoxynivalénol dans le plasma, la bile et les urines après administration d'une dose de 1 mg/kg par voie I.V. chez le porc (Prelusky et Trenholm, 1991)

### 3.2.2. Résidus

Prelusky et Trenholm (1991) ont évalué les résidus de DON détectables dans les muscles, le foie et les reins (Tableau 3). La demi-vie tissulaire a été évaluée suite à une administration intraveineuse unique de DON chez le porc. Les niveaux de contamination observés étaient 2 à 10 fois supérieurs dans le foie par rapport aux muscles, et 3 à 20 fois supérieures dans le rein par rapport aux muscles. Dans les autres recherches, ni Coppock *et al.* (1985) ni Prelusky et Trenholm (1991) n'ont

pu détecter de résidus dans les tissus 24 heures après administration intraveineuse de 0,5 et 1,0 mg/kg de poids vif, respectivement. Ceci implique une absence ou faible niveau de rétention survenue (Coppock et al., 1985; Prelusky et Trenholm, 1991). En outre, lorsque les animaux consomment des aliments contaminés entre 6,0 à 7,6 mg/kg durant 3 à 7 semaines, Prelusky et Trenholm (1992) ont seulement trouvé des traces de résidus dans les tissus, indiquant que le DON ne semble pas s'accumuler de façon appréciable (Prelusky et Trenholm, 1992).

**Tableau 2.** Résidus de DON dans les muscles, le foie et le rein suite à une administration unique chez le porc (Prelusky et Trenholm, 1991)

Toxine	Voie	Organes	Dose	Résidus (µg/kg)					t <sub>1/2</sub>
			(mg/kg poids vif)	0.33h	1h	3h	8h	24h	
DON	Intraveineuse	Muscles	1	32,1	33,1	19,1	4,6	ND	2,62 h
	Intraveineuse	Foie	1	1114,3	735,3	439,3	207,3	8,2	3,48 h
	Intraveineuse	Reins	1	1675,8	1985,3	930,5	330,8	10,0	3,15 h

#### 4. Toxicité générale

Chez les souris, les valeurs des doses létales obtenues suite à une administration de DON par voie orale et par voie péritonéale sont de 78 et 49 mg/kg de poids vifs, respectivement. Des administrations intra-péritonéales de DON à des doses de 10 à 1000 mg/kg de poids vifs (PV) provoquent différents signes toxiques allant de la nécrose du tube digestif, de la moelle osseuse et des tissus lymphoïdes à des lésions cardiaques et rénales (Forsell *et al.*, 1987).

En revanche, les études de la toxicité subaiguë et chronique (doses inférieures à 10 mg/kg PV), en absence de contaminants pathogènes, n'ont montré qu'une diminution des performances de croissance chez les rongeurs (Forsell *et al.*, 1986; Iverson *et al.*, 1995).

##### 4.1. Carcinogénicité et génotoxicité

La carcinogénicité du DON a fait l'objet d'une évaluation par le Centre International de Recherche sur le Cancer, CIRC (IARC, 1993). Par un manque d'étude concernant la détermination de la carcinogénécité, le CIRC a classé le DON dans la catégorie 3 (c'est-à dire ne présentant pas suffisamment de preuves expérimentales ou épidémiologiques pour apprécier leur carcinogénicité). Au niveau de son potentiel génotoxique, le DON ne provoque pas d'augmentation de la fréquence des mutations chez les bactéries ou dans les cultures cellulaires mais présente par contre un effet clastogénique puissant (Knasmuller *et al.*, 1997).

## 4.2. Reproduction

Chez les animaux de laboratoire, la reproduction expérimentale des mycotoxicooses provoquées par le DON a rarement mis en évidence des troubles de la fonction de reproduction ou des lésions de l'appareil génital. Chez le rat, l'administration de 20 ppm de DON n'a montré aucune altération particulière des organes génitaux, excepté une baisse de fertilité de 50% chez des femelles gestantes (Morrissey et Vesonder, 1985).

## 4.3. Flore intestinale

Pour l'ensemble des trichothécènes, très peu d'études *in vivo* ont été menées pour caractériser une potentielle interaction avec la flore intestinale des animaux. Tenk *et al.* (1982) ont observé une modification de la population des bactéries aérobies chez le rat et le porc après l'administration intramusculaire de la toxine T-2. En revanche, de nombreuses études *in vitro* ont été menées dans le but d'étudier la détoxification du DON par des populations bactériennes intestinales spécifiques et de trouver ainsi de nouveaux composés biologiques capables de lier ou de dégrader le DON dans le milieu intestinal chez diverses espèces animales (He *et al.*, 1992; Kollarczik *et al.*, 1994; Eriksen *et al.*, 2002; Niderkorn *et al.*, 2006; Young *et al.*, 2007).

## 4.4. Immunotoxicité

La toxicité du DON envers le système immunitaire a fait l'objet de nombreuses revues scientifiques (Rotter *et al.*, 1996; Pestka *et al.*, 2004; Pestka, 2008).

### 4.4.1. Effets paradoxaux du DON sur les fonctions immunitaires

En fonction de la dose administrée et de la durée d'exposition, le DON présente des effets stimulateurs ou dépresseurs sur le système immunitaire. De fortes doses de DON vont provoquer une déplétion des globules blancs circulants, la réduction du taux d'IgM et IgG dans le sérum, la diminution de la résistance aux pathogènes et l'inhibition de la réponse antigénique (Pestka et Smolinski, 2005). L'effet immunosuppresseur du DON sur les fonctions des leucocytes a été caractérisé comme étant le résultat de l'induction de l'apoptose des cellules, phénomène mis en évidence après utilisation de différentes doses de DON, à la fois *in vivo* (Zhou *et al.*, 2000; Islam *et al.*, 2003) et *in vitro* pour les macrophages (Yang *et al.*, 2000; Zhou *et al.*, 2003) et les lymphocytes B et T (Pestka *et al.*, 1994).

En revanche, de faibles doses de DON vont entraîner des effets immuno-stimulateurs telles qu'une élévation de la concentration en immunoglobulines A (IgA) plasmatiques, ainsi qu'une



augmentation rapide et transitoire de l'expression de plusieurs gènes liés à l'immunité, comme les cytokines pro-inflammatoires IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6 (Ouyang *et al.*, 1996; Wong *et al.*, 1998; Sugita-Konishi et Pestka, 2001; Kinser *et al.*, 2004), le gène de la cyclooxygénase-2 (COX-2) (Moon et Pestka, 2002), ou encore des chémokines MIP-2 (Macrophage Inflammatory Protein) et IL-8 (Sugita-Konishi et Pestka, 2001; Islam *et al.*, 2006; Gray et Pestka, 2007). De plus, ces effets peuvent être exacerbés par une exposition concomitante avec un agent inflammatoire tel que les lipopolysaccharides (LPS) bactériens, lors de travaux *in vitro* (Wong *et al.*, 1998; Sugita-Konishi et Pestka, 2001; Chung *et al.*, 2003; Mbandi et Pestka, 2006) et *in vivo* (Zhou *et al.*, 2000; Islam *et al.*, 2002).

#### **4.4.2. Cas particulier des IgA**

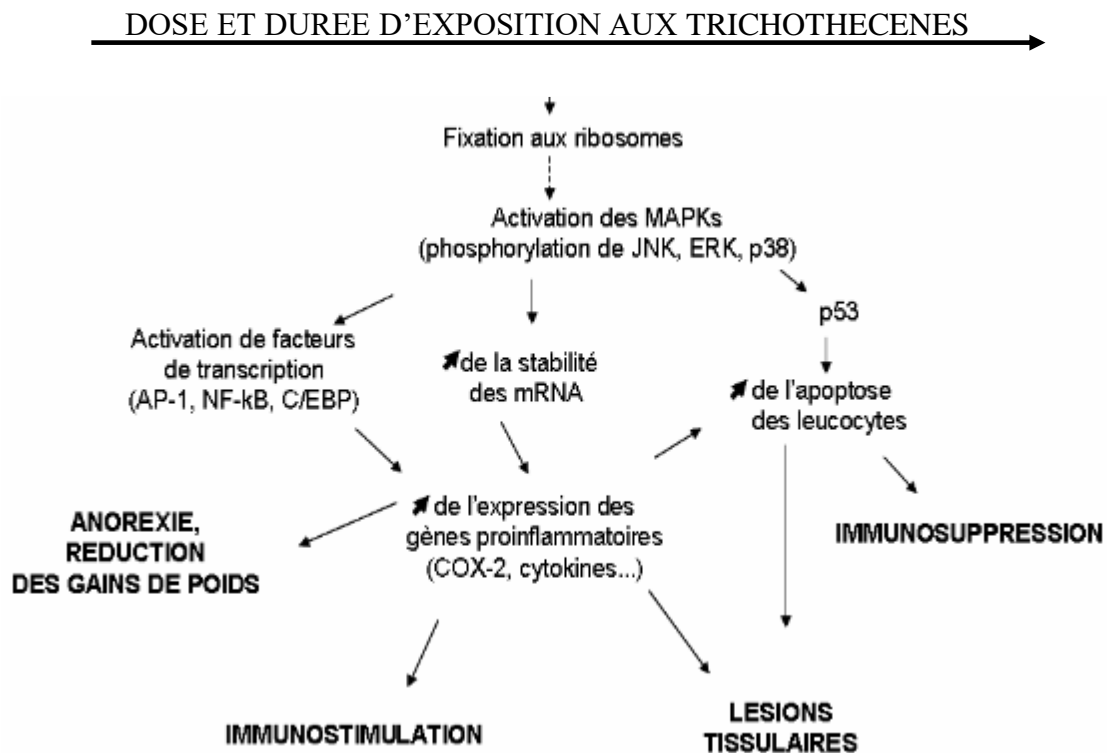
L'augmentation de la concentration sérique en IgA a été décrite dans de nombreuses études suite à une exposition au DON chez les animaux de laboratoire, comme chez d'autres espèces animales (Pestka, 2003). Par conséquent, les IgA sériques sont généralement utilisées comme marqueur biologique d'une intoxication au DON. Les conséquences de cette élévation font apparaître des symptômes semblables à ceux d'une glomérulo-néphropathie humaine à dépôt d'IgA (maladie de Berger). L'augmentation de la concentration en IgA est la conséquence de la libération de cytokine IL-6 par les lymphocytes T et les macrophages, induite par le DON (Pestka *et al.*, 2004). Ce phénomène est également observé chez des animaux d'élevage, comme les porcs (Pinton *et al.*, 2008).

#### **4.5. Mécanismes moléculaires**

Comme la plupart des trichothécènes (TCT), le DON a la capacité d'inhiber la synthèse des protéines en se fixant aux ribosomes. Ce phénomène est connu sous le nom de «ribotoxic stress response» (Iordanov *et al.*, 1997). Cette propriété des trichothécènes a été observée pour la première fois par Ueno et Fukushima (1968). La puissance de cette activité dépend de la nature des substitutions du trichothécène étudié et requiert la présence de la double liaison en position C9-10 et l'intégrité du cycle 12,13-époxyde. Le DON se fixe sur la sous unité 60S des ribosomes eucaryotes et interfère avec l'activité de la peptidyl-transférase, en inhibant le processus d'élongation de la protéine (Ehrlich et Daigle, 1987). L'un des effets indirects de ce phénomène est l'arrêt de la synthèse des polypeptides par le DON à des doses supérieures à celles requises pour l'inhibition protéique.

Depuis quelques années, les mécanismes moléculaires expliquant l'induction des gènes inflammatoires par le DON ont fait l'objet de nombreuses études, récemment répertoriées dans une revue bibliographique (Pestka, 2008). L'implication potentielle de tous ces mécanismes dans la

modulation de la réponse immunitaire par le DON a été démontrée sur différents types cellulaires, sans qu'aucun de ces facteurs ne soit privilégié (Figure 4).



**Figure 4.** Description des mécanismes moléculaires et des signaux de transduction impliqués dans la toxicité induite par le DON (d'après Pestka *et al.* (2004)).

AP-1: Activator Protein-1; NF- $\kappa$ B: Nuclear factor  $\kappa$ B; C/EBP: CAAT Enhancer-Binding Protein; MAPKs: Mitogen-Activated Protein Kinases; JNK 1/2: c-Jun N-terminal Kinases; ERK 1/2: Extracellular Signal Regulated Protein Kinases; COX-2: cyclooxygenase-2.

Suivant les gènes considérés, de nombreuses études ont montré que le DON a la capacité de moduler l'activité des facteurs transcriptionnels ou post-transcriptionnels, notamment par :

- (1) Les facteurs de transcription NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor  $\kappa$ B), AP-1 (Activator Protein-1) et C/EBP (CAAT Enhancer-Binding Protein) dans les lymphocytes T EL-4 (Ouyang *et al.*, 1996) ainsi que dans les extraits nucléaires des modèles cellulaires de macrophages RAW 264.7 de souris (Wong *et al.*, 2002) et de monocytes U937 humains (Gray et Pestka, 2007).
- (2) L'augmentation de la stabilité des ARN messagers des protéines de l'inflammation comme TNF (Chung *et al.*, 2003), COX-2 (Moon et Pestka, 2002) ou encore IL-6 (Jia *et al.*, 2006) chez les macrophages. Cet effet ne se retrouve cependant pas toujours, notamment pour l'IL-8 dans les monocytes (Gray et Pestka, 2007).

(3) L'activation des MAPKs (Mitogen-Activated Protein Kinases), tels ERK (Extracellular Signal Regulated Protein Kinase), JNK1/2 (c-Jun N-terminal Kinase) et p38 MAPK (Pestka, 2008). Ces MAPKs jouent un rôle dans divers processus tels que la croissance cellulaire, la différenciation, l'apoptose et sont de très importants transducteurs de la réponse immunitaire.

En résumé, le DON présente une biodisponibilité rapide chez les rongeurs. En effet, des proportions de 37% de doses orales de [ $^{14}\text{C}$ ] DON ont été retrouvées dans les urines de rat 24 heures après administration (Meky *et al.*, 2003). Chez la souris, les profils cinétiques de la distribution du DON dans le plasma, le rein et le foie sont semblables, avec une décroissance rapide suivie d'un palier à 24 heures (Azcona-Olivera *et al.*, 1995). A l'image des autres trichothécènes, la métabolisation du DON met en jeu des réactions de dé-estérification, de dé-époxydation et de conjugaison. La dé-époxydation représente l'étape la plus importante dans la détoxification du DON, car privé de son époxyde, ce dernier n'est quasiment plus toxique (Swanson *et al.*, 1988). Chez le rat, cette dé-époxydation est réalisée par la microflore gastro-intestinale. Après administration orale, le DON est dé-époxydé en DOM-1 (dé-époxydéoxynivalenol-1), par la flore intestinale et non par les microsomes hépatiques. Le DOM-1 est 50 fois moins toxique que la toxine d'origine (Worrell *et al.*, 1989; Eriksen *et al.*, 2003). Cette aptitude naturelle de la flore intestinale à dé-époxyder le DON comme d'autres trichothécènes B plus ou moins efficacement pourrait expliquer en partie les sensibilités différentes à ces toxines selon les espèces (Sundstol Eriksen *et al.*, 2004). En effet, le DON est peu métabolisé par la microflore intestinale du porc, et c'est également l'espèce animale la plus sensible à cette mycotoxine (Prelusky *et al.*, 1988).

On peut alors conclure qu'il y'a des effets négatifs observés sur les performances de croissance, la digestibilité, la morphologie intestinale, l'activité des enzymes anti-oxydantes et le statut oxydatif causés, etc.... par le DON dans de nombreuses études réalisées sur des animaux nourris par des aliments contaminés. Par contre la présence d'une concentration non-négligeable de ZEN et des additifs dans l'alimentation que ce soit pour l'homme ou les animaux ne nous permet pas de distinguer l'effet spécifique de DON; on parle alors de l'effet de la contamination complexe.

## CHAPITRE 2: MATERIELS ET METHODES

## PARTIE EXPERIMENTALE

### 1. MATERIEL UTILISE

#### 1.1. Animaux et leur entretien

Les différentes expériences que nous avons menées dans le cadre de ce travail ont été réalisées sur des souris Swiss, un animal qui se prête facilement aux études toxicologiques.

Ces animaux proviennent de souches parentales acquises auprès de l'Institut Pasteur d'Alger (IPA). Les souris sont mises en reproduction et sont élevées dans l'animalerie du Laboratoire de Physiologie de la Nutrition et de la Sécurité Alimentaire (LPNSA) dans des conditions environnementales contrôlées. Les mâles et les femelles vivent séparément par groupe d'animaux dans des cages conventionnelles, dotées d'une mangeoire et d'un biberon. La température est ajustée autour de 20°C. Les souris sont nourries durant toute la période de gestation et la lactation avec un aliment standard pour rongeurs commercialisé par l'ONAB (tableau 3) et boivent de l'eau du robinet. Dès l'âge de trois semaines, c'est-à-dire au sevrage, les nouveaux nés sont séparés de leurs mères et triés selon le sexe pour constituer les différents groupes expérimentaux. A partir de la quatrième semaine, ils sont nourris avec l'aliment pour souris présenté sous forme de bouchons (tableau 4).

#### 1.2. Produits et réactifs

La mycotoxine, contaminant alimentaire expérimenté dans notre travail est le déoxynivalénol (DON). Il provient de chez SIGMA-ALDRICH (Algérie). Le produit se présente sous la forme de liquide. Ses spécifications sont présentées dans le tableau 5.

**Tableau 3:** Composition de l'aliment pour rongeurs ONAB.

Composants
Mais Son Remoulage Soja

**Tableau 4:** Composition qualitative et quantitative de l'aliment pour rongeurs ONAB.

<b>Analyse nutritionnelle (% moyen par kg brut)</b>	
Protéines brutes	25,0
Matières grasses brutes	9,0
Cellulose brute	2,5
Cendres brutes	6,5
Humidité	11,0
Glucides ENA	46,0
Calcium	1,0
Phosphore	0,80
Magnésium	0,10
Sodium	0,20
Potassium	0,40
<b>% moyen d'acides aminés</b>	
Arginine	1,00
Cystine	0,40
Histidine	0,50
Isoleucine	1,00
Leucine	3,30
Lysine	0,90
Méthionine	0,60
Phénylalanine	1,40
Thréonine	0,80
Tryptophane	0,20
Tyrosine	1,10
Valine	1,10
<b>Teneur moyenne d'oligo-éléments (ppm)</b>	
Manganèse	45
Fer	120
Cuivre	10
Zinc	50
Iode	1,4
Sélénium	0,5
<b>Supplément en vitamines par kg brut</b>	
Vitamine A	20 000 UI
Cholécalciférol (vit. D3)	800 UI
Thiamine (vit. B1)	24 mg
Riboflavine (vit. B2)	16 mg
Pyroxidine (vit. B6 )	12 mg
Cobalamine (vit. B12 )	32 µg
Vitamine E	100 mg
Menadione (vit. K3)	4 mg
Acide folique	3 mg
Acide nicotinique	48 mg
Acide pantothénique	28 mg
Biotine	80 µg
Chlorure de choline	800 mg
Vitamine C	46 mg

**Tableau 5:** Spécifications du déoxynivalénol (Merck Index., 1996).

DEOXYNIVALENOL (DON)	
<b>Numéro de produit :</b>	D 0156
<b>Température de stockage :</b>	2-8 °C
<b>CAS RN :</b>	51481-10-8
<b>Synonymes :</b>	Vomitoxin, Dehydronivalenol, 4 Déoxynivalénol, RD-toxin
<b>Formule moléculaire</b>	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>
<b>Masse moléculaire:</b>	296.32
<b>Point de fusion:</b>	151-153 °C 1
<b>λ<sub>max</sub>:</b>	218 nm (ethanol)1
<b>EmM :</b>	4.50 (218 nm ) in ethanol 1
<b>[α] 25 D :</b>	+6.35° (c = 0.07 in ethanol)1

## **2. Etude de la toxicité subchronique de la déoxynivalénol (DON)**

### **2.1. Evaluation de la toxicité aiguë**

Les essais de la toxicité aiguë permettent d'évaluer les effets toxiques qui apparaissent dans un temps court (de 01 à 08 jours) après l'administration d'une substance (dans ce cas le déoxynivalénol), soit à dose unique, soit à doses répétées sur une période maximale de 24 heures.

Les principaux effets recherchés sont :

- les signes cliniques,
- les modifications pathologiques visibles à l'œil nu,
- et la létalité (mortalité).

#### **2.1.1. Détermination de la dose létale 50 (DL 50)**

Le déoxynivalénol (DON) testé est administré à différentes doses, par voie intrapéritonéale, à raison d'une dose par groupe.

Les animaux utilisés dans cet essai sont des souris Swiss mâles et femelles. Après une période d'habituation, les souris sont pesées, identifiées par une marque et réparties en 05 groupes de 06 animaux chacun.

##### **a- Chez les souris mâles**

Les animaux, repartis en 5 groupes de six animaux chacun, dont un, est un groupe témoin, sont privés de nourriture 24 heures avant l'essai. Ils sont pesés au moment de l'essai. La solution de déoxynivalénol est administrée par injection par voie intrapéritonéale.

Les 4 lots expérimentaux ont reçu successivement les doses suivantes de déoxynivalénol (DON): 43, 47, 51 et 54 mg/kg de poids corporel. Le groupe témoins a reçu de l'eau physiologique.



### **b- Chez les souris femelles**

Les 4 lots de souris femelles plus le lot témoin sont traités par injection par voie intrapéritonéale et reçoivent successivement les doses suivantes : 42, 46, 50 ,54 mg/kg de poids corporel. Le groupe témoin a reçu de l'eau physiologique.

### **c- Observation clinique**

Après l'administration de la toxine déoxynivalénol, les animaux sont observés individuellement chaque heure pendant le premier jour et une fois par jour pendant les 08 jours suivants. Le comportement et les symptômes cliniques des animaux sont notés pendant toute la durée de l'expérience.

La DL50 et son intervalle de confiance sont calculés par la méthode arithmétique de Behrens et Karber (1935).

## **2.2. Toxicité subchronique du DON**

Cette expérience permet d'évaluer la toxicité à long terme consécutive à l'ingestion répétitive de faibles doses de déoxynivalénol. L'idéal est d'effectuer des tests expérimentaux avec des concentrations en mycotoxine comparables aussi bien à celles contaminant l'alimentation des animaux qu'à celles retrouvées dans les céréales destinées à alimentation humaines.

## **3. Protocole expérimental**

Le protocole expérimental est conduit en deux phases:

### **3.1. Première phase**

Cette première phase débute par l'élevage et la préparation, jusqu'à l'âge de quatre semaines, des souris Swiss destinées à l'expérimentation. Au terme de cette période, 40 souris des deux sexes sont ainsi retenus avec un poids moyen de 15,64g ( $15,64 \pm 4,88$ ). Les animaux sont répartis en deux groupes de 20 individus, comprenant chacun 10 mâles et 10 femelles (figure 5). Pour des raisons de commodité et de bonnes conditions de suivi (prise de sang, sacrifice), on retarde le sacrifice de l'un des deux groupes de quelques jours à une semaine entre chaque groupe.

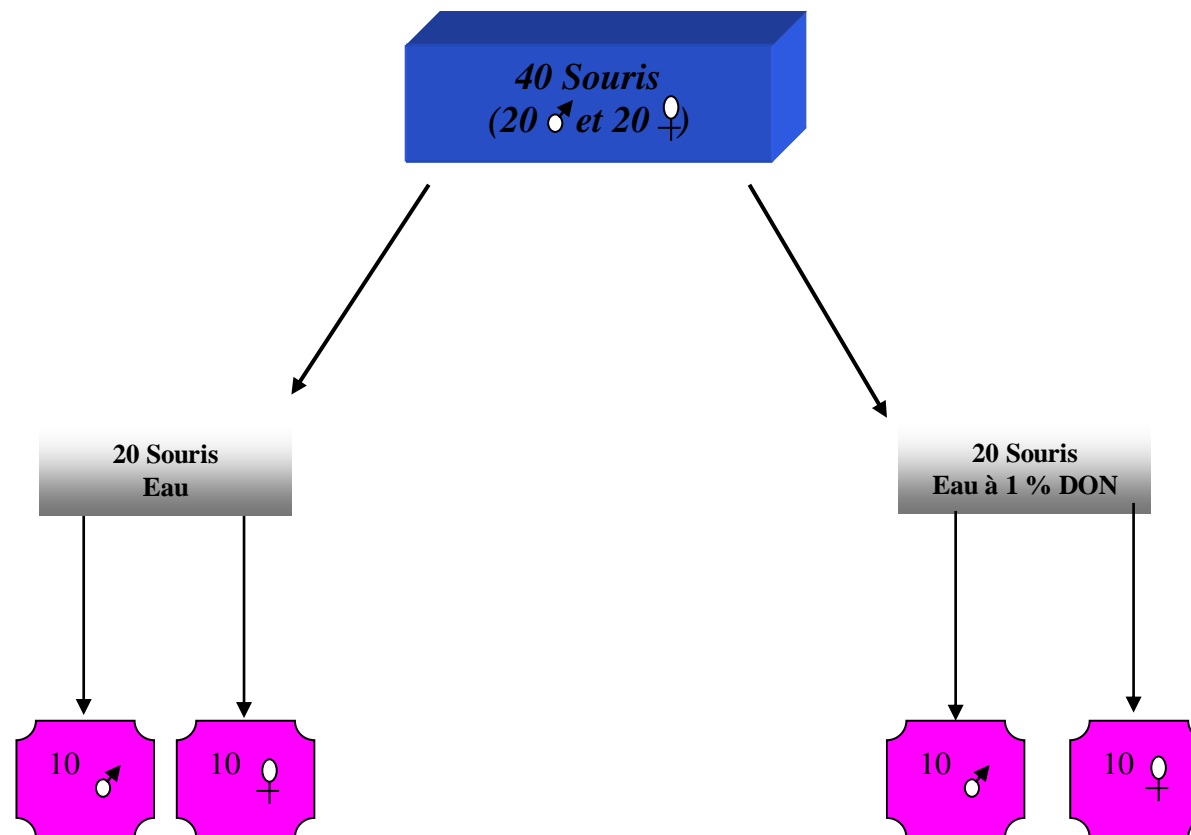
Durant les 13 semaines que dure l'expérience, les souris de chaque groupe expérimental ont un libre accès à la nourriture qui leur est distribuée en quantité suffisante par ration de 100 gr d'aliment granulé/jour. Les animaux du premier groupe sont abreuvés avec de l'eau supplémentée de déoxynivalénol à la concentration de 1 mg/l.

Quant au deuxième groupe, il reçoit de l'eau sans déoxynivalénol et constitue le groupe témoin (Maekawa et al., 1987).

### **3.1.1. Suivi et observation de la toxicité subchronique**

Le suivi quotidien de la période expérimentale nécessite les opérations suivantes:

- ✓ La mesure quotidienne de l'absorption de la solution de déoxynivalénol (ml) de chaque souris rapportée à l'unité de poids corporel et exprimé en mg/kg/jour.
- ✓ Une pesée hebdomadaire du poids corporel des souris de chaque groupe afin de suivre l'évolution pondérale.
- ✓ L'enregistrement des cas de mortalité éventuelle des animaux de chaque groupe.
- ✓ La tenue d'un état descriptif des transformations morphologiques (pertes de poils, coloration des urines et des matières fécales) et comportementales (stress, anorexie) de chaque souris.



**Figure 5.** Répartition des souris composant les groupes expérimentaux recevant le déoxynivalénol à 1% dans l'eau de boisson et les groupes témoins.

### 3.2. Deuxième phase

Au terme des 13 semaines de régime (consommation de déoxynivalénol selon la dose utilisée), les animaux sont mis à jeun la veille de leur sacrifice.

#### 3.2.1 Prélèvement sanguin

Le prélèvement du sang est effectué à l'aide d'un tube capillaire d'hématocrite au niveau de la veine orbitale du sinus rétro-orbital des souris. Le recueil de sang a été effectué respectivement sur tube EDTA (pour la FNS), et sur tube hépariné (pour la biochimie sérique) au cours de chaque prélèvement. Les tubes héparinés sont centrifugés à 3000 tours/min pendant 5min, et dans le sérum obtenu, sont dosées les paramètres biochimiques suivants : Glucose, Créatinine, Urée, Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>.

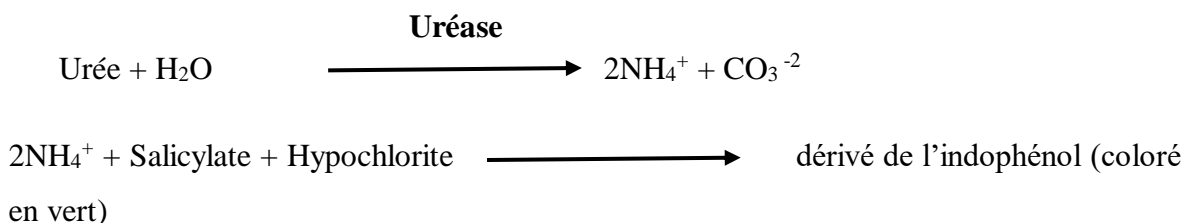
##### 3.2.1.1. Dosage des paramètres hématologiques et biochimique

Les dosages (hématologiques, biochimiques) sont effectués au laboratoire central de l'Hôpital d'El bayadh. L'analyse des paramètres hématologiques (globules rouges, globules blancs, plaquettes, hémoglobine, hématocrite, volume globulaire moyen,...) a été effectuée à l'aide d'un appareil Beckman Coulter Médonic. Le dosage des paramètres sériques (glucose, créatinine, urée, sodium, potassium) a été fait l'aide d'un appareil Beckman Coulter Synchro CX-9 clinical system ALX.

## 4. Dosage des paramètres biochimiques

### 4.1. Dosage de l'urée (Méthode de Berthelot 1960) (Kit CHRONOLAB)

Le dosage de l'urée sanguine repose sur l'hydrolyse de l'urée par une enzyme (uréase), suivie de la quantification des ions ammoniums libérés par la réaction de Berthelot.



L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'urée entrée en réaction, et celle mesurée à une longueur d'onde de 580 nm.

#### 4.2. Dosage de la créatinine (Kit SPINREACT) :

La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique. La vitesse de formation de ce complexe rouge (picrate de sodium + picrate de créatinine) est proportionnelle à la concentration de créatinine. C'est une méthode cinétique colorimétrique sans déprotéinisation (Larsen, 1972 ; Henry, 1984). La lecture se fait à 492 nm.

#### 4.3 Dosage de l'acide urique (Kit CHRONOLAB)

L'acide urique plasmatique est dosé par une méthode enzymatique colorimétrique. L'acide urique est dosé par réduction d'un réactif phosphotungstique en milieu alcalinisé par le carbonate de sodium. L'acide urique est oxydé par l'enzyme uricase en allantoiné et le peroxyde d'hydrogène selon le schéma réactionnel suivant :



L'intensité de la coloration rose obtenue est proportionnelle à la concentration d'acide urique présent dans l'échantillon, et elle est mesurée à une longueur d'onde égale à 520 nm.

#### 4.4. Dosage des protéines totales (Kits CHRONOLAB)

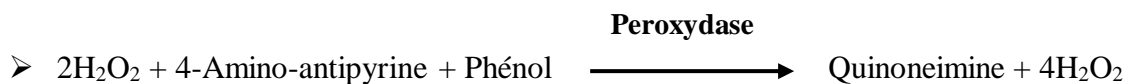
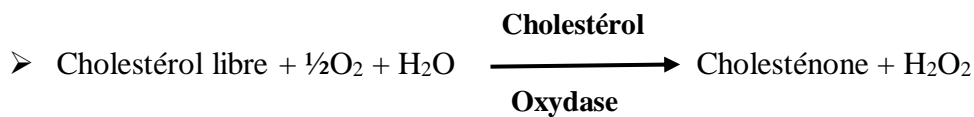
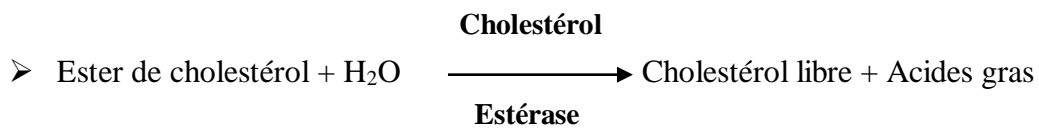
Les protéines totales sont dosées sur le sérum par la méthode colorimétrique de Biuret. Les protéines forment avec les ions cuivriques, en milieu alcalin, un complexe coloré dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en protéines. La lecture se fait à 540 nm.



#### 4.5. Dosage du cholestérol total par la méthode de Fasce [1982] (kit SPINREACT)

La mesure du cholestérol total est effectuée suivant une méthode enzymatique colorimétrique.

Les esters de cholestérol sont hydrolysés par l'enzyme cholestérol estérase en cholestérol libre, et des acides gras libres. Le cholestérol libre est ensuite transformé selon les réactions suivantes :



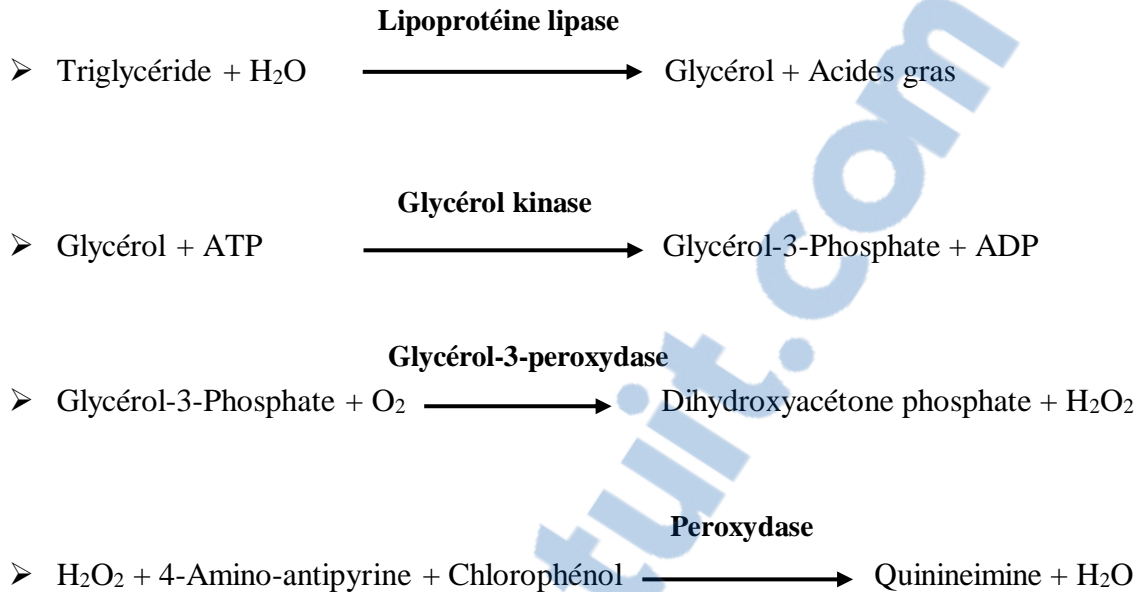
La concentration en quinonéimine colorée mesurée à 505 nm est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol contenu dans l'échantillon de sérum.

**N.B:** L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en cholestérol.

La lecture se fait à 505 nm.

#### 4.6. Dosage des triglycérides (TG): Méthode de Fossati et de Prencipe [1982] (Kits CHRONOLAB).

C'est une méthode enzymatique et colorimétrique. Par l'action des lipases, les TG sont hydrolysés en glycérol et en acides gras libres. Le glycérol est ensuite transformé selon le schéma réactionnel suivant :



Et la lecture se fait à 505 nm.

## 5. Prélèvement d'organes de souris

Les animaux sont sacrifiés par dislocation cervicale, et les organes suivants sont prélevés: le cerveau, le cœur, le foie, la rate, les poumons, le thymus, la vessie, les glandes salivaires, les reins, et les glandes surrénales. En plus, on prélève l'utérus et les ovaires chez les femelles ainsi que les vésicules séminales, les testicules et les épидидymes chez les mâles. Ces organes sont pesés et leur poids relatif et absolu sont déterminés. Ensuite, ils sont conservés dans du formol tamponné.

Les reins, le foie et le cerveau sont destinés à l'étude histologique.

### 5.1. Etude histologique

L'objectif de cette étude est de vérifier l'impact de l'ingestion subchronique du déoxynivalénol pendant les 13 semaines que dure l'expérience sur la structure des reins, du foie et du cerveau. Pour cela, des coupes histologiques sont réalisées sur ces organes.

**5.1.1. *Traitement des échantillons***

Les échantillons utilisés sont soumis préalablement à différentes étapes qui sont:

**5.1.1.1. *Fixation***

Les tissus sont fixés dans le formol tamponné à 10% à une température ambiante. Les solutions de formaldéhyde sont les fixateurs les plus répandus. On les utilise fréquemment à des concentrations variant de 10% à 20%.

**5.1.1.2. *Déshydratation***

Après fixation, les tissus sont déshydratés dans 3 bains successifs d'acétone à une température ambiante. Chaque bain dure 45 min à 1 heure.

**5.1.1.3. *Clarification***

Cette opération s'effectue après la déshydratation. Les pièces sont placées dans 3 bains successifs de toluène à une température ambiante. Chaque bain dure 45 min à 1 heure.

**5.1.1.4. *Inclusion***

L'inclusion est effectuée avec de la paraffine, qui est un mélange d'hydrocarbure solide à poids moléculaire élevé et de faible affinité. Ces substances sont caractérisées par leur indifférence aux agents chimiques.

Les échantillons sont placés dans deux bains successifs de paraffine pendant une heure pour le premier et une nuit pour le deuxième à une température de 56°C. Ensuite, ils sont coulés dans des moules métalliques sur lesquels des moules en plastiques seront fixés. Le volume final sera complété avec de la paraffine et l'ensemble est mis au congélateur pendant 15 min.

**5.1.1.5. *Coupes***

On isole ensuite des coupes dans le bloc de paraffine. On utilise pour cela un microtome qui fait avancer le bloc sur un rasoir: le bloc avance d'environ 2 à 3  $\mu\text{m}$  à chaque fois (en MO classique, les coupes mesurent environ 5 à 7  $\mu\text{m}$ ). L'ensemble des



tranches vont former un ruban dans lequel on retrouve des coupes sériées de prélèvements tissulaires.

#### **5.1.1.6. *Etalement sur lames***

Les coupes sont disposées sur une lame de verre recouverte d'un mélange contenant 1g d'albumine et deux gouttes de glycérine dans 1000 ml d'eau distillée, puis placées sur une plaque chauffante réglée à une température convenable, inférieure à celle du point de fusion de la paraffine. A l'aide d'une pince, les plis de paraffine sont tirés légèrement de chaque côté, ensuite, l'ensemble coupe-lame est retiré de la plaque, égoutté et essoré au papier Joseph. Avant de procéder à la coloration des lames, il faut les déparaffiner et les réhydrater.

#### **5.1.1.7. *Déparaffinage***

Pour déparaffiner les lames, il suffit de les placer dans deux bains successifs de toluène. Chaque bain dure 10 minutes.

#### **5.1.1.8. *Réhydratation***

L'hydratation se fait dans 2 bains successifs d'alcool éthylique de degrés décroissants (100°, 95°). Chaque bain dure 3 minutes. Le dernier est suivi d'un rinçage à l'eau courante pendant 5 min.

#### **5.1.1.9. *Coloration***

Nos lames ont été colorées à l'hématoxyline-éosine, qui représente la plus simple des colorations combinées. On a fait successivement un colorant nucléaire "basique", et un colorant cytoplasmique "acide", l'éosine. La coloration du noyau est bleu-noir et le cytoplasme rose à rouge (Hould, 1984).

La coloration des lames a été effectuée comme suit:

- bleuir le noyau avec l'hématoxyline pendant une minute et 30 secondes.
- Laver les lames avec de l'eau ordinaire pendant 5 minutes.
- Les tremper dans l'éosine pendant 10 secondes.
- Rincer les lames avec de l'eau courante.



- Mettre légèrement les lames dans deux bains successifs d'alcool éthylique à 70°C puis à 100 °C pour alléger la sur-coloration.
- Mettre les lames dans du xylène à deux reprise pendant 5 minutes.

Montage:

- Mettre les lames dans le toluène pendant 1min.
- Mettre entre lame et lamelle une goutte de baume de Canada ou l'eukitt.
- Laisser sécher puis observer au microscope.

## ETUDE STATISTIQUE

### 1-Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme des moyennes et leur erreur standard ( $X \pm ES$ ). L'analyse statistique des données est conduite en utilisant STATISTICA (version 5.1 Statsoft, Tulsa. OK) après analyse de variance (ANOVA, 2006) entre les différents groupes expérimentaux et le groupe témoin. Le risque  $\alpha$  choisi est de 5%.

### 2- Modélisation et simulation numérique

Pour résoudre un problème sans solution analytique évidente, on peut recourir aux méthodes numériques qui se basent sur l'analyses logique du problème, sa mise en équation et la recherche de solution par le calcul approché qui s'effectue soit par la méthode itérative (on répète successivement l'opération jusqu'au rang  $n$ , c'est à dire par récurrence), soit par la méthode conditionnelle (en évaluant tous les cas possibles).

Dans cette démarche nous devons suivre le cheminement suivant :

- 1- Enoncé du problème - Ecriture des lois fondamentales*
- 2- Choix de méthodes – Algorithme*
- 3- Organigramme*
- 4- Langage - Programme*
- 5- Mise au point - Essais*
- 6- Données – Solutions – Vérifications*

**NB:** La méthode de résolution doit s'appuyer sur la logique mathématique qui offre beaucoup plus de clarté et de rigueur dans le traitement du problème.

**Méthode direct :** nombre fini d'étapes de calculs ;

**Méthode itérative :** solution recherchée par approximation successive (penser à limiter le temps de calcul; le test d'arrêt). Le résultat final doit être donné avec une estimation de l'erreur.

Il y a lieu de choisir la méthode la mieux adaptée qui doit garantir par conséquent :

- la stabilité (sinon il y a un risque de ne pas obtenir les solutions).
- la précision du résultat.
- la rapidité des calculs.
- la facilité d'écriture des programmes.

## **2.2 Logiciels de programmation**

De nombreux logiciels interactifs de calcul scientifique existent et sont disponibles sur le marché. Parmi ceux-ci, MATLAB qui est un produit très intéressant pour développer des calculs numériques. Il intègre un environnement graphique et ses atouts principaux sont:

- La surprenante simplicité d'utilisation provenant de la vectorisation, (Arnaud Brouwers., 2010; Yasmine Ariba et Jérôme Cadieux., 2010)
- La puissance de calcul, et la précision des résultats.

**Matlab** est un logiciel de calcul numérique commercialisé par la société MathWorks. Il a été initialement développé à la fin des années 70 par Cleve Moler, professeur de mathématiques à l'Université du Nouveau-Mexique puis à Stanford, pour permettre aux étudiants de travailler à partir d'un outil de programmation de haut niveau et sans apprendre le Fortran ou le C (Arnaud Brouwers., 2010; Philippe Mullhaupt et al., 2013).

**MATLAB** est un outil de base enrichi par ses nombreuses bibliothèques ("Toolboxes") qui évitent, dans de nombreux cas, de programmer les techniques numériques les plus courantes. Cependant pour les développements spécifiques, il offre les mêmes possibilités de programmation structurée que les langages scientifiques courants (C, FORTRAN...). Ecrit en langage C optimisé, le code de MATLAB comporte également des blocs spécifiques écrits en langage assembleur pour obtenir des performances améliorées, Son nom vient de MATrix LABoratory, car il a été initialement développé pour le calcul matriciel.

La disponibilité de MATLAB est remarquable puisqu'il peut être exécuté sur n'importe quel type d'ordinateur utilisé par les scientifiques : PC, Macintosh, Station de travail, gros ordinateurs sous UNIX, etc. ... (Philippe Mullhaupt et al., 2013).

Dans notre simulation numérique, nous avons mis en œuvre les données de l'enquête menée par l'EFSA en 2013. (Voir les tableaux 6, 7 et 8) dans notre programme que nous avons développé par Matlab en utilisant les concepts des modèles bio-statistiques et les bibliothèques disponible dans le logiciel Matlab. Notre représentation graphique nous a permis d'étudier la relation entre les différents paramètres et nous a donné une grande souplesse d'analyse et d'évaluation de l'effet de la consommation du DON sur les différents paramètres biochimiques.

**Tableau 6.** Contribution relative minimale et maximale des groupes d'aliments (en pourcentage) à l'exposition globale moyenne au DON dans l'ensemble des enquêtes et des groupes d'âge

		Age group (a)	0,8-1 (1)	2-6 (2)	7-14 (3)	15-23 (4)	24-40 (5)	41-55 (6)	56-80 (7)
Grains	Max		2,1	1,8	2,9	2,9	6	2,1	1,5
	Min		1,2	0	0,1	0,3	0,3	0,2	0,2
Grain milling products	Max		19,2	76,9	69	21,1	72,8	75,1	23,2
	Min		18	0,2	0	0,2	0,1	0,2	0,2
Breakfast cereals	Max		0,1	7,2	13,3	5,5	10,3	14,1	3,7
	Min		0	0,1	0,3	0,8	0,5	0,1	0,2
Fine bakery wares	Max		17,6	27,6	43,1	37,4	30	30,7	34
	Min		0	1,1	2,9	4,4	0	0	7,3

**Tableau 7:** Alimentation contribuant à plus de 10% de 1 µg/kg de poids corporel

Food description	Total population(a)		5 % most exposed subjects(b)	
	N population group(c)	Contribution range expressed in µg/kg b.w./day(d)	N population group(c)	Contribution range expressed in µg/kg b.w./day(d)
Wheat flour, white	2	0.11 - 0.18	14	0.1 - 0.41
Wheat bread and rolls	37	0.1 - 0.37	44	0.1 - 0.68
Bread and rolls unspecified	3	0.14 - 0.17	4	0.13 - 0.3
Pastries and cakes	16	0.1 - 0.28	40	0.1 - 0.77
Cereal, rice and vegetable based	1	0.18	7	0.1 - 0.39

Exposed Subjects(b)	Food description	Wheat flour, white	Wheat bread and rolls	Bread and rolls unspecified	Pastries and cakes
Contribution range expressed in µg/kg b.w./day(d) 10%	Max	0.11	0.1	0.14	0.1
	Min	0.18	0.37	0.17	0.28
Contribution range expressed in µg/kg b.w./day(d) 5%	Max	0.1	0.1	0.13	0.1
	Min	0.41	0.68	0.3	0.77

(a): tous les individus: détermination du contribuant alimentaire à plus de 10% de 1 µg/kg de poids corporel par jour compte tenu de tous les individus de chaque groupe de population (N = 68 groupes de population).

(b) 5% des animaux les plus exposés: détermination du contribuant alimentaire à plus de 10% de 1 µg/kg de poids corporel par jour en ne considérant que les animaux les plus exposés de 5% dans chaque groupe de population (groupes N = 62 de la population).

(c): N groupes de population: nombre de groupes de population pour lesquels la nourriture a contribué à plus de 10% du seuil de 1 µg/kg de poids corporel par jour.

(d): gamme de contribution, exprimée en mg/kg de poids corporel par jour, définie comme contribution moyenne minimale et maximale à travers ces groupes de population pour lesquels la nourriture a contribué à plus de 10% du seuil de 1 µg/kg de poids corporel par jour.

**Tableau 8 :** Contribution en pourcentage de 3-Ac-DON, 15-Ac-DON et le DON l'exposition totale

Age group(a)	Lower bounds estimate expressed in %			Upper bound estimate expressed in %		
	3-Ac-DON	15-Ac-DON	DON	3-Ac-DON	15-Ac-DON	DON
Infants	0,1	0,5	99,4	31,4	31,4	37,2
Toddlers	0,1	0,6	99,2	25,8	26,1	48,1
Other children	0,2	0,9	98,9	22,9	23,3	53,8
Adolescents	0,2	0,9	98,9	22,9	23,2	53,9
Adults	0,1	0,4	99,4	23,3	23,5	53,1
Elderly	0,1	0,2	99,7	22,9	23,0	54,1
Very elderly	0,1	0,2	99,7	23,7	23,8	52,5

(a) pour chaque groupe d'âge, le minimum, la médiane et la contribution maximale en pourcentage entre les différents groupes de population est indiqué.

## **CHAPITRE 3: RESULTATS**



## **1. Etude toxicologique**

### **1.1. Consommation moyenne journalière de l'aliment par souris**

Nos observations montrent une diminution très significative de la consommation de l'aliment par les souris traitées à 1% de déoxynivalénol avec une légère diminution de la consommation du DON, comparée au groupe témoin.

### **1.2. Consommation quotidienne de la solution de DON par les souris**

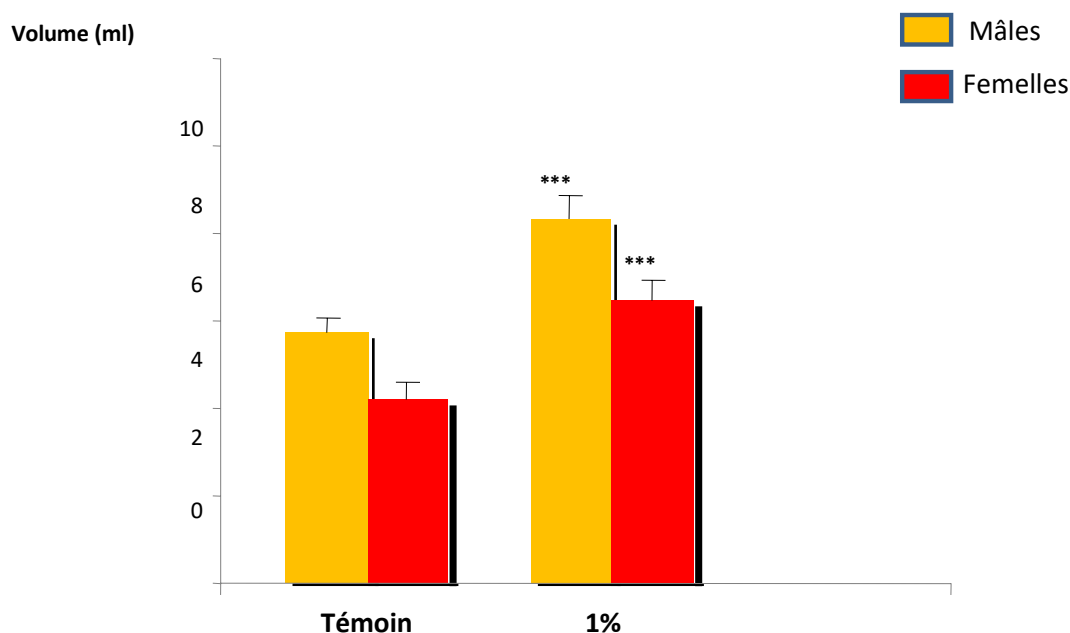
Le déoxynivalénol est administré aux différents groupes expérimentaux dilué dans l'eau de boisson. La figure 6 représente le score cumulé exprimé en volume d'eau consommé par chaque souris pour chaque groupe expérimental durant toute la période d'expérimentation (13 semaines).

On observe une diminution très significative de la consommation de la solution contenant le déoxynivalénol par les animaux traités à 1% par rapport au groupe témoin qui ne boit que de l'eau sans toxine. Chez les mâles, les valeurs exprimées en ml/jour/souris sont  $(6,47 \pm 0,64)$  vs  $(5,71 \pm 0,38)$  ( $p < 0,001$ ). Chez les femelles, ces valeurs sont  $(5,0 \pm 0,55)$  vs  $(4,20 \pm 0,40)$  ( $p < 0,001$ ).

### **1.3. Dose moyenne journalière de déoxynivalénol consommée par souris**

La dose moyenne journalière de déoxynivalénol consommée par unité de poids corporel des souris durant toute la période d'expérimentation (90 jours), exprimée en mg/kg/jour, est indiquée dans le tableau 9.

Nos résultats indiquent que le taux de déoxynivalénol consommé par unité de poids corporel des souris est proportionnel aux concentrations utilisées aussi bien chez les souris mâles que chez les souris femelles des 2 groupes expérimentaux.



**Figure 6.** Consommation du déoxynivalénol (ml/j/souris) dilué dans l'eau de boisson à la dose de 1% pendant 90 jours d'expérimentation. Les témoins sont abreuvés avec de l'eau sans déoxynivalénol (n=10 pour chaque groupe).

Les valeurs reportées représentent des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm ES$ ), établies sur 10 souris mâles et sur 10 souris femelles pour chaque groupe.

\* : Les groupes expérimentaux vs témoin.

\*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  (test d'ANOVA).

On note une augmentation significative de la consommation de déoxynivalénol chez les groupes traités à 1% de déoxynivalénol par rapport au groupe témoin ( $p < 0,001$ ) chez les mâles et les femelles.

**Tableau 9:** Consommation quotidienne moyenne de déoxynivalénol établie par unité de poids corporel pour chaque essai, sur 90 jours d'expérimentation.

Dose de DON	Mâles	Femelles
1%	2012,05 mg/kg/jour	1667,79 mg/kg/jour

**1% :** groupe de souris traitées à 1% de déoxynivalénol (n=10)

Les valeurs indiquées sont des moyennes établies à partir des données recueillies quotidiennement pour chaque groupe expérimental (n=10) pendant 90 jours.

#### 1.4. Croissance pondérale

L'impact du déoxynivalénol sur l'évolution du poids corporel des souris consommant le DON à la dose 1% est représenté dans les figures 9 et 10.

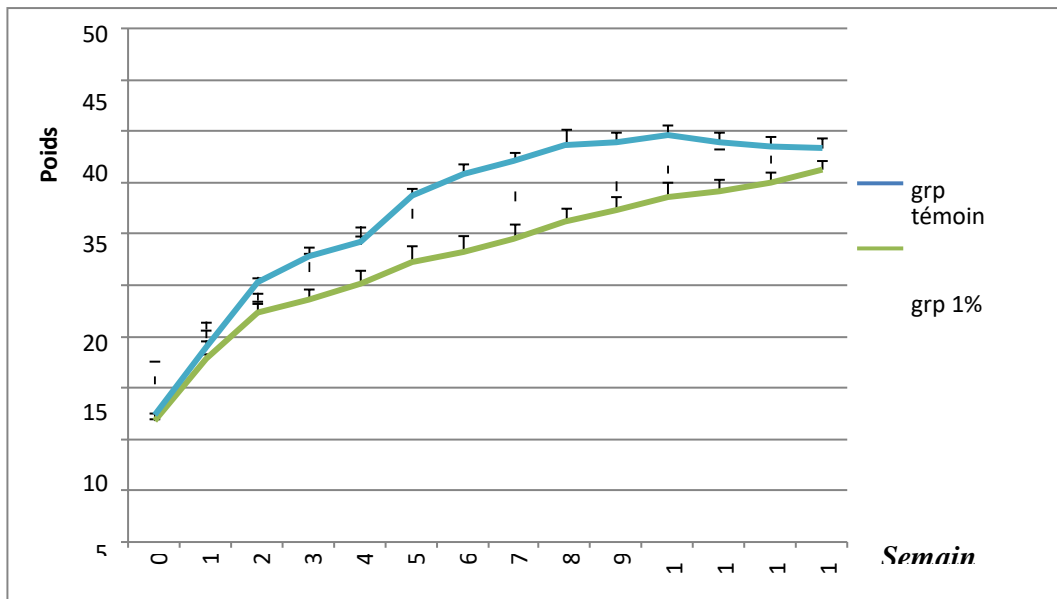
Aussi bien chez les mâles que chez les femelles, le poids corporel augmente légèrement et de manière lente en fonction du temps.

Cependant, cette augmentation est non significative tant pour les mâles que pour les femelles du groupe traité à 1% de DON ( $p < 0,05$ ) durant presque toute la durée de l'expérimentation.

On enregistre une diminution significative chez les mâles du groupe traité par le DON ( $p < 0,05$ ) pendant les semaines: 1, 3, 4 et 6. Les valeurs exprimées en gramme (gr) sont:  $(17,92 \pm 0,48)$  vs  $(20 \pm 0,47)$ ,  $(23,57 \pm 1,38)$  vs  $(28 \pm 0,76)$ ,  $(25,22 \pm 1,72)$  vs  $(30,05 \pm 0,64)$  et  $(28,27 \pm 2,05)$  vs  $(33,82 \pm 1,05)$ .

Du même, une diminution significative est notée chez les femelles du groupe traité au DON ( $p < 0,01$ ) dans les semaines: 3, 4, 5, 11 et 12 par rapport au groupe témoin. Les valeurs exprimées en gramme (gr) sont  $(21,53 \pm 1,24)$  vs  $(25,08 \pm 1,04)$ ,  $(23,08 \pm 1,21)$  vs  $(26,60 \pm 1,07)$ ,  $(24,18 \pm 1,04)$  vs  $(29,27 \pm 1,23)$ ,  $(29,42 \pm 0,82)$ , vs  $(32,35 \pm 0,99)$  et  $(30,08 \pm 0,74)$  vs  $(33,37 \pm 1,19)$ .





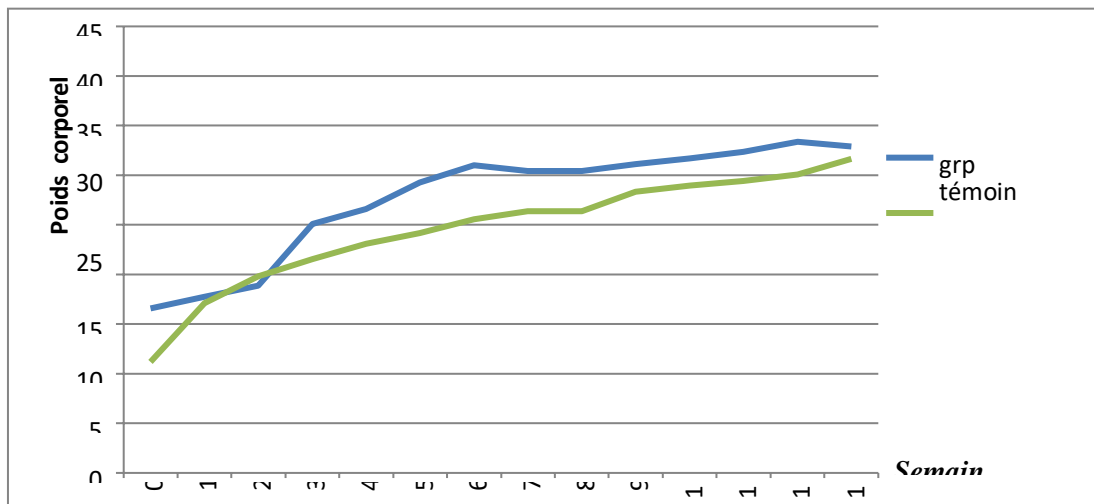
**Figure 7.** Croissance pondérale (g/semaine/souris) des souris mâles recevant pendant 90 jours le DON à la dose de 1%. Le groupe témoin reçoit de l'eau sans DON.

Les valeurs reportées représentent des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm Es$ ), établies sur 10 souris dans chaque groupe.

\* : Les groupes expérimentaux vs témoin.

\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  (test d'ANOVA).

On note une diminution significative du poids corporel des souris mâles traités à 1% de DON comparés aux témoins ( $p < 0,01$ ) et ( $p < 0,001$ ).



**Figure 8.** Croissance pondérale (g/semaine/souris) des souris femelles recevant pendant 90 jours du DON à la dose de 1%. Le groupe témoin reçoit de l'eau sans DON.

Les valeurs reportées représentent des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm Es$ ), établies sur 10 souris dans chaque groupe.

\* : Les groupes expérimentaux vs témoin.

\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$  (test d'ANOVA).

On note une diminution significative du poids corporel des souris femelles traitées à 1% de DON comparées aux témoins ( $p < 0,01$ ) et ( $p < 0,001$ ).

### **1.5. Taux de mortalité et transformations morphologiques et comportementales**

Au cours de l'expérimentation, nous avons enregistré à la 11<sup>ème</sup>, 12<sup>ème</sup> et à la dernière semaine un taux de mortalité de 25% chez les mâles traités à 1% de DON et un taux de 16,66% de mortalité chez les femelles du même groupe.

Durant le 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> mois de l'expérimentation, une diminution de l'activité a été observée chez les souris traitées avec le DON et une agressivité remarquable chez les mâles du même groupe.

Une coloration et une odeur intense des urines avec une diarrhée ont été observées chez les souris traitées à 1% de DON, ainsi qu'une légère perte de poils également constatée chez les animaux des mêmes groupes par rapport aux souris témoins. En plus de l'apparition de kystes au niveau du foie avec des pigmentations chez les mâles traités à 1% et également sur les ovaires chez les souris femelles du même groupe.

### **1.6. Effet du DON sur le poids absolu des différents organes**

Le poids absolu des organes [poids de l'organe] renseigne sur l'évolution de l'organe suite à la consommation subchronique du DON.

Aucune différence significative n'est signalée pour le poids absolu du cerveau, du cœur, de la rate, des glandes surrénales, et des testicules chez les mâles du groupe expérimental comparés aux témoins (tableau 10).

Le poids absolu de la vessie est significativement augmenté chez le groupe traité à 1 % de DON comparé au groupe témoin, contrairement à celui des poumons et des glandes salivaires qui apparaît significativement diminué chez le même groupe par rapport au groupe témoin. Les valeurs exprimées en (gr) sont de  $(0,21 \pm 0,01)$  vs  $(0,25 \pm 0,02)$  et  $(0,24 \pm 0,02)$  vs  $(0,30 \pm 0,02)$  ( $p < 0,05$ ).

De même, on note une augmentation très significative du poids absolu du foie et significative du celui de l'épididyme, contrairement aux poids des reins, des vésicules séminales et du thymus qui ont significativement diminué chez le groupe traité à 1% de déoxynivalénol comparés au groupe témoin. Les valeurs exprimées en (g) sont  $(1,68 \pm 0,05)$  vs  $(1,69 \pm 0,05)$  ( $p < 0,01$ ),  $(0,12 \pm 0,01)$  vs  $(0,13 \pm 0,01)$  ( $p < 0,05$ ),  $(0,56 \pm 0,03)$  vs  $(0,58 \pm 0,02)$ ,  $(0,25 \pm 0,01)$  vs  $(0,31 \pm 0,02)$  ( $p < 0,01$ ) et  $(0,08 \pm 0,01)$  vs  $(0,07 \pm 0,01)$  ( $p < 0,01$ ).

Par ailleurs, chez les femelles, le poids absolu du cœur, des glandes surrénales et de la rate sont identiques chez tout le groupe expérimental, comparés aux témoins (tableau 11).

En revanche, le poids absolu des ovaires chez les femelles du groupe traité à 1% est significativement augmenté par rapport au témoin, alors que le poids absolu de la vessie, du cerveau, et des glandes salivaires du même groupe a significativement diminué. Les valeurs exprimées en (g) sont  $(0,32 \pm 0,03)$  vs  $(0,22 \pm 0,02)$ ,  $(0,02 \pm 0,01)$  vs  $(0,03 \pm 0,01)$  ( $p < 0,01$ ),  $(0,44 \pm 0,01)$  vs  $(0,49 \pm 0,01)$  et  $(0,20 \pm 0,01)$  vs  $(0,24 \pm 0,01)$  ( $p < 0,05$ ).

**Tableau 10:** effet du DON sur le poids absolu des organes (gr) chez les souris mâles après 90 jours de consommation

	Cerveau	Thymus	Poumons	Glandes salivaires	Rate	Foie	Reins	Glandes surrénales	Vessie	Testicules	Epididyme	Vésicules séminales
<b>Témoin</b>	0,48±0,01	0,07±0,01	0,25±0,02	0,30±0,02	0,16±0,03	1,69±0,05	0,58±0,02	0,01±0,01	0,04±0,01	0,24±0,01	0,13±0,01	0,31±0,02
<b>1%</b>	0,48±0,01	0,08±0,01	0,21±0,01*	0,24±0,02*	0,18±0,02	1,68±0,15	0,56±0,03	0,01±0,01	0,03±0,01*	0,24±0,02	0,12±0,01	0,25±0,01

Les valeurs reportées dans ce tableau représentent des moyennes et leurs erreurs standards (X±ES)

Nombre d'animaux dans chaque groupes (n=6) et durée d'expérimentation 90 jours

\*: les groupes expérimentaux vs témoin

\*, p<0,05, \*\*, p<0,01 (test d'ANOVA).

On note une différence significative du poids absolu des poumons, des glandes salivaires, de la vessie et des reins chez le groupe traité à 1 % de DON comparé au groupe témoin. Cette différence est très significative dans le cas des reins, de vésicule séminale et du foie par rapport au témoin.

Tableau 11: effet du DON sur le poids absolu des organes (gr) chez les souris femelles après 90 jours de consommation.

	Cerveau	Cœur	Thymus	Poumons	Reins	Glandes surrénales	Vessie	Foie	Glandes salivaires	Rate	Utérus	Ovaires
Témoin	0,49±0,01	0,15±0,01	0,09±0,01	0,25±0,01	0,38±0,01	0,02±0,01	0,03±0,01	1,69±0,03	0,24±0,01	0,15±0,01	0,21±0,02	0,22±0,02
1%	0,44±0,01*	0,15±0,01	0,07±0,01	0,23±0,02	0,34±0,01	0,02±0,02	0,02±0,01**	1,64±0,03	0,20±0,01*	0,16±0,02	0,20±0,02	0,32±0,03**

Les valeurs indiquées dans ce tableau représentent des moyennes et leurs erreurs standards (X±ES)  
Nombre d'animaux dans chaque groupes (n=6) et durée d'expérimentation 90 jours  
\*: les groupes expérimentaux vs témoin  
\*: p<0,05, \*\*:p<0,01 (test d'ANOVA).  
On note une différence du poids absolu des vessies et des ovaires très significative chez le groupe traité par le DON par rapport au témoin.  
Une différence très significative aussi du poids absolus du cerveau, des reins et des glandes salivaires observées chez le groupe intoxiqué à 1 % de DON comparé au témoin, ainsi qu'une différence significative marquée du poids absolu du foie.



### **1.7. Effet du DON sur le poids relatif des différents organes**

Le poids relatif des organes [(poids de l'organe/ poids de souris) x 100] informe sur l'évolution de l'organe par rapport à celle de l'organisme entier.

Au terme de 90 jours d'expérience, le poids relatif du cerveau, du cœur, des poumons, de la rate, des glandes surrénales, des testicules et des épидидymes chez les mâles est comparable à celui du témoin (tableau 12).

Le poids relatif des glandes salivaires et de la vessie chez les mâles traités à 1% de DON est significativement diminué par rapport à celui des témoins ( $p < 0,05$ ). En outre, on note une diminution significative ( $p < 0,05$ ) pour le poids relatif des glandes surrénales, du thymus, et des vésicules séminales, et une différence ( $p < 0,01$ ) pour les reins chez les mâles par rapport au témoin. En effet les valeurs exprimées en gramme (gr) sont ( $0,63 \pm 0,00$ ) vs ( $0,83 \pm 0,06$ ), ( $0,07 \pm 0,01$ ) vs ( $0,10 \pm 0,01$ ), ( $0,03 \pm 0,01$ ) vs ( $0,03 \pm 0,01$ ), ( $0,20 \pm 0,01$ ) vs ( $0,20 \pm 0,02$ ) et ( $0,67 \pm 0,03$ ) vs ( $0,82 \pm 0,08$ ).

En revanche, on note une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) pour le poids relatif du foie chez les mâles du groupe traité à 1% comparé au groupe témoin: ( $4,43 \pm 0,36$  gr) vs ( $4,06 \pm 0,27$  gr).

Par ailleurs, chez les femelles, la diminution du poids relatif des reins est significative chez les groupes traités à 1% de DON par rapport au témoin. Les valeurs exprimées en (g) sont ( $4,98 \pm 0,21$ ) vs ( $5,16 \pm 0,15$ ) ( $p < 0,05$ ). De même, le poids relatif de la vessie est diminué chez le groupe traité comparé au groupe témoin. On note une diminution significative du poids relatif du cerveau chez le groupe traité au DON comparé au groupe témoin (tableau 13). Pour les autres organes: l'utérus, les glandes salivaires, et les glandes surrénales, on constate que leur poids relatif est diminué par rapport à celui du groupe témoin. Leurs valeurs, exprimées en (gr) sont: ( $0,62 \pm 0,07$ ) vs ( $0,65 \pm 0,05$ ), ( $0,61 \pm 0,03$ ) vs ( $0,72 \pm 0,05$ ) et ( $0,05 \pm 0,01$ ) vs ( $0,06 \pm 0,01$ ) ( $p < 0,05$ ).

Tableau 12: Effet du DON sur le poids relatif des organes (gr) chez les souris mâles après 90 jours de consommation

	Cerveau	Cœur	Thymus	Poumons	Glandes salivaires	Rate	Foie	Reins	Glandes surrénales	Vessie	Testicules	Epididyme	Vésicule séminale
Témoin	1,30±0,08	0,47±0,06	0,20±0,02	0,69±0,05	0,83±0,06	0,45±0,09	4,60±0,27	1,56±0,10	0,03±0,01	0,10±0,01	0,66±0,04	0,34±0,03	0,82±0,08
1 %	1,19±0,06	0,48±0,02	0,20±0,01	0,56±0,02	0,63±0,0*	0,47±0,05	4,43±0,36	1,46±0,04	0,03±0,01	0,07±0,01*	0,63±0,04	0,32±0,02	0,67±0,03

Les valeurs représentent des moyennes et leurs erreurs standards (X±ES)  
Nombre d'animaux dans chaque groupes (n=06) et durée d'expérimentation 90 jours  
\*: les groupes expérimentaux vs témoin  
\*: p<0,05, \*\*:p<0,01 (test d'ANOVA).  
On note une différence très significative du poids relatifs des reins chez le groupe traité par le DON comparé au groupe témoin.  
La différence du poids relatif de la glande salivaire et de la vessie est significative comparée au groupe témoin.

Tableau 13: Effet du DON sur le poids relatif des organes (gr) chez les souris femelles après 90 jours de consommation

	Cerveau	Cœur	Thymus	Poumons	Glandes salivaires	Rate	Foie	Reins	Glandes surrénales	Vessie	ovaires	Utérus
Témoin	1,48±0,03	0,47±0,02	0,28±0,02	0,77±0,07	0,72±0,05	0,46±0,04	5,16±0,15	1,15±0,02	0,06±0,01	0,09±0,01	0,66±0,04	0,65±0,05
1%	1,34±0,04*	0,44±0,02	0,22±0,01	0,71±0,03	0,61±0,03	0,49±0,04	4,98±0,21	1,05±0,03*	0,05±0,01	0,07±0,01**	0,96±0,06	0,62±0,07

Les valeurs reportées représentent des moyennes et leurs erreurs standards (X±ES)  
Nombre d'animaux dans chaque groupes (n=6) et durée d'expérimentation 90 jours  
\*: les groupes expérimentaux vs témoin  
\*: p<0,05, \*\*:p<0,01, \*\*\*: p<0,001 (test d'ANOVA).  
On note une différence hautement significative du poids relatif des reins chez le groupe traité par le DON comparé au groupe témoin.  
On enregistre une différence significative des poids des vessies comparés au groupe témoin.  
Ainsi qu'une différence significative du poids relatifs du cerveau comparé au groupe témoin.

## **2. Etude histologique**

Des coupes histologiques au niveau des reins, du foie et du cerveau de souris témoins et de celles du groupe expérimental traité à la dose de 1% de DON, ont été réalisées afin de détecter toute modification morphologique ou altération tissulaire de ces organes chez le groupe expérimental.

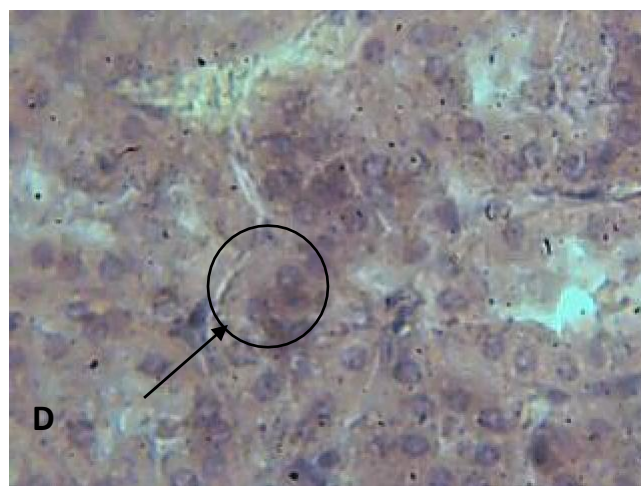
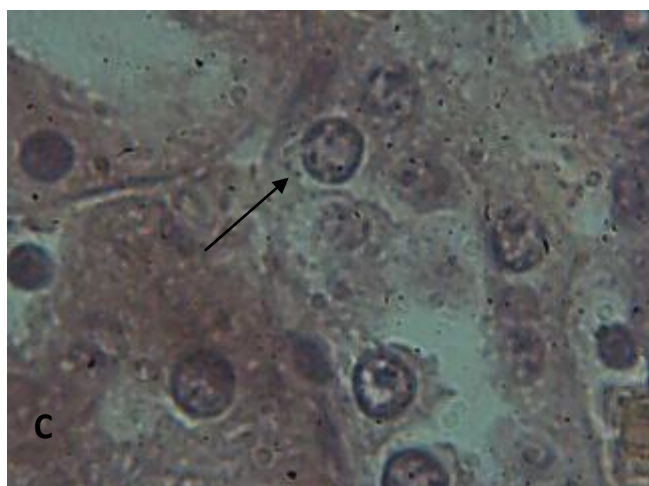
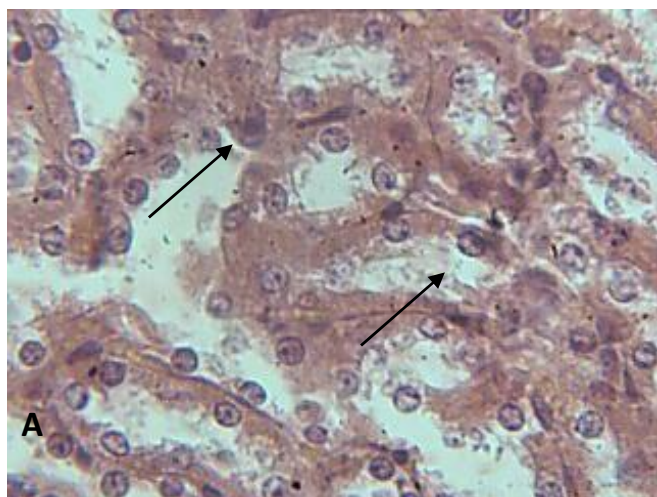
### **2.1. Effet du DON sur la structure histologique des reins**

L'observation microscopique réalisée sur coloration topographique des coupes histologiques révèle une action toxique sévère due au DON à dose de 1%. Cette toxicité se traduit par des modifications au niveau de l'architecture tissulaire et sur le plan cytotologique,

Nous observons, par endroit, en plus d'un rétrécissement de l'espace de Baumann, une réduction de la lumière des tubes contournés, une hyperplasie des cellules par endroit et une dilatation des veines arciformes au niveau des jonctions corticomédulaires. Des noyaux pycnotiques apparaissent comme des corps arrondis de couleur sombre, l'enveloppe nucléaire se rompt et la chromatine anormale se fragmente. On retrouve de petites particules de couleur sombre, constituées de matériel nucléaire dénaturé que l'on retrouve dans les cellules: c'est le phénomène de caryorrhexie.

On observe un infarctus rénal récent, des cellules mourantes au fur et à mesure qu'elles se rapprochent de la couche desquamant, avec des noyaux pycnotiques. Dans la plupart des cas les contours cellulaires restent discernables bien que tous les éléments constitutifs de la cellule soient morts.

Ce qui explique peut être une nécrose de liquéfaction chez le groupe traité au DON à 1%.



**Figure 9.** Observation au microscope photonique des coupes histologiques des reins des souris mâles traitées à 1% de DON (B, C, D, E), et coupes histologiques des reins témoins (A) (G10×40, coloration de l' hématoxyline éosine.)

On observe une nécrose de liquéfaction chez le groupe traité à 1%.

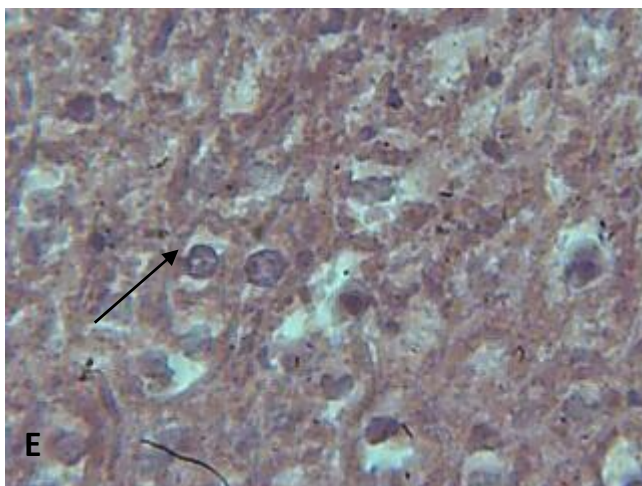
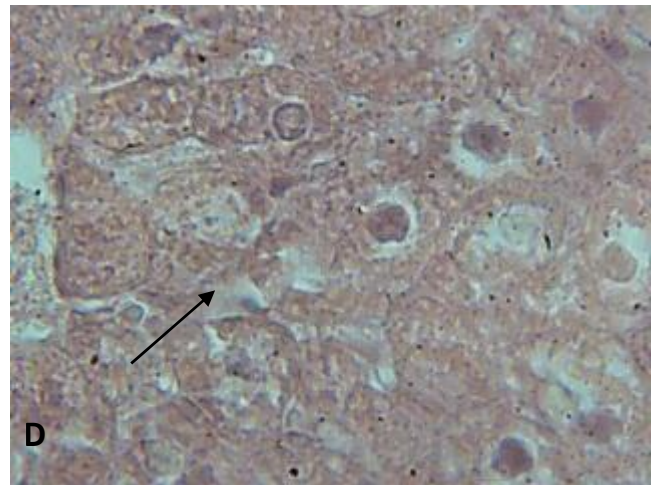
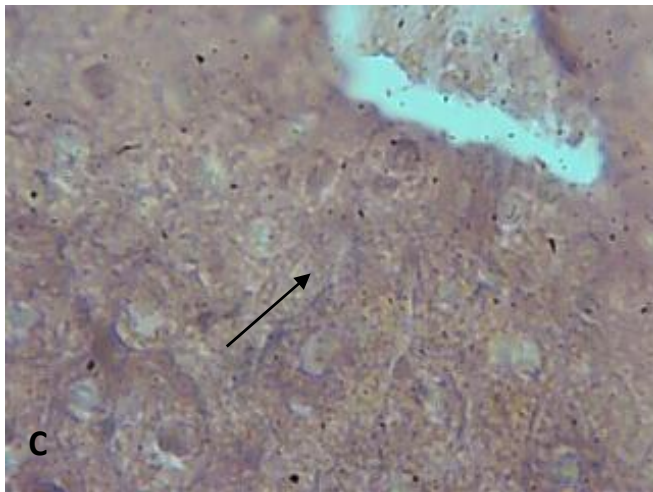
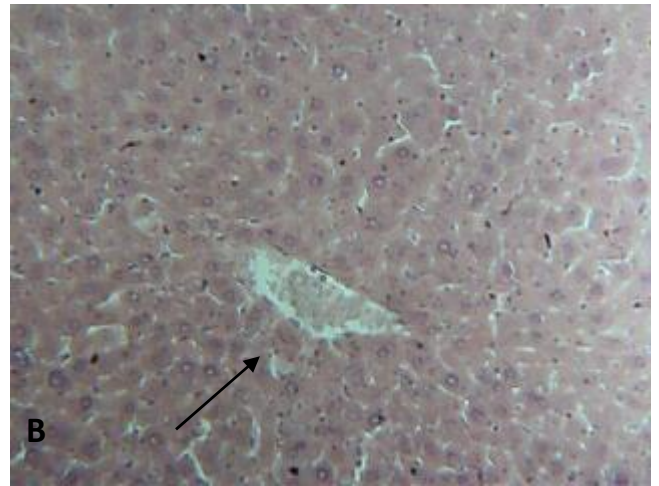
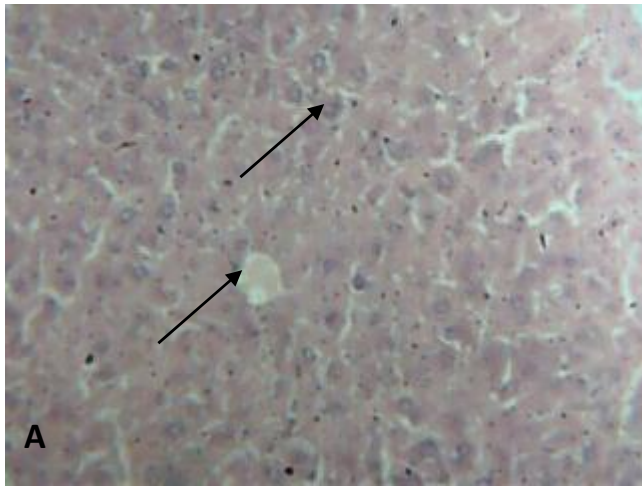
## **2.2. Effet du DON sur la structure histologique du foie**

L'observation microscopique réalisée sur coloration topographique des coupes histologiques révèle une action toxique sévère du DON à dose de 1%. Cette toxicité se traduit par les modifications suivantes:

Les hépatocytes présentent un début de dégénérescence hydrique. Le cytoplasme de la cellule nécrosée est habituellement éosinophile, par diminution de l'ARN cytoplasmique (responsable de la basophilie cytoplasmique) et par augmentation de la liaison de l'éosine aux protéines cytoplasmiques dénaturées. Il peut être homogène ou vacuolaire par digestion enzymatique des organites. Les modifications nucléaires sont constantes et prennent une forme pycnotique.

Cette pycnose nucléaire est le résultat d'une condensation chromatinienne probablement imputable à la baisse du pH du milieu en métabolisme anaérobie. Par endroit, une hyperplasie est retrouvée avec un rétrécissement sinusöide (travées hépatocytaires rapprochées) ainsi qu'une dilatation de la veine centrolobaire et un espace porte rétréci. Ces anomalies sont plus apparentées et plus importantes chez les mâles que chez les femelles.





**Figure 10.** Observation au microscope optique des coupes histologiques des foies des souris mâles traitées à 1% de DON (B, C, D, E), et coupes histologiques des foies témoins (A) (G10×40, coloration de l' hématoxyline éosine.)

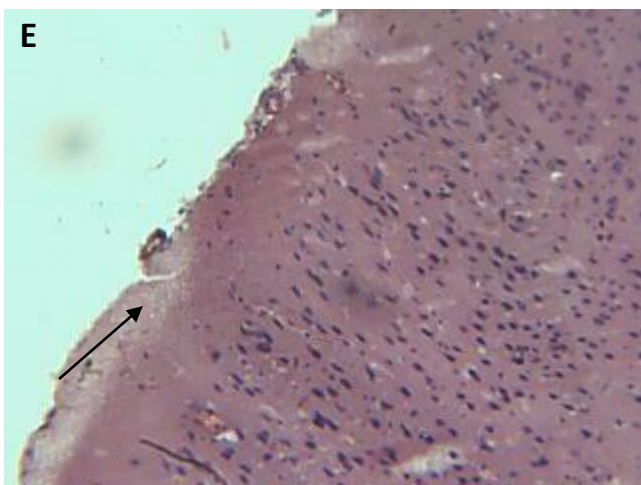
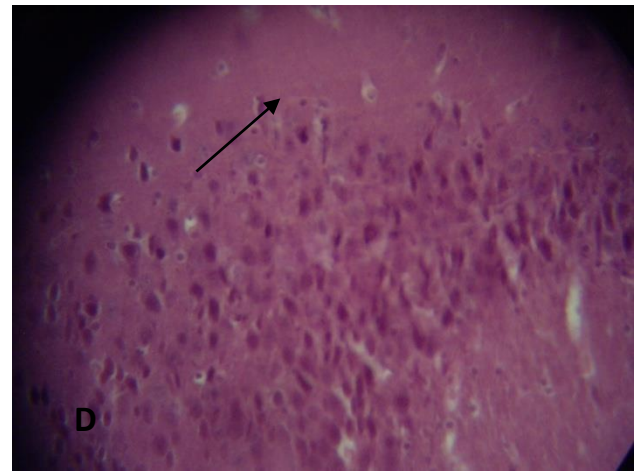
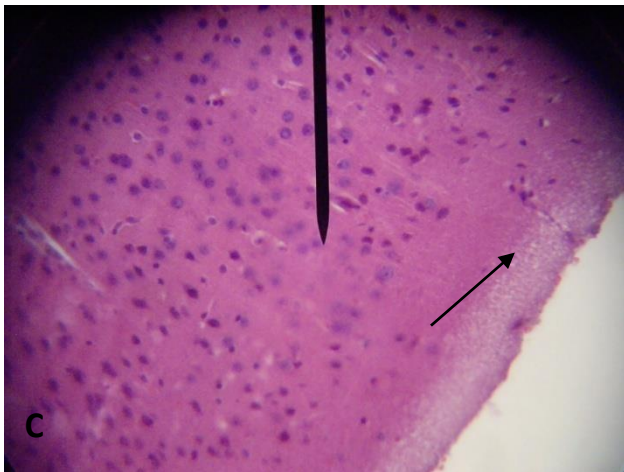
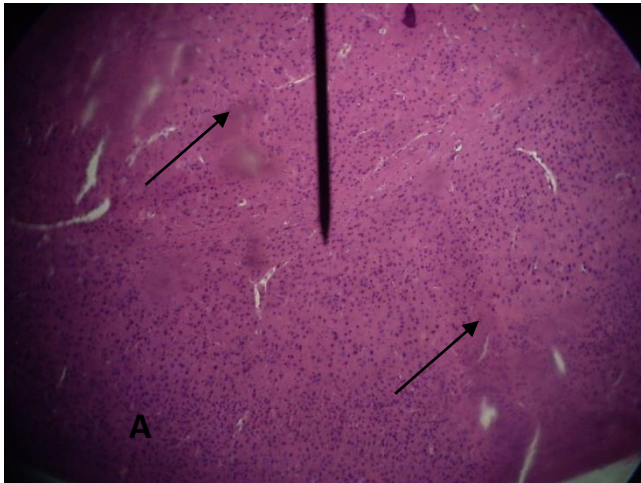
On observe une hyperplasie avec un rétrécissement sinusoides (travées hépatocytaires rapprochées) ainsi qu'une dilatation de la veine centrolobaire et un espace porte rétrécit.

### **2.3. Effet du DON sur la structure histologique du cerveau**

L'observation microscopique réalisée sur coloration topographique des coupes histologiques révèle une action toxique sévère du DON à la dose de 1%. Cette toxicité se traduit au niveau de l'architecture tissulaire par:

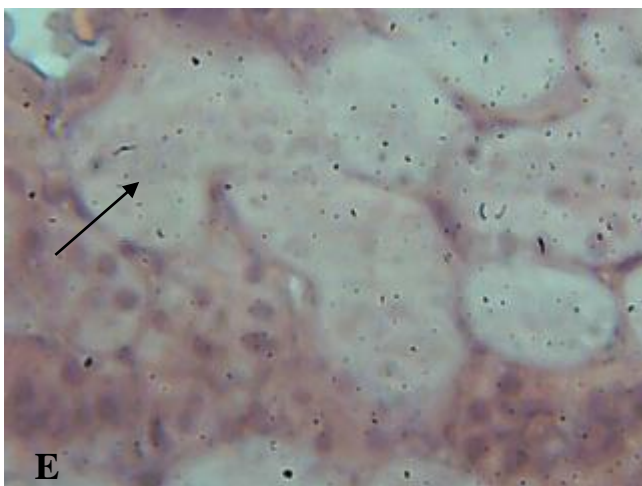
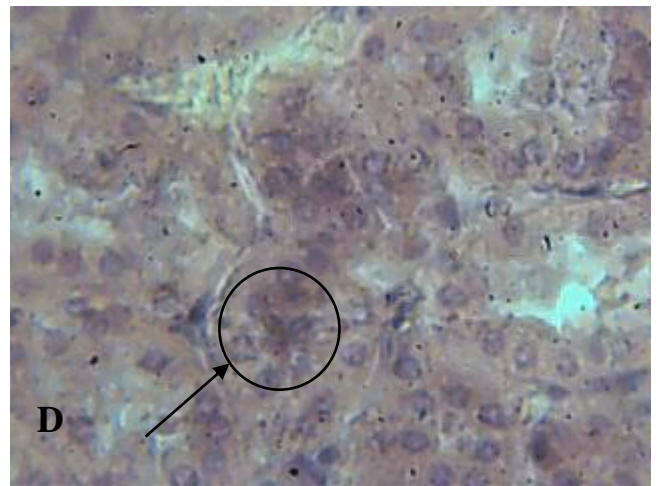
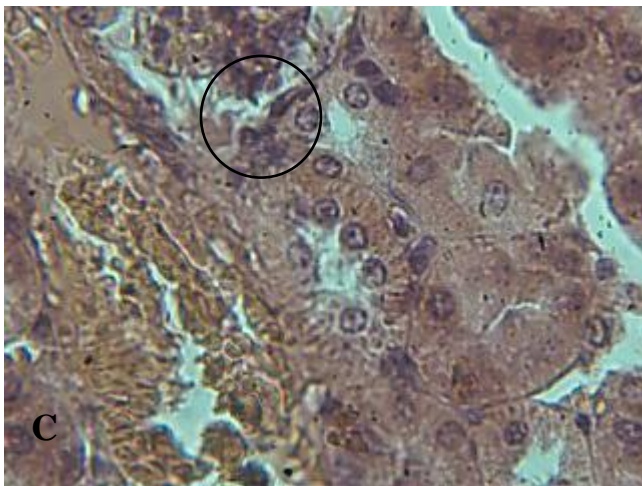
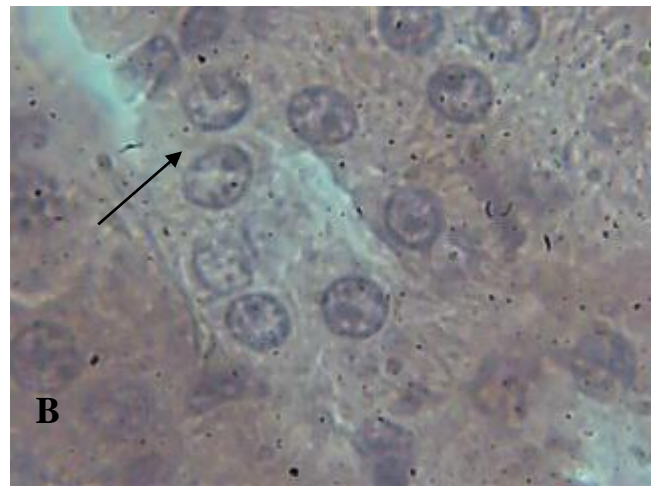
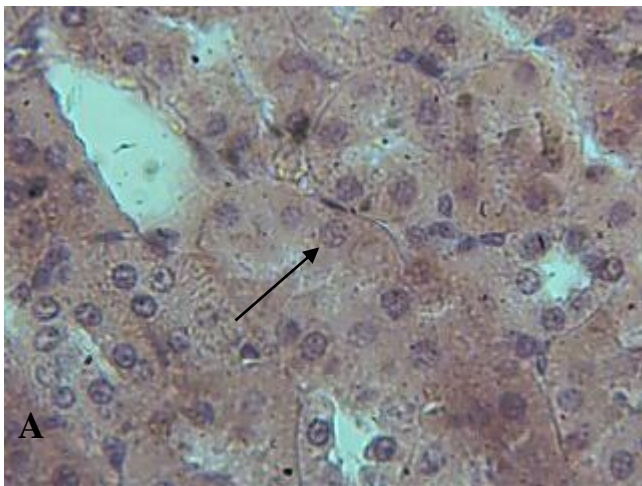
Une augmentation marquée du nombre des cellules gliales au niveau du cortex cérébral (hyperplasie des cellules gliales). Au niveau de l'hippocampe on observe des vacuoles entourant quelques cellules ainsi qu'une perte de l'architecture tissulaire résiduelle. Le tissu cérébral est ici remplacé par des traînées de débris cellulaires colorés en rose avec des masses semi-liquides de cellules mortes dû probablement à une nécrose de liquéfaction. Par ailleurs, la densité cellulaire est diminuée au niveau de la couche granulaire des neurones; la forme et le pourtour du noyau sont légèrement irréguliers et présentent une désorganisation.





**Figure 11.** Observation au microscope optique des coupes histologiques des cerveaux des souris mâles traités à 1% de DON (B, C, D, E), et coupes histologiques des cerveaux témoins (A) (G10x40, coloration de l'hématoxyline éosine).

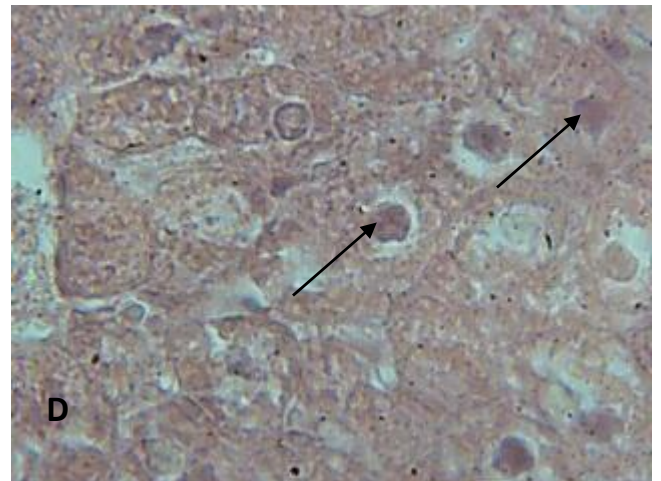
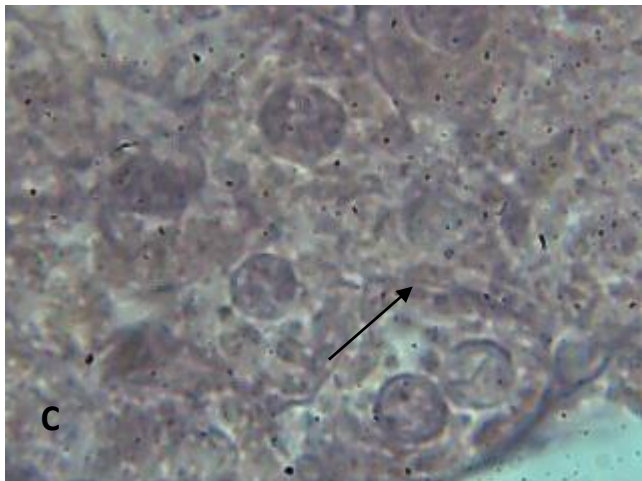
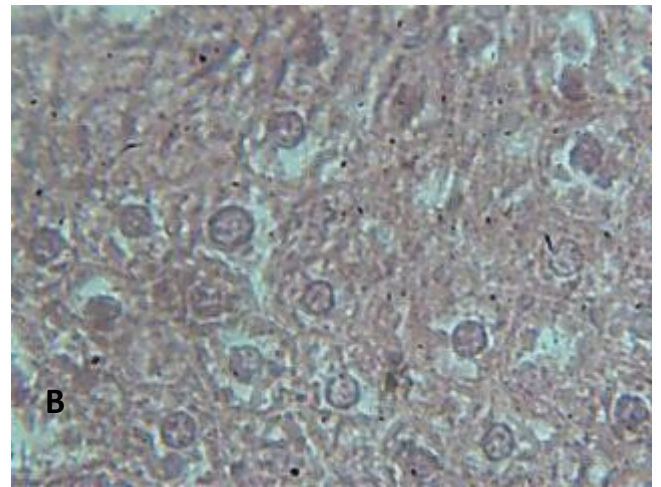
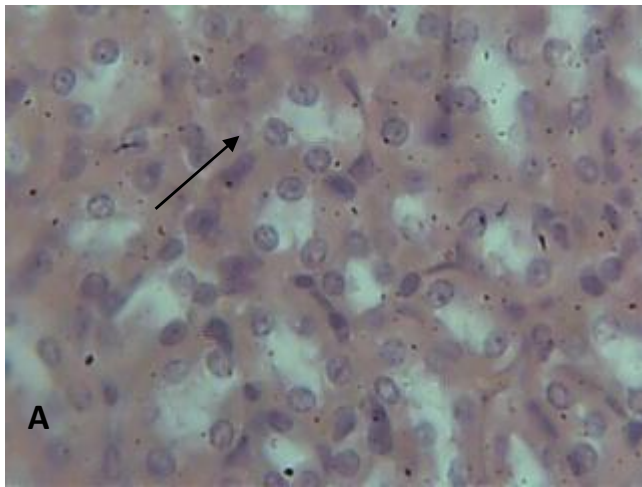
On observe une perte de l'architecture tissulaire résiduelle. Le tissu cérébral est ici remplacé par des traînées de débris cellulaires colorés en rose avec des masses semi-liquides de cellules mortes dû probablement à une nécrose de liquéfaction.



**Figure 12.** Observation au microscope optique des coupes histologiques des reins des souris femelles traitées à 1% de DON (B, C, D) et coupes histologiques des reins témoins (A) (G10x40, coloration à l'hématoxyline éosine). On observe une nécrose de liquéfaction chez le groupe traité. Ces anomalies sont moins importantes que celles observées chez les mâles.

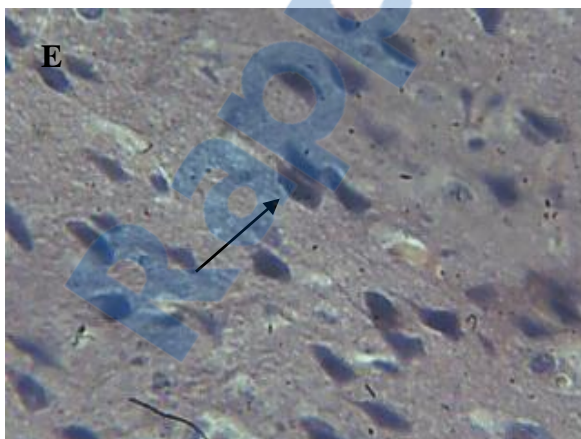
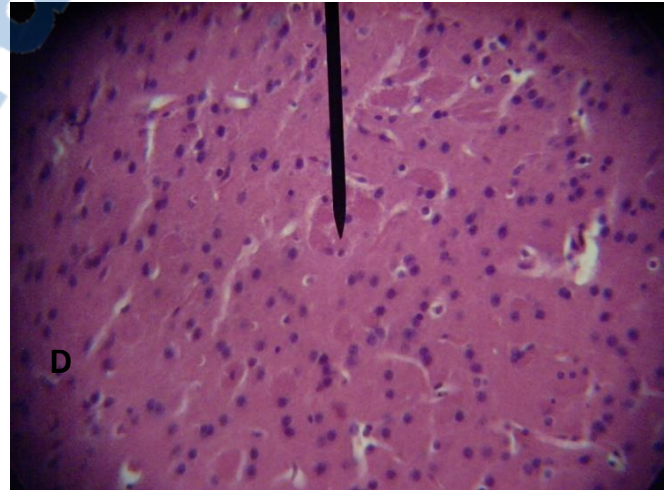
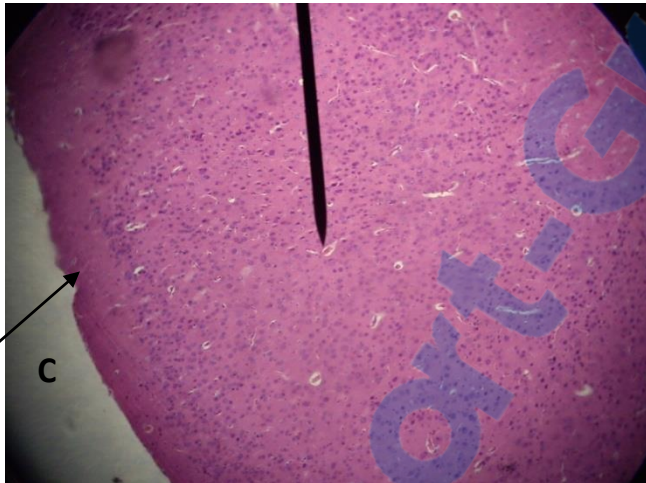
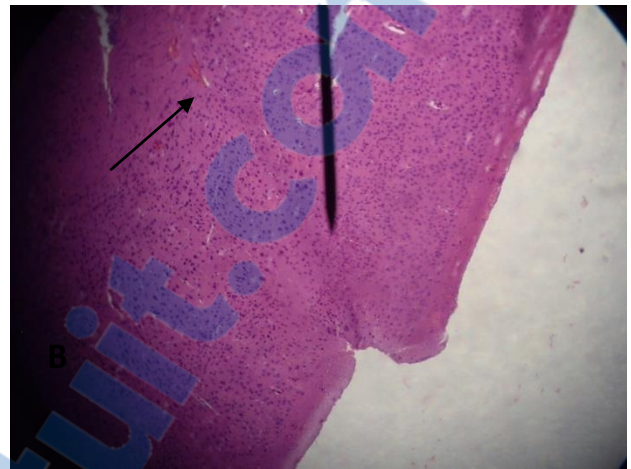
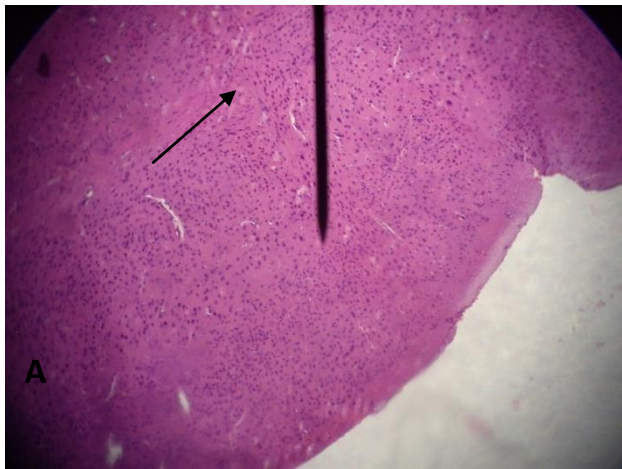






**Figure 13.** Observation au microscope optique des coupes histologiques des foies des souris femelles traitées à 1% de DON (B, C, D, E), et coupes histologiques des foies témoins (A) (G10×40, coloration de l' hématoxyline éosine).

On observe des travées hépatocytaires rapprochées ainsi qu'une dilatation de la veine centrolobaire et un espace porte rétrécit.



**Figure 14.** Observation au microscope optique des coupes histologiques des cerveaux des souris femelles traitées à 1% de DON (B, C, D, E), et coupes histologiques des cerveaux témoins (A) (G10x40, coloration de l' hématoxyline éosine).

On observe une perte de l'architecture tissulaire. La densité cellulaire est diminuée au niveau de la couche granulaire des neurones. La forme et le pourtour des noyaux sont légèrement irréguliers.



### 3. Effet du DON sur les paramètres hématologiques

#### 3.1. Nombre des globules rouges (GR)

Le nombre de globules rouges est représenté dans la figure 15. Les résultats montrent une diminution hautement significative du taux des globules rouges chez les souris mâles et femelles traitées au DON ( $p<0.05$ ) comparé au témoin.

Les valeurs sont:  $3.875\pm0.06 \text{ } 10^6/\text{mm}^3$  vs  $4.314\pm0.2 \text{ } 10^6/\text{mm}^3$  et  $3.892\pm0.1 \text{ } 10^6/\text{mm}^3$  vs  $4.904\pm0.09 \text{ } 10^6/\text{mm}^3$ .

#### 3.2. Nombre de globules blancs (GB)

Le nombre des globules blancs est représenté dans la figure 16. Les résultats indiquent une augmentation très significative du nombre de globules blancs des groupes ayant ingéré le DON comparé aux témoins. Les valeurs sont de :  $7.6\pm0.31 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$ ;  $7.61\pm0.5 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$  vs  $6.62\pm0.35 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$  ( $p<0.01$ ).

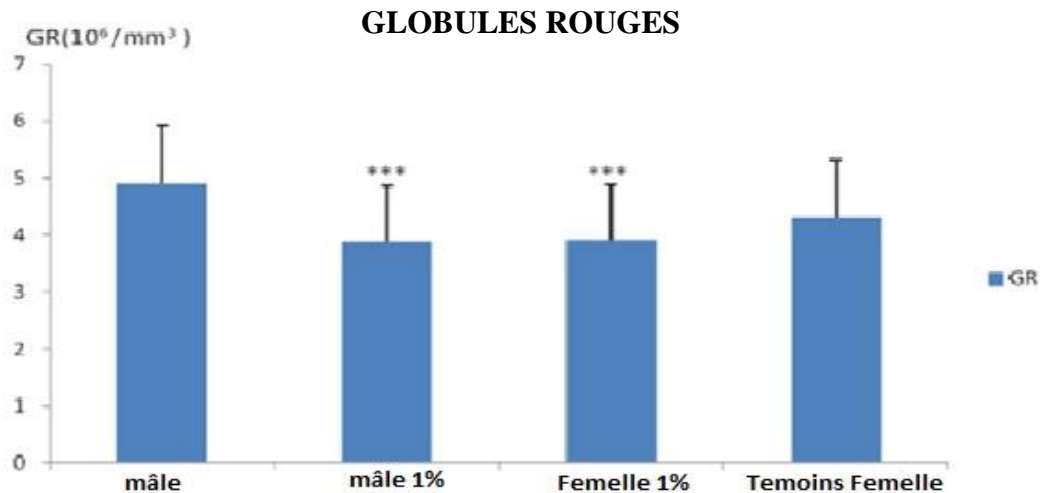
#### 3.3. Nombre de plaquettes (PL)

Le taux des plaquettes est représenté dans la figure 17. Les résultats révèlent une diminution très significative du nombre de plaquettes chez les groupes expérimentaux par rapport à celui du témoin  $0.228\pm0.02 \text{ } 10^5/\text{mm}^3$  et  $0.212\pm0.01 \text{ } 10^5/\text{mm}^3$  vs  $0.343\pm0.04 \text{ } 10^5/\text{mm}^3$  ( $p<0.01$ ).

### 4. Effet du DON sur les paramètres biochimiques sériques

#### 4.1. Teneur en albumine

Les concentrations en albumine sont présentées dans la figure 18. Les résultats montrent que les teneurs en albumine sont très significativement diminuées de 34% chez les mâles et de 30% chez les femelles traités au DON, comparées aux témoins ( $p<0,001$ ).

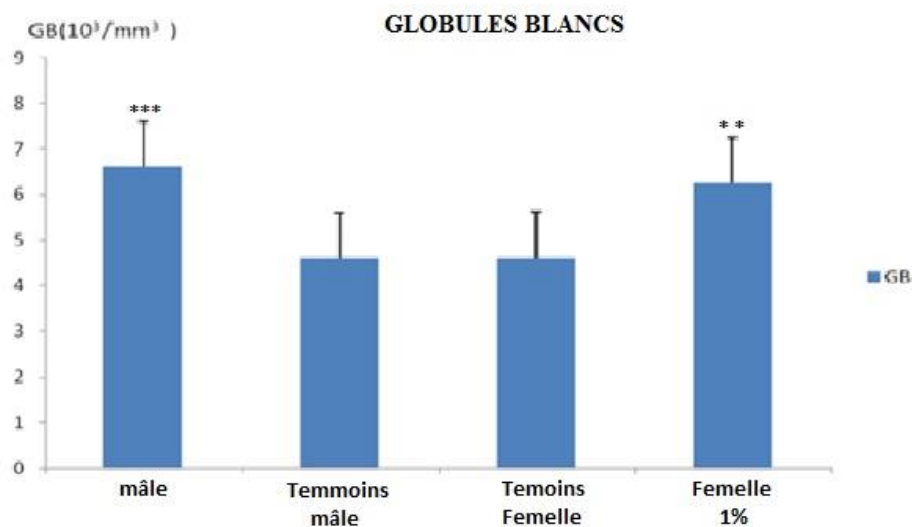


**Figure 15.** Nombre de globules rouges ( $10^6/\text{mm}^3$ ) des souris traitées pendant 13 semaines par le DON comparé à celui des souris témoins (n=10 pour chaque groupe).

Les valeurs représentées sont des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm \text{ES}$ ).

\*\* : Témoin vs les groupes expérimentaux.

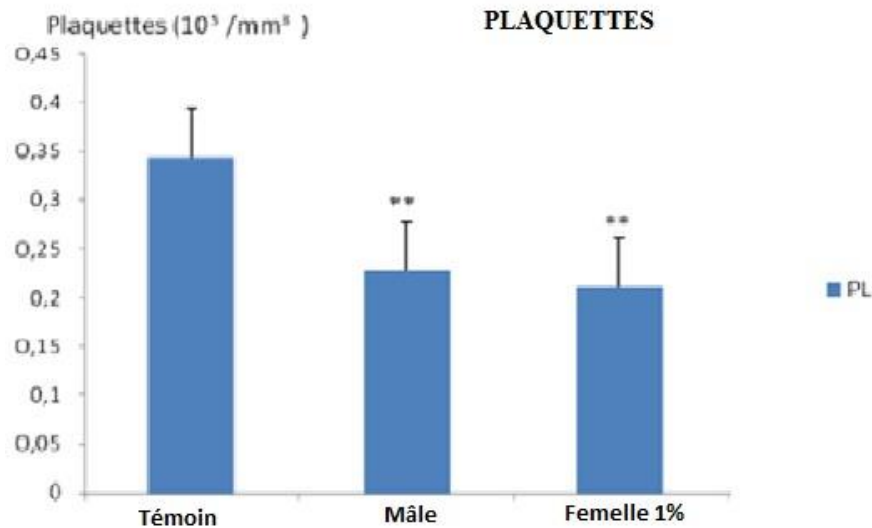
\* $p < 0.05$  ; \*\*\* $p < 0.01$ .



**Figure 16.** Nombre de globules blancs ( $10^3/\text{mm}^3$ ) des souris traitées pendant 13 semaines par le DON comparé à celui des souris témoins (n=10 pour chaque groupe).

Les valeurs représentées sont des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm \text{ES}$ ).

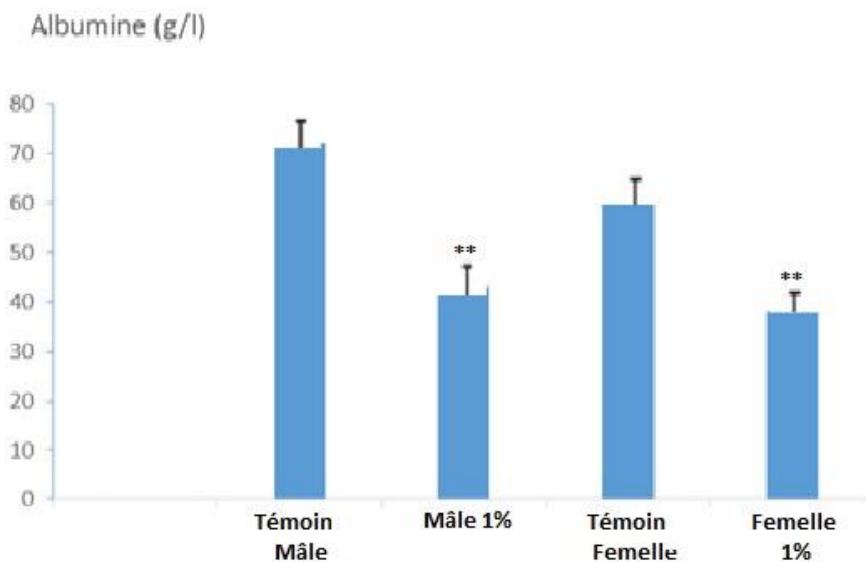
\*\* : Témoin vs les groupes expérimentaux \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.01$ .



**Figure 17.** Nombre de plaquettes ( $10^5/\text{mm}^3$ ) des souris traitées pendant 13 semaines par le DON comparé à celui des souris témoins ( $n=10$  pour chaque groupe).

Les valeurs représentées sont des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm \text{ES}$ ).

\*\* : Témoin vs les groupes expérimentaux.  $**p < 0.01$ .



**Figure 18.** Teneur en albumine (g/l) chez les souris témoins et les souris expérimentales traitées par le DON ( $n=10$ ).

Les valeurs représentées sont des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm \text{ES}$ ).

\*\* : Témoin vs les groupes expérimentaux. \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ .

On note une diminution très significative chez les deux groupes (mâles et femelles) expérimentaux comparés aux témoins ( $p < 0,001$ ).



#### **4.2. Teneur en cholestérol total**

Les teneurs en cholestérol total sont représentées dans la figure 19. Les concentrations en cholestérol total des groupes traités au DON sont significativement diminuées par rapport aux témoins. Les valeurs sont  $(3,44 \pm 0,17)$  vs  $(4,03 \pm 0,2)$  et  $(4,24 \pm 0,53)$  vs  $(5,35 \pm 0,37)$  mmol/l ( $p < 0,05$ ).

#### **4.3. Teneur en urée**

Les teneurs en urée sont représentées dans la figure 20. Les concentrations en urée sont significativement augmentées chez les souris traitées au DON par rapport aux témoins. La teneur en urée chez les souris est  $(11,77 \pm 1,13)$  vs  $(4,71 \pm 0,64)$  mmol/l. ( $p < 0,001$ ).

#### **4.4. Teneur en créatinine**

Les teneurs en créatinine sont représentées dans la figure 21. Nos résultats indiquent une augmentation significative des valeurs en créatinine chez les souris ayant ingéré du DON comparés aux témoins. Les valeurs sont  $(19,54 \pm 3,45)$  et  $(15,88 \pm 2,1)$  vs  $(6,75 \pm 1,04)$   $\mu$ mol/l ( $p < 0,001$ ).

#### **4.5. Teneur en acide urique**

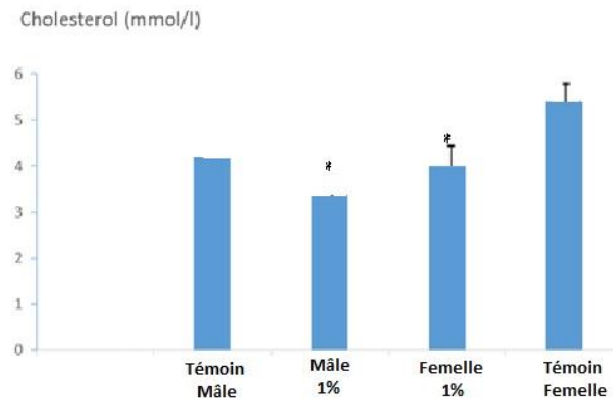
Les teneurs en acide urique sont représentées dans la figure 22. Les concentrations en acide urique sont augmentées chez tous les groupes expérimentaux comparés aux témoins. ( $p < 0,01$ )  $(49,01 \pm 1,59)$  vs  $(45,15 \pm 1,34)$  mg/l.

#### **4.6. Teneur en transaminases TGO**

Les teneurs en TGO sont représentées dans la figure 23. Les souris traitées au DON présentent des valeurs faibles en TGO par rapport aux témoins. Les valeurs en TGO chez les souris traitées au DON sont  $(316,35 \pm 14,19)$  U/l vs  $(474,82 \pm 16,72)$  comparées aux témoins ( $p < 0,05$ ).

#### 4.7. Teneur en transaminases TGP

Les teneurs en TGP sont représentées dans la figure 24. Elles présentent des valeurs diminuées chez les groupes expérimentaux comparées aux témoins. Les valeurs représentent chez les souris traitées au DON ( $316,18 \pm 20,46$ ) vs ( $571,18 \pm 16,08$ ) U/l comparées aux témoins.

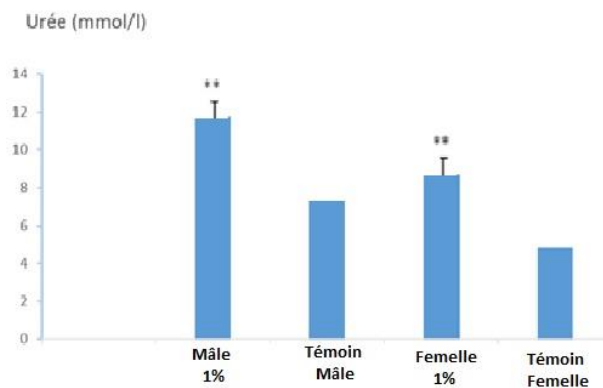


**Figure 19.** Teneur en cholestérol (mmol/l) chez les souris témoins et les souris expérimentales traitées au DON (n=10).

Les valeurs représentées sont des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm ES$ ).

\*\* : Témoin vs les groupes expérimentaux. \*  $p < 0,05$

On note une diminution significative chez les groupes traités au DON, comparés aux témoins.



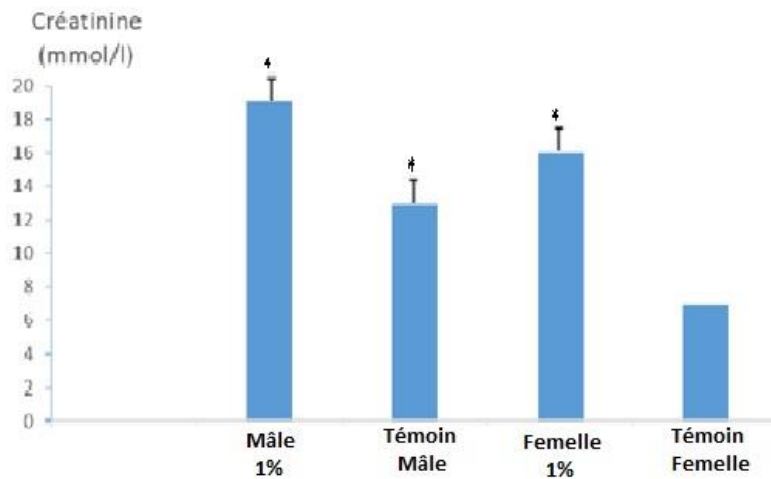
**Figure 20.** Teneur en urée sérique (mmol/l) chez les souris témoins et les souris expérimentales traitées au DON.

Les valeurs représentées sont des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm ES$ ).

\*\* : Témoin vs les groupes expérimentaux.

\*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

On note une augmentation très significative chez les groupes traités au DON comparés aux témoins. ( $p < 0,001$ ).



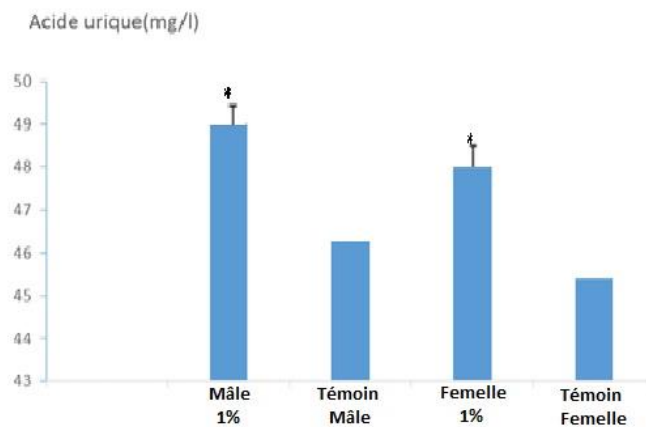
**Figure 21.** Teneur en créatinine ( $\mu\text{mol/l}$ ) chez les souris témoins et les souris expérimentales traitées au DON (n=10).

\*\* : Témoin vs les groupes expérimentaux.

\*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ .

Les valeurs représentées sont des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm \text{ES}$ ).

On note une augmentation significative chez les souris traitées au DON comparées aux témoins. ( $p < 0,001$ ).

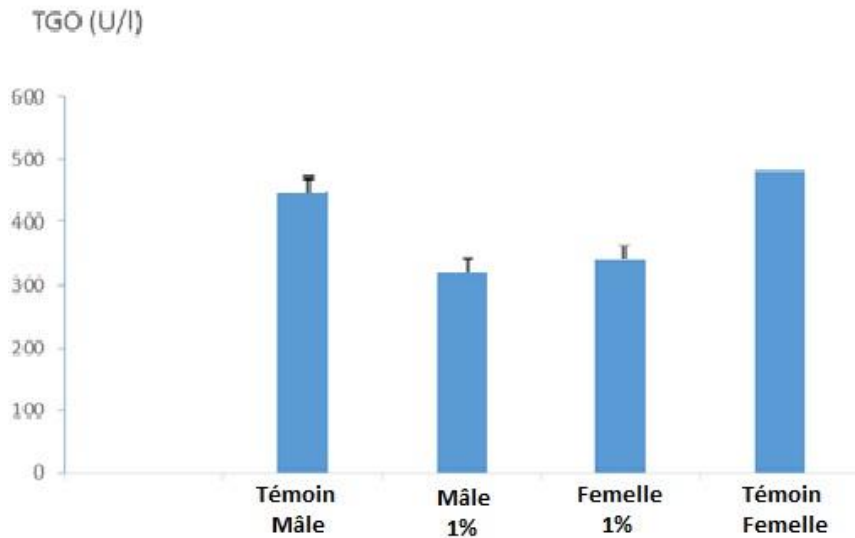


**Figure 22.** Teneur en acide urique (mg/l) chez les souris témoins et les souris expérimentales traitées au DON (n=10).

Les valeurs représentées sont des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm \text{ES}$ ).

\*\* : Témoin vs les groupes expérimentaux\*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ .

On note une augmentation significative chez tous les groupes expérimentaux comparés aux témoins. ( $p < 0,01$ ).



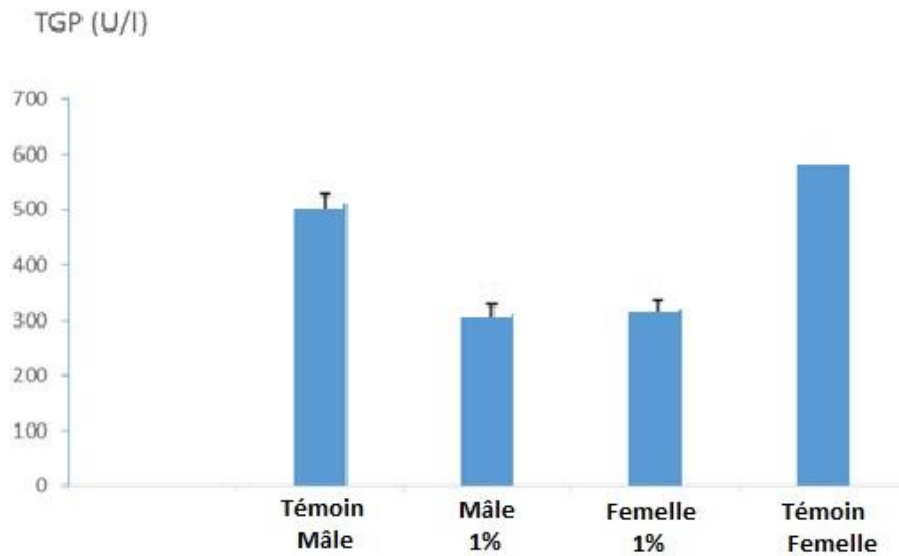
**Figure 23.** Teneur en TGO (U/l) chez les souris témoins et les souris expérimentales traitées au DON (n=10).

Les valeurs représentées sont des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm ES$ ).

\*\* : Témoin vs les groupes expérimentaux.

\*  $p < 0,05$

On note une diminution chez les groupes traités au DON comparés aux témoins.



**Figure 24.** Teneur en TGP (U/l) chez les souris témoins et les souris expérimentales traitées au DON (n=10).

Les valeurs représentées sont des moyennes et leurs erreurs standards ( $X \pm ES$ ).

\*  $p < 0,05$

\*\* : Témoin vs les groupes expérimentaux.

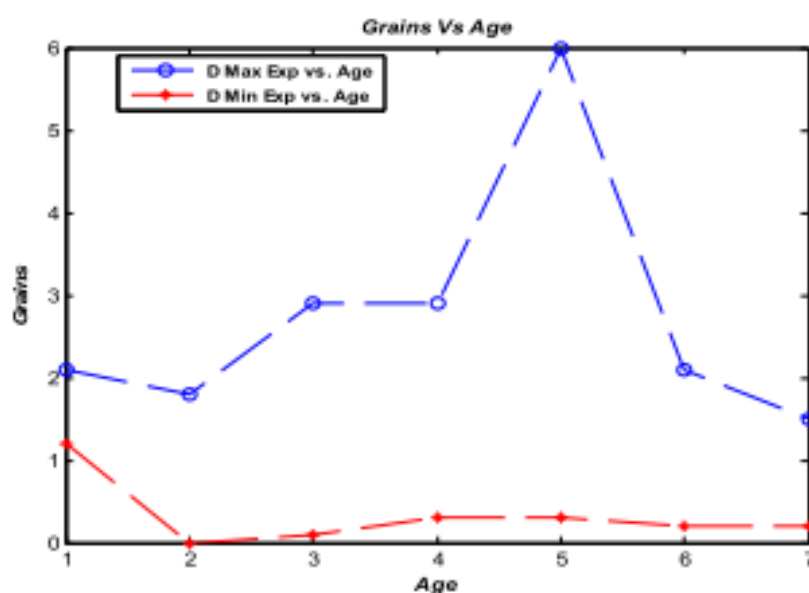
On note une diminution chez les groupes traités au DON comparés aux témoins.

## 5. Modélisation et simulation numérique

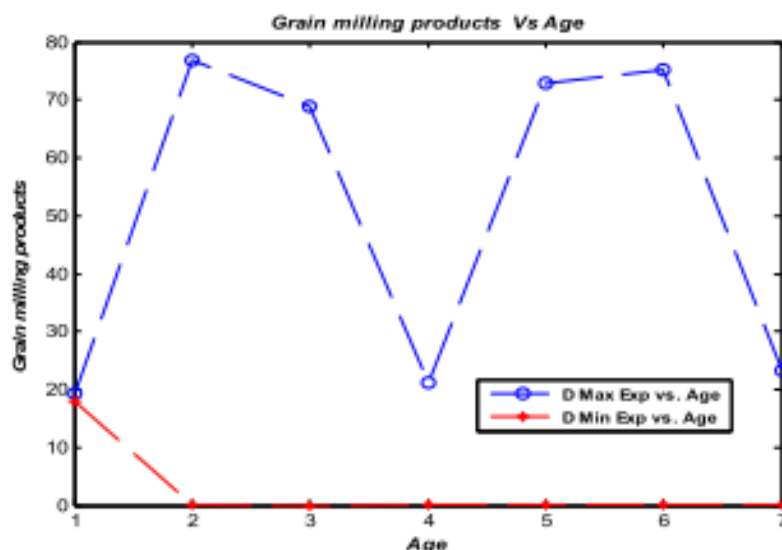
Dans notre simulation numérique, nous avons mis en œuvre les données de l'enquête menée par l'EFSA en 2013 (voir les tableaux 6, 7 et 8) dans notre programme développé par Matlab. Notre programme nous a permis d'étudier la relation entre les différents paramètres et nous a donné une grande flexibilité dans l'analyse et l'évaluation de l'effet de la consommation de DON sur le sérum et les paramètres biochimiques.

### 5.1. Principaux contributeurs à la DJA de 1 $\mu\text{g/kg}$ de poids corporel par jour :

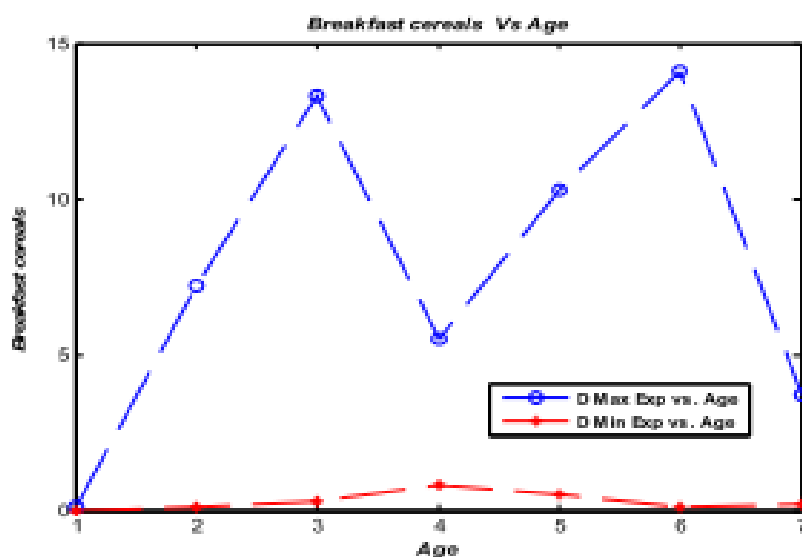
Lorsque l'on considère la population totale, huit aliments/groupes d'aliments ont été identifiés comme étant des contributeurs majeurs à au moins un groupe de la population. Les deux groupes d'aliments les plus fréquemment identifiés comme les principaux contributeurs sont "pain et les petits pains de blé" et «pâtisseries et des gâteaux." Lorsque vous considérez les zones les plus exposées de 5%, 10 nourritures/groupes alimentaires supplémentaires contribuent dans au moins un groupe de population, plus de 10% du seuil de 1  $\mu\text{g/kg}$  de poids corporel par jour. "La farine de blé, blanc" et «Pâtes, farine de blé" étaient deux d'autres aliments les plus fréquemment identifiés comme les principaux contributeurs. (Voir les figures 25- 28)



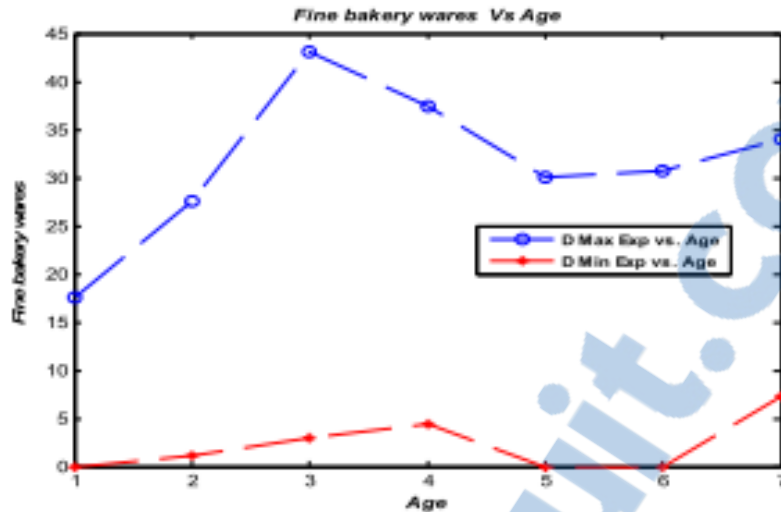
**Figure 25.** Contribution relative minimum et maximum de grains (en pourcentage) à l'ensemble limite inférieure des moyens d'exposition au DON dans les enquêtes et les groupes d'âge.



**Figure 26.** Contribution relative minimum et maximum de grains de fraisage (en pourcentage) à la limite inférieure d'ensemble des moyens d'exposition au DON dans les enquêtes et les groupes d'âge.

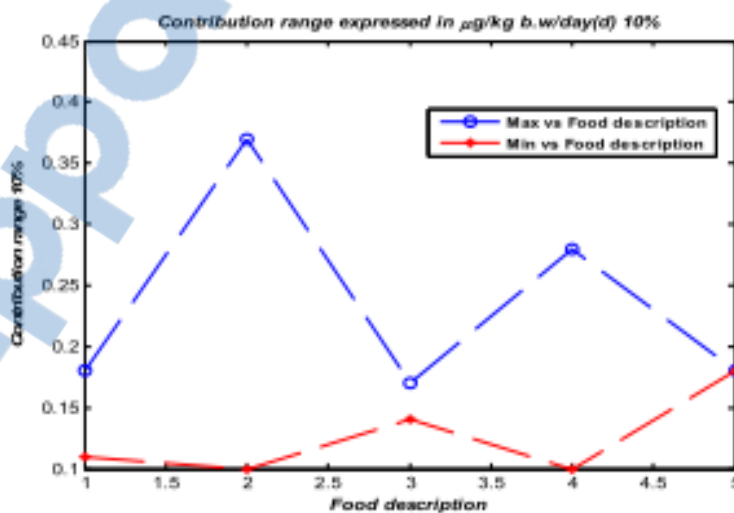


**Figure 27.** Contribution relative minimale et maximale des céréales du petit déjeuner (en pourcentage) à l'ensemble limite inférieure des moyens d'exposition au DON dans les enquêtes et les groupes d'âge.

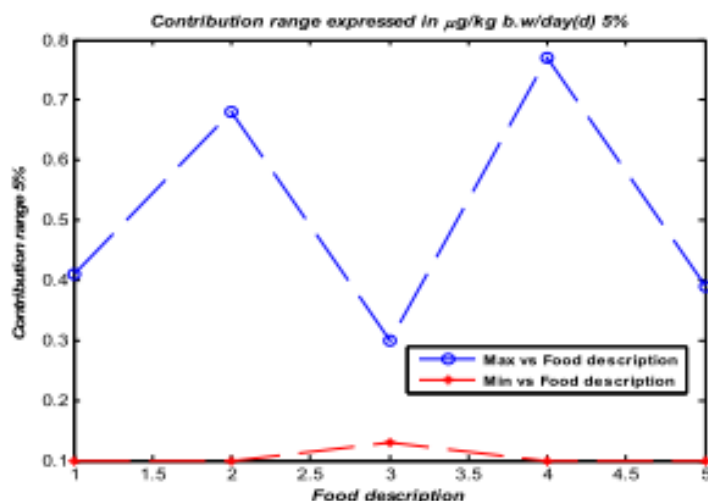


**Figure 28.** Contribution relative minimum et maximum de produits de boulangerie fine (en pourcentage) à l'ensemble limite inférieure des moyens d'exposition au DON dans les enquêtes et les groupes d'âge.

Toutefois, il convient de souligner que les données disponibles pour la farine d'avoine, porridge et aliments composés sont très limitées. Lorsque l'on considère les estimations supérieures consolidées (résultats non présentés), deux aliments supplémentaire niveaux quantifiés de DON, ont été trouvés pour contribuer à plus de 10% des 1  $\mu\text{g/kg}$  de poids corporel par jour dans au moins un groupe de population », de la bière et la bière comme une boisson ", " prêt-à-manger des repas pour les nourrissons et les jeunes enfants ". (Voir figures 29-30).



**Figure 29.** Gamme de Contribution alimentaire exprimée en mg/kg p.c/jour (d) 10%



**Figure 30.** Gamme de contribution alimentaire exprimée en mg/kg p.c/jour(d) 05%

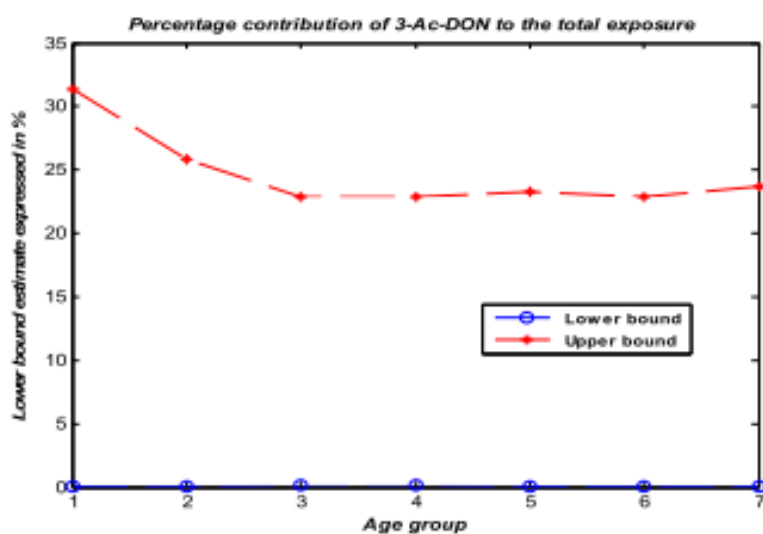
## 5.2. Contribution des dérivés du DON à l'exposition totale

Une évaluation de l'exposition à la somme de DON, 3-Ac-DON et 15-Ac- DON a été réalisée sur la base de 3.577 échantillons d'aliments, couvrant 83 groupes alimentaires / aliments. Le tableau 3 montre la contribution en pourcentage de 3-Ac-DON, 15-Ac-DON et l'exposition à la somme de 3-Ac-DON, 15-Ac-DON et les estimations de la partie inférieure et supérieure. À l'estimation de la limite inférieure, 3-Ac-DON ont été trouvés pour contribuer 0 à 0,7% de l'exposition totale et 15-Ac-DON de 0,1 à 1,7% du total de l'exposition. Pour estimer la limite supérieure, 3-Ac-DON et 15-Ac-DON ont contribué chacun à environ 20-30% de l'exposition totale. Cette grande différence entre la limite inférieure et supérieure montre l'influence de la limite de quantification dans les estimations de l'exposition.

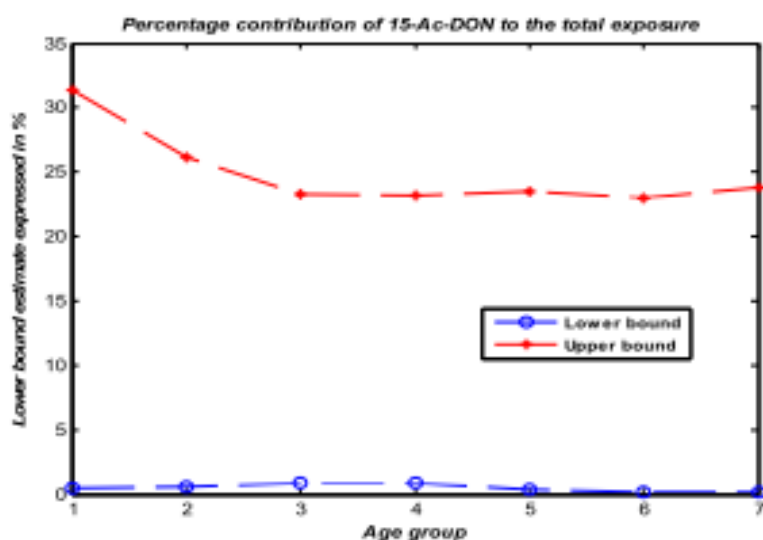
## 5.3. Les niveaux d'exposition de DON dans les différents groupes de population

La répartition des percentiles moyens de l'exposition aiguë (limite supérieure estimée) obtenue pour les nourrissons et les tout-petits, qui étaient les plus groupes de population vulnérables, est représenté sur les figures 25-30. Dans l'ensemble, le niveau moyen d'exposition aiguë des nourrissons, des tout-petits et des autres enfants variait de 0,55 (IC à 95% = 0,47-0,68) à 1,04 (IC à 95% = 0,79-1,30) µg/kg pc, le 95e centile de 1,72 (IC à 95% = 1,59-1,85) à 3,35 (IC à 95% = 1,95-6,25) µg/kg pc, selon le groupe de population. Les niveaux d'exposition aiguë des adolescents, adultes, personnes âgées et très âgées étaient inférieurs à ceux estimés pour les enfants. En fonction de la population groupe, les niveaux d'exposition aiguë moyenne variait de 0,22 (IC à 95% = 0,21 - 0,24) à 0,65 (IC à 95% = 0,62 au 0,70) µg / kg p.c .; le 95e percentile variait de 0,58 (IC à 95% = de 0,53 à 0,65) à 1,75 (IC à 95% = 1,56 à 1,95) µg/kg de poids corporel, selon le groupe d'âge (Voir les figures 31-33).

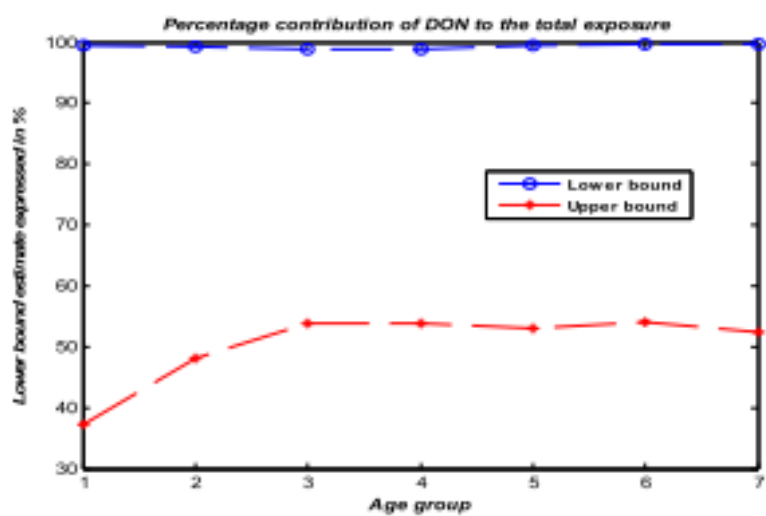




**Figure 31.** Pourcentage de la contribution de 3-Ac-DON à l'exposition totale.



**Figure 32.** Contribution en pourcentage du 15-Ac-DON à l'exposition totale.



**Figure 33.** Pourcentage de la contribution du DON à l'exposition totale.

## **CHAPITRE 4: DISCUSSION**

Le déoxynivalénol (DON) appartient au groupe des trichothécènes B. Le DON est un produit du métabolisme secondaire de certaines souches de *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. culmorum*); le développement du grain dépend du temps et est favorisé par la pluie autour de la floraison et les basses températures. Partout dans le monde, le DON est l'un des trichothécènes les plus courants. C'est souvent dans les céréales et leurs sous-produits qu'il est présent. Une enquête a montré que, dans 11 pays européens, 57% des 11.022 échantillons testés étaient contaminés par le DON (61% pour le blé, 47% d'orge, 89% pour les échantillons de maïs) à différents niveaux, avec 50 mg/kg au maximum. Cependant, seulement 7% de ces échantillons avaient au moins 0,75 mg de DON/kg. La mycotoxine reste après mouture et est résistante à la chaleur.

Notre travail a pour but d'étudier les effets toxicologiques de la consommation du DON sur le comportement et les organes chez la souris Swiss. Nous avons analysé l'impact de la consommation subchronique au cours de différentes périodes de consommation sur les paramètres hématologiques, biochimiques sériques, et sur la structure histologique de certains organes cibles (rein, foie et cerveau).

L'effet du DON sur la prise alimentaire se traduit par une diminution très significative de la consommation d'aliment chez les souris des groupes intoxiqués associée à une diminution de la consommation de la solution (DON/eau) observée chez les souris des deux groupes traités (mâles et femelles). Ce qui pourrait être dû à l'effet anorexigène associé à cette prise de solution (DON/eau).

Aussi bien chez les mâles que chez les femelles, le poids corporel augmente légèrement et de manière lente en fonction du temps. Cependant, cette augmentation est non significative tant pour les mâles que pour les femelles du groupe traité à 1% de DON ( $p < 0,05$ ) durant presque toute la durée de l'expérimentation.

Comme mentionné précédemment, l'ingestion chronique de DON à de faibles doses est associée à une anorexie, une altération de l'efficacité nutritionnelle et une croissance réduite, tandis que les fortes doses provoquent les vomissements, les saignements rectaux et la diarrhée chez le porc (Pestka et Smolinski, 2005; Rotter et al., 1996).

Les animaux nourris avec des aliments contaminés par le DON peuvent subir divers effets indésirables sur leurs systèmes nerveux, gastro-intestinal et immunitaire (Pestka and Smolinski, 2005). Parmi les animaux d'élevage, les porcs sont plus sensibles au DON que les autres espèces en raison des différences de métabolisme (Rotter et al., 1996). Il a été démontré que l'ingestion de faibles concentrations alimentaires chroniques (0,75 à 5 mg/kg d'aliments) provoque l'anorexie, diminue le gain de poids et nuit au système immunitaire, entraînant une

augmentation de l'incidence des maladies infectieuses et des troubles digestifs (Rotter et al., 1994; Swamy et al., 2003a; Döll et al., 2003; Dänicke et al., 2004d; Dänicke et al., 2005; Dänicke et al., 2007a; Pinton et al., 2008). Des doses aiguës plus élevées entraînent un refus de l'alimentation, une augmentation de la salivation, des vomissements, une diarrhée hémorragique et un choc circulatoire (Pestka and Smolinski, 2005; Pinton et al., 2008).

De même des recherches ont démontré que l'ingestion chronique de cette toxine à de faibles concentrations (1-2,5 mg/kg de nourriture) induit l'anorexie, diminue le gain de poids corporel et altère la réponse immunitaire (Rotter et al., 1994; Pinton et al., 2008). Plusieurs études *in vitro* suggèrent également que le DON induit un stress oxydatif dans différents types de cellules, y compris les entérocytes (Kouadio et al., 2005; Li et al., 2014; Yang et al., 2014). Le tractus intestinal est le principal site d'absorption du DON (Rotter et al., 1996) et sa muqueuse est particulièrement exposée au stress oxydatif induit par le DON. Bien qu'aucune information ne soit disponible pour l'effet du DON sur le statut oxydatif de la muqueuse intestinale chez les porcs, une étude a montré que l'ingestion de 2,0 mg/kg de DON peut réduire la capacité antioxydante sérique (Modra et al., 2013).

Chez le porc, espèce considérée comme la plus sensible, la consommation d'aliments contaminés (3 à 5 mg/kg de DON) peut provoquer la diminution de la croissance pondérale, des vomissements, des diarrhées, des symptômes neurologiques, des lésions dermatologiques et une réduction de la réponse vaccinale (Avantaggiato et al., 2004; D'Mello et al., 1999; Rotter et al., 1996).

Cependant aucun effet négatif n'a été détecté sur la prise alimentaire et la performance de croissance chez les animaux nourris avec un régime alimentaire contaminé avec une faible concentration de DON (< 0,5 mg/kg de DON), tandis que les animaux nourris avec une ration contenant plus de 4 mg/kg de DON manifestent de l'anorexie, une perte de croissance et des vomissements (Barnes et al., 2010; Don, 2010).

Chavez a observé que les truies nourries avec une ration contaminée par 3,3 mg/kg de DON pendant la gestation et la lactation ne présentent pas de différences dans l'apport alimentaire pendant la lactation, mais la perte de poids corporel est significativement plus élevée que chez les témoins. Il n'y avait pas non plus de différence dans le nombre des porcelets vivants au sevrage (Chavez, 1984). Pour sa part, Friend a observé qu'un aliment contenant 3,67 mg/kg et 4,21 mg/kg de DON administré à des verrats et à des cochettes, respectivement, induit des réductions de la consommation alimentaire et du gain de poids (Friend et al., 1986). De plus, l'altération de différents paramètres sanguins chez des porcs nourris de DON (Young et al., 1983; Lun et al., 1985). Cependant, ces effets sont

indissociables de l'état nutritionnel général des animaux. Par exemple, une perte du poids est une conséquence d'une prise alimentaire réduite (Young et al., 1983; Lun et al., 1985). La consommation de la nourriture contaminée induit une baisse de 9,5 % de poids corporel chez le poulet (Aravind et al., 2003).

La situation avec les rations naturellement contaminées semble plus compliquée. En effet, *F. graminearum* peut produire plusieurs autres métabolites en plus du DON et de la ZEN (Miller, 1995). Il est fort probable que les mycotoxicoses sont les résultats d'une synergie entre différentes toxines. Des mycotoxines inconnues, liées ou conjuguées, ou des agents toxiques d'autres origines pourraient aussi contribuer à la réponse des animaux (Foster et al., 1986; Prelusky et al., 1994b). Puisque l'étiologie des mycotoxicoses est due à des causes multiples, il est difficile de mettre en relation la concentration de DON présente dans une ration contaminée avec les performances attendues des élevages porcins (Foster et al., 1986; Trenholm et al., 1994), qui est le cas de l'aliment administré aux souris des groupes expérimentales et qui peut être contaminé par d'autres mycotoxines.

Nous avons relevé, lors de notre expérimentation, qu'à partir du 2<sup>ème</sup> mois de consommation subchronique de DON, les souris intoxiquées montrent une agressivité et une forte agitation en plus d'une irritation de la peau, suite à l'ingestion du déoxynivalénol, beaucoup plus chez les mâles que chez les femelles.

La deuxième partie de notre étude est consacrée à l'effet de la consommation de déoxynivalénol sur les paramètres hématologiques représentés par les globules blancs, les globules rouges et le taux des plaquettes sanguines.

Il est admis que le système hématopoïétique est une des cibles les plus sensibles aux composés toxiques et un indice important de l'état physiologique et pathologique de l'homme et l'animal (Mukinda et Syce, 2007). Les changements dans le système hématopoïétique ont une plus grande valeur prédictive pour la toxicité humaine, lorsque les données sont déduites des études réalisées sur des animaux (Olson et al., 2000). A cet égard, l'état de l'activité de la moelle osseuse et les effets intra-vasculaires ont été contrôlés par des examens hématologiques.

La production et la « survie » des globules rouges dépendent du bon fonctionnement de certains organes (moelle osseuse, etc.), mais aussi d'un apport adéquat en vitamines (B12, B9, et C) et en fer. Nos résultats indiquent une diminution très significative du nombre des globules rouges et des plaquettes, et une augmentation des globules blancs chez les animaux expérimentaux traduisant ainsi une anémie aplasique.

La diminution du taux des plaquettes des souris traitées par rapport aux témoins indique que le DON a un effet sur la production des plaquettes ou induit une thrombopénie (réduction du nombre de plaquettes dans le sang). Cet effet est parmi les preuves des effets toxiques sur l'hématopoïèse. En outre, avec une diminution du nombre de plaquettes, il y a un risque accru de saignements (Slichter, 2004).

Il a été montré en effet que la moelle osseuse peut être une cible pour certains toxiques qui peuvent détruire ses cellules produisant ainsi une diminution du nombre des globules rouges et/ ou des blancs (Robert et Buidinsky, 2000).

Cependant, Prelusky et al. (1994) ont observé des modifications épisodiques du nombre d'hématies, de plaquettes et de l'hématocrite (Prelusky et al., 1994a) en comparaison avec des animaux « pair fed ». Une augmentation du nombre de leucocytes (Rotter et al., 1994) est observée au taux de 3 mg kg<sup>-1</sup> de DON chez les porcelets.

Le DON est cytotoxique pour une variété de cellules dont les fibroblastes et les lymphocytes, avec des concentrations variées allant de 0,1 à 2 µg/mL de DON (Ueno, 1983; Abbas et al., 1984; Visconti et al., 1991).

Dans des études précédentes, les dommages d'ADN ont été identifiés dans les lymphocytes des porcs traités au DON (4 mg/kg) pendant 14 jours (Frankic et al., 2008). Les fragmentations de l'ADN dans les lymphocytes ont été découvertes chez les poulets alimentés avec les rations contaminées avec du DON (10 mg kg<sup>-1</sup>) (Awad et al., 2012).

Cependant, une synergie des différents mécanismes d'action a été aussi observée lorsque les combinaisons entre les trichothécènes tels que la toxine T-2, le diacétoxyscirpénol (DAS), le nivalénol (NIV) et le déoxynivalénol (DON) ont été testés in vitro chez les humains. En fait, le mélange des trichothécènes n'a pas causé un effet prononcé. Les combinaisons entre le nivalénol (NIV) avec la toxine T-2, le diacétoxyscirpénol (DAS) ou le déoxynivalénol (DON) ont entraîné une toxicité additive sur la prolifération des lymphocytes, tandis que les combinaisons entre le déoxynivalénol (DON) avec la toxine T-2 ou le diacétoxyscirpénol (DAS) ont montré que l'effet négatif de ces combinaisons était moins fort que celui produit par chaque mycotoxine (Thuvander et al., 1999).

La troisième partie de notre étude est consacrée à l'effet de la consommation du déoxynivalénol (DON) sur les paramètres biochimiques sériques, en particulier sur l'albumine, le cholestérol, l'urée, la créatinine, l'acide urique, les transaminases (TGO, TGP).

L'albumine représente 55 à 60% de l'ensemble des protéines du plasma. C'est le constituant majeur des protéines circulantes. Ses variations pathologiques reflétant les possibilités de biosynthèse hépatique, d'hémoconcentration et de déshydratation (Scherwin,

2003). Elle est entièrement synthétisée dans le foie, son taux physiologique normal varie de 40 à 50 g/l soit 0,5 à 0,7 mmol/l (Valdiguie, 2000).

Elle est le principal agent de la pression oncotique du plasma (elle participe de façon déterminante dans la distribution du liquide extracellulaire entre les compartiments intra et extracellulaire) (Marshall et Bangert, 2005).

Le dosage d'albumine peut nous donner un reflet général sur le fonctionnement hépatique: des concentrations abaissées en albumine sont caractéristiques des pathologies hépatiques chroniques.

L'urée est le terme ultime et principal du catabolisme protéique chez l'homme. Il se forme dans le foie et il diffuse librement à travers les membranes cellulaires. Son élimination se fait par le rein par filtration glomérulaire et sa réabsorption tubulaire partielle est passive. Le dosage de l'urée sanguin permet, avec celui de la créatinine et l'acide urique, de détecter l'insuffisance rénale (Métais et al., 1990).

Le dosage de l'urée sanguin permet, avec celui de la créatinine et l'acide urique, de détecter l'insuffisance rénale (Métais, 1990).

De même, la créatinine plasmatique est le reflet de la masse musculaire globale de l'individu et son métabolisme propre dont toute variation renseigne directement sur l'état fonctionnel du rein. De plus, la créatinine mesure directement la filtration glomérulaire (Siest, 1990).

La créatinine est strictement éliminée par les reins. Une faible partie de la créatinine produite par l'organisme est éliminée grâce au phénomène de sécrétion au niveau des tubules proximaux des reins. Son dosage est employé dans l'évaluation de la fonction rénale et plus particulièrement dans l'estimation du débit de filtration glomérulaire (Charriere et al., 2008). Cette estimation s'obtient, en pratique, par le calcul de la clearance de la créatinine.

Les données de notre expérimentation animale démontrent que le DON administré aux deux groupes de souris mâles et femelles entraîne une augmentation de taux d'albumine chez tous les groupes expérimentaux comparés aux témoins. Cette hyper-albuminémie peut être un signe biologique de déshydratation ou d'altération du métabolisme.

L'augmentation significative de l'urée des souris traitées indique généralement une atteinte glomérulaire, mais la concentration peut être aussi modifiée par une alimentation inadéquate ou une hépato-toxicité, fréquente avec de nombreux toxiques.

En ce qui concerne les transaminases, on note une diminution du taux de ces dernières chez les groupes traités qui apparemment ne traduit aucun problème.



Il a été montré que les répercussions de la consommation de DON chez le porc sur les éléments figurés du sang, le taux d'hématocrite, la teneur en hémoglobine ou les niveaux circulants de différents métabolites, hormones ou enzymes sont limitées et parfois contradictoires entre les études. Il n'y avait aucun effet de la distribution pendant 3 à 6 semaines d'aliments contenant 0,28 à 4,5 mg/kg de DON chez les porcelets sur leur formule sanguine (Harvey et al., 1989; Rotter et al., 1994; Rotter et al., 1995; Harvey et al., 1996; Accensi et al., 2006).

Cependant, Prelusky et al. (1994) ont observé des modifications épisodiques du nombre d'hématies, de plaquettes et de l'hématocrite (Prelusky et al., 1994a) en comparaison avec des animaux « pair fed ». Une augmentation du nombre de leucocytes (Rotter et al., 1994) est observée au taux de 3 mg/kg de DON chez les porcelets.

D'un autre côté, après avoir reçu 0,5 mg/kg de DON par poids vif par voie intraveineuse, la glycémie du porc a subi une brève augmentation, suivie d'une diminution particulièrement marquée six heures après l'injection. Du sang a été également détecté dans les urines du porc entre une demi-heure et quatre heures après l'injection (Coppock et al., 1985). Toutefois, dans quelques études, l'urémie et la créatinémie ne sont pas affectées avec des concentrations de DON de l'aliment allant de 0,28 à 1,9 mg/kg (Lun et al., 1985; Chavez et Rheume, 1986; Harvey et al., 1989; Prelusky et al., 1994a; Trenholm et al., 1994; Harvey et al., 1996; Dänicke et al., 2004d; Accensi et al., 2006). Par contre, une réduction des protéines et de l'albumine sérique de porcs consommant un mélange contenant 3,5 mg/kg de DON entre 21 et 101 kg de poids vif (Bergsjö et al., 1993), et pour des doses similaires, une réduction du taux des protéines et d' $\alpha$ -globuline (Prelusky et al., 1994a; Rotter et al., 1994) et de  $\beta$ -globuline (Rotter et al., 1995) sont signalées. Ces modifications pourraient être liées à la diminution de la synthèse des protéines provoquée par le DON (Eriksen et Pettersson, 2004; Rotter et al., 1995). Néanmoins, une baisse des concentrations plasmatiques de calcium et de phosphore et une augmentation des chlorures ont été notées, mais dans d'autres essais, les concentrations en ions du plasma ne sont pas affectées significativement par la présence de DON dans l'aliment (Prelusky et al., 1994a; Accensi et al., 2006; Diaz-Llano et Smith, 2006). L'activité des diverses enzymes hépatiques tels que l'aspartate aminotransférase (ASAT), la glutamate déshydrogénase (GDH) et la  $\gamma$ -glutamyltransférase ( $\gamma$ -GT) n'est pas affectée non plus par des concentrations de DON allant jusqu'à 4 mg/kg d'aliment (Lun et al., 1985; Prelusky et al., 1994a; Harvey et al., 1996; Dänicke et al., 2004d; Accensi et al., 2006; Diaz-Llano et Smith, 2006). Une concentration de 3 mg/kg de DON augmente le

niveau circulant de l'hormone thyroïdienne T4, alors que celui de la T3 serait inchangé (Rotter et al., 1994).

Cependant, les résultats des coupes histologiques des organes cibles (le foie, les reins et le cerveau) des souris intoxiqués au déoxynivalénol et leurs poids absolu ou relatif montrent :

Chez les mâles, aucune différence significative signalée pour le poids absolu du cerveau par contre une augmentation très significative du poids absolu du foie contrairement au poids des reins, qui ont significativement diminué chez le groupe traité par le déoxynivalénol.

Par ailleurs, chez les femelles, le poids absolu du cerveau a significativement diminué, contrairement aux poids absolus des reins et du foie qui n'ont pas subi de changement significatif.

Chez les souris mâles traitées à 1% de DON, le poids relatif du cerveau est comparable à celui du témoin, en revanche celui du rein est significativement diminué ( $p<0,01$ ) par rapport au témoin. Par contre on note une augmentation significative ( $p<0,05$ ) du poids relatif du foie du groupe traité à 1% par rapport à celui du groupe témoin.

L'examen microscopique des coupes histologiques réalisées au niveau des organes (foie, reins, et cerveau) des souris traitées pendant 13 semaines avec le déoxynivalénol à raison de 1%, révèle une action toxique due au DON qui semble être sévère. Cette analyse histologique de l'architecture tissulaire des reins a mis en évidence un rétrécissement de l'espace de Baumann, une réduction de la lumière des tubes contournés, une hyperplasie des cellules par endroit et une dilatation des veines arciformes au niveau des jonctions corticomédulaires. Sur le plan cytologique, des noyaux pycnotiques apparaissent comme des corps arrondis de couleurs sombres, l'enveloppe nucléaire se rompt et la chromatine anormale se fragmente. On retrouve de petites particules de couleur sombre, constitué de matériel nucléaire dénaturé que l'on retrouve dans les cellules, c'est le phénomène de caryorrhexie.

On observe un infarctus rénal récent, des cellules mourantes au fur et à mesure qu'elles se rapprochent de la couche desquamante, avec des noyaux pycnotiques. Dans la plupart des cas les contours cellulaires restent discernables bien que tous les éléments constitutifs de la cellule soient morts.

Au niveau des coupes histologiques du foie, l'examen a révélé des modifications au niveau de l'architecture tissulaire. L'observation microscopique réalisée sur des foies révèle l'action toxique sévère de la mycotoxine administrée à une dose de 1%. Cette toxicité se traduit par des hépatocytes présentant un début de dégénérescence hydrique. Le cytoplasme

de ces cellules mortes présente une éosinophilie homogène et cette éosinophilie peut s'expliquer par la perte d'ARN basophile des ribosomes de l'ergoplasme altéré, de la désorganisation des mitochondries et de révélation de groupement acidophiles libérés par la lyse protéique. Ces rayons des cellules mortes plus foncées, aux contours plus au moins définis, sont dits pycnotiques.

La cytotoxicité directe est connue pour étant la cause fondamentale des dommages du foie dans certains cas, tandis que dans d'autres, les mécanismes immunologiques ou même un mélange de cytotoxicité et d'immunogénicité peuvent être impliqués (Ingwale et al., 2009). Cette anomalie dans le foie et le tissu rénal pourrait être due à la présence de métabolites ou résidus de DON. Au niveau hépatique les métabolites sont formés non seulement dans les hépatocytes mais aussi dans les cellules endothéliales qui sont particulièrement sensibles. Il en résulte une atteinte vasculaire prédominante, secondairement responsable de la nécrose hépatocytaire.

Il est admis que le DON inhibe la synthèse de protéines dans des cellules ovariennes de hamster chinois in vitro dans la même plage de dose que celle induisant des effets clastogènes (Hsia et al., 1988; Leatherman et Middlebrook, 1993, cité dans IARC, 1993; Eriksen et Alexander, 1998).

Des études sur des animaux expérimentaux ont montré des effets sur le système immunitaire, notamment sur les IgA. Il existe des indications pour la suppression de l'immunité humorale et cellulaire, ce qui a pour résultat d'induire une susceptibilité accrue aux maladies infectieuses, comme le montrent des études expérimentales avec des souris (citées dans Deijns et al., 1994; Eriksen et Alexander, 1998). Les enquêtes périnatales concernant le système immunitaire ne sont pas disponibles.

Lors d'une autre étude, à des faibles doses, la cytotoxicité du DON est en lien avec des altérations subtiles des fonctions des tissus et organes, telles que les couches épithéliales de l'intestin, du foie et des reins, mais aussi les systèmes nerveux, reproducteur et immunitaire (Smith et al., 1995; Peraica et al., 1999; Bondy et Pestka, 2000; Bennett et Klich, 2003; Campbell et al., 2004; Fung et Clark, 2004; Bouhet et Oswald, 2005; Fuchs et Peraica, 2005; Rocha et al., 2005; Richard, 2007; Zinedine et al., 2007).

Prelusky et Trenholm (1991) ont évalué les résidus de DON détectables dans les muscles, le foie et les reins. La demi-vie tissulaire a été évaluée suite à une administration intraveineuse unique de DON chez le porc. Les niveaux de contamination observés étaient 2 à 10 fois supérieurs dans le foie par rapport aux muscles, et 3 à 20 fois supérieures dans le rein par rapport aux muscles.

Ainsi, il a été démontré que la présence de ZEN dans les rations contenant du maïs contaminés au DON pourrait également influencer directement les performances de croissance chez les porcelets en raison de l'effet positif du ZEN sur le poids de certains organes cibles comme le foie et les reins (Jiang et al., 2011).

Le rein, le foie, l'urine et la bile sont des réservoirs importants pour le DON. Aucun cycle entéro-hépatique n'a été observé sur le profil de distribution. D'autres tissus tels que le tissu adipeux, le poumon, les surrénales, la rate et les testicules contiennent des concentrations élevées de DON. La décroissance des concentrations tissulaires et plasmatiques était rapide. La majorité des organes ne retenait que des traces de toxine, 24 heures après l'administration de DON (Prelusky et Trenholm, 1991).

Chez la plupart des animaux, les études indiquent une faible absorption de la fumonisine B1 (FB1) et une distribution rapide dans tous les tissus et majoritairement dans le foie et les reins. Il y a peu de preuves que les fumonisines soient métabolisées. Elles sont éliminées via la bile sans être métabolisées. Une partie peut être retenue dans le foie et les reins.

Alors que les coupes histologiques du cerveau révèlent l'action toxique sévère du DON à dose de 1% reflétée par une nécrose de liquéfaction, avec une forme et le pourtour du noyau sont légèrement irréguliers et désorganisés.

Dans une étude, il a été démontré qu'après une injection intraveineuse, le DON atteint les organes les plus irrigués tels que les poumons, le myocarde, les reins et le cerveau. Prelusky et al. (1990) ont constaté que le DON traverse rapidement la barrière hémato-encéphalique parce que les paramètres cinétiques de DON dans le liquide céphalo-rachidien reflètent généralement le profil du plasma (Prelusky et al., 1990).

Plusieurs recherches ont démontré que cette toxine peut induire des changements de la concentration des neurotransmetteurs spécifiques du cerveau chez le porc, dont on soupçonne fortement la médiation de certaines conditions physiologiques, tels que le comportement alimentaire (Prelusky, 1994; Rotter et al., 1996).

Dans la dernière partie de notre expérimentation, nous avons réalisé une approche numérique afin de mettre en valeur des données d'une enquête menée par EFSA en 2013 dans notre programme développé par MATLAB. Cette simulation nous a permis d'étudier la corrélation entre plusieurs paramètres à savoir :

- Les aliments contribuant à plus de 10% de DON dans notre alimentation.
- La contribution des 3-Ac-DON et 15-Ac-DON dans l'exposition totale au DON.
- Les niveaux d'exposition de DON à travers les différentes classes d'âges.

Comparée aux autres régions du monde l'exposition aux mycotoxines est différente en Afrique du Nord et au Moyen-Orient. Ces chiffres ne peuvent pas être un reflet de la réalité pour changer les habitudes alimentaires, les conditions de stockage de la matière première (le blé, les céréales ....) qui favorisent la contamination, et la cuisson des aliments.

Il a été démontré qu'il y a plusieurs facteurs influençant la contribution et l'exposition à la mycotoxine DON, notamment:

- Les conditions socio-économiques, le niveau de vie sociale (pauvres et malnutris), le régime alimentaire qui peut consister exclusivement en blé de mauvaise qualité, et le procédé de cuisson étant donné les propriétés physico-chimiques de cette toxine.
- Le poids, l'âge et la santé des consommateurs, la pureté de la toxine ou la présence de ses métabolites peuvent influencer la contribution à l'exposition.
- Les conditions de stockage et de conservation qui favorisent la croissance des moisissures et donc la production de mycotoxines et même le climat de certaines régions.

La différence des habitudes alimentaires d'une population à une autre et l'âge de la classe consommatrice sont des facteurs, à prendre en considération pour mieux détecter les aliments les plus incriminés dans l'apport du DON ou ses métabolites.

Notre simulation numérique couronne les recherches expérimentales toxicologiques et permet d'orienter les recherches en réduisant l'effort, même dans les cas où il y a une synergie de différentes mycotoxines.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre travail a été réalisé selon deux approches complémentaires. La première partie a été consacrée à l'étude de l'impact de la consommation subchronique du déoxynivalénol sur certains paramètres biochimiques sériques, hématologiques et sur l'architecture tissulaire des organes cibles (foie, rein et cerveau) chez la souris Swiss.

La deuxième partie a été dédiée à une simulation numérique avec pour objectif de mieux évaluer l'exposition à cette toxine à travers les différentes classes d'âges et selon le type d'aliment qui est largement consommé.

Les résultats de l'étude toxicologique subchronique réalisée au cours de la première partie ont montré une réduction de la prise alimentaire, du poids vif et de la performance de croissance chez les souris Swiss qui ont été traitées au DON. De même qu'il a été observé chez cette population d'animaux des altérations sévères de l'architecture histologique des reins, du foie et du cerveau.

Par ailleurs, le DON a modifié les paramètres biochimiques sériques et hématologiques.

La simulation numérique réalisée par le MATLAB dans la deuxième partie de ce travail, a permis de préciser les aliments les plus incriminés dans l'apport du DON, en tenant compte du nombre de paramètres influençant notre apport alimentaire ainsi que notre exposition à cette toxine, à savoir: les habitudes alimentaires, l'âge, le sexe, les conditions de stockage et même le climat de certaines régions.

Les analyses des données permettent déduire que nos habitudes alimentaires nous prédisposent à constituer une population plus exposée au déoxynivalénol et à ses métabolites surtout que notre régime alimentaire se base très largement sur la consommation de blé et de ses dérivés (pain, couscous, ...)

L'ensemble des résultats de ces recherches permet d'améliorer la compréhension des mécanismes d'action du déoxynivalénol et d'identifier les aliments les plus incriminés dans l'apport du DON ou de ses métabolites. Ce qui sans doute aurait des implications sur la prévention, l'amélioration des conditions d'entreposage des grains, la sensibilisation du consommateur sur les habitudes alimentaire adéquates et la réduction des pertes économique.

Les résultats obtenus nous amènent à nous poser également des questions sur le temps d'exposition au DON ou à ses métabolites (3-acétyl-DON, 15-acétyl-DON) ainsi que sur son interaction avec d'autres mycotoxines contaminants les mêmes aliments.

La toxicité comparée et les études toxicocinétiques chez les rongeurs et le porc qui est l'animal le plus sensible au DON, pourraient permettre de mieux comprendre les différences entre les espèces.

Il serait par conséquent intéressant de prévoir dans nos perspectives :

- D'évaluer la cytotoxicité et la génotoxicité de la vomitoxine.

Et dans un but préventif :

- D'étudier les microorganismes de la flore intestinale des espèces les moins sensibles et leurs capacités dans la lutte contre le DON.



## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Abbas, H. K., W. T. Shier, et C. J. Mirocha. 1984.** Sensitivity of cultured human and mouse fibroblasts to trichothecenes. *J Assoc Off Anal Chem* 67: 607-610.
- Accensi, F., P. Pinton, P. Callu, N. Abella-Bourges, J. F. Guelfi, F. Grosjean, et I. P. Oswald. 2006.** Ingestion of low doses of deoxynivalenol does not affect hematological, biochemical, or immune responses of piglets. *J Anim Sci* 84: 1935-1942.
- ACIA. 2012.** Rg-8 directives réglementaires: Contaminants dans les aliments du bétail (anciennement RG-1, chapitre 7)
- Atroshi, F., I. Biese, H. Saloniemi, T. Ali-Vehmas, S. Saari, A. Rizzo, et P. Veijalainen. 2000.** Significance of apoptosis and its relationship to antioxidants after ochratoxin an administration in mice. *J Pharm Pharm Sci* 3: 281-291.
- Avantaggiato, G., R. Havenaar, et 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., K. Ghareeb, A. Dadak, L. Gile, K. Staniek, M. Hess, et J. Bohm. 2012.** Genotoxic effects of deoxynivalenol in broiler chickens fed low-protein feeds. *Poult Sci* 91: 550-555.
- Azcona-Olivera, J.I., Ouyang, Y., Murtha, J., Chu, F.S. and Pestka, J.J. 1995.** Induction of cytokine mRNAs in mice after oral exposure to the trichothecene vomitoxin (deoxynivalenol): relationship to toxin distribution and protein synthesis inhibition. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 133(1): 109-20.
- Barnes, J. A., J. M. DeRouchey, M. D. Tokach, R. D. Goodband, S. S. Dritz, et J. L. Nelssen. 2010,** Effects of vomitoxin concentration in nursery pig diets and the effectiveness of commercial products to mitigate its effects. In: *Swine day 2010 - Report of progress* 1038, Kansas State University. p 79-85.
- Battaccone, G., Nudda, A., and Pulin, G. 2010.** Effects of ochratoxin A on livestock production. *Toxins* 2(7): 1796-1824
- Bauer, J., W. Bollwahn, M. Gareis, B. Gedek, et K. Heinritzi. 1985.** Kinetic profiles of diacetoxyscirpenol and two of its metabolites in blood serum of pigs. *Appl Environ Microbiol* 49: 842-845.
- Bennett, J. W., et M. Klich. 2003.** Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev* 16: 497-516.
- Bergsjø B., Langseth W., Nafstad I., Høgset Jansen J., and Larsen H.J.S. 1993.** *Vet. Res. Commun.*, 17, 283.
- Bergsjø B., Matre T., and Nafstad I. 1992.** *J. Vet. Med. Assoc.*, 39, 752.
- Berthiller F, Crews C, Dall'Asta C, De Saeger SD, Haesaert G, Karlovsky P, Oswald IP, Seefelder W, Speijers G, Stroka J, 2013.** Masked mycotoxins: a review. *Mol Nutr Food Res*. 2013 Jan;57(1):165-86.

- Bhat R.V., Shetty P.H., Amruth R.P., Sudershan R.V. 1997.** A foodborne disease outbreak due to the consumption of moldy sorghum and maize containing fumonisin mycotoxins, J. Toxicol. Clin. Toxicol., 35:249-255.
- Bhat, R.V., Beedu, S.R., Ramakrishna, Y. and Munshi, K.L. 1989.** Outbreak of trichothecene mycotoxicosis associated with consumption of mould-damaged wheat production in Kashmir Valley, India. *Lancet.*, 1(8628): 35-7.
- Bhatnagar, D., J. Yu, et K. C. Ehrlich. 2002.** Toxins of filamentous fungi. *Chem Immunol* 81: 167-206.
- Blout, W. P. 1961.** Turkey "X" Disease. *Turkeys* 9. 52, 55-58, 61, 77.
- Bondy, G. S., et J. J. Pestka. 2000.** Immunomodulation by fungal toxins. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 3: 109-143.
- Bottalico, A., et G. Perrone. 2002.** Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *Eur J Plant Pathol* 108: 611-624.
- Bouaziz, C., S. Abid-Essefi, A. Bouslimi, E. El Golli, et H. Bacha. 2006.** Cytotoxicity and related effects of T-2 toxin on cultured vero cells. *Toxicon* 48: 343-352.
- Bouhet, S., et I. P. Oswald. 2005.** The effects of mycotoxins, fungal food contaminants, on the intestinal epithelial cell-derived innate immune response. *Vet Immunol Immunopathol* 108: 199-209.
- Bryden, W.L., 2007.** Mycotoxins in the food chain: human health implications. *Asia Pac J Clin. Nutr.* 16 Suppl 1, 95-101.
- Calvert, T. W., K. E. Aidoo, A. G. Cetlish, et A. R. Fuat. 2005.** Comparison of *in vitro* cytotoxicity of *Fusarium* mycotoxins, deoxynivalenol, T-2 toxin and zearalenone on selected human epithelial cell lines. *Mycopathologia* 159: 413-419.
- Campbell, A. W., J. D. Thrasher, M. R. Gray, et A. Vojdani. 2004.** Mold and mycotoxins: Effects on the neurological and immune systems in humans. *Adv Appl Microbiol* 55: 375-406.
- CAST (2003).** Mycotoxins: Risks in plant, Animal, and Human Systems. *Task Force report No. 139*. Ames, Iowa, USA.
- CAST Report 2003.** Council for Agricultural Science and Technology. *Mycotoxins: Risks in plant, Animal, and Human Systems*. Ames, IA, USA.
- Castegnaro M., Pfohl-Leskowicz A. 2002.** Mycotoxines contaminants omniprésents dans l'alimentation animal et humaine. In : Manfred Moll et Nicole Moll. Sécurité alimentaire du consommateur. Partie XVII. 2ème ed. Paris. Tec et doc.Lavoisier. P. 127-162.
- Chavez, E. R. 1984.** Vomitoxin-contaminated wheat in pig diets: Pregnant and lactating gilts and weaners. *Can J Anim Sci* 64: 717-723.

- Chavez, E. R., et J. A. et Rheume. 1986.** The significance of the reduced feed consumption observed in growing pigs fed vomitoxin-contaminated diets. *Can J Anim Sci* 66: 277-287.
- Chu, F. S. 1998.** Mycotoxins - occurrence and toxic effect. Dans: M. Sadler, J. J. Strain et B. Caballero (eds.) *Encyclopedia of human nutrition*. p. 858-869. Academic Press, New York, N.Y.
- Chung, Y.J., Yang, G.H., Islam, Z., Pestka, J.J., 2003.** Up-regulation of macrophage inflammatory protein-2 and complement 3A receptor by the trichothecenes deoxynivalenol and satratoxin G. *Toxicology* 186, 51-65.
- Chung, Y.J., Zhou, H.R. and Pestka, J.J. 2003.** Transcriptional and posttranscriptional roles for p38 mitogen-activated protein kinase in upregulation of TNF-alpha expression by deoxynivalenol (vomitoxin). *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 193(2): 188-201.
- Coppock, R. W., S. P. Swanson, H. B. Gelberg, G. D. Koritz, W. E. Hoffman, W. B. Buck, et R. F. Vesonder . 1985.** Preliminary study of the pharmacokinetics and toxicopathy of deoxynivalenol (vomitoxin) in swine. *Am J Vet Res* 46: 169-174.
- Cote, L. M., W. Buck, et E. Jeffery. 1987.** Lack of hepatic microsomal metabolism of deoxynivalenol and its metabolite, DOM-1. *Food Chem Toxicol* 25: 291-295.
- Creppy, E. E. 2002.** Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol Lett* 127: 19-28.
- Dänicke, S., H. Valenta, et S. Döll. 2004b.** On the toxicokinetics and the metabolism of deoxynivalenol (DON) in the pig. *Arch Anim Nutr* 58: 169-180.
- Dänicke, S., H. Valenta, F. Klobasa, S. Döll, M. Ganter, et G. Flachowsky 2004d.** Effects of graded levels of *Fusarium* toxin contaminated wheat in diets for fattening pigs on growth performance, nutrient digestibility, deoxynivalenol balance and clinical serum characteristics. *Arch Anim Nutr* 58: 1-17.
- Dänicke, S., M. Gareis, et J. Bauer. 2001.** Orientation values for critical concentrations of deoxynivalenol and zearalenone in diets for pigs, ruminants, and gallinaceous poultry. *Proc Soc Nutr Physiol* 10: 171-174.
- Dänicke, S., T. Goyarts, H. Valenta, E. Razzazi, et J. Böhm. 2004a.** On the effects of deoxynivalenol (DON) in pig feed on growth performance, nutrients utilization and DON metabolism. *J Anim Feed Sci* 13: 539-556.
- Dänicke, S., H. Valenta, S. Döll, M. Ganter, et G. Flachowsky. 2004c.** On the effectiveness of a detoxifying agent in preventing fusariotoxicosis in fattening pigs. *Anim Feed Sci Technol* 114: 141-157.
- Dänicke, S., H. Valenta, et S. Matthes. 2007.** On the interactions between *Fusarium* toxin-contaminated wheat and nonstarch polysaccharide hydrolyzing enzymes in diets of broilers on performance, intestinal viscosity, and carryover of deoxynivalenol. *Poult Sci* 86: 291-298.

**Deijns AJ, Egmond HP van, Speijers GAJ, Loveren H van, 1994.** Immunotoxiciteit van natuurlijke toxinen. Een literatuur overzicht. RIVM-rapport 388802007, pp 16-17. Rijks Instituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven.

**Dersjant-Li Y., Verstegen M.W.A., and Gerrits W.J.J. 2003,** *Nutr. Res. Rev.*, 16, 223.

**Desjardins, A. E. 2006.** *Fusarium* mycotoxins: Chemistry, genetics, and biology. APS Press, St-Paul, Minnesota, USA.

**Diaz-llano G., and Smith T.K. 2006,** *J. Anim. Sci.*, 84, 2361.

**D'Mello, J. P. F., Placinta, C. M., and MacDonald, A. M. C. 1999.** *Fusarium* mycotoxins: A review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Anim Feed Sci Technol*, 80, 183-205.

**Döll, S., et S. Dänicke. 2011.** The *Fusarium* toxins deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) in animal feeding. *Prev Vet Med* 102: 134-145.

**Döll, S., S. Dänicke, K. H. Ueberschar, H. Valenta, U. Schnurrbusch, M. Ganter, F. Klobasa, et G. Flachowsky. 2003.** Effects of graded levels of *Fusarium* toxin contaminated maize in diets for female weaned piglets. *Arch Tierernähr* 57: 311-334.

**EFSA. 2004.** Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to deoxynivalenol (DON) as undesirable substance in animal feed EFSA J No. 73. p 1-41. European Food Safety Authority.

**Ehrlich, K.C. and Daigle, K.W. 1987.** Protein synthesis inhibition by 8-oxo-12, 13 epoxytrichothecenes. *Biochim. Biophys. Acta*, 923(2): 206-13.

**Erber, E., et E. M. Binder. 2004.** Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. Dans: The 5th Korea Feed Ingredient Association International Symposium, Seoul, Korea. p 21-45.

**Eriksen, G. S., H. Pettersson, et J. E. Lindberg. 2003.** Absorption, metabolism and excretion of 3-acetyl DON in pigs. *Arch Tierernähr* 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 Tierernähr* 56: 263-274.

**Eriksen, G.S. and Pettersson, H. 2004.** "Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed." *Anim. Feed Sci. Technol.* 114, 205-239.

**Etienne M., Oswald I.P., Bony S., Lallès J.P., Pinton P., Trépier B., and Lessard M. 2006.** *Journées Rech. Porcine*, 38, 233.

**Etienne, M. and Waché, Y. 2008.** Biological and physiological effects of deoxynivalenol (DON) in the pig. In *Mycotoxins in Farm Animals*, Oswald, I.P. and Taranu, I., Eds. Research Signpost: Kerala, pp 113-130.

- Fink-Gremmels, J., et H. Malekinejad. 2007.** Biochemical mechanisms and clinical effects associated with exposure to the mycoestrogen zearalenone. Dans: D. P. Morgavi et R. T. Riley (eds.) *Fusarium* and their toxins: Mycology, occurrence, toxicity, control and economic impact. Anim Feed Sci Technol.
- Fioramonti, J., C. Dupuy, J. Dupuy, et L. Bueno. 1993.** The mycotoxin, deoxynivalenol, delays gastric emptying through serotonin-3 receptors in rodents. J Pharmacol Exp Ther 266: 1255-1260.
- Forsell, J. H., M. F. Witt, J. H. Tai, R. Jensen, et J. J. Pestka. 1986.** Effects of 8-week exposure of the B6C3F1 mouse to dietary deoxynivalenol (vomitoxin) and zearalenone. Food Chem Toxicol 24: 213-219.
- Forsell, J.H., Jensen, R., Tai, J.H., Witt, M., Lin, W.S. and Pestka, J.J. 1987.** Comparison of acute toxicities of deoxynivalenol (vomitoxin) and 15-acetyldeoxynivalenol in the B6C3F1 mouse. Food. Chem. Toxicol., 25(2): 155-62.
- Forsyth D.M., Yoshizawa T., Morooka N., and Tuite J. 1977,** Appl. Environ. Microbiol., 34, 547.
- Forsyth, D. M., T. Yoshizawa, N. Morooka, et J. Tuite. 1977.** Emetic and refusal activity of deoxynivalenol to swine. Appl Environ Microbiol 34: 547-552.
- Fossati, P. and Prencipe, L. 1982.** Serum Triglycerides Determined Colorimetrically with an Enzyme that Produces Hydrogen Peroxide. Clinical Chemistry, 28, 2077-2080.
- Foster B.C., Trenholm H.L., Friend D.W., Thomson B.K., and Hartin K.E. 1986,** Can. J. Anim. Sci., 66, 1149.
- Frankic T., Voljc M., Salobir J., & Rezar V. 2009.** Use of herbs and spices and their extracts in animal nutrition. Acta Argiculturae Slovenica. 94:95–102.
- Friend D.W., Thomson B.K., Trenholm H.L., Hartin K.E., and Prelusky D.B. 1986,** Can. J. Anim. Sci., 66, 229.
- Friend D.W., Trenholm H.L., Fiser P.S., Thomson B.K., and Hartin K.E. 1983.** Can. J. Anim. Sci., 63, 689.
- Friend D.W., Trenholm H.L., Thomson B.K., Fiser P.S., and Hartin K.E. 1986.** Can. J. Anim. Sci., 66, 765.
- Friend, D. W., H. L. Trenholm, B. K. Thompson, P. S. Fiser, et K. E. Hartin. 1986.** Effect of feeding diets containing deoxynivalenol (vomitoxin)-contaminated wheat or corn on the feed consumption, weight gain, organ weight and sexual development of male and female pigs. Can J Anim Sci 66: 765-775.
- Fuchs, R., et M. Peraica. 2005.** Ochratoxin A in human kidney diseases. Food Addit Contam 22 Suppl 1: 53-57.

- Fung, F., et R. F. Clark. 2004.** Health effects of mycotoxins: A toxicological overview. *J Toxicol Clin Toxicol* 42: 217-234.
- Galligan, J. J. 2002.** Ligand-gated ion channels in the enteric nervous system. *Neurogastroenterol Motil* 14: 611-623.
- Gareis, M., J. Bauer, et J. Gedek. 1987.** On the metabolism of the mycotoxin deoxynivalenol in the isolated perfused rat liver. *Mycotoxin Res* 3: 25-32.
- Gelderblom, W. C. et al. 1988.** Fumonisin-novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl Environ Microbiol* 54: 1806-1811.
- Germolec, D.R., 2004.** Sensitivity and predictivity in immunotoxicity testing: immune endpoints and disease resistance. *Toxicol. Lett.* 149, 109-114.
- Glenn, A. E. 2007.** Mycotoxigenic *Fusarium* species in animal feed. Dans: D. P. Morgavi et R. T. Riley (eds.) *Fusarium and their toxins: Mycology, occurrence, toxicity, control and economic impact*. No. 137. p 213-240. *Anim Feed Sci Technol*.
- Goldblatt, L. 1961.** Aflatoxin: Scientific background, control, and implications. Academic Press, New York, N.Y.
- Goto, T., D. T. Wicklow, et Y. Ito. 1996.** Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by a sclerotium-producing *aspergillus tamarii* strain. *Appl Environ Microbiol* 62: 4036-4038.
- Goyarts T., Danicke S., Rothkotter H.J., Spilke J., Tiemann U., and Schollenberger M. 2005,** *J. Vet. Med., A* 52, 305.
- Gray, J.S. and Pestka, J.J. 2007.** "Transcriptional regulation of deoxynivalenol-induced IL-8 expression in human monocytes." *Toxicol Sci* 99(2), 502-11.
- Greenhalgh, R., D. Levandier, W. Adams, J. D. Miller, B. A. Blackwell, A. J. McAlees, et A. Taylor. 1986.** Production and characterization of deoxynivalenol and other secondary metabolites of *Fusarium culmorum* (cmi 14764; hlx 1503). *J Agric Food Chem* 34: 98-102.
- Grosjean F., Callu P., Pinton P., Skiba F., Barrier-Guillot B., and Oswald I. 2003.** *Journées Rech. Porcine*, 35, 443.
- Grosjean F., Taranu I., Skiba F., Callu P., and Oswald I. 2002,** *Journées Rech. Porcine*, 34, 333.
- Grove, J. F. 1988.** Non-macrocytic trichothecenes. *Nat Prod Rep* 5: 187-209.
- Harvey, R. B., L. F. Kubena, W. E. Huff, D. E. Corrier, D. E. Clark, et T. D. Phillips. 1989.** Effects of aflatoxin, deoxynivalenol, and their combinations in the diets of growing pigs. *Am J Vet Res* 50: 602-607.
- Harvey, R. B., L. F. Kubena, W. E. Huff, D. E. Corrier, G. E. Rottinghaus, et T. D. Phillips. 1990.** Effects of treatment of growing swine with aflatoxin and T-2 toxin. *Am J Vet Res* 51: 1688-1693.

**Harvey, R. B., L. F. Kubena, M. H. Elissalde, G. E. Rottinghaus, et D. E. Corrier. 1994.** Administration of ochratoxin A and T-2 toxin to growing swine. *Am J Vet Res* 55: 1757-1761.

**Harvey, R. B., T. S. Edrington, L. F. Kubena, M. H. Elissalde, H. H. Casper, G. E. Rottinghaus, et J. R. Turk. 1996.** Effects of dietary fumonisin B1-containing culture material, deoxynivalenol-contaminated wheat, or their combination on growing barrows. *Am J Vet Res* 57: 1790-1794.

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

**He, Young L.G., and Forsberg C. 1993,** *J. Anim. Sci.*, 71, 963.

**Henry, M. H. 2006.** Mycotoxins in feeds: CMV's perspective. FDA U.S. Food et Drug Administration, Austin, Texas.

**IARC 1993.** Toxins derived from *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* and *F. Crookwellense*: zearalenone, deoxynivalenol, nivalenol and fusarenone X. - IARC. Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum., 56: 397-444.

**Iordanov, M.S., Pribnow, D., Magun, J.L., Dinh, T.H., Pearson, J.A., Chen, S.L. and Magun, B.E. 1997.** Ribotoxic stress response: activation of the stress-activated protein kinase JNK1 by inhibitors of the peptidyl transferase reaction and by sequence-specific RNA damage to the alpha-sarcin/ricin loop in the 28S rRNA. *Mol. Cell Biol.*, 17(6): 3373-81.

**Islam, Z., Moon, Y.S., Zhou, H.R., King, L.E., Fraker, P.J. and Pestka, J.J. 2002.** Endotoxin potentiation of trichothecene-induced lymphocyte apoptosis is mediated by upregulation of glucocorticoids. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 180(1): 43-55.

**Islam, Z., King, L.E., Fraker, P.J. and Pestka, J.J. 2003.** Differential induction of glucocorticoid-dependent apoptosis in murine lymphoid subpopulations in vivo following coexposure to lipopolysaccharide and vomitoxin (deoxynivalenol). *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 187(2): 69-79.

**Islam, Z., Gray, J.S. and Pestka, J.J. 2006.** p38 Mitogen-activated protein kinase mediates IL-8 inductions by the ribotoxin deoxynivalenol in human monocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 213(3): 235-44.

**Islam, Z., Gray, J.S. and Pestka, J.J. 2006.** p38 Mitogen-activated protein kinase mediates IL-8 induction by the ribotoxin deoxynivalenol in human monocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 213(3): 235-44.

**Islam, Z., King, L.E., Fraker, P.J. and Pestka, J.J. 2003.** Differential induction of glucocorticoid-dependent apoptosis in murine lymphoid subpopulations in vivo following coexposure to lipopolysaccharide and vomitoxin (deoxynivalenol). *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 187(2): 69-79.

**Islam, Z., Moon, Y.S., Zhou, H.R., King, L.E., Fraker, P.J. and Pestka, J.J. 2002.** "Endotoxin potentiation of trichothecene-induced lymphocyte apoptosis is mediated by up-regulation of glucocorticoids." *Toxicol Appl Pharmacol* 180(1), 43-55.



- Iverson, F., Armstrong, C., Nera, E., Truelove, J., Fernie, S., Scott, P., Stapley, R., Hayward, S. and Gunner, S. 1995.** Chronic feeding study of deoxynivalenol in B6C3F1 male and female mice. *Teratog. Carcinog. Mutagen.*, 15(6): 283-306.
- Jacela, J. Y., J. M. DeRouchey, M. D. Tokach, R. D. Goodband, J. L. Nelssen, D. G. Renter, et S. S. Dritz. 2010.** Feed additives for swine: Fact sheets - flavors and mold inhibitors, mycotoxin binders, and antioxidants. *J Swine Health Prod* 18: 27-32.
- JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives) 2007.** Discussion paper on déoxynivalenol. 38th session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants, Beijing, China, 16-20 April.
- JECFA, 2001.** Deoxynivalenol. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 56th report. Safety evaluation of certain mycotoxins in food. WHO Food Additives Series 47. WHO, Geneva, p. 419-556.
- Jia, Q., Zhou, H.R., Shi, Y. and Pestka, J.J. 2006.** Docosahexaenoic acid consumption inhibits deoxynivalenol-induced CREB/ATF1 activation and IL-6 gene transcription in mouse macrophages. *J. Nutr.*, 136(2): 366-72.
- Jiang, S. Z., Yang, Z. B., Yang, W. R., Gao, J., Liu, F. X., Broomhead, J., and Chi, F. 2011.** Effects of purified zearalenone on growth performance, organ size, serum metabolites, and oxidative stress in postweaning gilts. *J Anim Sci*, 89, 3008-3015.
- Kabak, Baris & Anthi Revithiadou. 2009.** An interface account to prosodic word recursion. In Grijzenhout & Kabak (2009), 105-134
- Karlovsky, P. 2011.** Biological detoxification of the mycotoxin deoxynivalenol and its use in genetically engineered crops and feed additives. *Appl Microbiol Biotechnol*, **91**, 491-504.
- Kinser, S., Jia, Q., Li, M., Laughter, A., Cornwell, P., Corton, J.C. and Pestka, J. 2004.** Gene expression profiling in spleens of deoxynivalenol-exposed mice: immediate early genes as primary targets. *J. Toxicol. Environ. Health A*, 67(18): 1423-41.
- Klich, M. A., E. J. Mullaney, C. B. Daly, et J. W. Cary. 2000.** Molecular and physiological aspects of aflatoxin and sterigmatocystin biosynthesis by *Aspergillus tamaris* and *A. ochraceoroseus*. *Appl Microbiol Biotechnol* 53: 605-609.
- Knasmuller, S., Bresgen, N., Kassie, F., Mersch-Sundermann, V., Gelderblom, W., Zohrer, E. and Eckl, P.M. 1997.** Genotoxic effects of three *Fusarium* mycotoxins, fumonisin B1, moniliformin and vomitoxin in bacteria and in primary cultures of rat hepatocytes. *Mutat. Res.*, 391(1-2): 39-48.
- Kollarczik, 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.

- Kouadio, J. H., S. D. Dano, S. Moukha, T. A. Mobio, et E. E. Creppy. 2007.** Effects of combinations of *Fusarium* mycotoxins on the inhibition of macromolecular synthesis, malondialdehyde levels, DNA methylation and fragmentation, and viability in Caco-2 cells. *Toxicon* 49: 306-317.
- Krska, R., E. Welzig, et H. Boudr. 2007.** Analysis of *Fusarium* toxins in feed. Dans: D. P. Morgavi et R. T. Riley (eds.) *Fusarium* and their toxins: Mycology, occurrence, toxicity, control and economic impact. No. 137. p 241-264. *Anim Feed Sci Technol*.
- Leonov, A.N. 1977.** Current view of the chemical nature of factors responsible for alimentary toxic aleukia. Mycotoxin in human and animal health. Rodricks, J.V., Hesseltine, C.W. and Mehlman, M.A. Park Forest South, Illinois, Pathotox Publishers: 323-328.
- Li, D., Y. Ye, S. Lin, L. Deng, X. Fan, Y. Zhang, X. Deng, Y. Li, H. Yan et Y. Ma. 2014.** Evaluation of deoxynivalenol-induced toxic effects on DF-1 cells *in vitro*: cell-cycle arrest, oxidative stress, and apoptosis. *Environ Toxicol Pharmacol* 37: 141-149.
- Logrieco, A., G. Mule, A. Moretti, et A. Bottalico. 2002.** Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. *Eur J Plant Pathol* 108: 597-609.
- Lun, A. K., L. G. Young, et J. H. Lumsden. 1985.** The effects of vomitoxin and feed intake on the performance and blood characteristics of young pigs. *J Anim Sci* 61: 1178-1185.
- Marasas, W. F. O., P. E. Nelson, et T. A. Toussoun. 1984.** Toxigenic *Fusarium* species: Identify and mycotoxicology. The Pennsylvania State University Press, University Park, PA.
- Maresca, M., et J. Fantini. 2010.** Some food-associated mycotoxins as potential risk factors in humans predisposed to chronic intestinal inflammatory diseases. *Toxicon* 56: 282-294.
- Marin, D. E., Pistol, G. C., Neagoe, I. V., Calin, L., and Taranu, I. 2013.** Effects of zearalenone on oxidative stress and inflammation in weanling piglets. *Food and Chemical Toxicology*, **58**, 408-415.
- Marin, D.E., Taranu, I., Pascale, F., Lionide, A., Burlacu, R., Bailly, J.D., Oswald, I.P., 2006.** Sex-related differences in the immune response of weanling piglets exposed to low doses of fumonisin extract. *Br. J. Nutr.* 95, 1185-1192.
- Marpegan, M.R., Perfumo, C.J., Godoy, H.M., Sala de Miguel, M., Diaz, E. and Risso, M.A. 1988.** Feed refusal of pigs caused by *Fusarium* mycotoxins in Argentina. *Zentralbl. Veterinarmed. A*, 35(8): 610-6.
- Matthaus, K., S. Danicke, W. Vahjen, O. Simon, J. Wang, H. Valenta, K. Meyer, A. Strumpf, H. Ziesenib, et G. Flachowsky. 2004.** Progression of mycotoxin and nutrient concentrations in wheat after inoculation with *Fusarium culmorum*. *Arch Anim Nutr* 58: 19-35.
- Mattsson, J. L. 2007.** Mixtures in the real world: The importance of plant self-defense toxicants, mycotoxins, and the human diet. *Toxicol Appl Pharmacol* 223: 125-132.

- Mbandi, E. and Pestka, J.J. 2006.** "Deoxynivalenol and satratoxin G potentiate proinflammatory cytokine and macrophage inhibitory protein 2 induction by *Listeria* and *Salmonella* in the macrophage." *J Food Prot* 69(6), 1334-9.
- Meky, F. A., P. C. Turner, A. E. Ashcroft, J. D. Miller, Y. L. Qiao, M. J. Roth, et C. P. Wild. 2003.** Development of a urinary biomarker of human exposure to deoxynivalenol. *Food Chem Toxicol* 41: 265-273.
- Merhej, J. 2010.** Mécanismes moléculaires contrôlant la biosynthèse de mycotoxines par le champignon micromycète *Fusarium graminearum*, Université Bordeaux 1, Bordeaux.
- Miller, J. D., A. Taylor, et R. Grenhalgh. 1983.** Production of deoxynivalenol and related compounds in liquid culture by *Fusarium graminearum*. *Can J Microbiol* 29: 1171-1178.
- Miller, J. D., R. Greenhalgh, Y. Z. Wang, et M. Lu. 1991.** Trichothecene chemotype of three *Fusarium* species. *Mycologia* 83: 121-130.
- Miller, J. D. 1995.** Fungi and mycotoxins in grain: Implications for stored product research. *J Stored Prod Res* 31: 1-16.
- Miquel, M. C., M. B. Emerit, A. Nosjean, A. Simon, P. Rumajogee, M. J. Brisorgueil, E. Doucet, M. Hamon, et D. Vergé. 2002.** Differential subcellular localization of the 5-HT<sub>3</sub>-A5 receptor subunit in the rat central nervous system. *Eur J Neurosci* 15: 449-457.
- Modra, H., J. Blahova, P. Marsalek, T. Banoch, P. Fictum, and M. Svoboda. 2013.** The effects of mycotoxin deoxynivalenol (DON) on haematological and biochemical parameters and selected parameters of oxidative stress in piglets. *Neuro Endocrinol Lett* 34 Suppl 2: 84-89.
- Moon, Y., Pestka, J.J., 2002.** Vomitoxin-induced cyclooxygenase-2 gene expression in macrophages mediated by activation of ERK and p38 but not JNK mitogen-activated protein kinases. *Toxicol. Sci.* 69, 373-382.
- Moore, C.J., Blaney, B.J., Spencer, R.A. and Dodman, R.L. 1985.** Rejection by pigs of mouldy grain containing deoxynivalenol. *Aust. Vet. J.*, 62(2): 60-2.
- Morgavi, D. P., et R. T. Riley. 2007.** An historical overview of field disease outbreaks known or suspected to be caused by consumption of feeds contaminated with *Fusarium* toxins. Dans: D. P. Morgavi et R. T. Riley (eds.) *Fusarium* and their toxins: Mycology, occurrence, toxicity, control and economic impact No. 137. p 201-212. *Anim Feed Sci Technol*.
- Morooka, N., Uratsuji, N., Yoshizawa, T. and Yamamoto, H. 1972.** Studies on the toxic substances in barley infected with *Fusarium* spp. *Jpn J. Food Hyg.*, 13: 368-375.
- Morrissey, R.E. and Vesonder, R.F. 1985.** Effect of deoxynivalenol (vomitoxin) on fertility, pregnancy, and postnatal development of Sprague-Dawley rats. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49(5): 1062-6.
- Niderkorn, V., Boudra, H., Morgavi, D.P. 2006.** Binding of *Fusarium* mycotoxins by fermentative bacteria *in vitro*. *J. Appl. Microbiol.*, 101: 849-856.

- Oswald, I.P., Marin, D.E., Bouhet, S., Pinton, P., Taranu, I., Accensi, F., 2005.** Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals. *Food Addit. Contam.* 22, 354-360.
- Osweiler, G. D. 2000.** Mycotoxins. Contemporary issues of food animal health and productivity. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 16: 511-530.
- Osweiler, G. D. 2006.** Occurrence of mycotoxins in grains and feeds. In: B. E. Straw, J. J. Zimmermann, S. D'Allaire et D. J. Taylor (eds.) *Diseases of swine*. p 915-929. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, Englet.
- Ouyang, Y.L., Azcona-Olivera, J.I., Murtha, J. and Pestka, J.J. 1996.** Vomitoxin-mediated IL-2, IL-4, and IL-5 superinduction in murine CD4+ T cells stimulated with phorbol ester calcium ionophore: relation to kinetics of proliferation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 138(2): 324-34.
- Øvernes G., Matre T., Sivertsen T., Larsen H.J.S., Langseth W., Reitan L.J., and Jansen J.H. 1997,** *J. Vet. Med.*, A44, 539.
- Peraica, M., B. Radic, A. Lucic, et M. Pavlovic. 1999.** Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bull World Health Organ* 77: 754-766.
- Pestka, J.J. and Smolinski, A.T. 2005.** Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.*, 8(1): 39-69.
- Pestka, J.J., Zhou, H.R., Moon, Y. and Chung, Y.J. 2004.** Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes: unraveling a paradox. *Toxicol. Lett.*, 153(1): 61-73.
- Pestka, J.J. 2003.** Deoxynivalenol-induced IgA production and IgA nephropathy-aberrant mucosal immune response with systemic repercussions. *Toxicol. Lett.*, 140-141: 287- 95.
- Pestka, J. J. 2007.** Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and health risks. Dans: D. P. Morgavi et R. T. Riley (eds.) *Fusarium and their toxins: Mycology, occurrence, toxicity, control and economic impact* No. 137. p 283-298. *Anim Feed Sci Technol*.
- Pestka, J. J. 2010.** Deoxynivalenol: mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. *Arch Toxicol*, **84**, 663-679.
- Pestka, J.J. 2008.** Mechanisms of deoxynivalenol-induced gene expression and apoptosis. *Food Addit. Contam.*: 1-13.
- Pestka, J.J. and Smolinski, A.T. 2005.** Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.*, 8(1): 39-69.
- Pestka, J.J., Yan, D. and King, L.E. 1994.** Flow cytometric analysis of the effects of in vitro exposure to vomitoxin (deoxynivalenol) on apoptosis in murine T, B and IgA+ cells. *Food Chem. Toxicol.*, 32(12): 1125-36.

- Peterson, S. W., Ito, Y., Horn, B.W., et Goto, T. 2001.** *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic species and generic variation in its sibling species, *A. nomius*. *Mycologia* 93: 689-703.
- Pineiro, M. 2003.** Mycotoxins: Natural toxins of agricultural and health significance. *Forum Nutr* 56: 409-412.
- Pinton, P., Accensi, F., Beauchamp, E., Cossalter, A.M., Callu, P., Grosjean, F., Oswald, I.P., 2008.** Ingestion of deoxynivalenol (DON) contaminated feed alters the pig vaccinal immune responses. *Toxicol. Lett.* 177, 215-222.
- Prelusky D.B., Gerdes R.G., Underhill K.L., Rotter B.A., Jui P.Y., and Trenholm H.L. 1994,** *Nat. Toxins*, 2, 97.
- Prelusky, D. B., K. E. Hartin, et H. L. Trenholm. 1990.** Distribution of deoxynivalenol in cerebral spinal fluid following administration to swine and sheep. *J Environ Sci Health B* 25: 395-413.
- 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., et H. L. Trenholm. 1993.** The efficacy of various classes of anti-emetics in preventing deoxynivalenol-induced vomiting in swine. *Nat Toxins* 1: 296-302.
- Prelusky, D. B., et H. L. Trenholm. 1992.** Non-accumulation of residues in swine tissue following extended consumption of deoxynivalenol-contaminated diets *J Food Sci* 57: 801-802.
- Prelusky, D. B. 1994.** The effect of deoxynivalenol on serotonergic neurotransmitter levels in pig blood. *J Environ Sci Health B* 29: 1203-1218.
- Richard, J. L. 2007.** Some major mycotoxins and their mycotoxicoses - An overview. *Int J Food Microbiol* 119: 3-10.
- Risso, M.A. 1988.** Feed refusal of pigs caused by *Fusarium* mycotoxins in Argentina. *Zentralbl. Veterinarmed. A*, 35(8): 610-6.
- Rocha, O., K. Ansari, et F. M. Doohan. 2005.** Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: A review. *Food Addit Contam* 22: 369-378.
- Rotter B.A., Thomson B.K., Lessard M., Trenholm H.L., and Tryphonas H. 1994,** *Fundam. Appl. Toxicol.*, 23, 117.
- Schothorst, R.C. and van Egmond, H.P. 2004.** "Report from SCOOP task 3.2.10 "collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU member states". Subtask: trichothecenes." *Toxicol Lett* 153(1), 133-43.
- SCOOP, 2003.** Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake of the population of EU member states. Directorate-general health and consumer protection. Available: <http://europa.eu.int:comm/food:fs:scoop:task3210.pdf> (Accessed Avr 20, 2009).

- SCOOP, 2008.** Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake of the population of EU member states. Directorate-general health and consumer protection. Available at <http://europa.eu.int:comm/food/fs/scoop/task3210.pdf>, 2003; accessed October 20.
- Scott, P. M. 1991.** Possibilities of reduction or elimination of mycotoxins present in cereal grains. In: J. Chelkowski (ed.) *Cereal grain. Mycotoxins, fungi and quality in drying and storage*. p 529-572. Elsevier, Amsterdam.
- Sirot V, Fremy JM, Leblanc JC, 2013.** Dietary exposure to mycotoxins and health risk assessment in the second French total diet study. *Food Chem Toxicol.*, 52, 1-11.
- Smith, J. E., G. Solomons, C. Lewis, et J. G. Etersson. 1995.** Role of mycotoxins in human and animal nutrition and health. *Nat Toxins* 3: 187-192; discussion 221.
- Stoev, S.D., Goundasheva, D., Mirtcheva, T. and Mantle, P.G. 2000.** Susceptibility to secondary bacterial infections in growing pigs as an early response in ochratoxicosis. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 52(4): 287-96.
- Streit E, Schatzmayr G, Tassis P, Tzika E, Marin D, Taranu I, Tabuc C, Nicolau A, Aprodu I, Puel O and Oswald I, 2012.** Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in animal feed – focus on Europe. *Toxins* 4, 788 – 809.
- Sugita-Konishi, Y. and Pestka, J.J. 2001.** Differential upregulation of TNF-alpha, IL-6, and IL-8 production by deoxynivalenol (vomitoxin) and other 8-ketotrichothecenes in a human macrophage model. *J. Toxicol. Environ. Health A*, 64(8): 619-636.
- Sugita-Konishi, Y., Park, B.J., Kobayashi-Hattori, K., Tanaka, T., Chonan, T., Yoshikawa, K. and Kumagai, S. 2006.** "Effect of cooking process on the deoxynivalenol content and its subsequent cytotoxicity in wheat products." *Biosci Biotechnol Biochem* 70(7), 1764-8.
- Sundstol Eriksen, G., Pettersson, H. and Lundh, T. 2004.** Comparative cytotoxicity of deoxynivalenol, nivalenol, their acetylated derivatives and de-epoxy metabolites. *Food. Chem. Toxicol.*, 42(4): 619-24.
- Swamy, H. V., T. K. Smith, E. J. MacDonald, N. A. Karrow, B. Woodward, et H. J. Boermans. 2003.** Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on growth and immunological measurements of starter pigs, and the efficacy of a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent. *J Anim Sci* 81: 2792-2803.
- Swanson, S.P., Helaszek, C., Buck, W.B., Rood, H.D., Jr. and Haschek, W.M. 1988.** The role of intestinal microflora in the metabolism of trichothecene mycotoxins. *Food. Chem. Toxicol.*, 26(10): 823-9.
- Tecott, L. H., A. V. Maricq, et D. Julius. 1993.** Nervous system distribution of the serotonin 5-HT3 receptor mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 1430-1434.

**Thuvander, A., C. Wikman, et I. Gadhasson. 1999.** *In vitro* exposure of human lymphocytes to trichothecenes: Individual variation on sensitivity and effects of combined exposure on lymphocyte function. *Food Chem Toxicol* 37: 639-648.

**Trenholm H.L., Foster B.C., Charmley L.L., Thomson B.K., Hartin K.E., Coppock R.W., and Albassam M.A. 1994,** *Can. J. Anim. Sci.*, 74, 361.

**Tutelyan, V.A. 2004.** Deoxynivalenol in cereals in Russia. *Toxicol. Lett.*, 153(1): 173-9.

**Ueno, Y. and Fukushima, K. 1968.** Inhibition of protein and DNA syntheses in Ehrlich ascites tumour by nivalenol, a toxic principle of *Fusarium nivale*-growing rice. *Experientia*, 24(10): 1032-3.

**Ueno, Y. 1983.** General toxicology. Dans: Y. Ueno (ed.) *Developments in food science iv*, trichothecenes chemical, biological and toxicological aspects. p. 135-146. Elsevier, Amsterdam.

**Ueno, Y. 1985.** The toxicology of mycotoxins. *CRC Crit Rev Toxicol* 14: 99-132.

**Ueno, Y. 1988.** Toxicology of trichothecene mycotoxins. *ISI Atlas Sci-Pharm* 2: 121-124.

**Ueno, Y. 1984.** "Toxicological features of T-2 toxin and related trichothecenes." *Fundam Appl Toxicol* 4(2 Pt2), S124-32.

**Vanyi, A., R. Glavits, E. Gajdacs, G. Sandor, et F. Jovacs. 1991.** Changes induced in newborn piglets by the trichothecene toxin T-2. *Acta Veterinaria Hungarica* 39: 29-37.

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

**Vesonder, R. F., A. Ciegler, A. H. Jensen, W. K. Rohwedder, et D. Weisleder. 1976.** Co-identity of the refusal and emetic principle from *Fusarium*-infected corn. *Appl Environ Microbiol* 31: 280-285.

**Vidal, D.R. 1990.** Propriétés immunosuppressives des mycotoxines du groupe des trichothécènes. *Bull. Inst. Pasteur*, 88: 159-192.

**Visconti, A., F. Minervini, G. Lucivero, et V. Gambatesa. 1991.** Cytotoxic and immunotoxic effects of *Fusarium* mycotoxins using a rapid colorimetric bioassay. *Mycopathologia* 113: 181-186.

**Wong, S.S., Zhou, H.R., Marin-Martinez, M.L., Brooks, K. and Pestka, J.J. 1998.** Modulation of IL-1beta, IL-6 and TNF-alpha secretion and mRNA expression by the trichothecene vomitoxin in the RAW 264.7 murine macrophage cell line. *Food Chem. Toxicol.*, 36(5): 409-19.

**Worrell, N. R., A. K. Mallett, W. M. Cook, N. C. Baldwin, et M. J. Shepherd. 1989.** The role of gut micro-organisms in the metabolism of deoxynivalenol administered to rats. *Xenobiotica* 19: 25-32.

- Wu, Q., V. Dohnal, L. Huang, K. Kuca, et Z. Yuan. 2010.** Metabolic pathways of trichothecenes. *Drug Metab Rev* 42: 250-267.
- Yang, W., M. Yu, J. Fu, W. Bao, D. Wang, L. Hao, P. Yao, A. K. Nussler, H. Yan, and L. Liu. 2014.** Deoxynivalenol induced oxidative stress and genotoxicity in human peripheral blood lymphocytes. *Food Chem Toxicol* 64: 383-396.
- Yang, G.H., Jarvis, B.B., Chung, Y.J. and Pestka, J.J. 2000.** Apoptosis induction by the satratoxins and other trichothecene mycotoxins: relationship to ERK, p38 MAPK, and SAPK/JNK activation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 164(2): 149-60.
- Young, L. G., L. McGirr, V. E. Valli, J. H. Lumsden, et A. Lun. 1983.** Vomitoxin in corn fed to young pigs. *J Anim Sci* 57: 655-664.
- Young, J. C., T. Zhou, H. Yu, H. Zhu, et J. Gong. 2007.** Degradation of trichothecene mycotoxins by chicken intestinal microbes. *Food Chem Toxicol* 45: 136-143.
- Zhou, H.R., Harkema, J.R., Hotchkiss, J.A., Yan, D., Roth, R.A. and Pestka, J.J. 2000.** Lipopolysaccharide and the trichothecene vomitoxin (deoxynivalenol) synergistically induce apoptosis in murine lymphoid organs. *Toxicol. Sci.*, 53(2): 253-63.
- Zhou, H.R., Lau, A.S. and Pestka, J.J. 2003.** Role of double-stranded RNA-activated protein kinase R (PKR) in deoxynivalenol-induced ribotoxic stress response. *Toxicol. Sci.*, 74(2): 335-44.
- Zinedine, A., J. M. Soriano, J. C. Molto, et J. Manes. 2007.** Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. *Food Chem Toxicol* 45: 1-18.



## **ANNEXE**



## **INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CONSUMPTION OF DON ON SERUM AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF DIFFERENT AGES TARGET POPULATION**

**Omar Alami<sup>1,\*</sup>, Allel Mokaddem<sup>2</sup>, Bendouma Doumi<sup>3</sup>,  
Omar Kheroua<sup>1</sup> and Djamel Saidi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Physiology of Nutrition and Food Safety

Department of Biology

University of Oran

El Menaouer 31000 Oran

Algeria

e-mail: omar.alamib32@gmail.com

<sup>2</sup>Department of Materials and Components

Faculty of Physics

U.S.T.H.B., Algiers, Algeria

<sup>3</sup>Department of Physics

Faculty of Sciences

Dr Tahar Moulay University of Saïda

20000 Saïda, Algeria

---

Received: May 10, 2016; Accepted: June 21, 2016

Keywords and phrases: deoxynivalenol, DON, target population, toxicity, contaminated food, serum and biochemical parameters.

\*Corresponding author

Communicated by K. K. Azad

### Abstract

The deoxynivalenol (DON) is a mycotoxin of the family of trichothecenes B; natural contaminant of grains and their products. The presence of DON in men and animal feed can result in significant health and economic problems as to the man for the livestock sector professionals. The observed effects are variable and many. As for modes of action, they are not yet well known and yet to be explained; knowledge of food habits, the most exposed age groups, purity or non-toxin (DON) allow a better assessment of risks related to the presence of mycotoxins in food consumption broadly, so good fight against the toxic effects of these natural contaminants and understand the impact of this consumption on serum and biochemical parameters. Our contribution in this work is based on analysis and evaluation by a graphical representation of data available on the DON toxin and subsequently establishes a correlation between the different parameters, namely:

- the food consumption and broad consumer age categories;
- the nature of the contaminated food and its contribution in mycotoxin exposure in the population;
- the DON and its metabolites and their contributions in the exhibition according to age groups.

### 1. Introduction

DON is a mycotoxin of the family of trichothecenes B, natural contaminant of cereals and their derivatives. DON was isolated for the first time by a Japanese team from barley infected with *Fusarium graminearum* [1]. This is a result of vomiting observed in pigs who consumed contaminated corn by the same fungus that characterized the active compound as a trichothecene and gave it the name “vomitoxine” [2].

DON produced by the fungus *Fusarium graminearum* is *Fusarium culmorum*, whose development is favored by certain conditions of temperature and humidity.

During infection by *Fusarium* spp. Wheat has a soft and shriveled appearance, often faded pink. In grains, the fungus is visible as a reddish mold on the tip of the ear. These molds are able to withstand harsh weather conditions and their toxin productions are strongly stimulated by a low temperature shift and a large humidity. These events can occur in the culturer, during harvest and during storage in humid conditions before drying grain.

Among all the mycotoxins produced by *Fusarium* spp., DON is one of the most common contaminants of wheat, barley and maize, according to a recent report by the FAO (Food Agricultural Organization), the most widespread worldwide in foodstuffs [3]. For example, in the United States, an analysis was made between 1993 and 2003, over 2106 batches of barley and wheat in 2524, showed that 47.1% and 40.4% of the batches of barley and wheat, respectively, showed DON contamination greater than 1000mg/kg (ppb) of cereals. A study in 2166 on Russian grain samples collected between 1989 and 2001 showed that 69% of surveyed lots were contaminated with DON [4]. A study bringing together all the results relating to the contamination of several cereal crops from 12 European countries showed that 57% of 11022 samples of cereals (wheat, barley, corn, oats, and rye) were contaminated with DON, 7% with concentrations of greater than 750 ppb [5].

Consumption of products contaminated with trichothecenes can cause in humans and animals, called mycotoxicosis disease, following acute or chronic toxicity of mycotoxins. In humans, the most famous mycotoxicose associated with ingestion of grain contaminated with *Fusarium* spp. has been reported in the 1940s, where severe cases of Aleukia toxic food caused the death of 10% of the population of the Orenburg district. This disease is characterized by diarrhea and vomiting in the early stages and is accompanied by severe leukopenia, of ulcerative pharyngitis, septicemia and bone marrow depression. Years later, this phenomenon has been attributed mainly to the consumption of *Fusarium* fungi and *poae sporotrichoioïdes*, which produce another trichothecene T-2 toxin [6]. More recently, several cases of mycotoxicosis in humans and livestock have been attributed to the

consumption of cereals contaminated with DON in Japan [7]. In India, the DON has also been implicated as a causative agent in poisoning in residents of the Kashmir Valley who ate bread made from moldy corn [8]. The symptoms included nausea, stomach pain, vomiting and irritation to the throat.

Given these observations and toxicological studies, regulation has been developed, limiting the contamination of food. Unfortunately, this legislation is far from being respected and further studies are needed to better assess the risk of this food contaminant.

Eating habits differ from one country to another, storage of food commodities and technical metering of this mycotoxin, and data published by Western and Anglo-Saxon authors cannot be a reflection of the situation in other Eastern and North African countries.

Mycotoxins are secondary metabolites produced by fungi that can infect all stages of the food chain. Their global presence is considered a major risk factor for human and animal health that up to 25% of global agricultural production could be contaminated with mycotoxins [9]. Toxicological syndromes caused by the ingestion of mycotoxins range from death, cancer induction and growth deficiency [10, 11]. Consumption of fungal toxins may also reduce resistance to infectious diseases [12].

Deoxynivalenol (DON) is a mycotoxin family of trichothecenes mainly produced by *Fusarium graminearum* and *F. culmorum*. DON is commonly found in cereals and grains, especially wheat, barley, corn and their by-products [13]. It is contaminant mycotoxin most common in agricultural production in Europe and North America [14]. In addition, this toxin thus resists milling, processing and heating, easily penetrates the food and feed chains [15].

DON is a polar compound very slightly soluble in water, colorless, crystallizable, and soluble in polar solvents (methanol and aqueous acetonitrile). Its molecular weight is 296.32g/mol and it is chemically very stable, even for prolonged storage at room temperature. Moreover, it is not

degraded during the beans grinds methods, milk sterilization (15 minutes at 118°C) or cooking. DON is stable at 120°C, moderately stable to 180°C and decomposes in 30-40 minutes at 210°C [16].

The legislation on mycotoxins is gradually taking place, but not all countries are at the same stage as the fixing of maximum doses and the introduction of legislation depends on several factors both scientific and socio-economic.

In the European Union, the 2006 settlement/1881/EC of the Commission of 19 December 2006 sets maximum levels for certain mycotoxins in food for human consumption.

Maximum levels of DON are simply text recommended by the 2006/576/EC of the Commission of 17 August 2006, but not imposed.

Studies in animals (pigs) have shown that the first effects of exposure DON consist of a drop in food consumption, growth performance, impaired immune function and reproduction [17].

In mice, the values of lethal doses obtained following administration of DON orally and intraperitoneally are 78 and 49mg/kg bodyweight, respectively. Intraperitoneal administrations of DON in doses from 10 to 1000mg/kg live weight cause different toxic signs from necrosis of the gastrointestinal tract, bone marrow and lymphoid tissues to heart and kidney damage [18].

In contrast, studies of subacute and chronic toxicity (lower doses to 10mg/kg BW) in the absence of pathogenic contaminants have shown a reduction in growth performance in rodents [19, 20].

In humans, the most famous mycotoxicose associated with ingestion of grain contaminated with *Fusarium* spp. was reported in the 1940s, where severe cases of Aleukia toxic food caused the death of 10% of the population of the Orenburg district. This disease is characterized by diarrhea and vomiting in the early stages and is accompanied by severe leukopenia, of ulcerative pharyngitis, septicemia and bone marrow depression. Years later, this phenomenon has been attributed mainly to the consumption of *Fusarium*

fungi and poae sporotrichoioïdes, which produce another trichothecene T-2 toxin [21].

Acute exposure to high doses induced radiomimetic effects including diarrhea, vomiting, leukocytosis, hemorrhage/necrosis of the gastrointestinal tract. Chronic toxicity studies showed anorexia, reduced weight gain, altered nutritional efficiency and immunomodulation [22-24]. At the cellular level, DON interacts with the peptidyl transferase ribosomal level of the 60S subunit, triggering a translation stop [25].

Several cases of mycotoxicosis in humans and livestock have been attributed to the consumption of cereals contaminated with DON in Japan [26]. In India, the DON has also been implicated as causative agent in poisoning among residents of the Kashmir Valley who ate bread made from moldy corn [27]. The symptoms included nausea, stomach pain, vomiting and irritation to the throat.

An experimental reproduction has demonstrated the role of DON in the refusal of the food, also causing congestion of the lining of the stomach and small intestine, hydropic degeneration of hepatocytes and vacuolation of cells of the distal convoluted tubule [28].

Carcinogenicity of DON has been evaluated by the International Agency for Research on Cancer, IARC [48]. For a lack of study on the determination of carcinogenicity, IARC classified DON in category 3 (that is to say, not having enough experimental or epidemiological evidence to assess their carcinogenicity). At its genotoxic potential, DON causes no increase in the frequency of mutations in bacteria or in cell cultures but by this against a powerful clastogenic effect [29].

In this work, we investigate by a graph based on a statistical survey conducted by European Food Safety Authority (EFSA) in 2013, the best estimate of the risk of DON on the population taking into account: the eating habits, the contribution of metabolites in food contamination and the age of the target population groups.

## 2. Simulation and Investigation

In our numerical simulation, we have implemented the data from the survey conducted by EFSA in 2013 [30] (see Tables 1, 2 and 3) in our program developed by Matlab. Our program has allowed us to study the relationship between various parameters and gave us great flexibility in analyzing and evaluating the effect of consumption of DON on serum and biochemical parameters.

**Table 1.** Minimum and maximum relative contribution of food groups (in percentage) to the overall lower bound mean DON exposure across the surveys and age groups

		Age group <sup>(a)</sup>	0,8-1	2-6	7-14	15-23	24-40	41-55	56-80
			(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Grains	Max		2,1	1,8	2,9	2,9	6	2,1	1,5
	Min		1,2	0	0,1	0,3	0,3	0,2	0,2
Grain milling products	Max		19,2	76,9	69	21,1	72,8	75,1	23,2
	Min		18	0,2	0	0,2	0,1	0,2	0,2
Breakfast cereals	Max		0,1	7,2	13,3	5,5	10,3	14,1	3,7
	Min		0	0,1	0,3	0,8	0,5	0,1	0,2
Fine bakery wares	Max		17,6	27,6	43,1	37,4	30	30,7	34
	Min		0	1,1	2,9	4,4	0	0	7,3



**Table 2.** Food contributing to more than 10% of 1µg/kg b.w. per day

Food description	Total population(a)		5% most exposed subjects(b)	
	<i>N</i> population group(c)	Contribution range expressed in µg/kg b.w./day(d)	<i>N</i> population group(c)	Contribution range expressed in µg/kg b.w./day(d)
Wheat flour, white	2	0.11-0.18	14	0.1-0.41
Wheat bread and rolls	37	0.1-0.37	44	0.1-0.68
Bread and rolls unspecified	3	0.14-0.17	4	0.13-0.3
Pastries and cakes	16	0.1-0.28	40	0.1-0.77
Cereal, rice and vegetable based	1	0.18	7	0.1-0.39

Exposed subjects(b)	Food description	Wheat flour, white	Wheat bread and rolls	Bread and rolls unspecified	Pastries and cakes
Contribution range expressed in µg/kg b.w./day(d) 10%	Max	0.11	0.1	0.14	0.1
	Min	0.18	0.37	0.17	0.28
Contribution range expressed in µg/kg b.w./day(d) 5%	Max	0.1	0.1	0.13	0.1
	Min	0.41	0.68	0.3	0.77

(a): all individuals: determination of the food contributing to more than 10% of 1µg/kg b.w. per day considering all the individuals in each population group ( $N = 68$  population groups). (b) 5% most exposed subjects: determination of the food contributing to more than 10% of 1µg/kg b.w. per day considering only the 5% most exposed subjects in each population group ( $N = 62$  population groups). (c):  $N$  population groups: number of population groups for which the food contributed to more than 10% of the threshold of 1µg/kg b.w. per day. (d): contribution range, expressed in µg/kg b.w. per day, defined as minimum and maximum average contribution across these population groups for which the food contributed to more than 10% of the threshold of 1µg/kg b.w. per day.

**Table 3.** Percentage contribution of 3-Ac-DON, 15-Ac-DON and DON to the total exposure

Age group(a)	Lower bounds estimate expressed in %			Upper bounds estimate expressed in %		
	3-Ac-DON	15-Ac-DON	DON	3-Ac-DON	15-Ac-DON	DON
Infants	0,1	0,5	99,4	31,4	31,4	37,2
Toddlers	0,1	0,6	99,2	25,8	26,1	48,1
Other children	0,2	0,9	98,9	22,9	23,3	53,8
Adolescents	0,2	0,9	98,9	22,9	23,2	53,9
Adults	0,1	0,4	99,4	23,3	23,5	53,1
Elderly	0,1	0,2	99,7	22,9	23,0	54,1
Very elderly	0,1	0,2	99,7	23,7	23,8	52,5

(a): for each age group, the minimum, median and maximum percentage contribution across the different population groups is indicated.

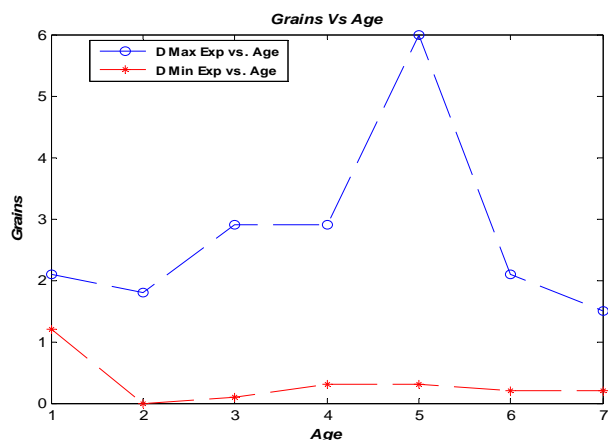
### 2.1. Main contributors to the DJA of 1µg/kg of bodyweight per day

Food groups that contribute more than 10% of the DJA of 1µg/kg bodyweight per day to estimate the lower limit which have been identified for each population group, the subjects representing more than 5% were exposed to group of the total population (60 subjects) (Table 1).

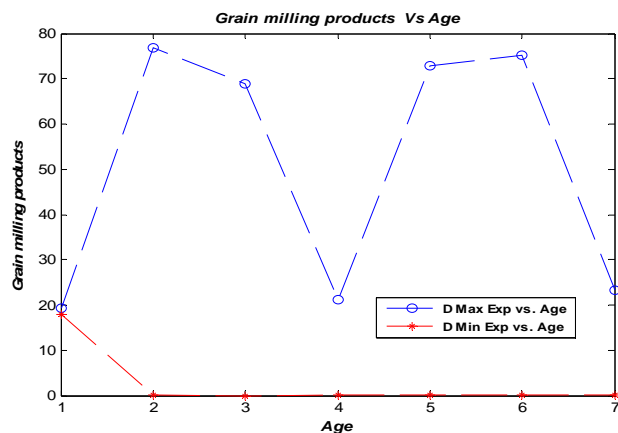
Table 2 presents a list of foods that contribute to more than 10% of the threshold in at least one population group. For each food, the table shows the number of population groups for which food was identified as contributing to over 10% of the threshold, and the minimum and maximum contribution identified in these groups.

When considering the total population, eight foods/food groups have been identified as major contributors to at least one group of the population. The two most frequently identified food groups as major contributors are “bread and small wheat breads” and “pastries and cakes”. When you consider the most exposed areas of 5%, 10 food/additional food groups contributed in

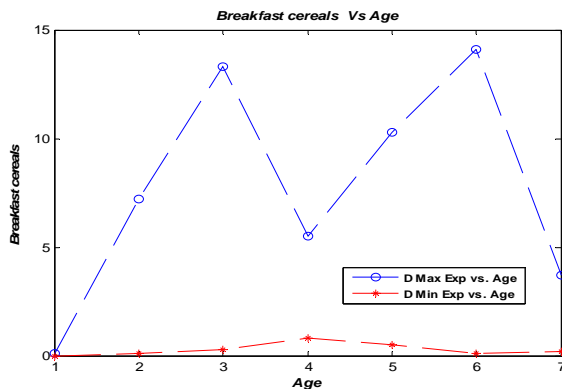
at least one population group, more than 10% of the threshold of  $1\mu\text{g/kg}$  bodyweight daily. “Wheat flour, white” and “pasta, wheat flour” were two other most frequently identified foods as major contributors (see Figures 1-4).



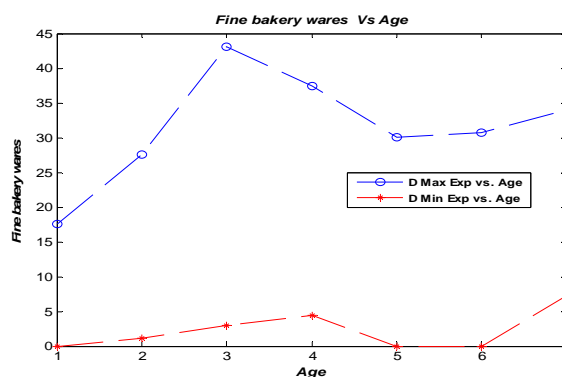
**Figure 1.** Minimum and maximum relative contribution of grains (in percentage) to the overall lower bound means DON exposure across the surveys and age groups.



**Figure 2.** Minimum and maximum relative contribution of grains milling (in percentage) to the overall lower bound means DON exposure across the surveys and age groups.

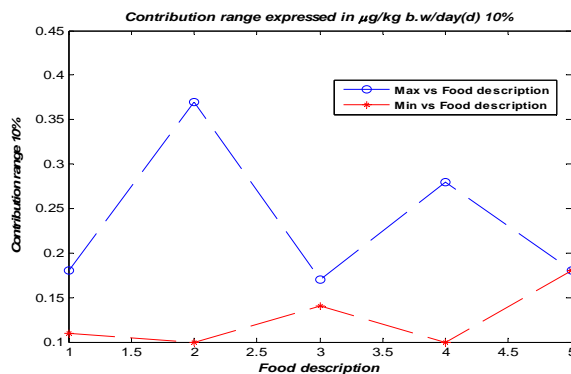


**Figure 3.** Minimum and maximum relative contribution of breakfast cereals (in percentage) to the overall lower bound means DON exposure across the surveys and age groups.

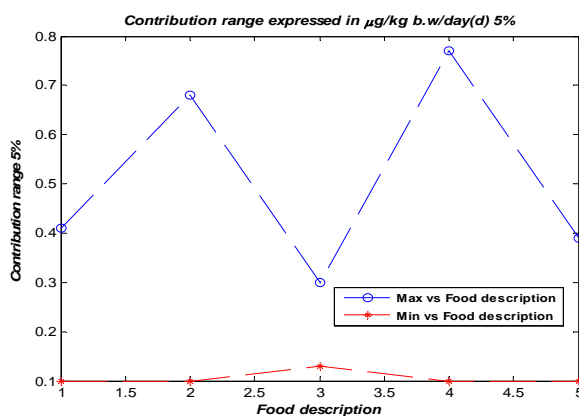


**Figure 4.** Minimum and maximum relative contribution of fine bakery wares (in percentage) to the overall lower bound means DON exposure across the surveys and age groups.

However, it should be stressed that the data available for the oatmeal, porridge and blended food are very limited. When considering the consolidated upper estimates (results not shown), two additional foods with quantified levels of DON, have been found to contribute to more than 10% of  $1\mu\text{g/kg}$  bodyweight per day in at least one population group “beer and beer as a beverage”, “ready-to-eat meals for infants and young children” (see Figures 5 and 6).



**Figure 5.** Food contribution range expressed in  $\mu\text{g/kg b.w./day(d)}$  10%.



**Figure 6.** Food contribution range expressed in  $\mu\text{g/kg b.w./day(d)}$  5%.

## 2.2. Contribution derivatives DON to total exposure

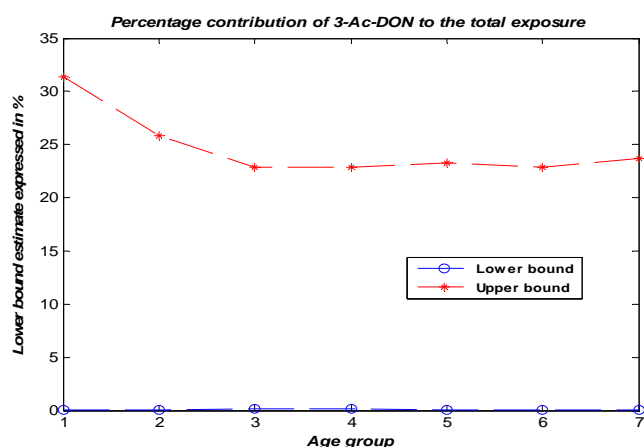
An assessment of exposure to the sum of DON, 3-Ac-DON and 15-Ac-DON was performed on the basis of 3,577 food samples, covering 83 food/food groups. Table 3 shows the percentage contribution of 3-Ac-DON, 15-Ac-DON and exposure to the sum of 3-Ac-DON, 15-Ac-DON and estimates for the upper and lower parts. At the estimation of the lower limit, 3-Ac-DON has been found to contribute from 0 to 0.7% of the total exposure and 15-Ac-DON from 0.1 to 1.7% of exposure total. To estimate the upper limit, 3-Ac-DON and 15-Ac-DON each contributed about 20-30% of total

exposure. This large difference between the lower and upper limit shows the influence of the limit of quantification in the exposure estimates.

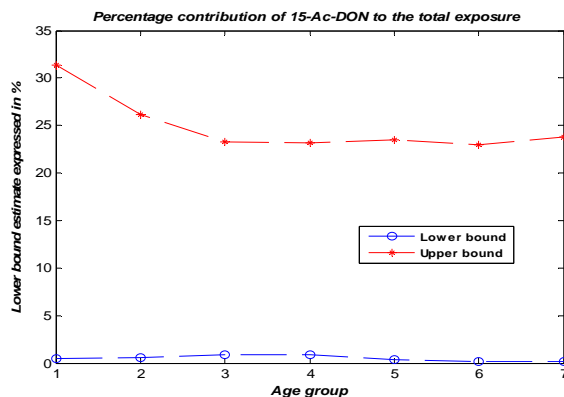
### 2.3. Exposure levels of DON across different population groups

The distribution of average and 95th percentile of acute exposure (estimated upper limit) obtained for infants and toddlers, who were the most vulnerable population groups, is shown in Figures 1-6.

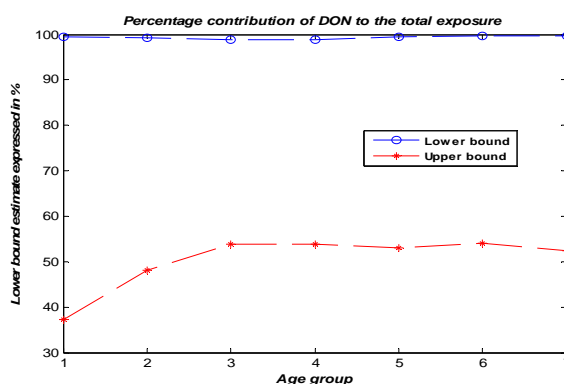
Overall, the average acute exposure level of infants, toddlers and other children ranged from 0.55 (95% CI = 0.47 – 0.68) to 1.04 (95% CI = 0.79 – 1.30)  $\mu\text{g/kg}$  b.w., the 95th percentile from 1.72 (95% CI = 1.59 – 1.85) to 3.35 (95% CI = 1.95 – 6.25)  $\mu\text{g/kg}$  b.w., depending on the population group. The acute exposure levels of adolescents, adults, elderly and very elderly were lower than those estimated for children. Depending on the population group, average acute exposure levels ranged from 0.22 (95% CI = 0.21 – 0.24) to 0.65 (95% CI = 0.62 – 0.70)  $\mu\text{g/kg}$  b.w.; the 95th percentile ranged from 0.58 (95% CI = 0.53 – 0.65) to 1.75 (95% CI = 1.56 – 1.95)  $\mu\text{g/kg}$  b.w., depending on the age group (see Figures 7-9).



**Figure 7.** Percentage contribution of 3-Ac-DON to the total exposure.



**Figure 8.** Percentage contribution of 15-Ac-DON to the total exposure.



**Figure 9.** Percentage contribution of DON to the total exposure.

### 3. Results and Discussion

Exposure to mycotoxins is different in North Africa and the Middle East, these figures cannot be a reflection of reality for changing eating habits, the conditions for storage of the raw material (wheat, cereals, ...) that promote contamination, and to certain foods cooking.

The socio-economic conditions can be an influential factor on the contribution to the exhibition, the social consumer level (poor and malnourished), the diet which can consist exclusively of poor quality wheat flour in some region and the cooking method given the physicochemical

properties of this toxin. Weight, age and consumer health, the purity of the toxin or the presence of these metabolites can influence the contribution to the exhibition.

The same storage conditions favor the growth of mold and therefore mycotoxin production even as the climate of certain regions is different.

All of these conditions can be explained by the discomfort and illness of these affected populations, more harmful for certain categories of age, weight for others and the nature of food consumed.

In this context, we try to establish a correlation between food habits and age group (Table 1; Figures 1-4) food that contribute most to exposure to this toxin (Table 2; Figures 5 and 6), and DON and its metabolites in exposure (Table 3; Figures 7-9).

Deoxynivalenol (DON) belongs to the trichothecene group B. DON is a product of secondary metabolism of some *Fusarium* strains (*F. graminearum*, *F. culmorum*), the development of grain depends on the weather and is favored by rain around flowering and low temperatures.

Around the world, DON is one of the most common trichothecenes. It is often found in cereals and their by-products: a survey showed that in 11 European countries, 57% of 11.022 samples tested were contaminated with DON (61% for wheat, 47% for barley, 89% for maize samples) at various levels, with 50mg/kg as a maximum. However, only 7% of these samples had at least 0.75mg DON/kg. This mycotoxin remains after the disappearance of the mold and is heat resistant.

### **3.1. Reproductive effects**

The ability of natural toxins and environmental toxic to modulate immunity has potentially serious implications for both mount an appropriate response to infectious agents and generate an appropriate response during a vaccination protocol [31, 32]. Trichothecenes have a unique ability to up and down regulate immune function by disrupting intracellular signaling in leukocytes [33]. Using the macrophages derived from human monocytes,



the results demonstrate that the DON prevents a manner dependent on the concentration of the up regulation of IFN- $\gamma$ -induced several activation markers of macrophages such as CD14, CD54, CD119 and HLA-DP/DQ/DR.

According to He et al. [47], feed efficiency decreased by 45% in piglets fed a diet containing 5mg DON/kg, but this value was obtained during a period too short to be significant (Figures 1-4).

The report by Friend et al. [41] in which 3.5mg DON/kg diet tended to reduce weight and to 52-day-old fetus, the number and weight of piglets at birth, survival rates, and rates growth until weaning was not affected by food contaminated with DON in their original environment. According to Diaz-Liano and Smith [13], the number of live piglets per litter was not affected sows fed a diet with 5.7mg/kg DON during the last two weeks of pregnancy, but the number of piglets stillbirths was increased (Figures 1-4).

However, this result must be confirmed with a larger number of sows.

Finally, only traces of DON were recovered in the milk of sows fed contaminated food.

Depending on the dose and duration of exposure (Figures 5 and 6), DON has stimulatory or depressant effects on the immune system. High levels of DON will cause a depletion of circulating white blood cells, the reduction of IgM and IgG in the serum, reduction of pathogen resistance and inhibition of the antigenic response [34]. The immunosuppressive effect of DON on leukocyte functions has been characterized as being the result of the induction of apoptosis of cells, phenomenon revealed by the use of different doses of DON, both in vivo [35, 36] and in vitro macrophage [37, 38] and the B and T lymphocytes [39].

In contrast, low levels of DON (Figures 7-9) will result in immunostimulatory effects such as increasing the concentration of immunoglobulin A (IgA) plasma, and a rapid and transient increase in the expression of several genes related to immunity such as pro-inflammatory cytokines IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6 [40-43], the gene for cyclooxygenase

-2, COX-2 (Moon and Pestka [51]), or the chemokines MIP-2 (macrophage inflammatory protein) and IL-8 [44-46]. In addition, these effects can be exacerbated by concurrent exposure with an inflammatory agent such as lipopolysaccharides (LPS), in vitro work [47-50] and in vivo [51, 52].

### 3.2. Effects on growth

The calculations from the literature data obtained with non-DON levels greater than 20mg/kg in foods show that the swine growth rate was reduced by about 7% for each mg DON/kg increase in diet. The slope of the relationship is slightly higher for grower-finisher for piglets (7.7 compared 6.7%) and, most likely for the same reasons as for food consumption, the relationship is closer for piglets for older pigs ( $R^2 = 0.85$  and  $0.44$ ).

Some experiments suggest that for a given DON intake, the consequences are most notable when a naturally contaminated diet is used when purified DON is added (Figures 7-9). For example, Trenholm et al. [53] reported differences in 18 and 23% of food consumption and the growth rate between the two forms, respectively.

With a feed containing 3mg DON/kg, the growth rate is still down for 32 days when power was naturally contaminated, while the rate of growth has returned to that of controls after the first week when purified DON was used. In their literature review, Dersjant-Li et al. [54] calculated that a diet with 1.8mg purified DON/kg led to the same 5% drop in growth rate of natural food contaminant with 0.6mg DON/kg, but the marginal growth rate of reduction was similar for both DON origins (8% and 8.5%.mg DON-1.kg supply-1 for purified forms and natural, respectively). It is often assumed that this difference could be due to the presence of certain chemicals or other mycotoxins in naturally contaminated food, even if they are not detected.

The difference can be attributed to an underestimation of the level of DON in naturally contaminated food because of the complexity of the matrix in which the toxin is measured, or to differences in the speed and magnitude of gastrointestinal absorption between the two sources.

According to Trenholm et al., a feed efficiency also decreased contributes to lower growth rates of pigs ingesting DON. In fact, power efficiency has not been modified in studies where diets with less than 4, 4.7 or 6.5mg DON/kg were fed [53-59]. Rotter concluded that the power efficiency tends to be increased linearly when the DON levels in foods, increased from 0 to 2.85mg/kg. Under these conditions, the DON has the same effect on the efficacy of moderate food restriction. Conversely, Bergsjø et al. have a feed efficiency decreased throughout the fattening period (25 to 100kg bodyweight) when diet contained 3.5 and 4mg/kg of DON [60-64].

#### 4. Conclusion

The DON is a product of secondary metabolism of some *Fusarium* strains (*F. graminearum*, *F. culmorum*), the development of grain depends on the weather and is favored by rain around flowering and low temperatures, and on the grain the fungus is visible as a reddish mold on the tip of the ear. These molds are able to withstand severe weather conditions such as those that turn in the countries of Africa and the Middle East, and their toxin productions are strongly stimulated by a low temperature shift and a large humidity. These events can occur in culture or during harvesting, but also during storage in humid conditions before the drying grain.

In this work, we analyzed and evaluated a graphical representation of data available on this toxin DON, so good fight against the toxic effects of these natural contaminants and understand the impact of this consumption on serum and biochemical parameters and we later established a correlation between the different parameters, namely:

- the food broad consumption and consumer age categories;
- the nature of the contaminated food and its contribution in mycotoxin exposure in the population;
- the DON and its metabolites and their contributions in the exhibition according to age groups.

Knowledge of food habits, the most exposed age groups, purity or non-toxin (DON) allow a better assessment of risks related to the presence of mycotoxin in the broad consumer foods, and many fight against toxic effects of these natural contaminants. Given the observations and toxicological studies, other studies are needed to better assess the risk of consumption of contaminated food products.

In the countries of Africa and the Middle East, contamination and consumption of contaminated food are apparently more important than in Europe or USA. To our knowledge, no evaluation work has been performed in this direction, or the data published by Western and Anglo-Saxon cannot be a reflection of the situation in these countries.

### References

- [1] N. Morooka, N. Uratsuji, T. Yoshizawa and H. Yamamoto, Studies on the toxic substances in barley infected with *Fusarium* spp., *Jpn. J. Food Hyg.* 13 (1972), 368-375.
- [2] R. F. Vesonder, A. Ciegler and A. H. Jensen, Isolation of the emetic principle from *Fusarium*-infected corn, *Appl. Microbiol.* 26(6) (1973), 1008-1010.
- [3] JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives), Discussion paper on deoxynivalenol, 38th Session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants, Beijing, China, 16-20 April 2007.
- [4] V. A. Tutelyan, Deoxynivalenol in cereals in Russia, *Toxicology Letters* 153(1) (2004), 173-179.
- [5] SCOOP, Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake of the population of EU member states, Directorate-General Health and Consumer Protection, 2003.  
Available: <http://europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/task3210.pdf> (Accessed: April 20, 2009).
- [6] A. N. Leonov, Current view of the chemical nature of factors responsible for alimentary toxic aleukia, *Mycotoxin in Human and Animal Health*, J. V. Rodricks, C. W. Hesseltine and M. A. Mehlman, Park Forest South, Illinois, Pathotox Publishers, 1977, pp. 323-328.

- [7] Y. J. Chung, H. R. Zhou and J. J. Pestka, Transcriptional and posttranscriptional roles for p38 mitogen-activated protein kinase in upregulation of TNF- $\alpha$  expression by deoxynivalenol (vomitoxin), *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 193(2) (2003), 188-201.
- [8] R. V. Bhat, S. R. Beedu, Y. Ramakrishna and K. L. Munshi, Outbreak of trichothecene mycotoxicosis associated with consumption of mould-damaged wheat production in Kashmir Valley, India, *Lancet* 1(8628) (1989), 35-37.
- [9] CAST, Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems, Task Force Report No. 139, Ames, Iowa, USA, 2003.
- [10] CAST Report, Council for Agricultural Science and Technology, Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems, Ames, IA, USA, 2003.
- [11] W. L. Bryden, Mycotoxins in the food chain: human health implications, *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 16 (2007), 95-101.
- [12] I. P. Oswald, D. E. Marin, S. Bouhet, P. Pinton, I. Taranu and F. Accensi, Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals, *Food Addit. Contam.* 22 (2005), 354-360.
- [13] G. Diaz-Liano and T. K. Smith, Effects of feeding grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins with and without a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent on reproductive performance and serum chemistry of pregnant gilts, *Journal of Animal Science* 84(9) (2006), 2361-2366.
- [14] R. C. Schothorst and H. P. van Egmond, Report from SCOOP task 3.2.10 "collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU member states. Subtask: trichothecenes", *Toxicol. Lett.* 153(1) (2004), 133-143.
- [15] Y. Sugita-Konishi, B. J. Park, K. Kobayashi-Hattori, T. Tanaka, T. Chonan, K. Yoshikawa and S. Kumagai, Effect of cooking process on the deoxynivalenol content and its subsequent cytotoxicity in wheat products, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70(7) (2006), 1764-1768.
- [16] D. R. Vidal, Propriétés immunosuppressives des mycotoxines du groupe des trichothécènes, *Bull. Inst. Pasteur.* 88 (1990), 159-192.
- [17] M. Etienne and Y. Waché, Biological and physiological effects of deoxynivalenol (DON) in the pig, *Mycotoxins in Farm Animals*, I. P. Oswald and I. Taranu, eds., Research Signpost: Kerala, 2008, pp. 113-130.

- [18] J. H. Forsell, R. Jensen, J. H. Tai, M. Witt, W. S. Lin and J. J. Pestka, Comparison of acute toxicities of deoxynivalenol (vomitoxin) and 15-acetyldeoxynivalenol in the B6C3F1 mouse, *Food Chem. Toxicol.* 25(2) (1987), 155-162.
- [19] B. C. Foster, H. L. Trenholm, D. W. Friend, B. K. Thomson and K. E. Hartin, Evaluation of different sources of deoxynivalenol (vomitoxin) fed to swine, *Can. J. Anim. Sci.* 66 (1986), 1149-1154.
- [20] M. Etienne, I. P. Oswald, S. Bony, J. P. Lallès, P. Pinton, B. Trépier and M. Lessard, Effets de la contamination par le déoxynivalénol (DON) de l'aliment des truies reproductrices, *Journées Rech. Porcine* 38 (2006), 233-239.
- [21] M. Etienne and Y. Wache, Biological and physiological effects of deoxynivalenol (DON) in the pig, *Mycotoxins in Farm Animals*, 1st ed., I. P. Oswald, I. Taranu, eds., Research Signpost: Kerala, India, Vol. 8, 2008, pp. 113-130.
- [22] G. S. Eriksen and H. Pettersson, Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed, *Anim. Feed Sci. Technol.* 114 (2004), 205-239.
- [23] J. J. Pestka and A. T. Smolinski, Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans, *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 8(1) (2005), 39-69.
- [24] P. Pinton, F. Accensi, E. Beauchamp, A. M. Cossalter, P. Callu, F. Grosjean and I. P. Oswald, Ingestion of deoxynivalenol (DON) contaminated feed alters the pig vaccinal immune responses, *Toxicol. Lett.* 177 (2008), 215-222.
- [25] Y. Ueno, Toxicological features of T-2 toxin and related trichothecenes, *Fundam. Appl. Toxicol.* 4 (1984), S124- S132.
- [26] D. M. Forsyth, T. Yoshizawa, N. Morooka and J. Tuite, Emetic and refusal activity of deoxynivalenol to swine, *Appl. Environ. Microbiol.* 34(5) (1977), 547-552.
- [27] R. V. Bhat, P. H. Shetty, R. P. Amruth and R. V. Sudershan, A food borne disease outbreak due to the consumption of moldy sorghum and maize containing fumonisin mycotoxins, *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 35 (1997), 249-255.
- [28] M. R. Marpegan, C. J. Perfumo, H. M. Godoy, M. Sala de Miguel, E. Diaz and M. A. Risso, Feed refusal of pigs caused by *Fusarium* mycotoxins in Argentina, *Zentralbl. Veterinarmed. A* 35(8) (1988), 610-616.
- [29] S. Knasmüller, N. Bresgen, F. Kassie, V. Mersch-Sundermann, W. Gelderblom, E. Zohrer and P. M. Eckl, Genotoxic effects of three *Fusarium* mycotoxins, fumonisin B1, moniliformin and vomitoxin in bacteria and in primary cultures of rat hepatocytes, *Mutat. Res.* 391(1-2) (1997), 39-48.

- [30] European Food Safety Authority, Deoxynivalenol in food and feed: occurrence and exposure, *EFSA Journal* 11(10) (2013), 56 pp.  
doi:10.2903/j.efsa.2013.3379.
- [31] D. R. Germolec, Sensitivity and predictivity in immunotoxicity testing: immune end points and disease resistance, *Toxicol. Lett.* 149 (2004), 109-114.
- [32] D. E. Marin, I. Taranu, F. Pascale, A. Lionide, R. Burlacu, J. D. Bailly and I. P. Oswald, Sex-related differences in the immune response of weanling piglets exposed to low doses of fumonisin extract, *Br. J. Nutr.* 95 (2006), 1185-1192.
- [33] J. J. Pestka, Mechanisms of deoxynivalenol-induced gene expression and apoptosis, *Food Addit. Contam.* (2008), 1-13.
- [34] D. W. Friend, B. K. Thomson, H. L. Trenholm, K. E. Hartin and D. B. Prelusky, Effect of feeding deoxynivalenol (DON)-contaminated wheat diets to pregnant and lactating gilts on their progeny, *Can. J. Anim. Sci.* 66 (1986), 229-236.
- [35] H. R. Zhou, J. R. Harkema, J. A. Hotchkiss, D. Yan, R. A. Roth and J. J. Pestka, Lipopolysaccharide and the trichothecene vomitoxin (deoxynivalenol) synergistically induce apoptosis in murine lymphoid organs, *Toxicol. Sci.* 53(2) (2000), 253-263.
- [36] Z. Islam, L. E. King, P. J. Fraker and J. J. Pestka, Differential induction of glucocorticoid-dependent apoptosis in murine lymphoid subpopulations in vivo following coexposure to lipopolysaccharide and vomitoxin (deoxynivalenol), *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 187(2) (2003), 69-79.
- [37] G. H. Yang, B. B. Jarvis, Y. J. Chung and J. J. Pestka, Apoptosis induction by the satratoxins and other trichothecene mycotoxins: relationship to ERK, p38 MAPK, and SAPK/JNK activation, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 164(2) (2000), 149-160.
- [38] H. R. Zhou, A. S. Lau and J. J. Pestka, Role of double-stranded RNA-activated protein kinase R (PKR) in deoxynivalenol-induced ribotoxic stress response, *Toxicol. Sci.* 74(2) (2003), 335-344.
- [39] J. J. Pestka, D. Yan and L. E. King, Flow cytometric analysis of the effects of in vitro exposure to vomitoxin (deoxynivalenol) on apoptosis in murine T, B and IgA+ cells, *Food Chem. Toxicol.* 32(12) (1994), 1125-1136.
- [40] Y. L. Ouyang, J. I. Azcona-Olivera, J. Murtha and J. J. Pestka, Vomitoxin-mediated IL-2, IL-4, and IL-5 superinduction in murine CD4+ T cells stimulated with phorbol ester calcium ionophore: relation to kinetics of proliferation, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 138(2) (1996), 324-334.

- [41] D. W. Friend, H. L. Trenholm, P. S. Fiser, B. K. Thomson and K. E. Hartin, Effect on dam performance and fetal development of deoxynivalenol (vomitoxin) contaminated wheat in the diet of pregnant gilts, *Can. J. Anim. Sci.* 63 (1983), 689-698.
- [42] Y. Sugita-Konishi and J. J. Pestka, Differential upregulation of TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-8 production by deoxynivalenol (vomitoxin) and other 8-ketotrichothecenes in a human macrophage model, *J. Toxicol. Environ. Health A* 64(8) (2001), 619-636.
- [43] S. Kinser, Q. Jia, M. Li, A. Laughter, P. Cornwell, J. C. Corton and J. Pestka, Gene expression profiling in spleens of deoxynivalenol-exposed mice: immediate early genes as primary targets, *J. Toxicol. Environ. Health A* 67(18) (2004), 1423-1441.
- [44] D. W. Friend, H. L. Trenholm, B. K. Thomson, P. S. Fiser and K. E. Hartin, Effect of feeding diets containing deoxynivalenol (vomitoxin) - contaminated wheat or corn on the feed consumption, weight gain, organ weight and sexual development of male and female pigs, *Can. J. Anim. Sci.* 66 (1986), 765-775.
- [45] Z. Islam, J. S. Gray and J. J. Pestka, Mitogen-activated protein kinase mediates IL-8 induction by the ribotoxin deoxynivalenol in human monocytes, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 213(3) (2006), 235-244.
- [46] J. S. Gray and J. J. Pestka, Transcriptional regulation of deoxynivalenol-induced IL-8 expression in human monocytes, *Toxicol. Sci.* 99(2) (2007), 502-511.
- [47] He, L. G. Young and C. Forsberg, Microbially detoxified vomitoxin-contaminated corn for young pigs, *J. Anim. Sci.* 71 (1993), 963-967.
- [48] IARC, Toxins derived from *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* and *F. Crookwellense*: zearalenone, deoxynivalenol, nivalenol and fusarenone X-IARC, *Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.* 56 (1993), 397-444.
- [49] Y. J. Chung, G. H. Yang, Z. Islam and J. J. Pestka, Up-regulation of macrophage inflammatory protein-2 and complement 3A receptor by the trichothecenes deoxynivalenol and satratoxin G, *Toxicology* 186 (2003), 51-65.
- [50] E. Mbandi and J. J. Pestka, Deoxynivalenol and satratoxin G potentiate proinflammatory cytokine and macrophage inhibitory protein 2 induction by *Listeria* and *Salmonella* in the macrophage, *J. Food Prot.* 69(6) (2006), 1334-1339.



- [51] Y. Moon and J. J. Pestka, Vomitoxin-induced cyclooxygenase-2 gene expression in macrophages mediated by activation of ERK and p38 but not JNK mitogen-activated protein kinases, *Toxicol. Sci.* 69(2) (2002), 373-382.
- [52] Z. Islam, Y. S. Moon, H. R. Zhou, L. E. King, P. J. Fraker and J. J. Pestka, Endotoxin potentiation of trichothecene-induced lymphocyte apoptosis is mediated by up-regulation of glucocorticoids, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 180(1) (2002), 43-55.
- [53] H. L. Trenholm, B. C. Foster, L. L. Charmley, B. K. Thomson, K. E. Hartin, R. W. Coppock and M. A. Albassam, Effects of feeding diets containing *Fusarium* (naturally) contaminated wheat or pure deoxynivalenol (DON) in growing pigs, *Can. J. Anim. Sci.* 74 (1994), 361-369.
- [54] Y. Dersjant-Li, M. W. A. Verstegen and W. J. J. Gerrits, The impact of low concentrations of aflatoxin, deoxynivalenol or fumonisin in diets on growing pigs and poultry, *Nutrition Research Review* 16 (2003), 223-239.
- [55] F. Grosjean, I. Taranu, F. Skiba, P. Callu and I. Oswald, Comparaisons de blés fusariés naturellement à des blés sains, dans l'alimentation du porcelet sevré, *Journées Rech. Porcine* 34 (2002), 333-339.
- [56] F. Grosjean, P. Callu, F. Skiba, P. Pinton, B. Barrier-Guillot and I. Oswald, Quantification des effets de la consommation de désoxynivalé-nol (DON) par le porcelet sevré, *Journées Rech. Porcine en France* 35 (2003), 443-450.
- [57] E. R. Chavez, Vomitoxin-contaminated wheat in pig diets: pregnant and lactating gilts and weaners, *Can. J. Anim. Sci.* 64 (1984), 717-723.
- [58] G. Øvernes, T. Matre, T. Sivertsen, H. J. S. Larsen, W. Langseth, L. J. Reitan and J. H. Jansen, Effects of diets with graded levels of naturally deoxynivalenol-contaminated oats on immune response in growing pigs, *J. Vet. Med.* A44 (1997), 539-550.
- [59] T. Goyarts, S. Danicke, H. J. Rothkotter, J. Spilke, U. Tiemann and M. Schollenberger, On the effects of a chronic deoxynivalenol intoxication on performance, haematological and serum parameters of pigs when diets are offered either for ad libitum consumption or fed restrictively, *J. Vet. Med. A* 52 (2005), 305-314.
- [60] B. Bergsjø, W. Langseth, I. Nafstad, J. Høgset Jansen and H. J. S. Larsen, The effects of naturally deoxynivalenol-contaminated oats on the clinical condition, blood parameters, performance and carcass composition of growing pigs, *Veterinary Research Commun.* 17 (1997), 283-294.

- [61] B. Bergsjø, T. Matre and I. Nafstad, Effects of diets with graded levels of deoxynivalenol on performance in growing pigs, *J. Vet. Med. Assoc.* 39 (1992), 752-758.
- [62] D. B. Prelusky, R. G. Gerdes, K. L. Underhill, B. A. Rotter, P. Y. Jui and H. L. Trenholm, Effects of low-level dietary deoxynivalenol on haematological and clinical parameters of the pig, *Nat. Toxins* 2 (1994), 97-104.
- [63] B. A. Rotter, B. K. Thomson, M. Lessard, H. L. Trenholm and H. Tryphonas, Influence of low-level exposure to *Fusarium* mycotoxins on selected immunological and hematological parameters in young swine, *Fundam. Appl. Toxicol.* 23 (1994), 117-124.
- [64] S. S. Wong, H. R. Zhou, M. L. Marin-Martinez, K. Brooks and J. J. Pestka, Modulation of IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  secretion and mRNA expression by the trichothecene vomitoxin in the RAW 264.7 murine macrophage cell line, *Food Chem. Toxicol.* 36(5) (1998), 409-419.

## RESUME

Le déoxynivalénol (DON) est une mycotoxine de la famille des trichothécènes B qui sont des contaminants naturels des grains et de leurs produits. Le but de notre travail est l'étude de l'effet de la consommation subchronique du DON sur les paramètres hématologiques et biochimiques sériques, sur la structure histologique des organes cibles : foie, reins et cerveau chez les souris Swiss. Nous avons utilisé 40 souris mâles et femelles âgées de 4 semaines et pesant en moyenne ( $15,64 \pm 4,88$ g). Ces animaux sont répartis en 2 groupes de 20 souris comprenant chacun 10 mâles et 10 femelles. Durant les 13 semaines que dure l'expérience, les souris de chaque groupe expérimental ont un libre accès à la nourriture qui leur est distribuée en quantité suffisante par ration de 100 gr d'aliment granulé/jour. Les animaux du premier groupe sont abreuvés avec de l'eau supplémentée de déoxynivalénol à la concentration de 1 mg/l. Quant au deuxième groupe, il reçoit de l'eau sans déoxynivalénol et constitue le groupe témoin. Le suivi quotidien de la période expérimentale nécessite les opérations suivantes:- La mesure quotidienne de l'absorption de la solution de déoxynivalénol (ml) de chaque souris rapportée à l'unité de poids corporel et exprimée en mg/kg/jour.-Une pesée hebdomadaire du poids corporel des souris de chaque groupe afin de suivre l'évolution pondérale.-L'enregistrement des cas de mortalité éventuelle des animaux de chaque groupe.-La tenue d'un état descriptif des transformations morphologiques (pertes de poils, coloration des urines et des matières fécales) et comportementales (stress, anorexie) de chaque souris. Juste avant leur sacrifice par dislocation cervicale, les souris subissent une prise de sang pour les analyses hématologiques et biochimiques sériques. Après le sacrifice, les reins, le foie et le cerveau sont prélevés et pesés. Puis une étude histologique est effectuée sur les organes cibles pour vérifier l'existence d'éventuelles altérations. Dans un 2ème volet, nous avons analysé et évalué par une représentation graphique toutes les données obtenues sur cette toxine DON. Les résultats obtenus indiquent que l'ingestion de DON n'est pas sans conséquences sur certains paramètres hématologiques, biochimiques sériques ainsi qu'un dysfonctionnement rénal et histologiques dans les organes étudiés chez les souris Swiss.

### Mots-clés:

Déoxynivalénol(DON); Aliment; Toxicité; Paramètres hématologiques; Paramètres biochimiques; Foie; Rein; Cerveau; Modélisation numérique; Souris Swiss.