

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	17
PARTIE 1. MYCOTOXICOSES.....	21
1. Dans l'espèce porcine	24
1.1. Rapports de cas.....	24
1.2. Symptômes	26
1.2.1. Forme aiguë.....	26
1.2.2. Forme chronique	28
1.3. Lésions	30
1.3.1. Forme aiguë.....	30
1.3.2. Forme chronique	31
1.4. Biochimie et hématologie.....	32
1.4.1. Forme aiguë.....	32
1.4.2. Forme chronique	32
2. Chez le cheval	35
3. Chez les ruminants	35
3.1. Historique et rapports de cas	36
3.2. Symptômes	37
3.2.1. Forme aiguë.....	37
3.2.2. Forme chronique	37
3.3. Lésions	38
3.4. Biochimie et hématologie.....	39
4. Chez les volailles	41
4.1. Rapports de cas.....	41
4.2. Symptômes	43
4.2.1. Forme aiguë.....	43
4.2.2. Forme chronique	44
4.2.2.1. Effets sur la croissance	45
4.2.2.2. Effets sur la production d'oeufs	46
4.3. Lésions	47
4.3.1. Forme aiguë.....	47
4.3.2. Forme chronique	48
4.4. Biochimie et hématologie.....	50
5. L'aleucie toxique alimentaire	56
5.1. Etude clinique.....	56
5.1.1. Stade 1 de l'aleucie toxique alimentaire.....	57
5.1.2. Stade 2 de l'aleucie toxique alimentaire.....	57
5.1.3. Stade 3 de l'aleucie toxique alimentaire.....	58
5.1.4. Stade 4 de l'aleucie toxique alimentaire.....	58
5.2. Etude lésionnelle	59
6. Diagnostic et moyens de lutte	59
6.1. Diagnostiquer une intoxication par les trichothécènes.....	59
6.1.1. Diagnostic épidémiologique.....	59
6.1.2. Diagnostic clinique et lésionnel	60
6.1.3. Diagnostic de laboratoire	61
6.2. Notions de risque.....	62
6.3. Traitement	66
PARTIE 2. TOXICOCINETIQUE ET RESIDUS.....	69
1. Toxicocinétique	71

1.1.	Absorption	71
1.1.1.	Etude spécifique de l'absorption	71
1.1.1.1.	Par voie orale.....	71
1.1.1.2.	Par voie cutanée	73
1.1.2.	Rôle de la flore digestive et cycle entéro-hépatique.....	74
1.1.2.1.	Etude spécifique du rôle de la flore digestive	74
1.1.2.2.	Cycle entéro-hépatique.....	81
1.2.	Distribution plasmatique et tissulaire	82
1.2.1.	Paramètres cinétiques	82
1.2.1.1.	Fixation aux protéines plasmatiques	82
1.2.1.2.	Volume de distribution.....	82
1.2.2.	Distribution tissulaire et plasmatique	83
1.2.2.1.	Administration parentérale	83
1.2.2.2.	Administration orale.....	85
1.3.	Métabolisme	87
1.3.1.	Métabolisme de la toxine T-2.....	87
1.3.1.1.	Mammifères	89
1.3.1.2.	Volailles	91
1.3.1.3.	Conclusion.....	92
1.3.2.	Métabolisme du diacétoxyscirpénol.....	92
1.3.3.	Métabolisme du déoxynivalénol	94
1.3.4.	Métabolisme de la fusarénone-X.....	95
1.3.5.	Métabolisme du nivalénol	96
1.4.	Elimination	97
1.4.1.	Excrétion urinaire et hépatobiliaire	97
1.4.1.1.	Mammifères monogastriques	97
1.4.1.2.	Ruminants.....	100
1.4.1.3.	Volailles	101
1.4.2.	Passage dans le lait	102
1.4.3.	Passage dans les œufs.....	102
1.4.3.1.	Suite à une administration unique	102
1.4.3.2.	Suite à des administrations répétées.....	103
2.	Résidus.....	105
2.1.	Les muscles	105
2.2.	Les abats	105
PARTIE 3. PHYSIOPATHOLOGIE ET TOXICOLOGIE EXPERIMENTALE	111	
1.	Intoxication par les trichothécènes chez les espèces de laboratoire.....	114
1.1.	Toxicité aiguë.....	114
1.1.1.	DL50.....	114
1.1.2.	Symptômes et lésions	117
1.2.	Toxicité subaiguë	118
1.2.1.	Symptômes	118
1.2.2.	Lésions	121
1.2.3.	Hématologie et biochimie	122
1.2.4.	Conclusion.....	122
1.3.	Toxicité chronique.....	123
2.	Carcinogénicité et genotoxicité	125
2.1.	Carcinogénicité.....	125
2.1.1.	Etudes par voie orale	125
2.1.2.	Tests de carcinogénicité cutanée	126

2.2.	Génotoxicité et mutagénicité.....	127
2.3.	Conclusion.....	129
3.	Fonctions de reproduction, embryotoxicité et tératogénicité.....	129
3.1.	Action sur les gonades.....	130
3.1.1.	Ovaires	130
3.1.2.	Testicules.....	130
3.2.	Altération de la fertilité et de la fécondité, embryotoxicité.....	131
3.2.1.	Altération des indices de fertilité et fécondité.....	131
3.2.2.	Embryotoxicité	133
3.3.	Tératogénicité.....	135
3.4.	Conclusion.....	135
4.	Toxicité cardio-respiratoire et altération des paramètres vasculaires.....	136
4.1.	Déroulement du choc induit par les trichothécènes	136
4.2.	Rôle du système nerveux.....	137
4.3.	Modification de l'hémodynamique	137
4.4.	Rôle des pertes sanguines et plasmatiques	137
4.5.	Toxicité cardiaque	138
4.6.	Altérations biochimiques.....	138
4.7.	Conclusion.....	139
5.	Dermotoxicité.....	139
6.	Action sur l'appareil digestif.....	142
6.1.	Modification du comportement alimentaire	142
6.2.	Caractère émétisant	143
6.3.	Diarrhée	144
6.4.	Modification des activités enzymatiques	145
6.5.	Lésions du tube digestif.....	145
7.	Hématotoxicité.....	147
7.1.	<i>In vivo</i>	147
7.2.	<i>In vitro</i>	152
7.3.	Altération de la coagulation	153
8.	Immunotoxicité.....	155
8.1.	Atteinte des organes lymphoïdes.....	155
8.2.	Altération de la formule sanguine	157
8.2.1.	Toxicité aiguë	157
8.2.2.	Toxicité subaiguë	158
8.3.	Altération de la sensibilité aux agents infectieux	160
8.3.1.	Immunodépression	161
8.3.2.	Immunostimulation	163
8.4.	Altération de la sensibilité aux tumeurs	164
8.5.	Exploration spécifique du système immunitaire	164
8.5.1.	Réponse immunitaire non spécifique	165
8.5.2.	Réponse immunitaire spécifique	166
8.5.2.1.	Réponse immunitaire à médiation humorale.....	166
8.5.2.1.1.	Etudes <i>in vivo</i> et <i>ex vivo</i>	166
8.5.2.1.2.	Etudes <i>in vitro</i>	170
8.5.2.2.	Réponse immunitaire à médiation cellulaire	171
8.5.2.2.1.	Etude <i>in vivo</i> et <i>ex vivo</i>	171
8.5.2.2.2.	Etude <i>in vitro</i>	172
8.6.	Etude des mécanismes de l'immunotoxicité	174
8.6.1.	Modulation de la synthèse d'immunoglobulines	174

8.6.2. Le rôle des interleukines dans l'immunotoxicité des trichothécènes	175
8.7. Conclusion.....	184
9. Bases moléculaires de la toxicité	185
9.1. Altérations de la membrane plasmique	185
9.2. Modulation des synthèses macromoléculaires	187
9.2.1. Modulation des synthèses de protéines et d'acides nucléiques.....	187
9.2.1.1. Inhibition des synthèses	187
9.2.1.2. Stimulation des synthèses.....	190
9.2.1.3. Cinétique de modulation des synthèses.....	190
9.2.1.4. Mécanisme d'inhibition des synthèses	191
9.2.2. Inhibition des synthèses lipidiques.....	193
9.2.3. Conclusion.....	193
9.3. Toxicocinétique cellulaire	194
9.3.1. Cinétique d'absorption et de liaison cellulaire	194
9.3.2. Sensibilité relative des types cellulaires	196
9.3.3. Conclusion.....	197
9.4. Toxicité mitochondriale	198
9.5. Peroxydation lipidique	198
9.5.1. Effets des trichothécène sur les produits de la peroxydation lipidique	199
9.5.2. Effets des trichothécènes sur les agents antioxydants	200
9.5.3. Effets des agents antioxydants sur la toxicité des trichothécènes	201
9.5.4. Conclusion.....	201
9.6. L'apoptose.....	202
9.7. Conclusion.....	203
CONCLUSION.....	207
BIBLIOGRAPHIE	213

LISTE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES

Figure 1: Métabolisme digestif de la toxine T-2	77
Figure 2 : Métabolisme digestif du diacétoxyscirpénol (DAS).....	78
Figure 3 : Biotransformation du déoxynivalénol en déépoxydéoxynivalénol	79
Figure 4 : Distribution plasmatique et tissulaire du déoxynivalénol après injection intraveineuse (1mg/kg PV) chez le porc [Prelusky & Trenholm, 1991].....	83
Figure 5 : Distribution tissulaire et plasmatique après injection intramusculaire de toxine T-2 chez le cobaye (1 mg/kg PV) [Pace <i>et al.</i> , 1985]	84
Figure 6 : Distribution tissulaire et plasmatique du déoxynivalénol après administration par voie orale (25 mg/kg PV) chez la souris [Azcona-Olivera <i>et al.</i> , 1995]	85
Figure 7 : Evolution des concentration tissulaires après administration de déoxynivalénol (1.3- 1.7 mg/kg PV) par voie orale [Prelusky <i>et al.</i> , 1986a].....	86
Figure 8 : Voies métaboliques suspectées pour les biotransformations de phase 1 de la toxine T-2 (principaux métabolites)	88
Figure 9 : Toxicité relative des principaux métabolites de la toxine T-2 (DL 50).....	92
Figure 10 : Biotransformations de phase I du diacétoxyscirpénol (d'après Ueno 1984)	93
Figure 11 : Biotransformation de phase I de la fusarénone-X	96
Figure 12 : Evolution des concentrations dans le plasma, la bile et les urines après administration de déoxynivalénol (1 mg/kg) par voie IV chez le porc	99
Figure 13 : Evolution des concentrations dans l'oeuf de poule après une administration unique de 0.25 mg/kg PV de toxine T-2 par voie orale [Chi <i>et al.</i> , 1978b]	103
Figure 14 : Evolution des concentrations dans l'oeuf lors de l'administration répétée de 0.10 mg/kg PV pendant 8 jours [Chi <i>et al.</i> , 1978b]	104
Figure 15 : Structure de base des trichothécènes	192

TABLEAUX

Tableau 1 : Concentration en mycotoxines dans les céréales et aliments (composés de blé et d'orge), janvier 1984, Queensland, Australie [Moore <i>et al.</i> , 1985]	25
Tableau 2 : Récapitulatif des effets de la toxine T-2 dans l'espèce porcine (administration prolongée).....	33
Tableau 3 : Récapitulatif des effets du diacétoxyscirpénol dans l'espèce porcine (administration prolongée)	34
Tableau 4 : Récapitulatif des effets du déoxynivalénol dans l'espèce porcine (administration prolongée).....	34
Tableau 5 : Récapitulatif des effets de la toxine T-2 chez les ruminants	40
Tableau 6 : Récapitulatif des effets du diacétoxyscirpénol chez les ruminants (administration prolongée).....	40
Tableau 7 : Récapitulatif des effets du déoxynivalénol chez les ruminants (administration prolongée).....	40
Tableau 8 : MED estimées de la baisse de GMQ ou de la perte de poids observées chez les volailles suite à l'administration d'aliment contaminés par des trichothécènes	46
Tableau 9 : MED estimées des lésions cutanéo-muqueuses macroscopiques observées chez les volailles suite à l'administration d'aliment contaminés par des trichothécènes	49
Tableau 10 : Récapitulatif des effets de la toxine T-2 chez les volailles	52

Tableau 11 : Récapitulatif des effets du diacétoxyscirpénol chez les volailles (administration prolongée).....	54
Tableau 12 : Récapitulatif des effets du déoxynivalénol chez les volailles	55
Tableau 13 : Nature des interactions entre trichothécènes et autres mycotoxines	62
Tableau 14 : Contamination des céréales par le déoxynivalénol et la toxine T-2 [Balzer, 2003, JECFA, 2001].....	62
Tableau 15 : Doses toxiques chez le porc et les volailles	63
Tableau 16 : Niveaux de recommandation en DON dans l'alimentation animale.....	65
Tableau 17 : Vitesse de pénétration <i>in vitro</i> des trichothécènes à travers la peau	73
Tableau 18 : Importance du métabolisme des trichothécènes par la flore digestive des mammifères monogastriques.....	76
Tableau 19 : Importance relative des principaux métabolites de la toxine T-2 en présence de microsomes hépatiques [Kobayashi <i>et al.</i> , 1987].....	90
Tableau 20 : Métabolites du diacétoxyscirpénol dans la peau après administration cutanée ..	94
Tableau 21 : Proportions des métabolites du déoxynivalénol dans les fèces, les urines, la bile et le plasma chez le rat, le porc et la brebis	95
Tableau 22 : Temps de demi-vie plasmatique du déoxynivalénol, du nivalénol et de la fusarénone-X chez le porc et la souris	98
Tableau 23 : Résidus musculaires en équivalent-toxine suite à une administration unique ..	106
Tableau 24 : Résidus musculaires en équivalent-toxine suite à une administration prolongée ..	106
Tableau 25 : Résidus hépatiques en équivalent-toxine suite à une administration unique	107
Tableau 26 : Résidus hépatiques en équivalent-toxine suite à une administration prolongée	107
Tableau 27 : Résidus rénaux en équivalent-toxine suite à une administration unique.....	108
Tableau 28 : Résidus rénaux en équivalent-toxine suite à une administration prolongée	108
Tableau 29 : DL 50 des trichothécènes	116
Tableau 30 : Tableau récapitulatif des symptômes et lésions de l'intoxication subaiguë par les trichothécènes chez les rongeurs	120
Tableau 31 : Protocole des tests de carcinogénicité cutanée des trichothécènes	127
Tableau 32 : Effet des trichothécènes sur les synthèses d'ADN non programmées (UDS) ...	128
Tableau 33 : Protocoles n'induisant pas d'altération de la fertilité et de la fécondité chez les mammifères	132
Tableau 34 : Embryotoxicité des trichothécènes.....	134
Tableau 35 : Tableau récapitulatif des altérations hématologiques non leucocytaires	149
Tableau 36 : Toxicité des trichothécènes pour les tissus hématopoïétiques	151
Tableau 37 : Doses toxiques pour les organes lymphoïdes (mg/kg PV).....	156
Tableau 38 : Protocoles expérimentaux ne provoquant pas d'altération de la formule leucocytaire (administration prolongée).....	160
Tableau 39 : Concentration en trichothécènes inhibant à 50 % la réponse des lymphocytes à différents agents mitogènes	171
Tableau 40 : Concentrations maximales en trichothécènes (ng/mL) permettant une augmentation de la synthèse d'interleukines, et concentrations induisant une augmentation (+) ou une diminution(-) de la quantité d'ARNm d'interleukines	180
Tableau 41 : Tableau simplifié des sources et activités des interleukines	183
Tableau 42 : Effets de la toxine T-2 sur la quantité de protéines et d'acides nucléiques dans le foie et la muqueuse intestinale de rats.....	187
Tableau 43 : Evolution des synthèses d'ADN et de protéines après administration de toxine T-2 chez la souris	188
Tableau 44 : Paramètres de l'absorption de la toxine T-2 et du T-2 tétraol dans des lymphocytes murins et des cellules ovarianes de hamster chinois.....	194

Tableau 45 : IC50 et absorption de la toxine T-2 pour différents types cellulaires 197

Rapport.Gratuit.Com

ABREVIATIONS UTILISEES

3-ADON : 3- acétyldéoxynivalénol	IV : intraveineuse
15-ADON : 15-acétyldéoxynivalénol	L : lésions
4-DANS : 4-déacétylnéosalaniol	LB : lymphocyte B
ATA : aleucie toxique alimentaire	LDH : lactate déshydrogénase
BV : bovin	LPS : lipopolysaccharide
CA : canard	LT : lymphocyte T
CHO : cellule ovarienne de hamster chinois	LTh : lymphocyte T auxiliaire (<i>helper</i>)
Con A : concanavaline A	MAS : monoacétoxyscirpénol
DAS : diacétoxyscirpénol, anguidine	MED : <i>minimum effective dose</i> – dose minimale pour obtenir un effet
DEHT-2 : déépoxy HT-2	ND : non détectable
DEMAS : déépoxymonoacétoxyscirpénol	NEO : néosolaniol
DESTO : déépoxyscirpentriol	NK : <i>natural killer</i> (cellules)
DE T-2 triol : déépoxy T-2 triol	NIV : nivalénol
DI : dinde	OV : ovin
DMBA : 7,8-diméthylbenz(α)anthracène	P : poulet de chair
DNP-ficoll : dinitrophényl-ficoll	PHA : phytohémagglutinine
DOM-1 : déépoxydéoxynivalénol	Pl-X : concentration plasmatique en X
DON : déoxynivalénol, vomitoxine	PMA+ION : phorbol myristate acétate + ionomycine
F-X : fusarénone-X	PP : poule pondeuse (œuf de consommation)
GMQ : gain moyen quotidien	PPC : poule pondeuse (œufs à couver)
GNB : granulocytes basophiles	PT : protéines totales
GNE : granulocytes éosinophiles	PWM : <i>pokeweed mitogen</i>
GNN : granulocytes neutrophiles	RAS : rien à signaler
GRM : globules rouges de mouton	S : symptômes
Hb : hémoglobine	SC : sous-cutanée
Ht : hématocrite	Se-X : concentration sérique en X
IC : indice de conversion	sIg : immunoglobulines de surface
IgA : immunoglobuline A	STO : scirpentriol
IgE : immunoglobuline E	T1/2 : temps de demi-vie
IgG : immunoglobuline G	VGM : volume globulaire moyen
IgM : immunoglobuline M	VO : voie orale
IL : interleukine	
IM : intramusculaire	
IP : intrapéritonéale	

INTRODUCTION

Les trichothécènes constituent une large famille de mycotoxines divisée en quatre groupes A, B, C et D. Tous possèdent une structure sesquiterpénoïde et un époxyde en position C_{12,13} (Figure 15). Ils sont habituellement classés en fonction de leur substituants. Les trichothécènes du groupe A les plus importants sont la toxine T-2 et le diacétoxyscirpénol ou anguidine, pour le groupe B, le déoxynivalénol ou vomitoxine et le nivalénol. Les trichothécènes du groupe C – crotocine et baccharine notamment – possèdent un groupement époxyde supplémentaire. Ceux du groupe D, dits macrocycliques – satratoxine et roridine par exemple – possèdent une structure macrocyclique en position C_{4,15}. Cette étude se limite aux propriétés toxiques des trichothécènes des groupes A et B qui sont produits par des moisissures des genres *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Trichothecium* et surtout *Fusarium*. Les trichothécènes sont des molécules particulièrement résistantes aux facteurs environnementaux comme la température, le pH et la lumière, difficiles à éliminer des grains contaminés [Balzer, 2003, Sudakin, 2003].

Le premier trichothécène identifié, la trichothécine, a été découvert en 1949 par Freeman. C'est environ à la même époque que la famine en URSS pousse à consommer des grains moisissus retrouvés dans les champs après l'hiver, déclenchant des épidémies d'une maladie connue chez l'homme depuis le début du XX^{ème} siècle, l'aleucie toxique alimentaire. Celle-ci est dès lors associée à la consommation de ces céréales contaminées par *Fusarium poae* et *F. sporotrichioides*, mais ce n'est qu'en 1972 qu'a été démontré la production de trichothécènes – la toxine T-2 – par ces moisissures [Balzer, 2003, Vidal, 1990].

Ce travail prolonge celui d'Alexandre Balzer : *Les trichothécènes : nature et origine* en étudiant les modes d'action et la toxicité des trichothécènes [Balzer, 2003].

La première partie est consacrée à la description des mycotoxicoses chez l'animal et l'homme, et à la démarche diagnostique qui pourra conduire à l'identification de ces mycotoxicoses.

La deuxième partie aborde la toxicocinétique des trichothécènes et les résidus dans les produits animaux.

La troisième partie se consacre à la physiopathologie des intoxications par les trichothécènes et à la toxicologie expérimentale. L'étude de la toxicité des trichothécènes chez les espèces de laboratoire permet d'introduire l'étude de la physiopathologie de ces intoxications. Cette partie reprend donc les données obtenues par la reproduction des mycotoxicoses et les prolonge en s'appuyant sur les études spécifiques aux points abordés :

cancérogénicité, toxicité de la reproduction, immunotoxicité, *etc.* Elle s'achève par l'étude des bases moléculaires de la toxicité des trichothécènes.

Cette thèse a pour double objectif de présenter de la façon la plus complète possible – prétendre à l'exhaustivité serait utopique – les données actuelles concernant la toxicité et les modes d'action des trichothécènes, et de fournir aux vétérinaires praticiens un outil détaillé pour le diagnostic des ces affections méconnues et le plus souvent insidieuses, notamment dans les productions animales industrielles.

PARTIE 1. MYCOTOXICOSES

Malgré la toxicité des trichothécènes et leur résistance à la plupart des processus de transformation des aliments, les rapports de cas de mycotoxicoses spontanées dues aux trichothécènes sont rares et, le plus souvent, anciens [JECFA, 2001, WHO, 1990].

Cette rareté des sources s'accompagne le plus souvent d'imprécisions qui rendent l'interprétation des cas délicate : défaut de recherche d'autres toxines, absence de reproduction expérimentale, limites de détection trop élevées, etc.

La reproduction expérimentale de ces intoxications a par contre suscité de très nombreuses publications qui permettent d'obtenir une idée précise des effets des trichothécènes des groupes A et B, et plus particulièrement de la toxine T-2, du diacétoxyscirpénol (ou anguidine, DAS) et du déoxynivalénol (ou vomitoxine, DON). Ces études ont notamment concernés les porcs, bovins, ovins, poules pondeuses et poulets de chair, dindes, canards, etc.

Cette première partie s'attachera tout d'abord à présenter les rares cas de terrain décrits, puis à relever les symptômes, lésions et modifications biologiques (biochimie sanguine et hématologie) provoqués par ces toxines lors des reproductions expérimentales. Ceci permettra de vérifier la validité des conclusions des rapports de cas. Le diagnostic et les traitements envisageables seront également abordés.

L'étude des mycotoxicoses comprendra également celle de l'aleucie toxique alimentaire, maladie humaine provoquée par les trichothécènes et reproduite expérimentalement avec un modèle félin.

Ces descriptions fourniront une base à l'étude de la pharmacocinétique et des mécanismes d'action des trichothécènes, en insistant notamment sur une comparaison des différents composés et surtout de leurs effets dans les espèces étudiées.

1. DANS L'ESPECE PORCINE

L'espèce porcine est l'une des plus sensible à l'action des trichothécènes. Si les symptômes et lésions de l'intoxication aiguë sont assez évocateurs, les formes subaiguës et chroniques sont par contre insidieuses, responsables de baisse de performances plus que de signes cliniques.

La voie de contamination rapportée lors des descriptions de cas sur le terrain est systématiquement la voie orale, mais les études réalisées ont démontré une toxicité cutanée par contact qui sera abordée ultérieurement (Partie 3. 5. Dermotoxicité)

Les symptômes et lésions rapportés lors d'intoxication chronique par les trichothécènes dans l'espèce porcine sont rassemblés dans les tableaux 2 à 4.

1.1. Rapports de cas

En octobre 1973, un lot de porcs en Colombie britannique, nourri avec un mélange d'orge et d'avoine, a présenté des vomissements puis a refusé l'aliment proposé. Les porcs ont ensuite consommé des quantités anormalement élevées d'eau et d'herbe. Suite au retrait de l'aliment suspect et à son remplacement, l'appétit est redevenu normal sous cinq jours. Les porcelets non sevrés n'ont présentés aucun symptôme. L'analyse d'un échantillon d'orge a permis d'identifier de la toxine T-2 à une concentration de 25 mg/kg. Des tests cutanés ont démontré la présence d'un agent dermonécrosant puissant. La reproduction expérimentale avec des oies (concernées elles aussi par l'épisode – voir 4.1.Rapports de cas) concordait avec les observations de terrain. La recherche de plusieurs autres toxiques s'est révélée négative, mais les auteurs n'ont pas recherché la présence d'autres trichothécènes, et rapportent qu'un autre laboratoire a conclu à l'absence de toxine T-2 dans l'échantillon. Devant les limites des connaissances concernant les trichothécènes à l'époque, et la faiblesse des méthodes d'investigation, les auteurs concluent à une fusariotoxicose [Greenway & Puls, 1976, Puls & Greenway, 1976].

En juillet 1981 en Afrique du Sud, la distribution d'aliment moisi à un lot de 300 porcs âgés de 10 à 16 semaines a provoqué la mort de 9 d'entre eux suite à des troubles hémorragiques. L'analyse de l'aliment suspect a révélé la présence de DAS (niveau de contamination non précisé), et l'absence d'autres trichothécènes et de nombreuses autres

mycotoxines. En l'absence de reproduction expérimentale et d'investigations plus poussées, les auteurs concluent sur le rôle incertain du DAS dans cet épisode [Collet & Zumpt, 1986].

En janvier 1984 en Australie, la distribution d'un aliment comprenant du blé et de l'orge moisissus a entraîné un refus complet de l'aliment de la part des porcelets et une diminution de consommation des porcs plus âgés et des truies. Aucun vomissement n'a été observé, mais les animaux n'ont pas été surveillés après la première distribution de l'aliment. Après 3 à 4 jours, plusieurs truies de 30-50 kg ont présenté une vulve rouge et œdémateuse. Le retrait de l'aliment suspect et la fabrication d'un nouvel aliment à partir de l'orge et de triticale, également moisie, ont permis une reprise de la consommation alimentaire et de la croissance. Les recherches effectuées ont révélé la présence de zéaralénone et de DON dans les trois céréales (Tableau 1). A noter que les nouveaux aliments, comprenant au plus 0.4 mg/kg de DON, n'ont entraîné l'apparition d'aucun symptôme visible.

Tableau 1 : Concentration en mycotoxines dans les céréales et aliments (composés de blé et d'orge), janvier 1984, Queensland, Australie [Moore *et al.*, 1985]

	Zéaralénone (mg/kg)	Déoxynivalénol (mg/kg)
Blé	6.2	34.4
Orge	0.1	< 0.1
Triticale	2.8	10.0
Aliment porcelets	1.7	17.3
Aliment porcs en croissance	1.7	7.6
Aliment reproducteurs	1.6	4.4

Les auteurs concluent à une double intoxication, la zéaralénone provoquant les symptômes d'oestrogénisme et le DON le refus de l'aliment [Moore *et al.*, 1985].

Durant l'été 1986 en Argentine, plusieurs éleveurs de porcs ont rapporté des refus alimentaires associés à une chute de croissance et une augmentation de l'indice de conversion alimentaire. Dans tous les cas, les porcs étaient nourris avec un aliment comprenant 40 % de blé, après une saison froide et humide favorable à la croissance de *Fusarium*. Les analyses ont démontré la présence de nombreuses souches de *Fusarium* et de niveaux de contamination par le DON variables (1-20 mg/kg) dans le blé et les aliments. Aucune autre mycotoxine n'a été détectée. Une reproduction expérimentale a démontré le rôle de ces moisissures dans le refus de l'aliment, entraînant également une congestion de la muqueuse de l'estomac (au niveau du

fundus) et de l'intestin grêle, une dégénérescence hydropique des hépatocytes et une vacuolisation des cellules du tubule contourné distal. Dans l'état des connaissances actuelles les auteurs concluent à la concordance entre les troubles observés et les effets du DON [Marpegan *et al.*, 1988].

Les troubles décrits lors des reproductions expérimentales d'intoxication par les trichothécènes sont similaires à ces différentes affections spontanées.

1.2. Symptômes

1.2.1. Forme aiguë

Les données concernant la toxicité aiguë des trichothécènes chez le porc sont parcellaires. Les DL50 disponibles dans la littérature sont, pour la toxine T-2 administrée par voie intraveineuse (IV), 1.21 mg/kg, et pour le DAS administré par voie IV, 0.38 mg/kg (Tableau 29 : DL50 des trichothécènes) [Weaver *et al.*, 1978a, 1978c].

Les symptômes observés lors d'intoxication aiguë par les trichothécènes (injection IV) sont très semblables d'une toxine à l'autre, différant essentiellement dans leur déroulement dans le temps.

Le tableau clinique peut être divisé en trois syndromes : digestif, neuro-musculaire et nerveux. Les symptômes décrits ci-dessous ont été observés pour des administration de 0.13-3.2 mg/kg de toxine T-2, 0.30-0.50 mg/kg de DAS ou 0.5 mg/kg de DON [Coppock *et al.*, 1985, Weaver *et al.*, 1978a, 1978c].

Le syndrome digestif commence par des vomissements qui apparaissent dans les 2 (DON), 15 (T-2) à 20 minutes (DAS) suivant l'injection intraveineuse. Ces vomissements se prolongent 3-6 heures selon les toxines et les individus. Ils s'accompagnent de polyphagie dans le cas de la toxine T-2 et du DAS. L'auteur ne relève pas ce symptôme après injection de DON, mais il ne précise pas non plus si de l'aliment était à disposition [Coppock *et al.*, 1985, Weaver *et al.*, 1978a, 1978c].

Les porcs présentent également, dans le même intervalle de temps, une augmentation de la fréquence d'élimination de selles normales [Coppock *et al.*, 1985, Weaver *et al.*, 1978a, 1978c].

Ces selles deviennent diarrhéiques au bout d'une heure et demie dans le cas du DON, et s'accompagnent de ténesme, d'un prolapsus rectal partiel et d'une diarrhée mucoïde. Ces symptômes disparaissent 10 heures après l'injection de DON [Coppock *et al.*, 1985].

Dans aucun des cas du sang n'est détecté dans les selles, mais dans le cas de l'intoxication par le DAS, de grandes quantités de sang sont retrouvées à l'autopsie dans les parties terminales du tube digestif. Cependant, l'animal est mort avant d'avoir pu éliminer ce sang [Weaver *et al.*, 1978a].

Une anorexie partielle est également notée dans le cas de l'intoxication par le DAS 24 heures après l'administration de la toxine. Elle n'est pas signalée avec les autres trichothécènes, mais il faut néanmoins remarquer que l'évolution de l'intoxication par cette toxine dure beaucoup plus longtemps (les derniers symptômes disparaissent au bout de 7 jours) que pour la toxine T-2 ou le DON (les porcs survivants étant rétablis respectivement au bout de 24 et 12 heures) [Coppock *et al.*, 1985, Weaver *et al.*, 1978a, 1978c].

Le syndrome neuro-musculaire est à considérer en liaison avec le syndrome nerveux « pur », les symptômes observés pouvant aussi bien trouver leur origine dans une atteinte périphérique du muscle ou des terminaisons nerveuses que dans une atteinte centrale.

Les porcs présentent une parésie postérieure qui va s'aggravant. Elle s'accompagne d'une démarche chancelante, de positions anormales des membres, d'une recherche d'appuis, *etc.* Cette parésie débute dès les premières minutes de l'intoxication pour atteindre son intensité maximale entre 6 et 12 heures après l'injection. Au bout de 12 h pour le DON, 19 heures pour la toxine T-2 et jusqu'à 7 jours pour le DAS, la parésie a quasiment disparu [Coppock *et al.*, 1985, Weaver *et al.*, 1978a, 1978c].

Le syndrome nerveux débute également très rapidement, par une apathie marquée qui évolue en léthargie profonde en 1 à 3 heures pour trouver son climax entre 1 et 7 heures [Coppock *et al.*, 1985, Weaver *et al.*, 1978a, 1978c].

Cette léthargie s'accompagne de tremblements dans le cas de l'intoxication par le DON [Coppock *et al.*, 1985].

Dans le cadre de l'intoxication par le DON un érythème d'apparition rapide, disparaissant au bout d'une dizaine d'heures est également décrit [Coppock *et al.*, 1985].

Les auteurs notent que les morts surviennent avant 18-19 heures pour le DAS et la toxine T-2 (aux doses étudiées, le DON n'a provoqué aucune mortalité) [Coppock *et al.*, 1985, Weaver *et al.*, 1978a, 1978c].

Les symptômes observés chez le porc lors d'intoxication aiguë par la toxine T-2, le DAS et le DON sont donc semblables, ne différant que dans leur vitesse et leur durée d'évolution. Ceci suggère un mode d'action commun entre les trichothécènes des groupes A et B, chaque toxine ayant cependant sa propre cinétique.

1.2.2. Forme chronique

Les manifestations de l'intoxication chronique par les trichothécènes sont bien plus frustres que celles observées lors d'intoxication aiguë.

Trois types de troubles peuvent toutefois être distingués : une baisse des performances globales, des troubles nerveux et un ensemble de lésions de la peau et des muqueuses qualifié de « radiomimétiques ».

La baisse des performances globales est initiée par une baisse de consommation alimentaire. Le refus de l'aliment contaminé est fonction de la dose de toxine :

- entre 1-4 mg/kg de toxine T-2 et 2-3 mg/kg de DON, le refus est seulement partiel, et si le GMQ est statistiquement diminué, cette diminution reste modérée [Harvey *et al.*, 1989, Pollmann *et al.*, 1985, Rafai *et al.*, 1995, Trenholm *et al.*, 1984, Weaver *et al.*, 1978c].
- avec 5-10 mg/kg de toxine T-2, 2-9 mg/kg de DAS, ou 2.8-5 mg/kg de DON, l'aliment est partiellement refusé et le GMQ diminue significativement. Les variations entre études – probablement imputables aux différences d'âges entre les porcs – font osciller ce palier de contamination entre les effets des doses inférieures et supérieures [Coté *et al.*, 1984, Harvey *et al.*, 1990, 1991, 1994, Pollmann *et al.*, 1985, Rafai *et al.*, 1995, Trenholm *et al.*, 1984, Weaver *et al.*, 1978c, 1981].
- à partir de 15 mg/kg de toxine T-2 et 10 mg/kg de DAS, le refus de l'aliment est très prononcé, voire total, et conduit à un amaigrissement rapide [Rafai *et al.*, 1995, Weaver *et al.*, 1978c, 1981].

L'indice de conversion alimentaire (IC) n'est par contre pas modifié, ce qui semble indiquer que la diminution des performances est due à la baisse de consommation [Harvey *et al.*, 1990, Rafai *et al.*, 1995, Weaver *et al.*, 1978c, 1981].

Cette baisse de consommation peut également expliquer la baisse de performances de reproduction (baisse de la fertilité, de la taille des portées, de la taille des porcelets) observées chez des truies nourries avec 12 mg/kg de toxine T-2 ou 3.5 mg/kg de DON [Trenholm *et al.*, 1984, Weaver *et al.*, 1978b].

Les troubles nerveux sont décrits par certains auteurs pour des doses comprises entre 10 et 15 mg/kg de toxine T-2. Les porcs deviennent léthargiques et se comportent comme s'ils avaient froid (malgré une température rectale normale et une température environnementale neutre) [Rafai *et al.*, 1995].

Les lésions « radiomimétiques » apparaissent systématiquement avec la consommation d'un aliment contaminé à hauteur de 10-15 mg/kg de toxine T-2. Sont décrites une inflammation et des croûtes sur la peau du groin, les commissures buccales, les oreilles et le prépuce, s'aggravant avec le temps, mais ne provoquant pas de signes de gêne ou de douleur chez les porcs. Des lésions équivalentes sont observées sur la langue et les muqueuses buccales. Ces lésions primaires se compliquent ensuite d'infections secondaires, des colonies bactériennes se développant dans les tissus nécrosés. La localisation de ces lésions concordent avec les zones les plus fréquemment en contact avec la toxine T-2 et la description des lésions observées après administration cutanée de toxine T-2 (Partie 3. 5. Dermotoxicité) [Harvey *et al.*, 1990, Rafai *et al.*, 1995].

Des lésions semblables sont décrites à partir d'une contamination de 4 mg/kg de DAS, mais la peau est épargnée et les lésions ne se développent que dans la cavité buccale. D'autres lésions, prolifératives cette fois, sont rapportées dans les mêmes localisations.

A des doses inférieures de inférieures de toxine T-2 (aliment contaminé à hauteur de 1-8 mg/kg de toxine T-2 pendant 4-8 semaines à des porcelets en croissance), aucune lésion, macro- ou microscopique, n'est observée [Harvey *et al.*, 1994, Weaver *et al.*, 1978c].

Curieusement, entre 4 et 5 mg/kg de toxine T-2, certains auteurs rapportent par contre les lésions décrites ci-dessus, sans différence expérimentale majeure hormis de légères variations dans l'âge des porcs. Des lésions du même type sont même détectables lors d'un examen histologique avec des doses aussi basses que 0.5 mg/kg de toxine T-2 [Rafai *et al.*, 1995].

Les symptômes provoqués par une intoxication chroniques par ces trois trichothécènes sont donc encore une fois très homogènes, avec une relation dose-effet semblable à des paliers

de doses différents. Ceci suggère encore une fois un mode d'action commun mais une cinétique propre à chaque toxine.

1.3. Lésions

1.3.1. Forme aiguë

Les lésions sont relativement proches que les animaux soient morts suite à une intoxication aiguë par la toxine T-2 (0.9-3.2 mg/kg, voie IV), le DAS (0.30-0.50 mg/kg, voie IV) ou sacrifiés après une injection de 0.50 mg/kg de DON (voie IV). Elles peuvent être regroupées en lésions de l'appareil digestif, du système immunitaires et du système nerveux.

Au niveau de l'appareil digestif, les porcs ont l'estomac plein (les animaux ont présenté une polyphagie intense juste après l'injection de toxine) mais le tube digestif vide (à mettre en relation avec la fréquence élevée des défécations suite au traitement) [Weaver *et al.*, 1978a, 1978c].

L'analyse histologique montre des images de dégénérescence et de nécrose (pycnose, caryorrhixie) des cellules de la muqueuse et des cryptes de l'iléon et du jéjunum, ainsi qu'une congestion sévère de ces mêmes muqueuses sur les porcs décédés suite à l'administration de toxine T-2 et sur certains porcs morts suite à l'administration de DAS (certains ne présentaient aucune lésion, sans relation avec la dose administrée) [Weaver *et al.*, 1978a, 1978c].

Suite à l'administration de DAS (0.43 mg/kg, IV), l'un des porcs présente des lésions plus sévères, avec une inflammation congestive à fibrino-nécrotique du jéjunum au colon spiral et un caecum emplit de sang à la muqueuse hémorragique [Weaver *et al.*, 1978a].

Les porcs ayant reçu 0.50 mg de DON par voie IV présentent eux une nécrose des acini et des îlots pancréatiques [Coppock *et al.*, 1985].

L'analyse histologique des organes et tissus du système immunitaire révèle des images de dégénérescence et de nécrose cellulaire dans les plaques de Peyer, les follicules clos coliques, la pulpe blanche splénique et/ou les centres germinatifs des nœuds lymphatiques mésentériques [Coppock *et al.*, 1985, Weaver *et al.*, 1978a, Weaver *et al.*, 1978c].

Enfin, sur les porcs morts suite à l'injection de toxine T-2 et sur l'un des porcs décédés suite à l'injection de DAS, les auteurs remarquent une congestion plus ou moins oedématueuse des méninges. De telles lésions n'ont pas été observées lors de l'administration de DON [Coppock *et al.*, 1985, Weaver *et al.*, 1978a, Weaver *et al.*, 1978c].

Le porc ayant les plus graves lésions hémorragiques après l'injection de DAS présente également des hémorragies myocardiques [Weaver *et al.*, 1984].

L'autopsie des animaux survivants 26 heures à 12 jours après l'injection de 0.13-1.5 mg/kg de toxine T-2 n'a révélé aucune lésion macro- ou microscopique [Weaver *et al.*, 1978c].

L'autopsie d'un porc 7 jours après l'injection de 0.40 mg/kg de DAS montre par contre une congestion intense des muqueuses du jéjunum et de l'iléon, sans image de nécrose. Cette persistance lésionnelle est à mettre en rapport avec la durée prolongée des symptômes par rapport à l'intoxication à la toxine T-2 [Weaver *et al.*, 1978a].

1.3.2. Forme chronique

Hormis les lésions cutanéo-muqueuses décrites précédemment (1.2.2. Forme chronique), les seules lésions rapportée sont observées avec la consommation d'un aliment contaminé par 4 mk/kg de DAS sont une hyperplasie des cellules glandulaires et épithéliales de la muqueuse de l'intestin grêle est également rapportées [Weaver *et al.*, 1981].

Après distribution d'un aliment contaminé à hauteur de 1-8 mg/kg de toxine T-2 pendant 4-8 semaines à des porcelets en croissance, aucune lésion, macro- ou microscopique, n'est observée [Harvey *et al.*, 1994, Weaver *et al.*, 1978c].

Aucune lésion cutanée ou buccale n'est rapportée lors d'intoxication chronique des porcs par le DON, mais certains auteurs rapportent une congestion et des érosions des muqueuses gastriques et intestinales essentiellement pendant les premières semaines d'intoxication [Coté *et al.*, 1984]. Ultérieurement, un épaissement et une kératinisation de la muqueuse oesophagienne de l'estomac proportionnels à la concentration en DON dans l'aliment apparaissent. Ils peuvent sans doute s'expliquer comme une réaction aux lésions érosives [Trenholm *et al.*, 1984].

A noter qu'une seule équipe rapporte des lésions du système immunitaire, décrites comme des dégénérescence des cellules blanches dans les organes lymphoïdes primaires et secondaires [Coté *et al.*, 1984].

1.4. Biochimie et hématologie

1.4.1. Forme aiguë

Les analyses effectuées 26 heures à 12 jours après une injection de 0.13-1.5 mg/kg de toxine T-2 par voie IV et 3 à 14 jours après l'injection de 0.35-0.45 mg/kg de DAS par voie IV n'ont révélé aucune anomalie, tant sur les plans biochimique qu'hématologique [Weaver *et al.*, 1978a, 1978c].

Après injection de 0.5 mg/kg de DON par voie IV, la glycémie subit une brève augmentation, suivie d'une diminution particulièrement marquée 6 heures après l'injection. Du sang est détecté dans les urines entre une demie heure et 4 heure après l'injection [Coppock *et al.*, 1985].

1.4.2. Forme chronique

Les paramètres biochimiques et hématologiques suivis dans les études disponibles fournissent un panel varié, inconstant et hétérogène d'altérations, qui ne semblent conduire à aucune application diagnostique pratique.

Les variations observées comportent une altération de la triglycéridémie (à la hausse ou à la baisse), une diminution d'activité des PAL, une augmentation d'activité des ASAT, une augmentation de la phosphorémie, de la magnésémie, une baisse de la glycémie, de l'urémie, etc. [Coté *et al.*, 1985, Harvey *et al.*, 1989, 1990, 1994, Rafai *et al.*, 1995, Weaver *et al.*, 1978c, 1981].

**Tableau 2 : Récapitulatif des effets de la toxine T-2 dans l'espèce porcine
(administration prolongée)**

	Dose* et durée	Manifestations	Références
Performances zootechniques	0.5-15 mg/kg ; 3-4 sem.	Baisse de consommation alimentaire ; IC peu modifié.	Harvey 1990, Harvey 1994, Rafai 1995
	1-8 mg/kg ; 8 sem.	Baisse de consommation alimentaire la première semaine puis retour à la normale, sinon RAS.	Weaver 1978c
	12 mg/kg ; 2-7 mois	Pas de baisse de consommation alimentaire	Weaver 1978b
	1-10 mg/kg ; 3-4 sem.	Baisse du GMQ.	Harvey 1990, Harvey 1994, Rafai 1995
	5-15 mg/kg ; 3-4 sem.	Perte de poids.	Harvey 1990, Harvey 1994, Rafai 1995
	16-32 mg/kg ; quelques jours	Refus de l'aliment.	Weaver 1978c
Peau et muqueuses	0.5-15 mg/kg ; 3-4 sem.	L : Hyper- et parakératose, acanthose, nécrose, érosions superficielles à profondes, infiltration inflammatoire dermique.	Harvey 1990, Rafai 1995
	1-8 mg/kg ; 8 sem.	S & L : RAS	Weaver 1978c
	4-15 mg/kg ; 3-4 sem.	L : Dermatite et croûtes sur le groin, le chanfrein, les commissures buccales, derrière les oreilles et autour du fourreau, stomatite, glossite.	Harvey 1990, Rafai 1995, Weaver 1978b
App. digestif	0.5-15 mg/kg ; 3 sem.	S : RAS	Rafai 1995
	8-10 mg/kg ; 4 sem.	L : RAS	Harvey 1990, Harvey 1994
	1-8 mg/kg ; 8 sem.	L : RAS	Weaver 1978c
	12 mg/kg ; 2-7 mois	L : congestion et érosions fibrineuses des muqueuses digestives	Weaver 1978b
Reproduction	12 mg/kg ; 2-7 mois	S : infertilité, portées petites et porcelets chétifs	Weaver 1978b
Comportement	10, 15 mg/kg ; 3-4 sem.	S : léthargie, frissons.	Harvey 1990, Rafai 1995
Hématologie	8 mg/kg ; 4 sem.	Pl-hémoglobine diminuée, sinon RAS	Harvey 1994
	10 mg/kg ; 4 sem.	Anémie ferriprive	Harvey 1990
	12 mg/kg ; 2-7 mois	RAS	Weaver 1978b
Biochimie	1-15 mg/kg ; 3 sem.	Baisse de la glycémie.	Rafai 1995
	1-3 mg/kg ; 3 sem.	Pl-Phosphore inorganique et Pl-Mg augmentées.	Rafai 1995
	8 mg/kg ; 4 sem.	PAL diminuée.	Harvey 1994
	10 mg/kg ; 4 sem.	Pl-triglycérides augmentée, Pl-urée diminuée.	Harvey 1990

* : sauf précision contraire, les doses de toxine sont exprimées en mg/kg d'aliment (concentré)

Tableau 3 : Récapitulatif des effets du diacétoxyscirpénol dans l'espèce porcine (administration prolongée)

	Dose* et durée	Manifestations	Références
Performances zootechniques	2-9 mg/kg ; 4-9 sem.	Baisse du GMQ et de la consommation alimentaire, IC non altéré.	Harvey 1991, Weaver 1981
	10 mg/kg ; quelques jours	Refus total de l'aliment.	Weaver 1981
Peau et muqueuses	2-9 mg/kg ; 9 sem.	L : lésions prolifératives multifocales des muqueuses buccales, linguales et gingivales.	Weaver 1981
App. digestif	2-9 mg/kg ; 9 sem.	L : hyperplasie des cellules épithéliales et glandulaires de la muqueuse de l'intestin grêle.	Weaver 1981
Comportement	2-9 mg/kg ; 9 sem.	RAS	Weaver 1981
Hématologie	2-9 mg/kg ; 9 sem.	RAS	Weaver 1981
Biochimie	2 mg/kg ; 4 sem.	Diminution de la capacité à chélater le fer	Harvey 1991
	2-9 mg/kg ; 9 sem.	RAS	Weaver 1981
NOEL	< 2mg/kg		Weaver 1981

* : sauf précision contraire, les doses de toxine sont exprimées en mg/kg d'aliment (concentré)

Tableau 4 : Récapitulatif des effets du déoxynivalénol dans l'espèce porcine (administration prolongée)

	Dose* et durée	Manifestations	Références
Performances zootechniques	0.75-3.5 mg/kg ; 3-5 sem.	Baisse de consommation alimentaire et baisse du GMQ initiaux puis retours à la normale, ou baisse peu marquée.	Harvey 1989, Pollman 1985, Trenholm 1984
	0.9 mg/kg ; 3 sem.	RAS	Pollman 1985
	4.2 mg/kg ; 1 sem.	Baisse marquée de consommation alimentaire, perte de poids.	Pollman 1985
App. digestif	0.75-4.2 mg/kg ; 3-5 sem.	S & L : RAS sauf congestion et œdème modérés, voire épaisissement et kératinisation de la muqueuse oesophagienne de l'estomac à 3mg/kg.	Harvey 1989, Pollman 1985, Trenholm 1984
	0.7-5.8 mg/kg ; 4 sem.	S : diarrhée pendant les premiers jours L : inflammation et congestion légères à modérées des muqueuses intestinales et fundiques de l'estomac ; dégénérescence légère à modérée des cellules lymphoïdes des plaques de Peyer et des nœuds lymphatiques.	Cote 1985
Reproduction	3.5 mg/kg ; 52 premiers jours de gestation.	Porcelets chétifs	Trenholm 1984
Comportement	3.1 mg/kg ; 3 sem.	Léthargie	Cote 1985
Hématologie	0.7-5.8 mg/kg ; 3-4 sem.	RAS	Cote 1985, Harvey 1989
Biochimie	0.7-5.8 mg/kg ; 3-4 sem.	RAS	Cote 1985, Harvey 1989

* : sauf précision contraire, les doses de toxine sont exprimées en mg/kg d'aliment (concentré)

2. CHEZ LE CHEVAL

Les rapports de cas et études expérimentales concernant la toxicité des trichothécènes chez les équidés sont particulièrement rares.

En Colombie britannique, en 1973, un rapport fait état de l'intoxication de deux chevaux par un aliment contenant de l'orge contaminé à hauteur de 25 mg/kg de toxine T-2. Suite à son ingestion, les chevaux ont présenté une hypersialorrhée, sont devenus apathiques et légèrement fébriles. La durée des troubles n'est pas rapportée. Plusieurs espèces étant impliquées, des recherches poussées et une reproduction expérimentale chez des oies ont permis d'incriminer l'aliment moisi et de conclure à une fusariotoxicose [Greenway & Puls, 1976].

Après administration de 7 mg de toxine T-2 *in toto*, par voie orale, la seule anomalie rapportée est un ensemble de lésions de type « radiomimétique » autour de la bouche, régressant rapidement à la fin de l'étude. Aucune altération de la fonction de reproduction n'a été détectée [Juhasz *et al.*, 1997].

La consommation d'orge contaminé à hauteur de 36-44 mg/kg n'a provoqué aucun symptôme ou lésion [Johnson *et al.*, 1997].

3. CHEZ LES RUMINANTS

La résistance des ruminants – ovins et bovins – aux trichothécènes explique le peu de références concernant ces espèces. Malgré une importance historique – les rapports d'intoxication de bovins par les trichothécènes sont parmi les plus anciens – les études ultérieures ont confirmé cette résistance naturelle. En conséquence, les DL50 n'ont pas été déterminées et les études sont rares [JECFA, 2001, WHO, 1990].

Certains auteurs préconisent même, si les éleveurs ne peuvent se permettre de détruire un aliment contaminé, de le donner aux bovins – plus résistants – plutôt qu'aux porcins ou aux volailles [Trenholm *et al.*, 1984].

Les symptômes et lésions rapportés lors d'intoxication chronique par les trichothécènes dans les espèces bovine et ovine sont rassemblés dans les tableaux 5 à 7.

3.1. Historique et rapports de cas

Dans les années 1970-80 les trichothécènes ont été impliquées dans différentes affections sources de controverses, résultant de la méconnaissance des mycotoxines et de leurs effets, de la faiblesse des méthodes d'analyse et de l'engouement des chercheurs pour ces nouvelles substances toxiques.

Une série de cas regroupés sous le terme de « maladie du maïs moisî » (*moldy corn disease*) ou encore « syndrome hémorragique » ont parfois été attribué aux trichothécènes [Shreeve *et al.*, 1975a] suite à la découverte de toxine T-2 dans les aliments moisis impliqués [Petrie *et al.*, 1977].

D'autres auteurs restent prudents et concluent à une mycotoxicose de par l'épidémiologie et l'exclusion d'autres étiologies, sans préciser la mycotoxine impliquée mais en éliminant parfois la toxine T-2, non détectée dans l'aliment [Albright *et al.*, 1964, Dyson *et al.*, 1977, Shreeve *et al.*, 1975b].

L'implication de la toxine T-2 dans ce syndrome hémorragique reposait essentiellement sur une étude dans laquelle une vache recevait 30 à 72 mg/kg de toxine T-2 par voie IM et/ou orale, et qui entraîna sa mort après 73 jours de traitement, suite à un syndrome hémorragique, ainsi que sur l'évolution de l'aleucie toxique alimentaire, maladie humaine due aux trichothécènes comprenant de nombreux troubles hémorragiques (Partie 1. 5. L'aleucie toxique alimentaire) [Forgacs, 1962, Kosuri *et al.*, 1970].

Dès 1977, certains auteurs réfutent cependant l'implication de la toxine T-2 dans le syndrome hémorragique suite aux premières reproductions expérimentales réalisées [Matthews *et al.*, 1977, Patterson *et al.*, 1979, Weaver *et al.*, 1980].

L'observation des symptômes décrits lors de reproductions expérimentales, la progression des connaissances concernant le mécanisme d'action et la cinétique des trichothécènes, la connaissance des autres mycotoxicoses permettent aujourd'hui de conclure à l'implication simultanée de plusieurs mycotoxines [Matthews *et al.*, 1977, Weaver *et al.*, 1980].

Par ailleurs, un rapport de cas fait état de multiples lésions cutanées sur le mufle, les mamelles et les postérieurs dans un troupeau bovin laitier. Une chute de production laitière et deux cas de mortalité, dont l'autopsie révèle de multiples hémorragies et un emphysème pulmonaire, plus une infiltration leucocytaire dans tous les tissus, y sont associés. L'aliment et une dermatophytose sont rapidement écartés, et l'attention est attirée sur la litière par la

présence de lésions cutanées semblables chez l'éleveur. L'analyse de cette litière révèle la présence de *Fusarium sporotrichioides* et de quantités anormalement élevées de trichothécènes du groupe A (0.22 mg/kg de matière sèche). Le diagnostic est confirmé par une reproduction expérimentale sur peau de rat et une régression des lésions après retrait de la litière. Le tableau clinique étant évocateur de stachybotriotoxicose, il est cependant regrettable que cette toxine n'ait pas été également recherchée [Wu *et al.*, 1997].

3.2. Symptômes

3.2.1. Forme aiguë

Les symptômes rapportés lors d'intoxication aiguë concernent un veau préruminant. Comme chez les porcins, des signes nerveux et neuro-musculaires ont été observé, mais aucun signe digestif.

20 minutes après administration de 0.6 mg/kg de poids vif (PV) par sondage oesophagien, le veau présente une parésie postérieure, de l'apathie puis une dépression sévère. Ces signes rétrocèdent au bout de 12 heures [Weaver *et al.*, 1980].

3.2.2. Forme chronique

Les symptômes rapportés lors d'intoxication chronique par les trichothécènes sont une baisse de consommation alimentaire, voire un refus de consommer l'aliment, accompagnée avec des doses élevées et/ou chez des animaux préruminants de troubles nerveux, neuro-musculaires, et de l'émergence de pathologies opportunistes.

Un refus partiel est observé chez des agneaux avec un aliment contaminé à hauteur de 5 mg/kg de DAS, entraînant une perte de poids [Harvey *et al.*, 1994]. Ce refus partiel est transitoire et n'influence pas le poids lors d'administration à des bovins adultes d'un aliment contaminé par 6 mg/kg de DON [Trenholm *et al.*, 1984, 1985].

Le refus total de l'aliment contaminé est observé pour un niveau de contamination de 50 mg/kg de toxine T-2, même lorsque celui-ci est additionné d'agents appétents. Il est intéressant de noter que par la suite, ces animaux vont refuser de consommer un aliment identique non contaminé, alors que le foin proposé est consommé. Cependant, le mécanisme de ce refus alimentaire n'implique manifestement pas seulement une aversion alimentaire,

puisqu'un veau préruminant recevant 6 mg/kg PV de toxine T-2 par intubation oesophagienne devient progressivement anorexique [Weaver *et al.*, 1980].

Aucune baisse de consommation alimentaire n'est observée lors de l'administration de 0.3-0.6 mg/kg PV de toxine T-2 par intubation oesophagienne, ou lors de distribution d'aliment contaminé à hauteur de 15.6 mg/kg de DON à des agneaux. Chez des bovins adultes, ni la consommation alimentaire, ni la production laitière et la composition du lait ne sont altérées par la consommation d'un aliment contaminé par 2-66 mg/kg de DON hauteur de 2 mg/kg de DON à des bovins adultes [Charmley *et al.*, 1993, Côté *et al.*, 1986, Friend *et al.*, 1983, Harvey *et al.*, 1986].

Des troubles nerveux et neuro-musculaires semblables à ceux décrits dans la forme aiguë sont observés après administration de 6 mg/kg PV de toxine T-2 par intubation oesophagienne chez un veau préruminant, : parésie postérieure, apathie puis dépression profonde, de durées croissantes avec les administrations successives [Weaver *et al.*, 1980].

L'administration de 0.3-0.6 mg/kg PV de toxine T-2 par intubation oesophagienne à des agneaux n'entraîne aucun effet spécifique. Les animaux développent en revanche un ecthyma contagieux et des signes de coccidiose plus sévères, et avec une incidence supérieure [Friend *et al.*, 1983]. L'altération des fonctions du système immunitaire sera plus largement abordée dans la partie consacrée à l'immunotoxicité (Partie 3. 8. Immunotoxicité).

3.3. Lésions

Des lésions digestives sont décrites chez la vache laitière après administration par voie orale de fortes doses de toxines T-2 – 182 mg *in toto*, l'équivalent d'une contamination de l'aliment à hauteur de 50 mg/kg. Elles rappellent celles que l'on peut observer dans l'espèce porcine : ulcération de la muqueuse ruminale, congestion voire œdème des muqueuses digestives [Weaver *et al.*, 1980].

Suite à l'administration de 0.3-0.6 mg/kg PV de toxine T-2 par intubation oesophagienne à des agneaux, on observe de nombreuses lésions des organes lymphoïdes primaires et secondaires, à mettre en relation avec les manifestations cliniques d'immunodépression rapportés plus haut [Friend *et al.*, 1983].

Aucune lésion n'est par contre observée après une administration prolongée trichothécènes selon les protocoles suivants :

- 0.6 mg/kg PV de toxine T-2 par sondage oesophagien à un veau préruminant [Weaver *et al.*, 1980],
- distribution d'un aliment contaminé à hauteur de 2-6 mg/kg de DON à des bovins adultes [Trenholm *et al.*, 1984],
- distribution d'un aliment contaminé par 15.6 mg/kg de DON à des agneaux [Harvey *et al.*, 1986].

3.4. Biochimie et hématologie

Aucune altération biochimique concordante n'est observée dans aucune des études de reproduction expérimentale de la toxicité des trichothécènes chez les ruminants [Côté *et al.*, 1986, Friend *et al.*, 1983, Harvey *et al.*, 1986, 1994, Weaver *et al.*, 1980].

De même, aucune altération hématologique n'a été détectée même lors d'administration de doses massives trichothécènes. Ces observations écartent donc la responsabilité de la toxine T-2 dans le « syndrome hémorragique » (3.1. Historique et rapports de cas) [Harvey *et al.*, 1986, Weaver *et al.*, 1980].

Par contre, suite à l'administration de 0.6 mg/kg PV de toxine T-2 par intubation oesophagienne à des agneaux, on note une leucopénie transitoire (une semaine) accompagnée d'une lymphopénie prolongée. S'y ajoute une baisse de l'érythropoïèse qui, étant donné la durée de l'étude, n'a pas d'influence sur le nombre de globules rouges [Friend *et al.*, 1983].

Tableau 5 : Récapitulatif des effets de la toxine T-2 chez les ruminants
(administration prolongée)

	Espèce, dose* et durée	Manifestations	Références
Performances zootechniques	OV ; 0.3-0.6 mg/kg** ; 3 sem.	RAS	Friend 1983
	BV ; 50 mg/kg	Refus immédiat de consommer l'aliment contaminé, même additionné d'agents appétents.	Weaver 1980
Comportement	Veau ; 0.6 mg/kg** ; 2 sem.	Parésie, apathie puis dépression profonde, de durées croissantes.	Weaver 1980
Hématologie	OV ; 0.3 mg/kg** ; 3 sem.	RAS, sinon une lymphopénie légère.	Friend 1983
	OV ; 0.6 mg/kg** ; 3 sem.	Leucopénie transitoire, lymphopénie prolongée, réponse aux mitogènes légèrement diminuée, diminution de l'érythropoïèse, mais pas d'anémie.	Friend 1983
Biochimie	Veau ; 6 mg/kg** ; 2 sem.	Diminution d'activité des PAL, GGT et LDH.	Weaver 1980

* : sauf précision contraire, les doses de toxine sont exprimées en mg/kg d'aliment (concentré)

** : dose exprimée en mg/kg de poids vif

Tableau 6 : Récapitulatif des effets du diacétoxyscirpénol chez les ruminants
(administration prolongée)

	Espèce, dose* et durée	Manifestations	Références
Performances zootechniques	OV ; 5 mg/kg ; 5 sem.	Baisse de consommation alimentaire, perte de poids	Harvey 1994
Peau et muqueuses	OV ; 5 mg/kg ; 5 sem.	RAS	Harvey 1994
Biochimie	OV ; 5 mg/kg ; 5 sem.	Diminution de l'activité cholinestérasique et de Pl-Urée, sinon RAS.	Harvey 1994

* : sauf précision contraire, les doses de toxine sont exprimées en mg/kg d'aliment (concentré)

Tableau 7 : Récapitulatif des effets du déoxynivalénol chez les ruminants
(administration prolongée)

	Espèce, dose* et durée	Manifestations	Références
Performances zootechniques	BV ; 1.3-1.5 mg/kg ; 3-11 sem.	RAS	Trenholm 1984, Trenholm 1985
	BV ; 5.8 mg/kg ; 1-5 sem.	Baisse de consommation alimentaire initiale puis retour à la normale, aucun effet sur le poids.	Trenholm 1984
	BV ; 6.4 mg/kg ; 6-14 sem.	Légère baisse de consommation alimentaire, aucun effet sur le poids.	Trenholm 1985
	BV ; 6-12 mg/kg ; 10 sem.	Pas d'effet sur la consommation alimentaire, pas d'effet sur la production laitière.	Charmley 1993
	OV ; 15.6 mg/kg ; 4 sem.	RAS	Harvey 1986
App. digestif	OV ; 15.6 mg/kg ; 4 sem.	RAS	Harvey 1986
Hématologie	OV ; 15.6 mg/kg ; 4 sem.	RAS	Harvey 1986

* : sauf précision contraire, les doses de toxine sont exprimées en mg/kg d'aliment (concentré)

4. CHEZ LES VOLAILLES

Comme avec l'espèce porcine, les reproductions expérimentales de mycotoxicoses dues aux trichothécènes chez les volailles, et principalement poulets de chair et poules pondeuses, sont suffisamment nombreuses pour décrire un tableau clinique et lésionnel précis.

Comme dans les autres espèces, la forme aiguë est relativement caractéristique et d'un diagnostic assez facile. Le diagnostic de la forme chronique est plus difficile, puisqu'elle se manifeste essentiellement par des altérations des indices zootechniques. Parfois l'existence de lésions radiomimétiques, semblables à celles observées chez le porc, permet de s'orienter vers les trichothécènes.

Les symptômes et lésions rapportés lors d'intoxication chronique par les trichothécènes chez les volailles sont rassemblés dans les tableaux 10 à 12.

4.1. Rapports de cas

En octobre 1973 en Colombie britannique, plusieurs canards et trois troupeaux d'oies ont reçu de l'orge moisie. Sous 2 à 5 jours, plusieurs canards sont malades (symptômes non précisés), mais aucun ne meurt. Selon les troupeaux d'oies, les symptômes vont du refus de l'aliment à la léthargie puis la mort. Des vomissements et une déshydratation sont observés.

L'autopsie des oies permet d'observer une congestion hépatique, un œdème interstitiel et une dégénérescence rénale, une dégénérescence anoxique cérébrale, ainsi qu'une nécrose étendue du proventricule et de l'œsophage. La recherche de mycotoxine dans l'aliment amène à l'identification de la toxine T-2 à hauteur de 25 mg/kg. Les autres trichothécènes ne sont pas recherchés [Greenway & Puls, 1976].

La réadministration de cet aliment permet d'obtenir les mêmes symptômes. Un autre laboratoire concluant à l'absence de toxine T-2 dans l'aliment, et devinant que d'autres mycotoxines pouvaient être présentes, les auteurs concluent prudemment à une fusariotoxicose [Puls & Greenway, 1976].

En 1984 en Israël, une chute de ponte soudaine et intense frappe un poulailler industriel dès le lendemain de la distribution d'un nouvel aliment. Dès le premier jour, les poules deviennent extrêmement léthargiques, restant couchées et refusant l'aliment, crêtes et barbillons cyanosés. En 5 jours, la production diminue de 94 %. Le sixième jour, l'aliment est

remplacé. La production reprend 4 jours après la mise en place du nouvel aliment, pour atteindre son niveau originel 12 jours plus tard. La mortalité n'est par contre pas augmentée.

A l'autopsie, on note une atrophie des ovaires et une réduction de taille de l'oviducte. Aucune autre lésion n'est détectée, mais l'oropharynx n'est pas examiné.

L'analyse des aliments permet de détecter 3.5 et 0.7 mg/kg de toxines T-2 et HT-2, respectivement (HT-2 est un métabolite de la toxine T-2). La reproduction expérimentale de l'intoxication échoue, et le reste de l'aliment est ensuite distribué aux poules sans conséquence néfaste. Les auteurs supposent une intoxication par des doses massives de toxine T-2 distribuées dans une part relativement réduite de l'aiment, soulignant l'importance de l'échantillonnage dans le diagnostic des mycotoxicoses [Shlosberg *et al.*, 1984].

Durant l'hiver 1983-84 en Ecosse, plusieurs lots de poussins d'élevage industriel ont présenté une série de troubles mis en relation avec la distribution de maïs et de blé moisis. Les symptômes, démarrant le plus souvent vers l'âge de 5 jours, se divisaient en troubles nerveux – poussins excités, pépiements suraigus, activité excessive, tendance à se rassembler – troubles podaux – une vasoconstriction puis une nécrose sèche se mettant en place sur les doigts de certains poussins – un manque d'intérêt pour les aliments et une alimentation sélective. La mortalité s'est très légèrement élevée pendant les deux premières semaines, l'autopsie révélant une déshydratation, un foie légèrement hypertrophié avec une vésicule biliaire distendue.

Une croissance hétérogène et un plumage insuffisant, de mauvaise qualité ont été détectés dans les deux semaines suivantes, accompagné d'un épaississement des cartilages de croissance, surtout sur les os longs des pattes sur tous les animaux.

Sur 10 % des animaux de 4 semaines, des tremblements de la tête accompagnés d'incoordination, de chutes et d'impossibilité de se relever ont été détectés 4-6 heures après la mise en place d'un nouveau silo d'aliment. 12 heures après, la plupart des animaux s'étaient rétablis, sans mortalité supplémentaire.

Dans tous les groupes, des périodes de soif excessive et de diarrhée ont été observées. Dans la plupart des lots, une croissance compensatrice s'est mise en place, mais avec une hétérogénéité majeure dans la taille des oiseaux et une consommation excessive d'aliment.

L'analyse des aliments a permis de mettre en évidence la présence de DON et de DAS (niveaux de contamination non précisés). Les auteurs concluent sur le rôle majeur de ces toxines dans les troubles observés [Robb *et al.*, 1982].

En 1987, au Maryland, USA, 80 % des 300 grues d'un parc zoologique ont subi un épisode d'allure épidémiologique, entraînant la mort de 15 d'entre elles. Les premiers symptômes observés ont été de la faiblesse, accompagnée de dépression, de maigreur, de déshydratation et d'un plumage ébouriffé. L'observation systématique de toutes les grues a mis en évidence une perte de poids (10-20 %), de la déshydratation et une nécrose de la pointe de la langue, voire de la pointe du bec. Les animaux les plus atteints ont présenté des épisodes d'ataxie, se prolongeant parfois vers le décubitus et la mort.

240 grues ont alors reçu un traitement comprenant une réhydratation sous-cutanée, une alimentation hyper-énergétique forcée, l'administration d'ivermectine et d'ampicilline. L'épisode a été considéré comme achevé au terme de 17 jours après l'observation des premiers symptômes.

Les lésions observées lors des autopsies se sont révélées très diverses, comprenant une goutte viscérale (accompagnée d'une augmentation de l'uric acid), une inflammation congestive à fibrineuse du tube digestif, une atrophie hépatique, une néphrose, un œdème sous-cutané, etc.

L'analyse de l'aliment a mis en évidence une contamination par la toxine T-2 et le DON à hauteur de 1-2 et 0.4 mg/kg, respectivement. Ces doses semblent très inférieures à celles provoquant des troubles chez les volailles domestiques, mais les auteurs concluent cependant sur le rôle de ces toxines dans l'épisode décrit, en notant la sensibilité élevée des grues à la majorité des agents pathogènes [Olsen *et al.*, 1995].

4.2. Symptômes

4.2.1. Forme aiguë

Chez le poussin d'un jour la DL50 de la toxine T-2 administrée par intubation est de 1.75 mg/kg (solvant non précisé), celle du DON est estimée à 140 mg/kg (solvant : eau distillée), celle du DAS à 2 mg/kg (solvant : acétone:eau, 1:9) et celle du monoacétoxyscirpénol (MAS) à 2.5 mg/kg (solvant : acétone:eau, 1:9) [Huff *et al.*, 1981, Richardson & Hamilton, 1990, WHO, 1990].

Chez le poulet, les DL50 par voie orale de la toxine T-2 et du DAS sont respectivement de 4 et 5 mg/kg (solvant non précisé) [WHO, 1990].

Chez le caneton, la DL50 du DON injecté en sous-cutanée est de 27 mg/kg (solvant non précisé) [WHO, 1990].

Les symptômes observés peuvent se découper en syndromes nerveux et digestifs, la distinction nerveux/neuro-musculaire semblant difficile.

Chez le poussin d'un jour, l'administration de 35-1120 mg/kg PV de DON par intubation dans le jabot provoque immédiatement une hyperpnée, une léthargie et une position assise, tête et ailes basses, accompagnées peu après d'une perte d'équilibre. Les signes nerveux évoluent rapidement vers la rémission. Des déglutitions nombreuses et marquées (un symptôme d'irritation du tractus gastro-intestinal supérieur évoquant les vomissements observés dans d'autres espèces), apparaissent rapidement pendant cette rémission, ainsi qu'une diarrhée et un refus total de l'aliment et de l'eau. La mort survient 3.5-13.5 heures après l'administration de DON par intubation dans le jabot [Huff *et al.*, 1981].

Chez des poussins de 7 jours, suite à l'administration de DAS ou de toxine T-2 à des doses de 2.7 et 2-2.5 mg/kg respectivement par intubation dans le jabot, les auteurs rapportent une baisse de l'activité spontanée et diarrhée [Hoerr *et al.*, 1981, Richardson & Hamilton, 1990].

4.2.2. Forme chronique

Comme dans les autres espèces, les symptômes provoqués par une intoxication chronique par les trichothécènes sont particulièrement frustres : les signes nerveux et la diarrhée apparaissant lors d'intoxication aiguë ne sont plus rapportés, et l'intoxication ne se manifeste plus que par une altération des indices zootechniques et des lésions radiomimétiques.

Quelques rares auteurs mentionnent des anomalies du plumage dans les intoxications par les trichothécènes. Il est difficile de conclure à l'absence de telles lésions sous prétexte qu'elles ne sont pas mentionnées, peut-être à cause de leur manque de spécificité et d'objectivité. Une étude se penche pourtant sur ce point, notant une relation nette avec la dose et la toxicité relative des différents scirpénols. La contamination minimale de l'aliment capable d'altérer le plumage des poussins est, pour le MAS, 0.5 mg/kg, le DAS, 2 mg/kg, et le STO, 4 mg/kg [Parkhurst *et al.*, 1992].

4.2.2.1.Effets sur la croissance

Les doses minimales nécessaires pour obtenir une diminution du GMQ sont rassemblées dans le tableau 8.

Il est intéressant de noter une certaine disparité dans les résultats expérimentaux, notamment au niveau de l'effet sur le GMQ et l'IC. L'analyse des résultats les plus probants et les plus nombreux démontre une diminution du GMQ et, contrairement à l'espèce porcine, une augmentation de l'IC.

Chez le poussin, l'administration d'un aliment contaminé à hauteur de 2-16 mg/kg de toxine T-2, de 2-4 mg/kg de DAS, de 4 mg/kg de scirpentriol (STO, composé parent du DAS), ou de 16 mg/kg de DON entraîne une baisse de consommation alimentaire et une diminution du GMQ d'autant plus marquées que la dose est élevée [Ademoyero *et al.*, 1991, Chi *et al.*, 1977b, Huff *et al.*, 1986, 1988, Kubena *et al.*, 1989, Richard *et al.*, 1978, Wyatt *et al.*, 1973].

L'administration d'un aliment contaminé à hauteur de 16-32 mg/kg de STO ou de 16 mg/kg de DON entraîne une dégradation de l'IC [Huff *et al.*, 1986, Kubena *et al.*, 1989, Trenholm *et al.*, 1984].

D'autres études chez le poussin démontrent une absence d'effet d'une ration contaminée à hauteur de 0.2-4 mg/kg de toxine T-2 ou de 0.3-16 mg/kg de DON sur le GMQ et l'IC. Certains auteurs notent même une augmentation du GMQ avec un aliment contenant jusqu'à 5 mg/kg de DON [Chi *et al.*, 1977b, Hulan & Proudfoot, 1982, Kubena *et al.*, 1989, Trenholm *et al.*, 1984].

Chez le dindonneau, un aliment contaminé à hauteur de 2-10 mg/kg de toxine T-2 ou de 0.5 mg/kg de DON entraîne une diminution du GMQ. A la dose de 10 mg/kg de toxine T-2 ou de 0.5 mg/kg de DON, celle-ci s'accompagne d'une augmentation de l'IC que l'on ne retrouve pas systématiquement dans d'autres expériences similaires, indiquant un effet direct de la toxine T-2 [Richard *et al.*, 1978, Trenholm *et al.*, 1984].

Chez le caneton, l'administration d'un aliment contaminé à hauteur de 0.6-4 mg/kg de toxine T-2 provoque une baisse de consommation alimentaire et du GMQ proportionnelles à la dose. Plus la dose est élevée, plus cette baisse de croissance est intense et apparaît vite. Par

ailleurs, l'administration d'un aliment contaminé à hauteur de 0.2-0.4 mg/kg de toxine T-2 est restée sans effet jusqu'à la septième semaine de l'expérimentation, où une sérieuse baisse de croissance a été détectée [Rafai *et al.*, 2000].

Chez le caneton recevant quotidiennement de la toxine T-2 dans un aliment contaminé à hauteur de 0.2-4 mg/kg, une mortalité significative apparaît pour des doses d'au moins 0.6 mg/kg à partir de la cinquième semaine de traitement [Rafai *et al.*, 2000].

Il est intéressant de remarquer que dans plusieurs études, les doses minimales nécessaires à une altération du GMQ sont inférieures à celles qui augmentent l'IC, suggérant un mécanisme à deux vitesses. D'abord une baisse du GMQ liée à la baisse de consommation alimentaire, ensuite une baisse de GMQ provoquée par des effets directs des trichothécènes sur la croissance. Cette dernière existe peut-être à des doses inférieures mais elle serait alors masquée par l'effet de la baisse de consommation alimentaire. Cette hypothèse permettrait d'expliquer l'apparente contradiction avec la baisse de GMQ chez les porcs, toujours liée à la baisse de consommation alimentaire, les doses utilisées étant peut-être insuffisante à déclencher un effet propre visible des trichothécènes.

Tableau 8 : MED estimées de la baisse de GMQ ou de la perte de poids observées chez les volailles suite à l'administration d'aliment contaminés par des trichothécènes

Espèce	Toxine (mg/kg d'aliment distribué)		
	T-2	DAS	DON
Poussin	2	2	16
Poule pondeuse	>10	5	>5
Dindonneau	2		
Caneton	0.2		

D'après Bergsjø *et al.*, 1992, Huff *et al.*, 1986, 1988, Kubena *et al.*, 1989, Rafai *et al.*, 2000, Richard *et al.*, 1978.

4.2.2.2. Effets sur la production d'oeufs

Des poules pondeuses recevant un aliment contaminé à hauteur de 1-10 mg/kg de toxine T-2 ou 2 mg/kg de DAS présentent un refus partiel de l'aliment sans conséquence significative sur le poids final, mais accompagné d'une chute de ponte proportionnelle à la dose de toxine, d'œufs plus fragiles que la normale et d'une éclosabilité diminuée. Un aliment contenant 0.05-5 mg/kg de DON est quant à lui sans effet [Bergsjø *et al.*, 1992, Chi *et al.*, 1977a, Diaz *et al.*, 1994, Hamilton *et al.*, 1985, Tobias *et al.*, 1991, Trenholm *et al.*, 1984].

Chez des poules et coqs de reproduction, la consommation d'un aliment contaminé par 5-20 mg/kg de DAS entraîne un refus de l'aliment contaminé, mais pas d'un aliment sain identique, indiquant, au contraire des bovins, une capacité à détecter la mycotoxine. Ce refus de l'aliment entraîne une perte de poids. Les auteurs notent une sensibilité supérieure des femelles par rapport aux mâles, ainsi que l'apparition d'une tolérance relative chez ces derniers. La fertilité de ces reproducteurs est altérée pour des niveaux de contamination supérieurs à 5 mg/kg de DAS dans l'aliment (Partie 3. 3. Fonctions de reproduction, embryotoxicité et tératogénicité) [Brake *et al.*, 1999, 2000].

Une chute de ponte n'est observée qu'à la contamination de 20 mg/kg de DAS, et seulement au bout de trois semaines. Cette résistance supérieure au effets de la toxine pourraient s'expliquer par les réserves énergétiques des reproducteurs par rapports aux poules pondeuses d'œufs de consommation, la chute de ponte chez ces dernières étant visiblement liée à la diminution de consommation alimentaire [Brake *et al.*, 2002].

Chez des oies, l'administration de toxine T-2 par intubation endogastrique entraîne une diminution de l'éclosabilité dès la dose 0.1 mg/kg PV, et une chute de ponte dès la dose de 0.2 mg/kg PV. Avec une dose de 0.3 mg/kg de PV, la chute de ponte atteint déjà 50 %. Une mortalité élevée est par ailleurs signalée pour des doses de 0.8-1 mg/kg PV [Vanyi *et al.*, 1994].

4.3. Lésions

4.3.1. Forme aiguë

Chez le poussin d'un jour, suite à l'administration de 35-1120 mg/kg PV de DON ou de scirpénols (MAS, DAS, doses non précisées) par intubation entraîne un syndrome hémorragique de l'appareil digestif et des muscles. Ces troubles vont jusqu'à des hémorragies massives des réseaux vasculaires du bec et des orteils dans le cas des scirpénols. Ces troubles vasculaires s'accompagnent de lésions du tractus digestif [Huff *et al.*, 1981, Richardson & Hamilton, 1990].

On rapporte également une goutte viscérale chez le poussin d'un jour suite à l'administration de 35-1120 mg/kg PV de DON par intubation dans le jabot. Après 7 jours, les survivants ne présentent aucune lésion macroscopique [Huff *et al.*, 1981].

Des lésions digestives plus étendues que chez le poussin d'un jour avec le DON et les scirpénols, mais sans trouble hémorragique, sont observés chez les poussins de 7 jours suite à l'administration de 2-2.7 mg/kg PV de toxine T-2 ou de 2.5 mg/kg PV de DAS par intubation. On note ulcérations du ventricule et du proventricule, nécrose du gésier, et/ou inflammation congestive généralisée de tout le tractus digestif. L'examen histologique des tissus lymphoïdes révèle une déplétion leucocytaire accompagnée de nécrose et d'atrophie de tous les organes lymphoïdes primaires et secondaires [Hoerr *et al.*, 1981].

Il est intéressant de noter que ces études sont les seules, toutes espèces confondues, à présenter un syndrome hémorragique rappelant celui évoqué dans les premiers rapports concernant des suspicions d'intoxication par les trichothécènes (Partie 1. 3.1. Historique et rapports de cas). Les doses massives utilisées, atteignant jusqu'à 8 fois la DL50, ainsi que le très jeune âge des animaux expliquent peut-être des effets non détectés à des doses correspondant à des niveaux de contamination spontanée [Huff *et al.*, 1981, Richardson & Hamilton, 1990].

4.3.2. Forme chronique

Les lésions observées lors d'intoxication chronique par les trichothécènes sont assez évocatrices pour orienter le diagnostic lorsque des troubles zootechniques sont rapportés dans un élevage. Les plus utiles sont certainement les lésions radiomimétiques, le tableau lésionnel interne étant équivoque. Des lésions des organes lymphoïdes, inconstantes, peuvent également orienter le diagnostic.

L'orientation peut être donnée par les lésions « radiomimétiques » qui peuvent apparaître très rapidement après l'administration d'un aliment contaminé. La sévérité des lésions, leur vitesse d'apparition et les doses minimales nécessaires sont fonction du pouvoir dermonécrosant des différentes toxines mais aussi de l'espèce considérée. Le délai d'apparition s'étend entre quelques jours (espèce très sensibles comme le caneton, ou doses élevées) et deux semaines. Le tableau 9 rassemble les doses minimales (*MED, minimal effective dose*) nécessaires à l'observation des lésions pour la toxine T-2, le DAS et le DON.

Ces lésions de nécrose cutanéo-muqueuse apparaissent sur la langue, le palais, les commissures et le plancher de la cavité buccale, ainsi que dans le pharynx. Une

dégénérescence, voire une nécrose de la muqueuse du jabot, sont parfois signalées [Ademoyero & Hamilton, 1991, Chi *et al.*, 1977a, 1977b, Diaz *et al.*, 1994, Huff *et al.*, 1988, Kubena *et al.*, 1989, Rafai *et al.*, 2000, Richard *et al.*, 1978].

Avec des dindonneaux et des poussins recevant un aliment contenant, respectivement, 2 et 10 mg/kg de toxine T-2, ces lésions nécrotiques ne sont, selon certains auteurs, visibles qu'à l'histologie [Richard *et al.*, 1978].

Une tolérance semble également apparaître puisque ces lésions disparaissent progressivement pour les doses les plus faibles (0.2-2 mg/kg de toxine T-2 pour des canetons d'un jour) [Rafai *et al.*, 2000].

Tableau 9 : MED estimées des lésions cutanéo-muqueuses macroscopiques observées chez les volailles suite à l'administration d'aliment contaminés par des trichothécènes

Espèce	Toxine (mg/kg d'aliment distribué)		
	T-2	DAS	DON
Poussin	0.4	1	16
Poule	0.5	2	
Caneton	0.2		

D'après Ademoyero & Hamilton, 1991, Bergsjø *et al.*, 1992, Chi *et al.*, 1977a, 1977b, Diaz *et al.*, 1994, Hamilton *et al.*, 1985, Kubena *et al.*, 1978, Rafai *et al.*, 2000, Richard *et al.*, 1978

On note également une augmentation du poids relatif du gésier (à rapprocher de l'hyperplasie de la muqueuse oesophagienne gastrique observée chez le porc avec le DON) chez des poussins recevant un aliment contaminé à hauteur de 16 mg/kg de DON [Huff *et al.*, 1986, Kubena *et al.*, 1989].

Les lésions digestives sont par ailleurs rarement rapportées, mais on détecte des ulcères dans le gésier et le jabot de poules recevant un aliment contaminé à hauteur de 4-8 mg/kg de toxine T-2, sans modification du poids des organes [Chi *et al.*, 1977a].

Concernant les organes lymphoïdes, on note une atrophie du thymus chez des dindonneaux recevant un aliment contenant 10 mg/kg de toxine T-2 [Richard *et al.*, 1978].

D'autres auteurs rapportent une augmentation du poids relatif de la bourse de Fabricius chez des poussins ayant reçu un aliment contenant 4 mg/kg de toxine T-2 ou 16 mg/kg de DON. Au même niveau de contamination par la toxine T-2, certains auteurs ne notent aucun effet sur le poids de la bourse de Fabricius. Ces observations contradictoires avec l'immunotoxicité reconnue des trichothécènes peuvent peut-être s'expliquer par la courte

durée de ces dernières études (3 semaines), ne laissant pas le temps nécessaire à l'installation d'une fibrose et une atrophie [Huff *et al.*, 1988, Kubena *et al.*, 1989].

Aucune lésion macroscopique n'est observée sur les organes lymphoïdes de poussins ayant reçu un aliment contenant 2-10 mg/kg de toxine T-2, ni sur ceux de dindonneaux ayant reçu un aliment contaminé à hauteur de 2 mg/kg de toxine T-2 ou de poules ayant reçu 0.05-5 mg/kg de DON [Hamilton *et al.*, 1985, Richard *et al.*, 1978].

L'autopsie de canetons morts suite à l'administration quotidienne d'un aliment contaminé à hauteur de 0.6-2 mg/kg de toxine T-2 révèle une hémorragie et un œdème pulmonaire (sans doute responsables de la mort), un retard de croissance, un plumage altéré et une nécrose des muqueuses de la bouche et du gésier [Rafai *et al.*, 2000].

4.4. Biochimie et hématologie

Aucune des études disponibles ne fait état des altérations biochimiques et hématologiques qui ont pu survenir lors d'intoxication aiguë par les trichothécènes. Plusieurs études, dans l'ensemble assez anciennes, rapportent par contre un certain nombre de valeurs concernant les intoxications chroniques. La faible utilisation de ce type d'examen dans le cadre de la médecine vétérinaire aviaire ne confère à ces données qu'un intérêt dans la compréhension des mécanismes d'action des trichothécènes.

De plus, comme dans les autres espèces, les altérations détectées ne se retrouvent que rarement d'une étude à l'autre, même quand les protocoles expérimentaux semblent identiques, rendant inutiles ce type d'analyse dans l'établissement d'un diagnostic.

Certains auteurs rapportent une diminution de la cholestérolémie, de l'albuminémie et des protéines totales, ainsi qu'une baisse (plus rarement une augmentation) d'activité de la LDH et des PAL suite à l'administration d'un aliment contaminé à hauteur de 4 mg/kg de toxine T-2 à des poussins. Une augmentation de la concentration plasmatique en acide urique est parfois notée [Chi *et al.*, 1977a, 1977b, Huff *et al.*, 1988, Kubena *et al.*, 1989].

On rapporte également une diminution d'activité des ASAT et LDH lors de l'administration d'un aliment contenant 8 mg/kg de DAS à des poussins, ainsi qu'une baisse des PT et de l'albuminémie pour une dose de 16 mg/kg de DAS. A un dosage supérieur – 32 mg/kg – les auteurs notent en plus une augmentation de la cholestérolémie et une diminution de l'uratémie. Une baisse d'activité de la LDH et de la triglycéridémie sont également

rapportées après administration d'un aliment contaminé à hauteur de 16 mg/kg de DON [Ademoyer *et al.*, 1991, Huff *et al.*, 1986].

Les seules altérations retrouvées régulièrement semblent être une diminution d'activité de la LDH, des PAL, ainsi qu'une baisse des PT et de l'albuminémie. Ces observations, combinées aux autres altérations, suggèrent des perturbations des synthèses protéiques (Partie 3. 9.2.1. Modulation des synthèses de protéines et d'acides nucléiques).

Certains auteurs rapportent une diminution du VGM suite à l'administration d'un aliment comprenant 16 mg/kg de DON à des poussins, d'autres vont jusqu'à diagnostiquer une anémie normocytaire [Kubena *et al.*, 1989].

Aucune altération des paramètres hématologique n'est par contre détectée dans les études consacrées à la toxine T-2 [Chi *et al.*, 1977a, 1977b, Huff *et al.*, 1988, Kubena *et al.*, 1989].

**Tableau 10 : Récapitulatif des effets de la toxine T-2 chez les volailles
(administration prolongée)**

	Espèce, dose* et durée	Manifestations	Références
Performances zootechniques	CA ; 0.2-4 mg/kg ; 7 sem.	Baisse du GMQ et de consommation alimentaire (période de latence fonction de la dose)	Rafai 2000
	P ; 0.2-2 mg/kg ; 3-9 sem.	RAS, sauf augmentation transitoire du GMQ à 0.2 mg/kg les 6 premières semaines.	Chi 1977b, Wyatt 1973
	P ; 2-16 mg/kg ; 2-4 sem.	Baisse du GMQ et de consommation alimentaire (période de latence fonction de la dose)	Chi 1977b, Diaz 1994, Hoelher 1996, Huff 1988, Kubena 1989, Osborne 1982, Richard 1978, Wyatt 1973,
	PP ; 8 mg/kg ; 8 sem.	Baisse de consommation alimentaire.	Chi 1977a
	P ; 0.2-4 mg/kg ; 9 sem.	Pas de modification de l'IC.	Chi 1977b
	P ; 1-16 mg/kg ; 3 sem.	Pas de modification de l'IC.	Wyatt 1973
	P ; 4-10 mg/kg ; 2-4 sem.	Augmentation de l'IC.	Hoelher 1996, Richard 1978
	PP ; 05-1 mg/kg ; 8 sem.	RAS	Chi 1977a
	PP ; 1-10 mg/kg ; 4-8 sem.	Chute de ponte, augmentation du nombre d'œufs infertiles (1 ^{ère} sem.) et chute de l'éclosabilité (à partir de la 3 ^{ème} sem.), proportionnelles à la concentration en toxine.	Chi 1977a, Tobias 1991
	Oie ; 0.2-3 mg/kg** ; 18 j.	Chutes de ponte et de l'éclosabilité	Vanyi 1994
	DI ; 2-10 mg/kg ; 4 sem.	Baisse du GMQ	Richard 1978
	P ; 10 mg/kg ; 4 sem.	Augmentation de l'IC.	Richard 1978
Mortalité	CA ; 3-4 mg/kg ; 7 sem.	50%	Rafai 2000
	Oie ; 0.6-3 mg/kg** ; 18 j.	10-70%	Vanyi 1994
Peau et muqueuses	CA ; 0.2-4 mg/kg ; 7 sem.	L : nécrose cutanéo-muqueuse de la langue, du palais, des commissures de la bouche et du pharynx, amélioration progressive pour les doses les plus faibles.	Rafai 2000
	DI ; 10 mg/kg ; 4 sem.	L : nécrose cutanéo-muqueuse de la cavité buccale	Richard 1978
	PP ; 0.5-8 mg/kg ; 4-8 sem.	L : nécrose cutanéo-muqueuse de la cavité buccale	Chi 1977a, Diaz 1994, Kubena 1989
	P ; 1-16 mg/kg ; 3-9 sem.	L : nécrose cutanéo-muqueuse de la cavité buccale à partir de la troisième semaine.	Chi 1977b, Huff 1988, Wyatt 1973
	P ; 0.2-2 mg/kg ; 9 sem.	RAS	Chi 1977b
	P ; 2-10 mg/kg ; 4 sem.	RAS (sauf très légère nécrose chez quelques animaux à 10 mg/kg).	Richard 1978

App. digestif	P ; 8-16 mg/kg ; 3 sem.	S : stéathorrée, diminution d'activité lipase, RNase, amylase pancréatique, et trypsine.	Osborne 1982
	PP ; 4-8 mg/kg ; 8 sem.	L : ulcère dans la partie antérieure du gésier.	Chi 1977a
Système immunitaire	DI ; 10 mg/kg ; 4 sem.	L : diminution de la taille de la bourse de Fabricius, involution thymique accélérée	Richard 1978
	P ; 8-16 mg/kg ; 3-4 sem.	L : diminution de la taille de la bourse de Fabricius	Richard 1978, Wyatt 1973
	P ; 4 mg/kg ; 3 sem.	L : augmentation du poids de la bourse de Fabricius	Kubena 1989
Hématologie	CA ; 0.2-4 mg/kg ; 7 sem.	Diminution de la réponse des lymphocytes aux agents mitogènes et blastogènes, dépression lymphocytaire dans les organes lymphoïdes à 3-4 mg/kg.	Rafai 2000
	PP ; 0.5-8 mg/kg ; 8 sem.	RAS	Chi 1977a
	P ; 0.2-4 mg/kg ; 3-9 sem.	RAS	Chi 1977b, Huff 1988
Biochimie	CA ; 0.2-4 mg/kg ; 7 sem.	RAS	Rafai 2000
	PP ; 2 mg/kg ; 3 sem.	Baisse d'activité de la GDH et diminution de Pl-LDH temporaires.	Diaz 1994
	PP ; 2-8 mg/kg ; 8 sem.	Augmentation d'activité de la LDH	Chi 1977a
	PP ; 8 mg/kg ; 8 sem.	Augmentation d'activité de la PAL et de PL-acide urique.	Chi 1977a
	P ; 0.2-4 mg/kg ; 9 sem.	Augmentation de Pl-acide urique, diminution d'activité de la PAL.	Chi 1977b
	P ; 2-4 mg/kg ; 9 sem.	Diminution d'activité de la LDH, diminution de Pl-cholestérol à 4 mg/kg	Chi 1977b
	P ; 4 mg/kg ; 3 sem.	Diminution d'activité des LDH, PAL, diminution des PT, de PL-albumine, de Pl-K et Pl-Mg	Huff 1988
Autres	P ; 16mg/kg ; 3 sem.	Diminution de Se-PT et Se-Albumine, baisse de l'activité de la LDH	Kubena 1989
	P ; 4-16 mg/kg ; 3 sem.	Diminution du poids de la rate et augmentation du poids du pancréas.	Wyatt 1973

* : sauf précision contraire, les doses de toxine sont exprimées en mg/kg d'aliment.

** : dose exprimée en mg/kg de poids vif.

**Tableau 11 : Récapitulatif des effets du diacétoxyscirpénol chez les volailles
(administration prolongée)**

	Espèce, dose* et durée	Manifestations	Références
Performances zootechniques Reproduction	P ; 2-4 mg/kg ; 3 sem.	Baisse du GMQ	Ademoyer 1991, Parkhurst 1992
	PP ; 2 mg/kg ; 3 sem.	Baisse de consommation alimentaire ; chute de ponte puis retour à la normale, quelques œufs sans coquille	Diaz 1994
	PPC ; 5-20 mg/kg ; 3 sem.	Baisse de consommation alimentaire, perte de poids.	Brake 2000
	PPC ; 1.25-10 mg/kg ; 3 sem.	Augmentation de la fertilité des femelles et de l'éclosabilité.	Brake 1999, Brake 2002
	PPC ; 10-20 mg/kg ; 3 sem.	Diminution de la fertilité des mâles.	Brake 1999
	PPC ; 20 mg/kg ; 3 sem.	Réduction de taille du jaune dès le 10 ^{ème} jour.	Brake 2002
	PPC ; 5-20 mg/kg ; 3 sem.	L : kystes testiculaires	Brake 1999
Peau et muqueuses	P ; PP ; 1-4 mg/kg ; 3-4 sem.	L : nécrose cutanéo-muqueuse de la cavité buccale.	Ademoyer 1991, Diaz 1994
	PPC ; 5-20 mg/kg ; 3 sem.	L : nécrose cutanéo-muqueuse de la cavité buccale.	Brake 2000

* : sauf précision contraire, les doses de toxine sont exprimées en mg/kg d'aliment.

**Tableau 12 : Récapitulatif des effets du déoxynivalénol chez les volailles
(administration prolongée)**

	Espèce, dose* et durée	Manifestations	Références
Performances zootechniques	P ; 0.3-1.87 mg/kg ; 4 sem.	RAS	Hulan 1982
	P ; 16 mg/kg ; 3 sem.	Diminution du GMQ (transitoire et avec une période de latence), augmentation de l'IC	Huff 1986, Kubena 1989
	PP ; 0.12-4.9 mg/kg ; 10-24 sem.	RAS, sauf œufs un peu plus petits et fragiles à 0.7 mg/kg pendant 10 sem.	Bergsjø 1992, Hamilton 1984
Mortalité	P ; 0.3-1.87 mg/kg ; 4 sem.	RAS	Hulan 1982
Peau et muqueuses	P ; 16mg/kg ; 3 sem.	L : nécrose cutanéo-muqueuse de la cavité buccale	Kubena 1989
	PP ; 0.7-4.9 mg/kg ; 12-24 sem.	RAS	Hamilton 1984
App. digestif	P ; 0.3-1.87 mg/kg ; 4 sem.	RAS	Hulan 1982
	P ; 16 mg/kg ; 3 sem.	L : augmentation du poids relatif du gésier.	Huff 1986
Reproduction	PP ; 0.12-4.9 mg/kg ; 10 sem.	Augmentation de l'incidence de malformations à l'éclosion.	Bergsjø 1992
Système immunitaire	P ; 16mg/kg ; 3 sem.	L : augmentation du poids de la bourse de Fabricius	Kubena 1989
Hématologie	P ; 16mg/kg ; 3 sem.	Diminution du VGM	Kubena 1989
	P ; 16mg/kg ; 3 sem.	Diminution du nombre de globules rouges et de l'hématocrite	Huff 1986
Biochimie	P ; 16mg/kg ; 3 sem.	Diminution de Pl-triglycérides et de l'activité de la LDH.	Huff 1986

* : sauf précision contraire, les doses de toxine sont exprimées en mg/kg d'aliment.

5. L'ALEUCIE TOXIQUE ALIMENTAIRE

L'aleucie toxique alimentaire (ATA) est une maladie humaine décrite pour la première fois en Russie en 1913, et relativement fréquemment rapportée en URSS pendant les années 1941 à 1945. L'ATA a été décrite sous des termes aussi variés qu'anémie aplasique, aleucie hémorragique, agranulocytose, angine septique, mycotoxicose alimentaire ou encore aleucie hémorragique alimentaire. Elle a suscité de nombreux travaux qui ont permis d'identifier, en 1943, *Fusarium sporotrichioides* comme agent responsable. Ce n'est que dans les années 70 que plusieurs équipes de chercheurs ont réussi à prouver le rôle de la toxine T-2 dans l'ATA [Forgacs 1962, Lafont *et al.*, 1977].

L'importance des trichothécènes dépasse de plus le cadre médical puisque ces toxines – et notamment la toxine T-2 – auraient été utilisées au Laos et en Afghanistan sous la supervision soviétique comme armes chimiques, sous le nom de « pluie jaune » (*yellow rain*). L'utilisation des trichothécènes dans ce cadre n'a cependant pas pu être prouvée de manière décisive, les preuves avancées par l'armée américaine restant trop fragmentaires [Holden, 1982, Spyker & Spyker, 1983].

Le modèle animal utilisé pour l'ATA est le chat, seule espèce à présenter un tableau clinique semblable à celui de l'homme après administration d'extraits de *Fusarium* ou de toxine T-2 purifiée [Forgacs 1962, Lutsky *et al.*, 1978, 1981].

L'objectif de cette partie est de présenter l'aleucie toxique alimentaire humaine et son modèle animal, tout en comparant cette maladie aux tableaux cliniques observés dans d'autres espèces.

5.1. Etude clinique

L'ATA a été arbitrairement divisée en quatre stades basés sur l'évolution clinique et lésionnelle de la maladie. Les études concernant le modèle félin sont moins claires sur les différents stades de la maladie.

5.1.1. Stade 1 de l'aleucie toxique alimentaire

Le stade 1 suit rapidement la première ingestion d'aliment contaminé. Ce stade précoce n'a pas été décrit aussi formellement dans le modèle félin, bien que certains symptômes s'y retrouvent sans précision de leur place chronologique. Il est caractérisé par :

- une sensation de brûlure dans la bouche, l'œsophage et l'estomac,
- après quelques jours, une gastro-entérite caractérisée par de la diarrhée, des nausées, des vomissements,
- une transpiration excessive sans hyperthermie.

Dans des cas plus sévère on note une hyperthermie. On observe également salivation, oesophagite, gastrite ou gastroentérite aiguë, douleurs abdominales et oesophagiennes, tachycardie, légère cyanose, vertiges, maux de têtes et sensation de froid aux extrémités.

Dans de rares cas, des convulsions et des accidents vasculaires ont été décrits [Forgacs, 1962].

Si la consommation d'aliment contaminé est interrompue, les symptômes subsistent 2 à 3 jours. Si elle se poursuit, les symptômes régressent spontanément au bout de 5 à 9 jours, avant le passage au stade 2 [Forgacs, 1962].

5.1.2. Stade 2 de l'aleucie toxique alimentaire

Ce stade se caractérise par l'absence de signe clinique, alors que la toxine exerce ses effets sur la moelle osseuse. Le modèle félin rejoint ici parfaitement l'aleucie toxique alimentaire humaine.

Sont signalées une leucopénie progressive, une granulopénie et une lymphocytose relative, justifiant l'appellation *stade leucopénique* de cette étape de la maladie. Ces modifications s'accompagnent d'une diminution du nombre de globules rouges, de plaquettes et d'une baisse de l'hémoglobinémie. On observe également des anomalies des granulocytes neutrophiles (« granulocytes toxiques »).

Certains auteurs signalent en outre fatigue, faiblesse, vertiges, maux de têtes, palpitation et asthme léger. On rapporte également parfois un ictère, des pupilles dilatées, un pouls faible et filant, des battements cardiaques assourdis, une hypotension [Forgacs, 1962, Lutsky *et al.*, 1978, 1981].

Ce stade dure habituellement 3 à 4 semaines, avec des extrêmes de 2 à 8 semaines. Un retrait de l'aliment entraîne une guérison complète, sinon le stade 3 suit rapidement [Forgacs, 1962, Lutsky *et al.*, 1978, 1981].

5.1.3. Stade 3 de l'aleucie toxique alimentaire

Le passage au troisième stade de l'ATA se fait brutalement. Les lésions dermotoxiques qualifiées de radiomimétiques décrites dans des stades précoce de la maladie dans d'autres espèces apparaissent et s'accompagnent de lésions hémorragiques. Ces lésions se composent de pétéchies et suffusions cutanées, avec l'apparition d'hémorragies au moindre trauma, et d'hémorragies digestives. Des lésions ulcéro-nécrotiques apparaissent dans la cavité buccale, leur taille allant croissante avec l'évolution de la maladie. Les nœuds lymphatiques deviennent oedémateux. Les altérations hématologiques du stade 2 s'aggravent. Un examen biochimique révèle une augmentation de la calcémie et une altération des fonctions hépatiques se traduisant par une diminution des métabolismes glucidiques, protéiques et minéraux hépatiques le glucose, les protéines et le métabolisme hydro-minéral. Certains auteurs rapportent une hépatite accompagnée d'ictère. La température corporelle devient fluctuante, une hypotension nette apparaît. Des complications pulmonaires sont fréquentes : bronchopneumonie, hémorragies, abcès [Forgacs, 1962].

Ce n'est parfois qu'à ce stade qu'est réalisé le diagnostic conduisant au retrait de l'aliment en cause et au passage au stade 4.

Toutes ces observations se retrouvent dans le modèle félin, pour lequel sont également signalés des fèces hémorragiques, une déshydratation sévère, une conjonctivite et un amaigrissement net. Une dyspnée sévère accompagne dans la plupart des cas la phase terminale de la maladie [Lutsky *et al.*, 1978, 1981].

Ce stade dure 5 à 20 jours [Forgacs, 1962].

5.1.4. Stade 4 de l'aleucie toxique alimentaire

La durée et la nature du stade de convalescence dépendent de la sévérité de la mycotoxicose. La résolution des lésions nécrotiques et hémorragiques demande deux semaines de traitement, et le retour à la normale des valeurs hématologique demande en

moyenne deux mois, pour l'homme comme pour le chat [Forgacs, 1962, Lutsky *et al.*, 1978, 1981].

5.2. Etude lésionnelle

L'étude la moelle osseuse explique l'évolution des données hématologiques, suivant de près les différents stades de la maladie. Au troisième stade, les nœuds lymphatiques deviennent hypoplasiques et sont dénués d'éléments lymphoïdes.

On relève des lésions hémorragiques dans tout l'organisme et notamment les organes lymphoïdes, ainsi que des lésions nécrotiques sur toute la longueur du tube digestif. Le rein et le foie ne présentent aucune lésion en dehors des hémorragies.

Les lésions concordent remarquablement entre l'homme et le modèle félin, bien que chez ce dernier les lésions pulmonaires soient systématiques, ce qui n'est pas précisé pour l'homme [Forgacs, 1962, Lutsky *et al.*, 1978, 1981].

L'aleucie toxique alimentaire présente donc un ensemble de points communs avec les mycotoxicoses dues aux trichothécènes décrites dans les autres espèces, avec une « originalité » : les lésions hémorragiques qui expliquent sans doute l'acharnement des chercheurs à attribuer aux trichothécènes le « syndrome hémorragique » décrit dans certaines espèces, notamment les bovins (3. Chez les ruminants).

6. DIAGNOSTIC ET MOYENS DE LUTTE

6.1. Diagnostiquer une intoxication par les trichothécènes

6.1.1. Diagnostic épidémiologique

Les espèces les plus susceptibles de présenter un épisode d'intoxication par les trichothécènes sont les porcs et les volailles. Les ruminants, particulièrement résistants à ces mycotoxines, ne seront que rarement concernés.

Deux modalités d'apparition d'une intoxication par les trichothécènes peuvent être décrites :

- une apparition brutale, correspondant à l'ingestion d'une dose importante de mycotoxines.

- une altération lente et insidieuse des indices zootechniques, dans le cas d'une intoxication chronique.

Sur le terrain, la majorité des cas décrits correspondent à des intoxications aiguës, leurs conséquences dramatiques ayant entraîné la mobilisation des moyens diagnostiques nécessaires à l'identification d'une mycotoxicose.

L'exclusion d'autres étiologies devrait cependant permettre de s'orienter vers une mycotoxicose dans le cadre de signes plus subtils tels qu'une diminution du GMQ ou une légère chute de ponte.

Dans tous les cas, ces épisodes débutent avec la distribution d'un aliment moisi, le plus souvent fabriqué sur place à partir de céréales récoltées sur l'exploitation. L'identification de ce facteur peut être plus difficile dans le cas fréquent d'une distribution hétérogène des moisissures dans le silo concerné : les troubles n'apparaîtront alors que lorsque ces zones seront distribuées, le lien avec l'aliment n'apparaissant pas d'emblée si les moisissures n'ont pas été détectées.

6.1.2. Diagnostic clinique et lésionnel

Les signes peu spécifiques, mais systématiques, sont une diminution du GMQ associée à une baisse de la consommation alimentaire, éventuellement un amaigrissement, un plumage altéré et ébouriffé, une chute de ponte chez les poules pondeuses (œufs de consommation).

Les vomissements sont évocateurs, mais associées essentiellement au DON dans l'espèce porcine, avec des doses relativement importantes.

Une ataxie et une faiblesse générale peuvent être observées.

La mort est précédée d'une phase de léthargie, puis de coma.

Les lésions radiomimétiques observées dans la cavité buccale et autour de la bouche, ainsi qu'au niveau du prépuce chez les porcs, sont les plus caractéristiques des trichothécènes. Elles constituent un signal d'avertissement plus sensible même que la baisse du GMQ (Tableaux 8 et 9).

Les lésions des organes lymphoïdes primaires et secondaires sont également assez caractéristiques mais réservée à la forme aiguë de l'intoxication.

Les ulcérations du gésier et du jabot, l'hyperplasie de la muqueuse oesophagienne dans l'estomac du porc, l'inflammation générale du tractus digestif sont également des signes évocateurs, plus fréquents cependant dans les intoxications aiguës.

6.1.3. Diagnostic de laboratoire

Les analyses biochimiques et hématologiques ne peuvent en aucun cas permettre d'établir le diagnostic. Les signes observés sont en effet peu spécifiques et inconstants.

C'est l'analyse de l'aliment suspect qui permettra d'identifier la mycotoxine en cause, en tenant compte d'un certain nombre de points :

- La distribution des moisissures, et donc des toxines, est fréquemment hétérogène dans les silos. Les échantillons devront donc être multiples et d'un volume suffisant. Dans le cas d'une intoxication chronique, l'aliment contaminé peut avoir été entièrement consommé lors des prélèvements [Shlosberg *et al.*, 1984].
- La dose minimale efficace déterminée en laboratoire est déterminée dans des conditions idéales, limitant le stress, avec une alimentation adaptée et en l'absence d'autres pathologies, parasitaires par exemple. De plus, les résultats obtenus concernant l'altération des indices zootechniques en laboratoire ne représentent souvent pas une situation d'élevage, les conditions n'étant pas propices à l'expression du plein potentiel de production des animaux. Ainsi un niveau de toxine théoriquement insuffisant pour provoquer une altération des indices zootechniques peut très bien suffire dans le cadre d'une production intensive, où les animaux sont fragilisés par des conditions de vie stressantes et des niveaux de production très élevés [Kubena *et al.*, 1989, Shlosberg *et al.*, 1984].
- L'étude des interactions des trichothécènes entre eux ou avec d'autres myxotoxines démontre un effet additif des trichothécènes entre eux, et un effet additif à synergique avec d'autres mycotoxines telles que l'ochratoxine A et les aflatoxines (Tableau 13).

Tableau 13 : Nature des interactions entre trichothécènes et autres mycotoxines

	T-2	DAS	DON	Aflatoxines	Ochratoxine A
T-2	-	Addition	Addition	Synergie	Addition
DAS	Addition	-		Addition	
DON	Addition		-	Addition	

D'après Diaz *et al.*, 1994, Harvey *et al.*, 1989, 1990, 1994, Huff *et al.*, 1986, 1988, Kubena *et al.*, 1989.

6.2. Notions de risque

Les niveaux moyens et les valeurs ponctuelles supérieures de contamination des céréales par le DON et la toxine T-2 en Europe sont regroupés dans le Tableau 14 (trop peu de données concernant le DAS sont disponibles pour justifier sa place dans ce tableau).

Tableau 14 : Contamination des céréales par le déoxynivalénol et la toxine T-2 [Balzer, 2003, JECFA, 2001]

Céréales	Contamination par le DON (mg/kg)		Contamination par la toxine T-2 (mg/kg)	
	Valeurs moyennes	Valeurs ponctuelles supérieures	Valeurs moyennes	Valeurs ponctuelles supérieures
Blé	0.31	21	0.0011	0.249
Maïs	0.64	19	0.003	0.26
Avoine	0.14	2.6	0.018	0.53
Orge	0.86	26	0.0031	0.31
Seigle	0.039	1.3	0.0001	0.017
Riz	2.6	9.5	0.0007	0.019
Triticale	0.092	0.2	-	-

Les doses toxiques pour la toxine T-2, le DAS et le DON sont regroupées dans le Tableau 15 pour différentes espèces domestiques. Notons que ces valeurs sont malheureusement imprécises et ne représentent que les résultats d'études ponctuelles. Tous les documents issus de sources nationales ou internationales relèvent d'ailleurs le manque de données [FAO 2002, GeotraceAgri, 2003, JECFA 2001]

Tableau 15 : Doses toxiques chez le porc et les volailles

	Intoxication	T-2	DAS	DON
Porc	Aiguë : Vomissements Polyphagie Diarrhée (DON) Parésie postérieure Apathie - Léthargie	ND	ND	1-20
	Subaiguë : Baisse GMQ et consommation alimentaire Lésions cutanéo- muqueuses	1-10	2-9	2-5
Poussin	Aiguë : Refus de l'aliment Diarrhée Léthargie Lésions digestives	6-8	8	100-3500
	Subaiguë : Baisse de consommation alimentaire, du GMQ Lésions cutanéo- muqueuses	2-16	2-4	> 16
Oie	Baisse de consommation alimentaire Vomissements Léthargie Chute de ponte Mortalité élevée	9-14	ND	25
Poule pondeuse	Baisse de consommation alimentaire Chute de ponte	1-10	2-20	> 5
	+ Lésions cutanéo- muqueuses	0.5-8	1-20	N/A

Les niveaux de contamination moyens en toxine T-2 et DON des céréales européennes ne constituent donc pas, d'après les données disponibles, un danger pour les espèces d'élevage. Pour la toxine T-2, et malgré sa toxicité intrinsèque, les niveaux de contamination supérieurs mesurés en Europe sont 2 à 4 fois inférieurs aux doses minimales nécessaires pour obtenir un effet toxique chez les espèces les plus sensibles. Pour le DON, les niveaux de contamination

supérieurs de l'orge, du maïs et du blé sont par contre suffisants pour entraîner des troubles chez les volailles et le porc.

A ce jour, aucun niveau de recommandation n'a été établi par l'Union Européenne, quoique un projet doive être présenté à la fin du mois de mars 2004. A titre provisoire, ce sont les recommandations établies par les Pays Bas qui sont utilisées par l'Union Européenne. Pour l'alimentation humaine, ils sont pour le DON de 0.5 mg/kg dans les produits alimentaires céréaliers et de 0.75 mg/kg dans les farines. De nombreux pays ont établi des niveaux de recommandation pour le DON dans l'alimentation animale (Tableau 16). Les recommandations sont généralement cohérentes avec les résultats présentés dans cette thèse, quoique le niveau de recommandation choisi par la Belgique soit trop élevé pour les porcins. Aucune donnée concernant la toxine T-2 ou le DAS n'a pu être trouvée. Une limite de 0.05 mg/kg d'aliment pour la toxine T-2 et de 0.1 mg/kg d'aliment pour le DAS semblent raisonnables d'un point de vue santé animale [FAO, 2002, GéotraceAgri, 2003].

Tableau 16 : Niveaux de recommandation en DON dans l'alimentation animale

[FAO 2002]

Pays	Produit	Espèce	Recommandation (mg/kg)
Belgique	Matières premières	Toutes	5
		Porcins	0.5
Autriche	Aliment	Bovins	1
		Poules pondeuses	1
		Volailles de reproduction	1
		Volailles d'engraissement	1.5
		Porcins	1
Allemagne	Aliment	Veaux	2
		Bovins	5
		Volailles	5
		Porcins	5
Pays Bas	Céréales	Poules pondeuses	5
		Bétail laitier	5
		Veaux	5
		Autres bovins	10
		Volailles	10
	Aliment	Porcins	1
		Bétail laitier	2
		Veaux	2
		Poules pondeuses	3
		Volailles	5
Etats Unis	Céréales et dérivés	Autres bovins	5
		Bovins ruminants	10
		Poulets	10
		Porcins	5*
Canada	Aliment	Autres	5**
		Porcins	1
		Jeunes veaux	1
		Bovins laitiers	1
		Bétail	5
		Volailles	5

* ces ingrédients ne doivent pas dépasser 20 % de la ration finale

** ces ingrédients ne doivent pas dépasser 40 % de la ration finale

6.3. Traitements

Très peu d'études se consacrent au traitement de l'intoxication par les trichothécènes. Le plus souvent, les études qui se rapprochent de ce point testent des molécules en prévention de l'intoxication, dans l'objectif d'élucider le mécanisme d'action des trichothécènes. Ces dernières études seront donc abordées dans la troisième partie de cette thèse.

La première mesure dans le traitement de l'intoxication par les trichothécènes est bien évidemment le retrait immédiat de l'aliment contaminé. Comme indiqué dans les parties précédentes, la plupart des signes cliniques et lésions rétrocèdent rapidement. Le retard de croissance induit par les trichothécènes n'est pas contre que rarement comblé par une croissance compensatrice, entraînant une hétérogénéité de format inacceptable dans le cadre des filières aviaires actuelles.

La seule description d'un traitement concerne l'épisode d'intoxication de grues par la toxine T-2 et le DON dans un parc zoologique du Maryland, USA. Ne connaissant pas l'agent responsable de la pathologie observée, les soigneurs ont choisi un traitement symptomatique comprenant :

- une réhydratation par voie sous-cutanée (intraveineuse pour les animaux les plus déshydratés) avec du dextrose à 2.5% et du Ringer-Lactate, à hauteur de 3% du poids vif par jour et en quatre injections réparties sur 48 heures,
- une injection de vitamines B,
- une vermifugation à l'ivermectine (10 μ g/kg) (les grues étaient infestées de nématodes digestifs),
- une antibiothérapie par l'injection d'ampicilline (100 mg/kg, deux fois par jour, pendant 5 jours), justifiée par une numération élevée en granulocytes chez les premiers animaux examinés.

Au terme de 17 jours, 240 grues ont reçu ce traitement, pour une mortalité totale de 15 individus. Une rémission complète des signes cliniques était alors obtenue chez les survivants.

Le principal intérêt de ce traitement se trouve dans la fluidothérapie qui a évité un choc fatal aux grues les plus déshydratées. L'ampicilline a également pu, de manière préventive, éviter l'émergence de pathogènes opportunistes. Le retrait de l'aliment suspect, conjugué à cette fluidothérapie, ont certainement été décisif dans la rémission des signes cliniques chez les survivants [Olsen *et al.*, 1995].

Ce traitement concorde par ailleurs avec celui utilisé contre l'aleucie toxique alimentaire, avec la possibilité de recourir aux transfusions sanguines dans les cas les plus sévères de pancytopénie [Forgacs, 1962].

Une étude propose également l'utilisation d'un inhibiteur du PAF-acéther, la molécule BN 52021, dans le traitement de l'intoxication aiguë par la toxine T-2. Cette molécule se révèle en effet très efficace dans la lutte contre le choc endotoxémique, dont les mécanismes se retrouvent partiellement dans l'intoxication aiguë par les trichothécènes (Partie 3. 4.1. Déroulement du choc induit par les trichothécènes). Les résultats sont probants, une seule injection de 15 mg/kg de BN 52021 parvenant à quadrupler le taux de survie des rats après injection IV de 0.65 mg/kg PV de toxine T-2 [Feuerstein *et al.*, 1987].

La prophylaxie de l'intoxication par les trichothécènes s'effectue en amont de l'élevage et a été abordée dans la thèse d'Alexandre Balzer consacrée à la nature et à l'origine des trichothécènes [Balzer, 2003].

PARTIE 2. TOXICOCINETIQUE ET RESIDUS

1. TOXICOCINETIQUE

La toxicocinétique des trichothécènes présente de grandes similitudes qui justifient une présentation par espèce plutôt que par mycotoxine. L'étude de l'absorption, de la distribution, du métabolisme et de l'excrétion de ces composés permet de dégager trois ensembles : les mammifères monogastriques, les ruminants et les volailles.

La cinétique des trichothécènes est bien évidemment influencée par leur solubilité. Seuls les coefficients de partition eau-lipides de la fusarénone-X (F-X), du nivalénol (NIV) et du déoxynivalénol (DON) sont disponibles. Le coefficient de partition eau:éthylacétate est de 0.475 pour le DON (pH non précisé), 0.75 (pH 8) à 0.87 (pH 2) pour la F-X, et 0.052-0.057 pour le NIV (pH 2-8) [Poapolathep *et al.*, 2003, Prelusky & Trenholm, 1991].

1.1. Absorption

1.1.1. Etude spécifique de l'absorption

1.1.1.1. Par voie orale

- Mammifères monogastriques

Une étude *ex vivo* sur une anse jéjunale de rat isolée dans laquelle a été injectée de la toxine T-2 tritiée montre une absorption rapide de la toxine et de ses métabolites : au bout de 50 minutes, entre 35 et 45 % de la radioactivité est retrouvée dans le sang veineux drainant l'anse [Conrady-Lorck *et al.*, 1988].

Chez le porc, après administration de 2 mg/kg PV par voie intragastrique, le diacétoxyscirpénol (DAS) est rapidement absorbé : le pic de concentration plasmatique se situe entre une demie heure et 1 heure. De même avec le DON, après administration intragastrique de 0.6 mg/kg PV : un pic de concentration plasmatique est atteint dès 15 à 30 minutes. La biodisponibilité est de $54.9 \pm 8.4\%$ malgré les vomissements qui ont pu diminuer l'absorption [Bauer *et al.*, 1985, Prelusky *et al.*, 1988].

Chez la souris, après administration par voie orale de 18 µg/kg PV de F-X, le pic de concentration plasmatique se situe 30 minutes. Le NIV, administré à la dose de 20 µg/kg PV, est par contre environ 10 fois moins absorbé, et son pic de concentration plasmatique

n'intervient qu'une heure après l'administration. Cette différence est sans doute attribuable à la lipophilie relative de ces trois trichothécènes du groupe B : les plus lipophiles sont le DON et la F-X, dont le coefficient de partition est environ 10 fois supérieur à celui du NIV [Poapolathep *et al.*, 2003].

Une étude sur foie isolé perfusé démontre un important effet de premier passage pour la toxine T-2. La bile concentre 55 % de la toxine et de ses métabolites après un passage de toxine T-2 à travers le foie, alors que l'organe lui-même n'en retient que 7 % [Pace 1986].

- Ruminants

Chez la brebis, l'absorption du DON semble mauvaise : la biodisponibilité de la toxine administrée par voie orale est estimée à 7-10 % (calcul basé sur les métabolites connus). Une étude ultérieure confirme la présence d'une grande quantité de la dose administrée dans les fèces alors même que l'excration biliaire est minime [Prelusky *et al.*, 1986b].

- Volailles

Chez la poule pondeuse, après administration par gavage de 0.25 mg/kg PV de DON, le pic plasmatique est obtenu entre 2 et 2.5 heures. La biodisponibilité est de 0.64 %. Dans cette étude de grandes variations interindividuelles ont été notées, le pic plasmatique ayant lieu 0.5 à 6 heures pour une biodisponibilité oscillant entre 0.1 et 0.8 %. La quantité totale de toxine marquée – ou de ses métabolites – retrouvée dans l'organisme 3 heures après l'administration de DON et 6 heures après celle de toxine T-2 marqués ne représente respectivement que 1.33 et au plus 6.4 % de la dose administrée [Chi *et al.*, 1978b, Giroir *et al.*, 1991, Prelusky *et al.*, 1986a].

L'absorption digestive des trichothécènes est donc rapide et intense chez les mammifères monogastriques, le NIV étant le moins bien absorbé. Elle est mauvaise chez la brebis, et tout simplement médiocre chez les volailles, au moins pour le DON et la toxine T-2.

1.1.1.2. Par voie cutanée

Le risque d'exposition cutanée aux trichothécènes a conduit à différentes études sur l'absorption transcutanée de ces mycotoxines.

La toxine T-2 adsorbée sur de la poussière de maïs (18.2 mg/kg de poussière de maïs, application de 3.27-4.75 mg de poussière) passe *in vitro* plus facilement à travers l'épiderme humain (1.12 % au bout de 48 heures) que la peau entière (0.33 % au bout de 48 heures). Le principal obstacle à l'absorption cutanée étant le *stratum corneum*, le fait que l'on retrouve des quantités supérieures de toxine T-2 ou de son métabolite HT-2 dans le fluide baignant l'épiderme par rapport à la peau entière suggère un rôle de réservoir du derme pour la toxine [Kemppainen *et al.*, 1984].

La vitesse de pénétration et l'absorption totale de la toxine T-2 et du DAS en solution dans du DMSO ou du méthanol ont été étudiées *in vitro* chez l'homme, le singe et le cobaye (Tableau 17).

Tableau 17 : Vitesse de pénétration *in vitro* des trichothécènes à travers la peau

Solvant	Toxine	Espèce	Dose (ng/cm ²)	Vitesse de pénétration (ng/cm ² /h)	Pénétration à 48 h (%)
DMSO	T-2	Homme	79	0.38	21.5
			582	3.85	29.2
		Singe	70	0.37	26.8
			555	4.13	34.6
		Cobaye	79	0.96	32.6
			581	13.23	51.9
	DAS	Homme	79	1.09	50.3
			581	5.09	37
		Cobaye	79	1.99	67.1
			581	6.63	43.7
Méthanol	T-2	Homme	74	0.010	0.6
			547	0.12	1
		Singe	79	0.030	1.5
			532	0.29	2.5

D'après Kemppainen *et al.*, 1986b, 1987

Le pourcentage de pénétration à 48 h s'entend par rapport à la dose initiale appliquée, et considère l'ensemble toxine et métabolites.

La quantité de toxine T-2 pénétrant la peau et la vitesse de cette absorption sont dose-dépendantes, quel que soit le solvant utilisé. Elles dépendent par contre fortement de ce solvant : si le diméthyl-sulfoxyde (DMSO) facilite grandement la pénétration des toxines *via* son affinité pour la peau, le méthanol, s'évaporant très rapidement, laisse une toxine T-2 « pure » sur la peau.

Par ailleurs, les peaux de singe et d'homme se montrent équivalentes du point de vue de la vitesse d'absorption et de l'absorption totale de toxine T-2 quand le DMSO est utilisé. La peau de cobaye semble plus perméable, au moins en présence de DMSO [Kemppainen *et al.*, 1984, 1986a, 1986b, 1987].

In vivo, l'application de toxine T-2 sur la peau de rats et de souris a démontré une nette différence entre les deux espèces : la toxine traverse bien mieux la peau du rat que celle de la souris. L'explication la plus probable est relative aux différences de dermotoxicité entre les deux espèces : les dégâts étant bien plus importants pour la peau de souris, les tissus nécrosés ont pu agir comme une barrière pour la toxine [Wang *et al.*, 1996].

On voit donc qu'avec un solvant comme le DMSO, les trichothécènes pénètrent facilement dans l'organisme à travers la peau. En l'absence de solvant, par contre, moins de 1 % de la dose parvient effectivement à traverser l'épiderme et le derme, ce qui réduit considérablement le risque d'intoxication générale par voie transcutanée. Cette affirmation doit cependant être relativisée en notant l'importante dermotoxicité des trichothécènes par contact (Partie 3. 5. Dermotoxicité).

1.1.2. Rôle de la flore digestive et cycle entéro-hépatique

1.1.2.1. Etude spécifique du rôle de la flore digestive

Selon les espèces et les toxines, les flores digestives sont capables ou non, et dans des proportions variables, de métaboliser les trichothécènes. Ces voies métaboliques et leur importance relative seront présentées par groupe d'espèce : les mammifères monogastriques, les ruminants et les volailles.

- Mammifères monogastriques

Le Tableau 18 rassemble les données concernant le métabolisme des trichothécènes par la flore digestive des mammifères monogastriques.

Tableau 18 : Importance du métabolisme des trichothécènes par la flore digestive des mammifères monogastriques et principaux métabolites

Espèce	Toxine	Flore	Durée	Intensité (1)	Métabolites	Proportion (2)	Référence
Rat	DON	Caecale	24 h	90 %	DOM-1	100 %	Worrel <i>et al.</i> , 1989
	T-2	Jéjunale	50 min	0 %	-	-	Conrady-Lorck <i>et al.</i> , 1988
		Caecale	96 h	100 %	DEHT-2 DE T-2 triol	98 % 2 %	Swanson <i>et al.</i> , 1988
	DAS	Caecale	96 h	100 %	STO DEMAS DESTO	0.3 % 82 % 18 %	Swanson <i>et al.</i> , 1988
		Fécale	96 h	100 %	DEMAS DESTO	65 % 35 %	Swanson <i>et al.</i> , 1988
Chien	DAS	Fécale	96 h	89 %	MAS STO	99.8 % 0.2 %	Swanson <i>et al.</i> , 1988
Porc	DON	Gros intestin	96 h	0 %	-	-	He <i>et al.</i> , 1992, Prelusky <i>et al.</i> , 1988
	DAS	Fécale	96 h	100 %	MAS STO DEMAS DESTO	12 % 2 % 62 % 23 %	Swanson <i>et al.</i> , 1988
Cheval	DAS	Fécale	96 h	64 %	MAS STO	94 % 6 %	Swanson <i>et al.</i> , 1988

DEHT-2 : déépoxy HT-2 ; DEMAS : déépoxymonoacétoxyscirpénol ; DESTO : déépoxyscirpentriol ; DE T-2 triol : déépoxy T-2 triol

(1) Proportion de la dose métabolisée

(2) Proportion relative des différents métabolites

La toxine T-2 n'est pas métabolisée par la flore jéjunale de rat, elle l'est par contre complètement par sa flore caecale. Les métabolites obtenus ont perdu leur époxyde : le déépoxy T-2 triol et la toxine déépoxy HT-2 (Figure 1).

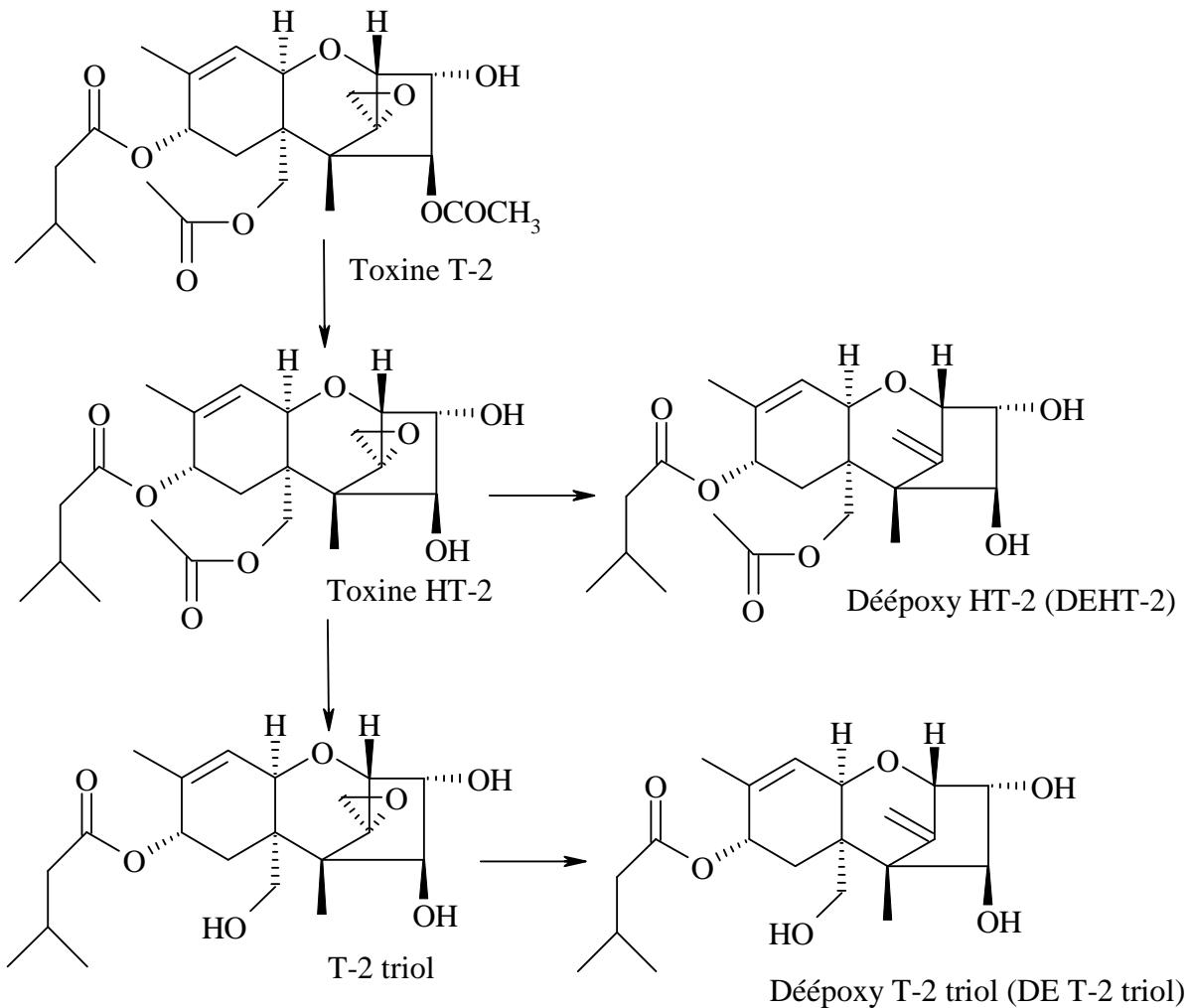


Figure 1: Métabolisme digestif de la toxine T-2

Les données les plus complètes concernent le DAS, qui est métabolisé chez le rat, le chien, le porc et le cheval. Outre l'hydrolyse des radicaux acétoxydes, réalisée dans ces quatre espèces, les flores digestives fécales de porc et de rat sont capables de détruire l'époxyde (Figure 2).

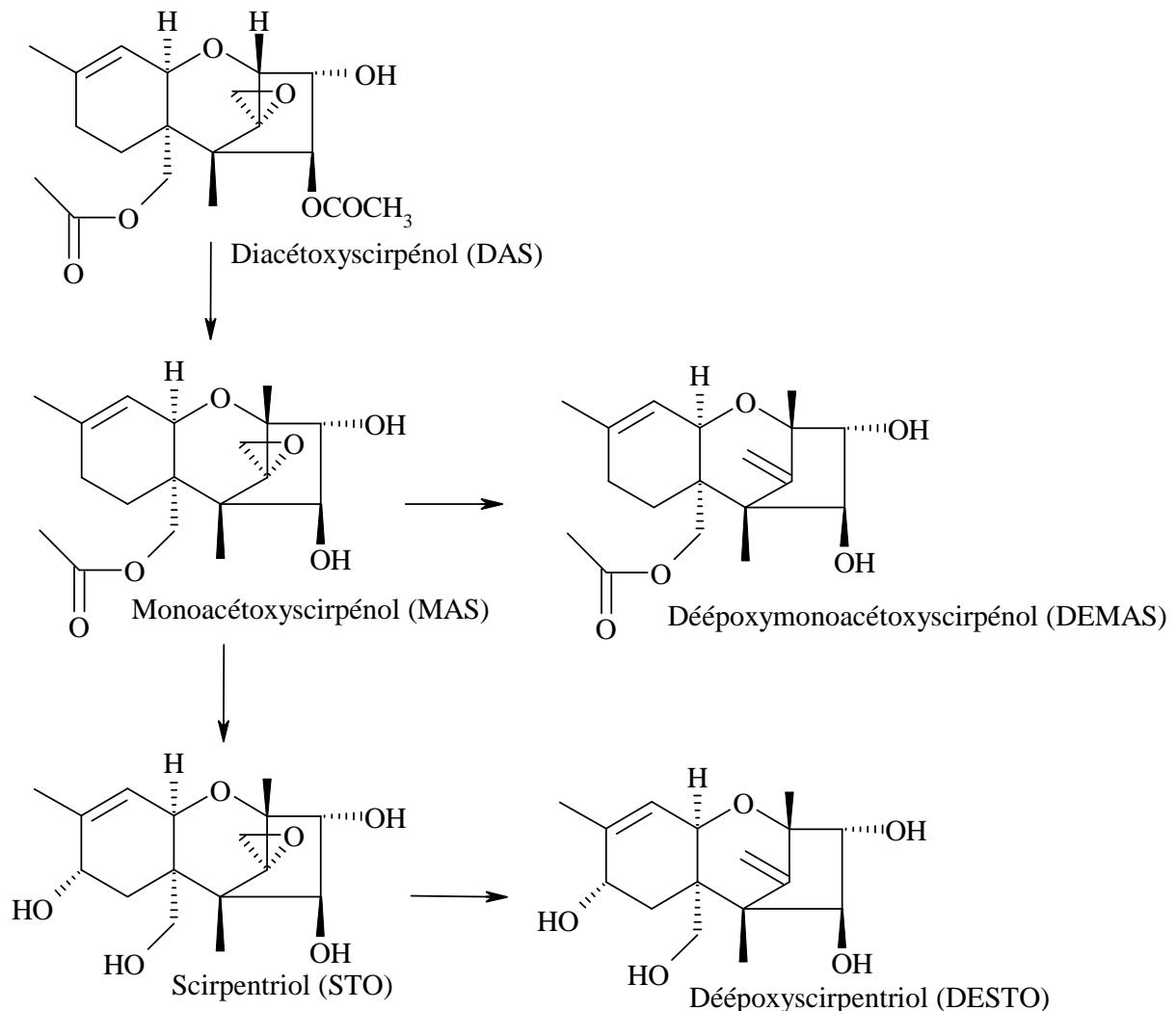


Figure 2 : Métabolisme digestif du diacétoxyscirpénol (DAS)

Le DON subit une transformation presque totale en déépoxydéoxynivalénol (DOM-1) en présence de flore caecale de rat (Figure 3).

Il n'est par contre pas métabolisé par la flore digestive de porc, alors même que celle-ci est capable de réaliser la déépoxydation du DAS. Ce résultat est concordant avec l'absence de métabolites du DON chez des truies auxquelles la toxine a été administrée aussi bien par voie intraveineuse qu'intragastrique. Cette différence – le porc est le seul animal dont la flore ne

métabolise pas le DON – pourrait en partie expliquer la sensibilité supérieure de cette espèce au DON [Prelusky *et al.*, 1988, He *et al.*, 1992].

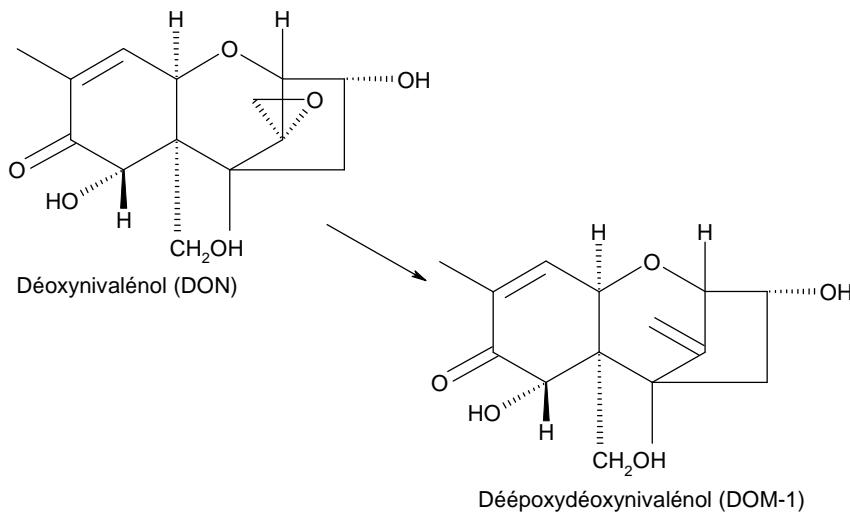


Figure 3 : Biotransformation du déoxynivalénol en déépoxydéoxynivalénol

Ces études sont le plus souvent réalisées avec des flores fécales ou caecaes, c'est-à-dire une flore située après le site d'absorption digestive. Les résultats obtenus ici *in vitro* ne sont donc peut-être pas extrapolables *in vivo*.

- Ruminants

La flore ruminale de brebis possède *in vitro* une capacité marquée à dégrader le DAS en MAS (Figure 2) et la toxine T-2 en toxine HT-2 (Figure 1). Au bout de 3 heures d'incubation, ces métabolites représentent respectivement près de 100 % et de 45 % de la dose initiale de mycotoxine. La présence d'aliment dans le milieu de culture diminue légèrement – de l'ordre de 6 % – l'activité de la flore dans la déacétylation du DAS en MAS. Les protozoaires se montrent par ailleurs plus efficaces que les bactéries dans la transformation de ces mycotoxines [Kiessling *et al.*, 1984].

La flore fécale se montre elle capable de métaboliser 92 % de la dose de DAS, les métabolites principaux étant le DESTO (44 %), le DEMAS (35 %), le MAS (17 %) et le STO (4 %). Cette déépoxydation n'est pas réalisée par la flore ruminale alors qu'elle l'est pour le DON (ci-dessous) [Swanson *et al.*, 1988].

Les résultats concernant le métabolisme ruminal du DON *in vitro* divergent :

- pour certains, à la dose de 2.5 mg/kg et au bout de 3 heures d'incubation, le DON ne serait pas du tout métabolisé par la flore ruminal de brebis [Kiessling *et al.*, 1984].
- pour d'autres, au bout de 6 heures d'incubation en présence de flore ruminal de bovins, et à une concentration en DON de 5-10 mg/kg, environ 35 % de la quantité initiale serait métabolisée. Au bout de 12 h, la toxine n'est plus détectée [King *et al.*, 1984].
- à des concentrations supérieures (50 et 100 mg/kg), seulement 50 % de la dose aurait été métabolisée au bout de 48 heures d'incubation en présence de flore ruminal de bovins. A une concentration en DON très supérieure (1000 mg/kg) et un temps d'incubation beaucoup plus long (96 h), moins de 10 % de la toxine est métabolisé [He *et al.*, 1992, King *et al.*, 1984]

Le seul métabolite retrouvé est identifié comme le DOM-1

Les divergences dans ces études semblent pouvoir être attribuées aux conditions expérimentales. De plus, les concentrations très élevées en DON utilisées dans ces dernières études sont largement toxiques pour les micro-organismes du rumen (la mortalité est de 94 % à 1000 mg/kg de DON en 96 h). La plupart des auteurs montrent un métabolisme effectif du DON en DOM-1 par la flore ruminal (Figure 3), mais moins efficace que celui subit par le DAS ou la toxine T-2 [He *et al.*, 1992, JEFCA, 2001, King *et al.*, 1984, Kiessling *et al.*, 1984].

- Volailles

La flore digestive de poulet est très active dans la métabolisation du DON en DOM-1. Au terme d'une culture en anaérobiose de 96 heures, seulement 1.8 % du DON n'est pas transformé en DOM-1. Cette réaction est si efficace que ces auteurs préconisent l'utilisation de cette flore comme moyen de lutte biologique pour détoxifier des céréales contaminées par le DON. Cette déépoxydation est dépendante du transfert d'électrons dans la bactérie, comme le prouve l'adjonction d'azide de sodium (un inhibiteur du transfert des électrons) au milieu de culture. La méconnaissance du site d'action précis de cette molécule dans le métabolisme bactérien anaérobiose empêche cependant d'identifier précisément le mécanisme [He *et al.*, 1992, 1993].

La flore fécale de poulet métabolise en 96 heures 57 % du DAS en culture. Les métabolites principaux sont les MAS et le STO (Figure 2) mais on n'obtient pas de formes déépoxydées de cette mycotoxine, comme chez le cheval et le chien [Swanson *et al.*, 1988].

La flore digestive est donc capable d'altérer très significativement les trichothécènes. Les métabolites obtenus se révèlent, selon les cas, d'une toxicité équivalente (le DAS et le MAS ; T-2 et HT-2) à très inférieure (les composés déépoxydés) par rapport aux trichothécènes dont ils sont issus (Tableau 29 : DL50 des trichothécènes) [Swanson *et al.*, 1988]. La flore de rat est capable de métaboliser la toxine T-2, le DAS et le DON, alors que les données sont moins complètes pour les autres espèces. La flore digestive de porc se révèle incapable de métaboliser le DON. La flore ruminale se montre très efficace dans la dégradation des trichothécènes, tout comme la flore de poulet.

Les conséquences sur la toxicité des trichothécènes chez ces espèces seront abordées ultérieurement afin de regrouper toutes les informations relatives à leur cinétique.

1.1.2.2.Cycle entéro-hépatique

La toxine T-2 et ses divers métabolites ont été dosés après administration en IV à des rats. Cette bile est ensuite administrée dans le duodénum de rats n'ayant pas reçu de toxine T-2. On retrouve environ 15 % de la toxine T-2 et de ses métabolites dans le plasma. Cette étude démontre l'existence d'une réabsorption de la toxine T-2 et de ses métabolites et donc d'un cycle entéro-hépatique chez le rat [Coddington *et al.*, 1989].

Un cycle entéro-hépatique existe également pour le DON. En effet, suite à une administration par voie IV, du DOM-1 peut être détecté dans le plasma. Le foie étant, à l'opposé des micro-organismes du tube digestif, incapable de réaliser cette réaction, la présence de DOM-1 dans le sang après injection IV de DON indique l'existence d'une excrétion biliaire du DON, suivie d'une métabolisation en DOM-1 qui est alors absorbé [Worrel *et al.*, 1989].

Il existe donc un cycle entéro-hépatique pour le DON comme pour la toxine T-2, ce qui laisse supposer que les autres trichothécènes doivent également y être soumis. Celui-ci a d'importantes conséquences sur la cinétique des trichothécènes.

1.2. Distribution plasmatique et tissulaire

D'une manière générale, quelles que soient la toxine, l'espèce et la voie d'administration, les trichothécènes sont largement et rapidement distribués dans l'organisme.

1.2.1. Paramètres cinétiques

1.2.1.1. Fixation aux protéines plasmatiques

Le pourcentage de DON fixé aux protéines plasmatiques chez le porc est de $9.15 \pm 3.9\%$ (détermination par ultrafiltration). Il est indépendant de la concentration en DON dans l'aliment et du temps d'incubation. Il est du même ordre de grandeur chez la brebis [Prelusky *et al.*, 1988].

1.2.1.2. Volume de distribution

Le volume de distribution de la toxine T-2 chez le chien est de 0.86 ± 0.63 L/kg. Celui de son principal métabolite, la toxine HT-2, dans la même espèce, est de 4.47 ± 1.38 L/kg [Sintov *et al.*, 1986].

Le volume de distribution du DAS est de 2.659 L/kg (1.859-3.516) dans l'espèce bovine (génisses) et de 1.645 L/kg (0.894-2.486) dans l'espèce porcine [Coppock *et al.*, 1987].

Le volume de distribution du DON chez le porc est de 1.35 L/kg [Coppock *et al.*, 1985, Prelusky *et al.*, 1988].

Ces volumes de distribution sont très importants et peuvent s'expliquer par une très large diffusion dans l'organisme, un effet de capture important par le foie et une séquestration spécifique par certains tissus (chapitres 1.2.3., 1.3. et 1.4.) [Prelusky & Trenholm, 1991].

1.2.2. Distribution tissulaire et plasmatique

1.2.2.1. Administration parentérale

- Mammifères monogastriques

Chez le porc, suite à l'injection intraveineuse de 1 mg/kg PV de DON, on observe une distribution rapide dans tout l'organisme (Figure 4). Le pic de concentration tissulaire est compris entre 20 minutes et une heure pour la majorité des tissus. Le DON se concentre essentiellement dans le rein, le foie, l'urine et la bile. Le profil de distribution ne laisse supposer aucun cycle entéro-hépatique. Les autres tissus contenant des quantités notables de DON sont le tissu adipeux, le poumon, les surrénales, la rate et les testicules. La décroissance des concentrations tissulaires et plasmatiques est rapide et la plupart des organes ne contiennent plus que des traces de toxine 24 heures après l'injection [Prelusky & Trenholm, 1991].

Le NIV et la F-X suivent un schéma très semblable, avec des concentrations supérieures de F-X par rapport au NIV [Poapolathep *et al.*, 2003].

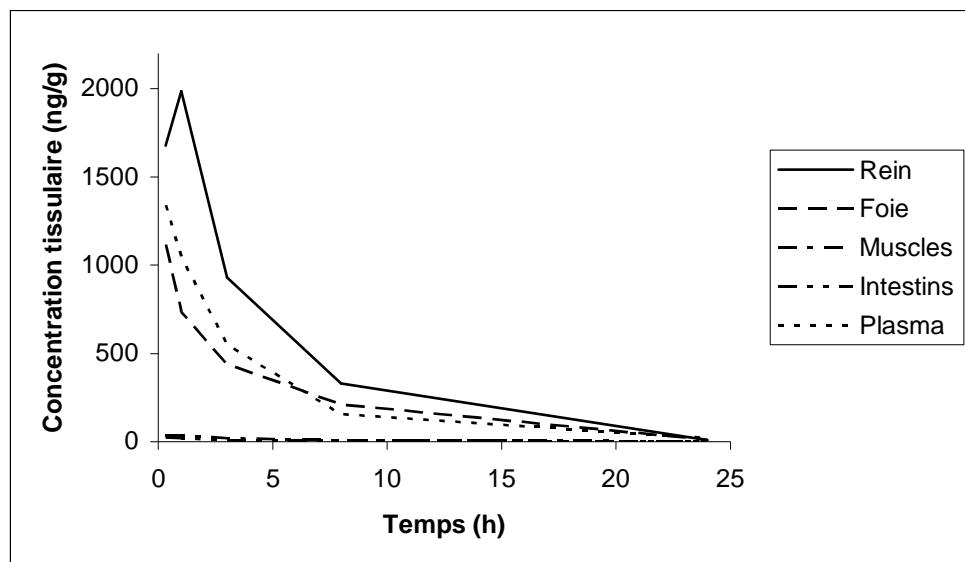


Figure 4 : Distribution plasmatique et tissulaire du déoxynivalénol après injection intraveineuse (1mg/kg PV) chez le porc [Prelusky & Trenholm, 1991]

Chez le cobaye, suite à une injection intramusculaire de 1 mg/kg PV de toxine T-2, on observe une distribution rapide dans tout l'organisme (Figure 5). La toxine et ses métabolites

se concentrent essentiellement dans les reins, le foie, les poumons et la rate. Leur concentration est très élevée dans la bile. Les autres organes contenant des concentrations notables de toxine et/ou de ses métabolites sont le cœur, les tissus adipeux et musculaires et les testicules. Un second pic de concentration apparaît nettement dans le plasma et les reins, reflétant soit un relargage prolongé depuis le site d'injection – que rien ne peut expliquer – soit, plus vraisemblablement, un cycle entéro-hépatique. Comme après l'injection intramusculaire de DON, les concentrations tissulaires et plasmatiques sont très basses 24 heures après l'injection, pour diminuer progressivement dans les jours suivants [Pace *et al.*, 1985].

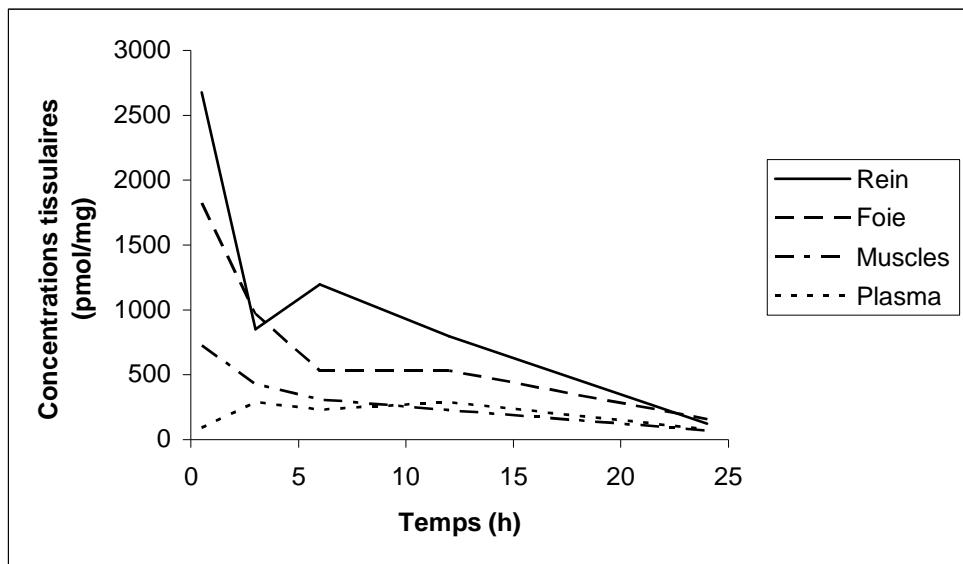


Figure 5 : Distribution tissulaire et plasmatique après injection intramusculaire de toxine T-2 chez le cobaye (1 mg/kg PV) [Pace *et al.*, 1985]

- Ruminants

Une étude partielle des résidus retrouvés dans les organes de veaux ruminants semble indiquer un schéma de distribution après injection intraveineuse très proche de celui décrit précédemment chez les monogastriques. Le DAS se concentre en effet dans le foie, les reins, les nœuds lymphatiques et la rate [Coppock *et al.*, 1988].

1.2.2.2. Administration orale

- Mammifères monogastriques

Chez la souris, suite à l'administration orale de 25 mg/kg PV de DON, on observe une distribution tissulaire rapide et profonde, les pics de concentration se situant avant une demi-heure après administration. Les profils cinétiques de la distribution du DON dans le plasma, le rein et le foie sont remarquablement semblables, avec une décroissance rapide suivie d'un palier de 24 heures. Dans l'intestin grêle la concentration en DON et ses métabolites diminue quand celle du gros intestin augmente, suivant logiquement la progression de la toxine dans le tube digestif.

Lors d'administration d'une dose importante de DON par voie orale (25 mg/kg PV), un pic secondaire de concentration apparaît dans le rein, le foie, l'intestin grêle et le plasma, probablement lié au cycle entéro-hépatique (1.1.2.2. Cycle entéro-hépatique). Ce pic secondaire n'est pas détectable avec une dose plus faible (5 mg/kg PV) [Azcona-Olivera *et al.*, 1995].

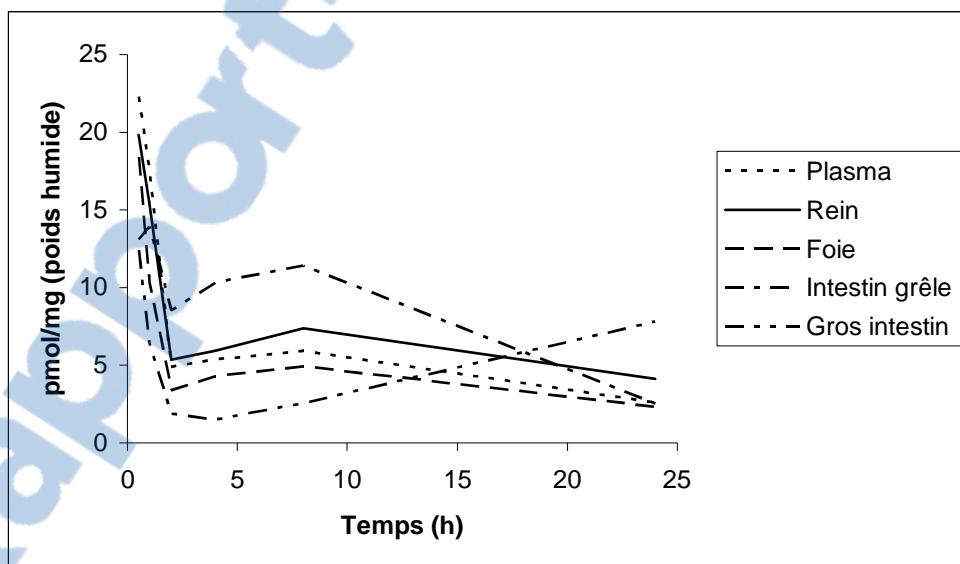


Figure 6 : Distribution tissulaire et plasmatique du déoxynivalénol après administration par voie orale (25 mg/kg PV) chez la souris [Azcona-Olivera *et al.*, 1995]

Chez le rat et la souris, suite à une administration orale de toxine T-2 ou de DAS, les profils de distributions sont sensiblement les mêmes que pour le DON chez la souris. Les

données disponibles ne permettent pas de vérifier l'existence ou l'absence d'un cycle entéro-hépatique, bien qu'il soit probable qu'il existe [Wang *et al.*, 1989, Wang *et al.*, 1996].

- Volailles

Chez le poulet et la poule, après une administration unique par voie orale, le DON, la toxine T-2 et leurs métabolites se distribuent rapidement dans tous les organes pour arriver à un maximum au bout de 3 heures, sauf pour le muscle, le tissu adipeux et l'oviducte pour lesquels le maximum est atteint au bout de 4-6 heures (Figure 7). Les concentrations les plus importantes se retrouvent cependant dans le tractus digestif antérieur, le rein, le foie, la vésicule biliaire et la rate, montrant un profil de distribution très semblable à celui des mammifères (Figure 6). Les profils de distribution plasmatique ne montrent pas de pic secondaire révélateur d'un cycle entéro-hépatique [Chi *et al.*, 1978a, Prelusky *et al.*, 1986a].

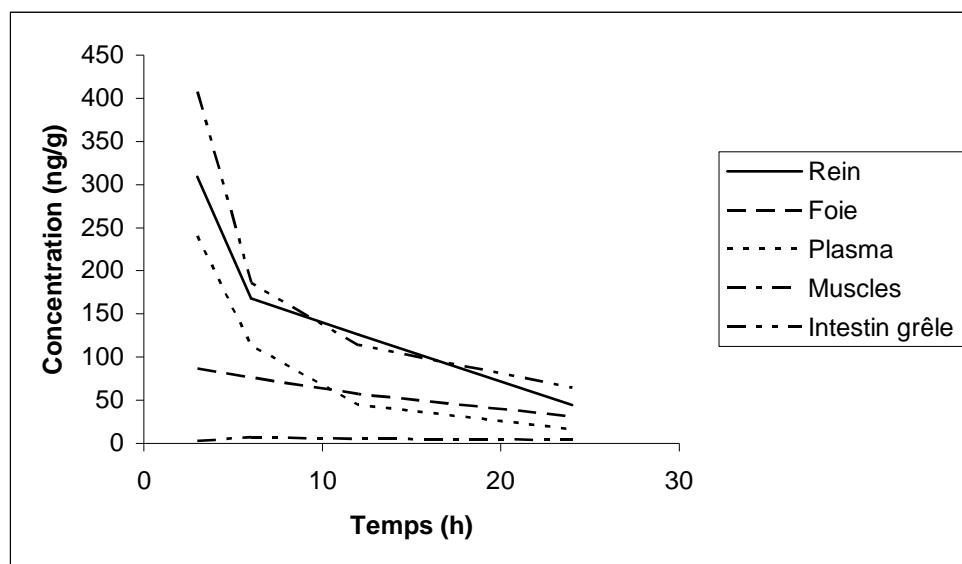


Figure 7 : Evolution des concentrations tissulaires après administration de déoxynivalénol (1.3-1.7 mg/kg PV) par voie orale [Prelusky *et al.*, 1986a]

Lorsque de l'aliment contaminé est distribué sur une période de temps supérieure, la teneur maximale en DON des tissus est atteinte rapidement, et reste sensiblement constante sur la durée de l'étude. Les concentrations les plus importantes se retrouvent dans les mêmes organes que précédemment [Prelusky *et al.*, 1986a].

Les profils toxicocinétiques de la toxine T-2 chez le poulet et le canard sont très semblables, tant d'un point de vue qualitatif que quantitatif [Giroir *et al.*, 1991].

1.3. Métabolisme

L'étude du métabolisme des trichothécènes se fera toxine par toxine, en considérant d'abord les biotransformations de phase 1 puis celles de phase 2.

1.3.1. Métabolisme de la toxine T-2

La toxine T-2 est sujette à de nombreuses biotransformations chez toutes les espèces étudiées. Nous avons déjà évoqué le rôle de la flore digestive dans le métabolisme de la toxine (Figure 1). Les deux autres sites majeurs de biotransformations sont les cellules de la muqueuse du tube digestif et le foie. La peau joue également un rôle important lors de pénétration transcutanée de la toxine T-2. La figure 8 schématise, toutes espèces confondues, les voies métaboliques suspectées pour les métabolites principaux de phase 1 de la toxine T-2.

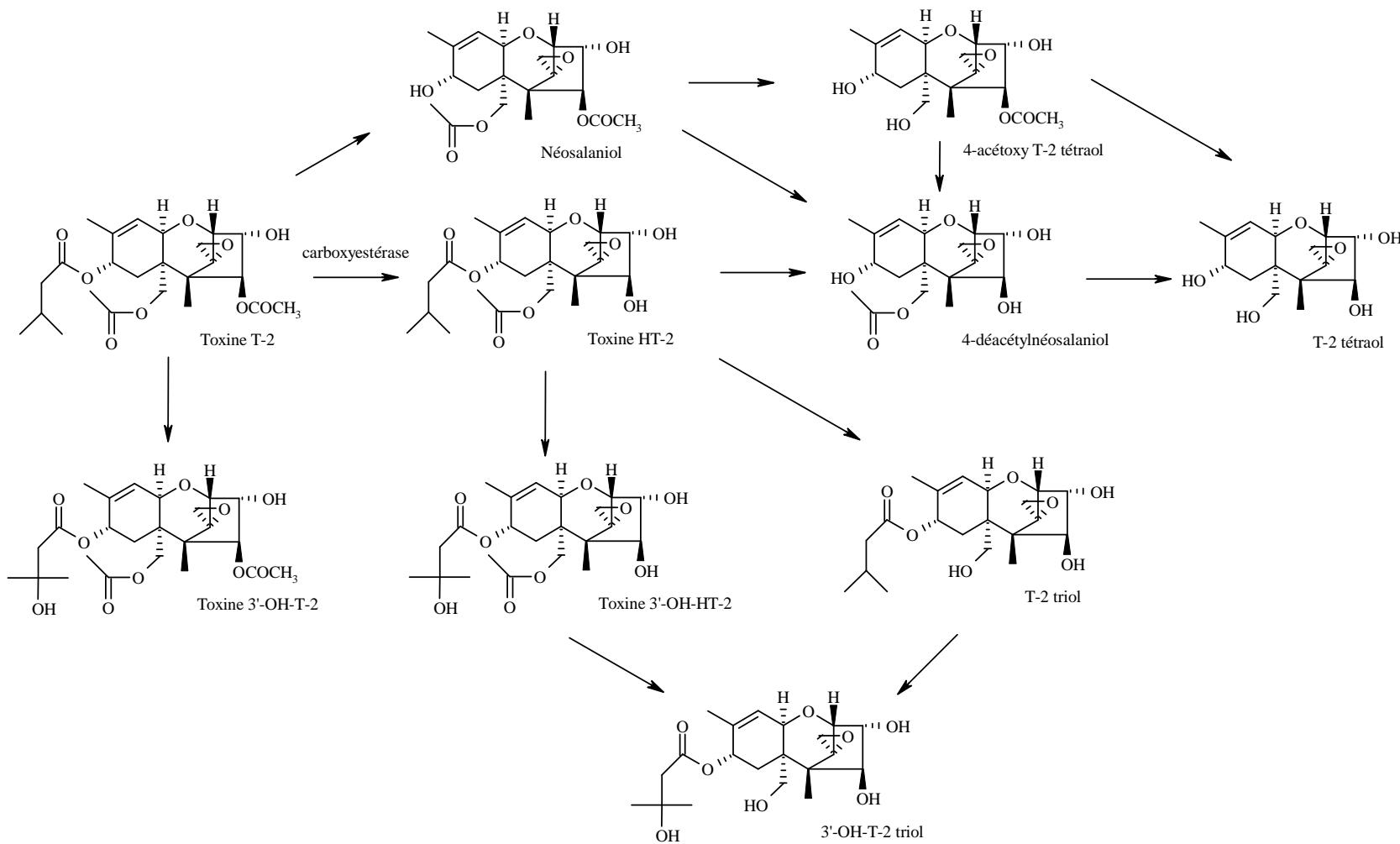


Figure 8 : Voies métaboliques suspectées pour les biotransformations de phase 1 de la toxine T-2 (principaux métabolites)
(d'après Bata 1983, IARC 1993, Pace 1986)

1.3.1.1.Mammifères

- Paroi du tube digestif

La paroi du tube digestif est responsable chez le rat de la formation de la toxine HT-2, qui est le principal métabolite dans le sang drainant le tube digestif (24.9 % de la dose totale 90 minutes après l'administration de 5 nmol de toxine T-2 dans le jéjunum). Les autres métabolites détectés sont les toxines 3'-OH T-2 (1.5 %), 3'-OH HT-2 (3.8 %), le 4-déacétylnéosalanol (1.4 %), et le T-2 tétraol (0.5 %). La toxine T-2 ne représente alors plus que 1.6 % de la dose initiale [Conrady-Lorck *et al.*, 1988].

Les microsomes intestinaux de lapins se révèlent quant à eux capables de transformer la toxine T-2 en HT-2 mais pas de l'oxyder en 3'OH T-2 [Kobayashi *et al.*, 1987].

- Foie

Dans le foie de rat et de cobaye, la toxine T-2 est très largement transformée. Les métabolites obtenus sont le T-2 tétraol (3 % de la toxine et de ses métabolites retrouvés dans la bile de rat), la toxine 3'-OH HT-2 (4 %), le 3'-OH T-2 triol (1.5 %), la toxine HT-2 (1 %), le 4-déacétylnéosalanol (1 %), le T-2 triol (0.5 %), et les toxines 3'-OH T-2 (0.2 %) et 3'-OH-7-OH HT-2. La toxine T-2 ne représente plus que 0.3 % de la quantité totale de toxines retrouvées dans la bile [Coddington *et al.*, 1989, Gareis *et al.*, 1986, Pace *et al.*, 1985, Pace 1986].

L'utilisation d'un modèle *in vitro* utilisant des microsomes hépatiques permet de comparer l'importance relative des différentes voies métaboliques mises en œuvres dans les biotransformations de phase 1 de la toxine T-2. Les données sont regroupées dans le Tableau 19, après 90 minutes d'incubation.

Tableau 19 : Importance relative des principaux métabolites de la toxine T-2 en présence de microsomes hépatiques [Kobayashi *et al.*, 1987]

	T-2	HT-2	3'-OH T-2	3'-OH HT-2
Rat	0	97	3	0
Souris	18	66	16	0
Cobaye	2	60	21	17
Lapin	0	96	0	4
Porc	3	86	10	0
Bovin	46	46	8	0
Poulet	68	30	1	0

Les valeurs indiquées sont des pourcentages de la quantité totale de toxine et de ses métabolites majeurs récupérés à la fin de la culture.

Outre les toxines HT-2, 3'-OH T-2 et 3'-OH HT-2, les biotransformations de phase 1 de la toxine T-2 produisent également du T-2 tétraol, du 4-déacétylnéosolaniol, du néosolaniol, du T-2 triol, de la toxine 4'-OH T-2 et 4'-OH HT-2 en quantités minimes (inférieures à 1 % de la quantité totale récupérée, sauf chez le lapin où l'on détecte plus de 1 % de 4-déacétylnéosolaniol) [Knupp *et al.*, 1987a, 1987b, Kobayashi *et al.*, 1987].

In vivo comme *in vitro*, l'hydrolyse de la toxine T-2 en toxine HT-2 par des carboxyestérases domine donc largement dans toutes les espèces par rapport à l'oxydation (qui conduit à la toxine 3'-OH T-2). L'intensité du métabolisme est par contre variable, les microsomes hépatiques de rat, de cobaye, de lapin et de porc se montrant beaucoup plus efficaces que ceux de souris, ou, à l'extrême, de bovin et poulet. La voie de la carboxyestérase est parfois tellement majoritaire par rapport à la voie oxydative que cette oxydation ne concerne plus la toxine T-2 mais son métabolite, la toxine HT-2 [Knupp *et al.*, 1987b, Kobayashi *et al.*, 1987].

Les conjugués polaires représentent 88 % de la toxine et de ses métabolites retrouvés dans la bile de rat. Ils se composent de toxine HT-2 glucuronoconjuguée (80 % des glucuronides), et dans des proportions très inférieures, de toxine 3'-OH-HT-2 glucuronoconjuguée (11 %), T-2 tétraol (1 %), HT-2 sulfonoconjuguée, et 3'-OH-HT-2 sulfonoconjuguée. Les autres métabolites existent apparemment également à l'état glucuronoconjugué, mais en quantités infimes.

L'effet de premier passage est très intense : de la toxine T-2 passant à travers le foie d'un rat, seulement 4.6 % reste non métabolisée dans le sang effluent [Coddington *et al.*, 1989, Gareis *et al.*, 1986, Pace *et al.*, 1985, Pace 1986].

- Peau

Suite à une application cutanée *in vitro* de 75 ng/cm² de toxine T-2 solubilisée dans le DMSO, le métabolite majeur de la toxine T-2 traversant la peau humaine est encore une fois la toxine HT-2 (75 % de la toxine et de ses métabolites retrouvés dans le fluide baignant la peau), suivi de la toxine 3'-OH HT-2 (7 %) alors qu'il ne reste plus que 9 % de la molécule mère. Les métabolites mineurs détectables sont le T-2 triol et le T-2 tétraol. Ces proportions relatives et l'intensité de ce métabolisme sont cependant à pondérer par l'activation des cytochromes P450 par le DMSO [Kemppainen *et al.*, 1986b].

1.3.1.2. Volailles

L'étude des métabolites présents dans les excréta de canard et de poulet permet de noter quelques différences par rapport aux rongeurs. Les métabolites majeurs présents dans les excréta 18 heures après une injection IP de toxine T-2 sont les toxines 3'-OH-HT-2 (41 % de la quantité totale récupérée), HT-2 (18 %), 3'-OH T-2 (16.5 %), 4-déacétylnéosalaniol (10 %), 4-acétoxy T-2 tétraol (5 %). D'autres métabolites sont retrouvés à l'état de traces : T-2 tétraol, 8-acétoxy T-2 tétraol, T-2, T-2 triol et d'infimes quantités de 3-acétoxy-3'-OH HT-2. Il faut cependant remarquer que ces métabolites sont issus de l'activité du foie et de la muqueuse digestive mais aussi de la flore digestive (1.1.2. Rôle de la flore digestive et cycle entéro-hépatique) [Visconti & Mirocha, 1985]

Tous ces métabolites ne sont pas détectés dans le foie : le principal y est toujours la toxine 3'-OH HT-2, suivi dans des quantités très inférieures par les toxines HT-2, T-2 triol et des traces de 4-déacétyl-néosalaniol, 4-acétoxy-T-2 tétraol, T-2 tétraol et T-2 [Giroir *et al.*, 1991, Visconti & Mirocha, 1985].

Les microsomes hépatiques de poulet se révèlent par ailleurs bien moins actifs que ceux des mammifères dans la biotransformation de la toxine T-2 (Tableau 19). Le métabolite majeur est encore une fois la toxine HT-2, la voie oxydative se révélant négligeable [Knupp *et al.*, 1987b, Kobayashi *et al.*, 1987].

1.3.1.3. Conclusion

Dans les voies métaboliques de phase 1 connues, celle de la carboxyestérase (qui conduit à la toxine HT-2) domine donc largement dans toutes les espèces par rapport à celle de l'oxydation (qui conduit à la toxine 3'-OH T-2), *in vivo* comme *in vitro*. Dans son ensemble, ce métabolisme correspond à une détoxification (Figure 9).

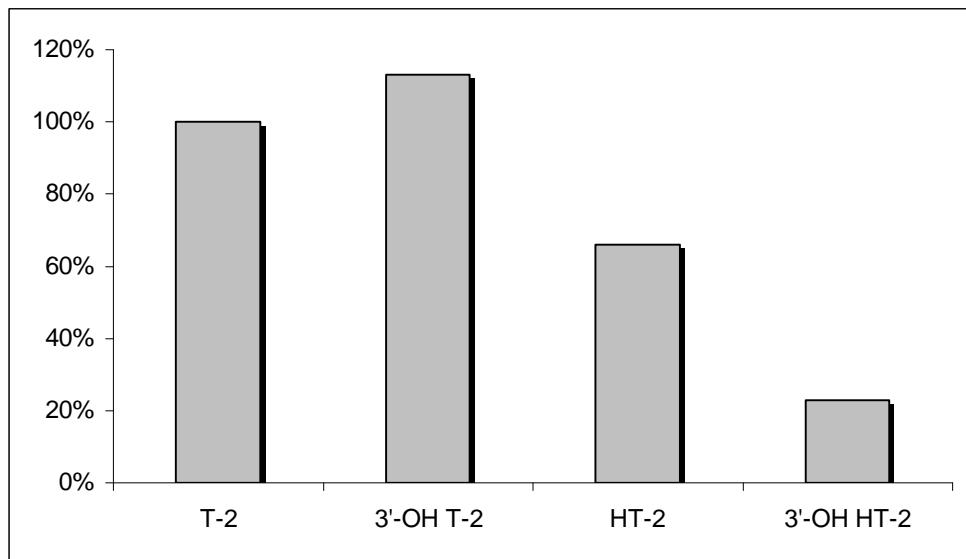


Figure 9 : Toxicité relative des principaux métabolites de la toxine T-2 (DL 50)

1.3.2. Métabolisme du diacétoxyscirpénol

Le métabolisme du DAS a été étudié chez le rat, le porc et le veau.

Chez le porc et le veau, la voie métabolique principale du DAS ou 4,15-diacétoxyscirpénol est une déacétylation séquentielle en 15-monoacétoxyscirpénol (MAS) puis en scirpentriol (STO) (Figure 10). Ce métabolisme correspond à une détoxification de la mycotoxine : si DAS et MAS ont une toxicité équivalente, ces composés sont 4-5 fois plus毒ique que le STO [Coppock *et al.*, 1987, Richardson & Hamilton, 1990].

Chez des porcs et bovins, après administration IV de 0.1-0.5 mg/kg PV de DAS, STO et MAS sont détectés dans les urines dès 5 minutes. MAS et DAS s'y trouvent en quantités très inférieures au STO [Coppock *et al.*, 1987].

Chez le porc, après administration intragastrique de 2 mg/kg PV, les pics de concentration plasmatique de MAS et de STO sont atteints entre une demie heure et deux heure après l'administration intragastrique de DAS [Bauer *et al.*, 1985].

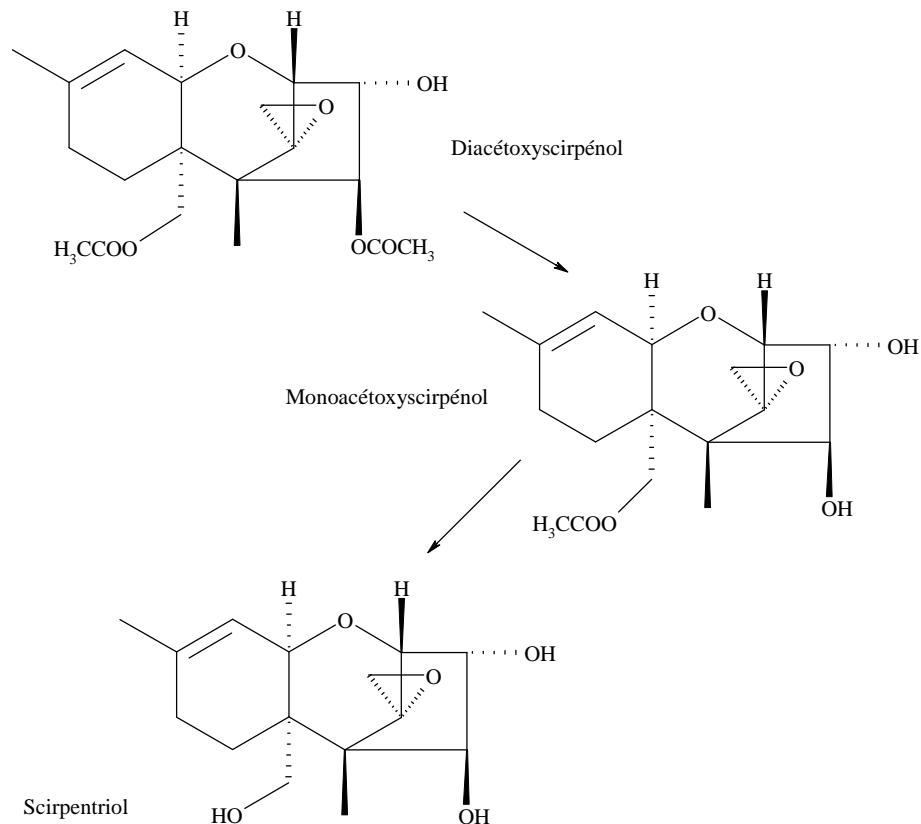


Figure 10 : Biotransformations de phase I du diacétoxyscirpénol (d'après Ueno 1984)

Dans un foie de rat isolé, le DAS est intégralement métabolisé. On ne retrouve dans la bile que du MAS et du STO glucurononoconjugués (les métabolites seuls ne sont pas détectés), le MAS étant de très loin le composé majoritaire [Gareis *et al.*, 1986].

Le DAS est également métabolisé lors de son passage à travers la peau dans un système *in vitro*. Solubilisée dans du méthanol, après 48 heures d'incubation, on retrouve la molécule mère, du 15-MAS, du 4-MAS et deux métabolites non-identifiés dans les conditions expérimentales – l'un des deux, majoritaire, étant probablement le scirpentriol. Leurs proportions sont présentées dans le Tableau 20 en pourcentage des molécules récupérées [Kemppainen *et al.*, 1987].

Tableau 20 : Métabolites du diacétoxyscirpénol dans la peau après administration cutanée

	DAS	15-MAS	4-MAS	Non-identifiés
Homme	45	15	3	10.9 (2)
Cobaye	85	5	1.5	1 (1)

1.3.3. Métabolisme du déoxynivalénol

Le métabolisme du DON a été étudié chez le rat, le porc, la vache et la brebis.

Chez le rat, après administration de 2-10 mg/kg PV de DON par voie orale, la présence de déépoxydéoxynivalénol (DOM-1) dans les fèces, le plasma et les urines pourrait suggérer un métabolisme hépatique semblable à celui des autres toxines précédemment étudiées. Les microsomes hépatiques de porc comme de rat semblent pourtant incapable de réaliser cette déépoxydation, alors que le DON est intensivement transformé en DOM-1 dans une culture de flore digestive de rat, de poulet ou de flore ruminale [Côté *et al.*, 1987, He *et al.*, 1992, Kiessling *et al.*, 1984, King *et al.*, 1984, Lake *et al.*, 1987].

Chez le porc en revanche, après injection IV (0.3 mg/kg PV) ou administration par voie orale (0.6-2 mg/kg PV) aucune trace de DOM-1 n'est détectée dans le plasma, les fèces, l'urine et la bile. Cette observation est cohérente avec les observations réalisées *in vitro* puisque ni le foie ni la flore digestive de cette espèce ne sont capables de réaliser la déépoxydation du DON [Côté *et al.*, 1987, He *et al.*, 1992, Prelusky *et al.*, 1988].

La formation de DOM-1 à partir de DON est donc réalisée par la flore digestive et non le foie chez le rat. La flore de porc est incapable de réaliser cette biotransformation.

Le foie est par contre capable de glucuronoconjurer le DON et le DOM-1 dans des proportions différentes selon les espèces (Tableau 21).

Tableau 21 : Proportions des métabolites du déoxynivalénol dans les fèces, les urines, la bile et le plasma chez le rat, le porc et la brebis

	Voie	Dose mg/kg PV	Milieu	DON	DOM-1	GC-DON	GC-DOM-1	Référence
Rat	VO	2	Fèces	-	100 %	-	-	Côté <i>et al.</i> , 1987
Porc	IV	0.3	Plasma Urine Bile	95 %	-	< 5 %	-	Prelusky <i>et al.</i> , 1988
	VO	0.6						
	VO	2	Urine	100 %	-	-	-	Côté <i>et al.</i> , 1987
Brebis	IV	0.5	Urine	38 %	< 1 %	34 %	27 %	Prelusky <i>et al.</i> , 1986b
	VO	5	Urine	30 %	< 1 %	53 %	16 %	Prelusky <i>et al.</i> , 1986b

GC : glucurononoconjugué

Les valeurs sont exprimées en pourcentage de la dose totale de toxines récupérée dans le milieu considéré.

Chez la vache, après consommation d'un aliment contaminé par des quantités très élevées de DON (1300 mg/kg), le métabolite majoritaire dans les urines est le DOM-1 glucurononoconjugué. Il est présent dans des proportions équivalentes à celles de la brebis par rapport au DOM-1 non conjugué. Le DON conjugué est présent en quantités 1.5-3 fois supérieures à celle du DON non conjugué, mais tous deux sont largement minoritaires par rapport au DOM-1 [Côté *et al.*, 1986].

La déépoxydation correspond à une détoxification, puisque les trichothécènes privés de leur époxyde ne sont quasiment plus toxiques (Partie 3. 9.2. Modulation des synthèses macromoléculaires) [Ehrlich & Daigle, 1987, Swanson *et al.*, 1988].

Les ruminants démontrent une capacité de glucurononoconjugaaison du DON très supérieure à celle du porc et du rat.

Aucune donnée concernant la sulfonoconjugaaison n'est disponible.

1.3.4. Métabolisme de la fusarénone-X

Le métabolisme de la F-X n'a été étudié que chez la souris. Dans cette espèce, suite à une administration orale de 18 µg/kg PV, la F-X est rapidement et intensivement transformée en nivalénol (Figure 11). Au bout d'une heure, la F-X est majoritairement excrétée dans les urines sous forme de NIV, minoritairement sous forme inaltérée. Au bout de 24 h, il n'y a plus de F-X dans les urines et les fèces 24 heures après administration de F-X. Les seuls tissus

réalisant de manière notable cette voie métabolique sont le foie et le rein [Poapolathep *et al.*, 2003].

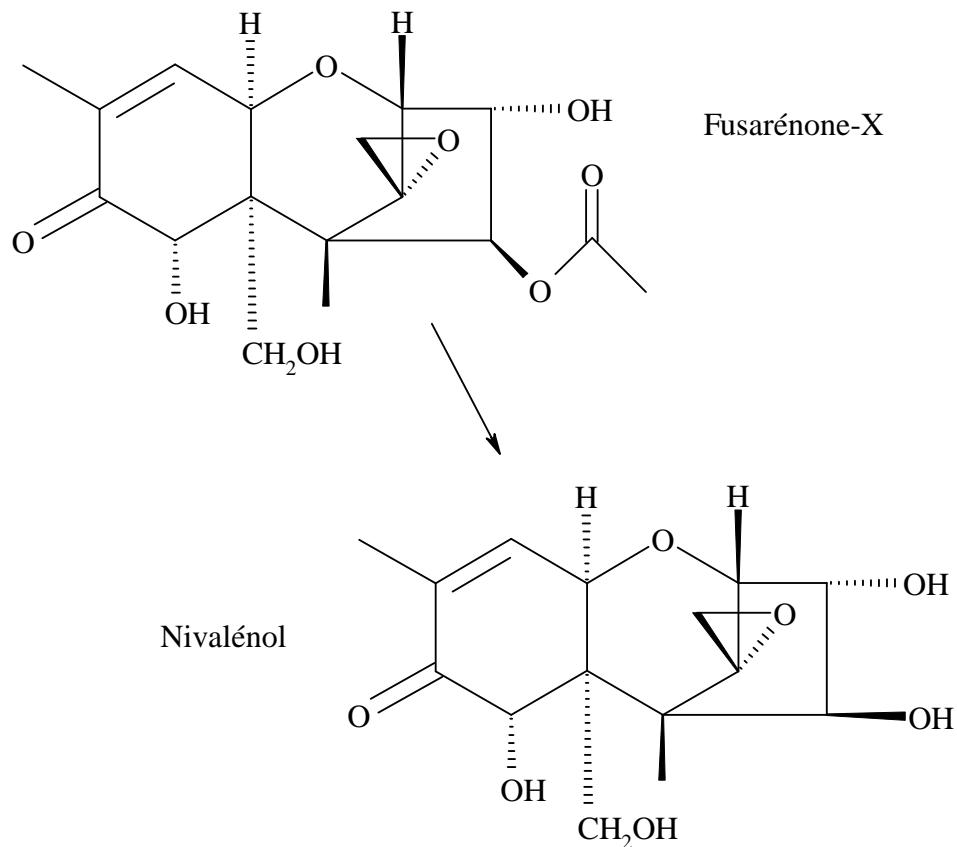


Figure 11 : Biotransformation de phase I de la fusarénone-X
(d'après Poapolathep *et al.*, 2003)

1.3.5. Métabolisme du nivalénol

Chez la souris, après administration par voie orale (20 µg/kg) le nivalénol ne semble pas subir de métabolisme majeur : un seul métabolite a pu être détecté, mais pas identifié (il ne s'agit en tout cas pas de déépoxynivalénol) [Poapolathep *et al.*, 2003].

1.4. Elimination

1.4.1. Excrétion urinaire et hépatobiliaire

1.4.1.1. Mammifères monogastriques

- Toxine T-2

Chez le cobaye, après injection IM de 1 mg/kg PV de toxine T-2, 75 % de la dose est retrouvée au bout de 5 jours dans l'urine et les fèces, avec un ratio de 4:1 et un pic d'excrétion urinaire à 24 heures. La toxine est essentiellement excrétée sous forme glucurononoconjuguée et le composé mère ne représente qu'une part infime des métabolites présents dans la bile et les urines [Pace *et al.*, 1985].

- Diacétoxyscirpérol

Chez le porc, après administration de 2 mg/kg de DAS par voie orale, la quantité de DAS et de ses métabolites (MAS et STO) diminue très rapidement dans le plasma dès 1 à 2 heures après l'administration. Au bout de 24 heures, la toxine et ses métabolites sont quasiment indétectables. Le métabolisme et l'élimination de cette toxine sont très rapides et intenses puisque dès 15 minutes après injection IV, MAS et STO sont détectés dans l'urine. 8 heures après l'injection, seul le STO est encore détecté dans le plasma : le temps de demi-vie du DAS est de 715 minutes, sa clairance plasmatique de 105 mL/min/kg. Ces moyennes cachent cependant une grande disparité dans les valeurs individuelles, conséquence probable de la perturbation de l'hémodynamique suivant l'administration du DAS [Bauer *et al.*, 1985, Coppock *et al.*, 1987].

Chez le rat et la souris, l'administration orale respective de 0.55 mg/kg PV et 0.66 mg/kg PV donne un schéma équivalent. L'excrétion urinaire et fécale est rapide et intense, avec 75-95 % d'excrétion de la toxine et de ses métabolites au bout de 24 heures. L'urine contient 4.5 fois plus de toxine et de ses métabolites que les fèces [Wang *et al.*, 1990].

- Déoxynivalénol

Chez le porc, la pharmacocinétique du DON suit un modèle à 2 ou 3 compartiments, selon les individus.

Tableau 22 : Temps de demi-vie plasmatique du déoxynivalénol, du nivalénol et de la fusarénone-X chez le porc et la souris

	Toxine	Voie	Dose	Modèle	Temps de demi-vie		
					$t_{1/2\alpha}$	$t_{1/2\beta}$	$t_{1/2\gamma}$
Porc	DON	IV	4.9 mg/kg PV	2 compartiments	6.6 min	4.9 h	
		IV	4.7 mg/kg PV	3 compartiments	5.8 min	4.7 h	1.6 h
Souris	DON	VO	5 mg/kg PV	2 compartiments	21 min	5 h	
		VO	25 mg/kg PV		33 min	25 h	
	F-X	VO	18 µg/kg PV	2 compartiments	53 min	37.6 h	
	NIV	VO	20 µg/kg PV		2.5 h	14.3 h	

D'après Azcona-Olivera *et al.*, 1995, Poapolathep *et al.*, 2003, Prelusky & Trenholm, 1991

Une étude plus ancienne se contentait d'un modèle à un compartiment, mais la fréquence des prélèvements, le nombre d'animaux impliqués dans l'étude et la sensibilité des méthodes de détection favorise la plus récente [Coppock *et al.*, 1985].

La clairance plasmatique du DON chez le porc est de 1.81 mL/min/kg, sa voie d'élimination majeure l'urine : en 24 heures, 94 % de la dose administrée par IV est récupérée dans les urines, essentiellement sous forme non-conjuguée. En revanche, seulement 3.5 % de la dose administrée est récupérée dans la bile. Cette élimination est rapide, puisque près de 75 % de la dose est récupérée dans les 8 heures suivant l'injection. Après injection IV, le pic d'élimination est à 1 heure et entre 3-8 heures dans l'urine et la bile, respectivement. Après une administration par voie orale, il se situe respectivement entre 1-3 heures et 1-4 heures pour l'urine et la bile [Coppock *et al.*, 1985, Prelusky *et al.*, 1988, Prelusky & Trenholm, 1991].

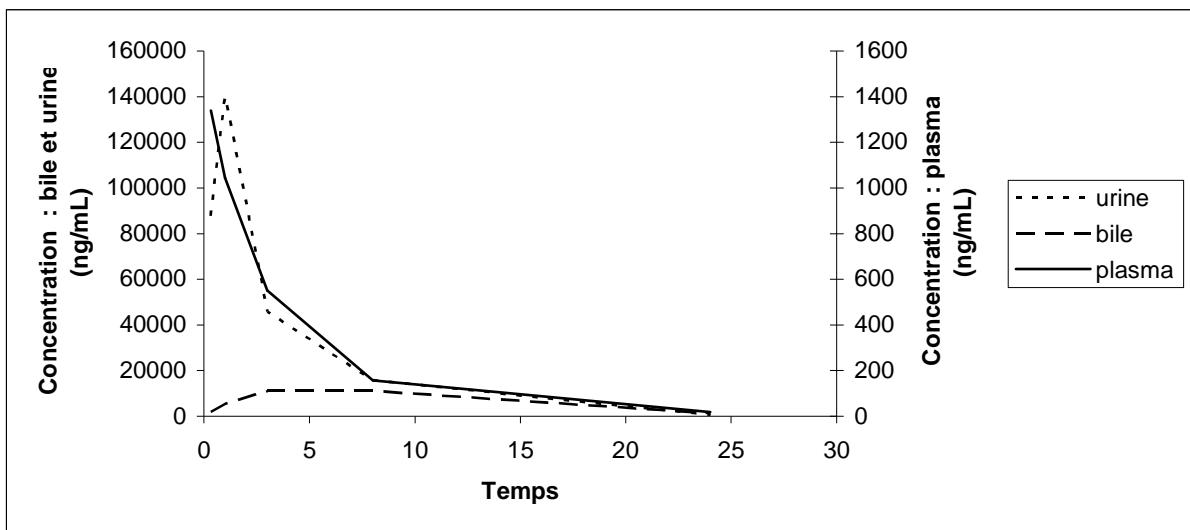


Figure 12 : Evolution des concentrations dans le plasma, la bile et les urines après administration de déoxynivalénol (1 mg/kg) par voie IV chez le porc
[Prelusky & Trenholm, 1991]

Chez la souris, après administration par voie orale d'une dose de 5 mg/kg PV, l'élimination du DON suit un modèle à deux compartiments : une phase d'élimination rapide avec un temps de demi-vie plasmatique de 21 minutes et une phase d'élimination lente avec un temps de demi-vie de 7.6 heures. Avec une dose de 25 mg/kg PV, ces temps de demi-vie passent à 33 minutes et 88.9 heures, cet allongement du temps de demi-vie plasmatique dans la phase d'élimination lente étant dû à un pic secondaire de concentration, probablement dû à un cycle entéro-hépatique (Tableau 22, figure 6) [Azcona-Olivera *et al.*, 1995].

- Nivalénol et fusarénone-X

Chez la souris, l'élimination du nivalénol et de la fusarénone-X suit un modèle à deux compartiments (Tableau 22). Après une métabolisation rapide et intense en NIV dans le foie et les reins, la F-X (comme le NIV) est rapidement excrétée dans la bile et les urines. Au bout de 12 heures (24 heures pour certains tissus comme les muscles, la peau, le tissu adipeux), les niveaux de ces deux toxines dans l'organisme sont quasiment négligeables [Poapolathep *et al.*, 2003].

1.4.1.2.Ruminants

- Diacétoxyscirpénol

Chez la génisse (âge et poids non précisés), suite à l'injection IV de 0.5 mg/kg PV de DAS, la clairance totale est de 325 mL/kg/min, son temps de demi-vie de 380 minutes (6.4 heures). Ces moyennes cachent cependant une grande disparité dans les valeurs individuelles, conséquence probable de la perturbation de l'hémodynamique suivant l'administration du DAS.

Comme chez le porc, le DAS est très rapidement métabolisé en MAS et en STO : les deux composés sont détectables dans les urines dès 15 minutes après injection du DAS, le composé largement majoritaire étant le STO, suivi du MAS puis du DAS. 8 h après l'injection, seul le STO est détectable dans le plasma, alors que le MAS est présent en quantité deux fois plus importante que le STO, lui-même présent en quantité 8 fois plus importante que le DAS [Coppock *et al.*, 1988].

- Déoxynivalénol

Chez la brebis, après injection IV de 0.5 mg/kg PV de DON, la voie principale d'élimination est urinaire : la toxine s'y retrouve sous sa forme originelle (23.6 % de la dose administrée par IV), mais également sous forme conjuguée (20 %), sous forme de DOM-1 libre (0.5 %) et glucuronoconjugué (17 %). Le pic d'élimination urinaire du DON et de ses métabolites apparaît dès 0.5-1.5 heure après l'injection. Dans les urines, le DON et ses métabolites ne sont respectivement plus détectables 8 et 13 heures après injection.

Le DON est principalement excrété dans la bile sous forme de DOM-1 glucuronoconjugué (3.5 % de la dose administrée par IV). DON et DON glucuronoconjugué représentent moins de 0.5 % de la dose chacun, et seules des traces de DOM-1 libre sont détectées. Le pic d'excration biliaire se situe lui environ 40 minutes après l'injection. Le DOM-1 n'est plus détectable dans la bile dès 5 heures après l'injection. Le temps de demi-vie du DON est estimé à 1.2 heure (73 minutes) [Prelusky *et al.*, 1986b].

Chez la brebis, après administration par voie orale de 5 mg/kg PV, le DON et ses métabolites sont détectés dans les urines dès 30 minutes, le pic d'excration apparaissant entre 6-9 heures. Dans les urines, le DON et ses métabolites ne sont plus détectables 36 heures

après injection. Le pic d'excrétion biliaire se situe lui entre 1 et 3 heures après administration. Le DOM-1 glucurononoconjugué (métabolite majoritaire dans la bile) n'est plus détectable qu'à l'état de traces dans la bile dès 8 heures après l'injection. Au total, seulement 7 % de la dose administrée est récupérée dans les urines, et 0.11 % dans la bile [Prelusky *et al.*, 1986b].

1.4.1.3.Volailles

- Toxine T-2

Chez le poulet et le canard, après administration de 0.5 mg/kg PV de toxine T-2 par gavage, l'essentiel de l'élimination a lieu dans les 24 heures. Dès 30 minutes après l'administration, la radioactivité se concentre dans la bile pour atteindre un maximum au bout de 12 heures, alors qu'elle reste faible dans le rein. Sans pour autant posséder de donnée sur la concentration dans l'urine primitive, il semble raisonnable d'imaginer que l'essentiel de l'élimination de la toxine T-2 passe par une métabolisation rapide dans le foie et une excrétion biliaire.

Au bout de 6 heures, 25 % de la quantité de toxine se trouve dans l'excréta, au bout de 24 h, 60 %. Cette quantité n'augmente pas significativement dans les 24 h qui suivent. Au terme de ces 24 heures, le gros intestin et les caeca contiennent encore 25 % de la quantité de toxine administrée [Chi *et al.*, 1978a, Giroir *et al.*, 1991].

- Déoxynivalénol

L'élimination du DON se décompose en deux phases : une phase d'excrétion rapide, durant environ 3 heures, et une phase d'élimination lente de 6 heures. Au delà, seules des traces de toxines sont encore détectées dans le plasma (Figure 7). Au bout de 48 heures, la toxine et ses métabolites ne sont plus détectables. Le temps de demi-vie plasmatique du DON est estimé à 12 heures, soit bien plus que dans les autres espèces étudiées. La bile semble encore une fois la voie d'excrétion majeure du DON. La toxine s'y concentre très rapidement (excrétion maximale au bout de 12 heures, avec une concentration 100 fois supérieure à la concentration plasmatique) et en très grandes quantités (Figure 7). Les concentrations en DON et ses métabolites sont faibles dans les autres organes ou tissus, y compris le rein [Prelusky *et al.*, 1986a].

1.4.2. Passage dans le lait

Le passage des trichothécènes dans le lait n'a été étudié que pour la toxine T-2 et le DON.

Chez la vache, la toxine T-2 administrée par voie orale pendant 15 jours à la dose de 50 mg/kg de concentré est retrouvée dans le lait à des concentrations variant entre 10 et 160 µg/kg. Les métabolites de la toxine n'ont pas été recherchés [Robison *et al.*, 1979].

Chez la truie, la toxine T-2 administrée quotidiennement pendant 220 jours à la dose de 12 mg/kg de concentré est retrouvée dans le lait, 6 jours après la mise bas, à une concentration de 76 µg/kg. Les métabolites de la toxine n'ont pas été recherchés [Robison *et al.*, 1979].

Chez la vache recevant pendant 5 jours jusqu'à 950 mg de DON par repas (deux repas par jour), aucune trace de DON non conjugué n'a été retrouvée dans le lait (limite de détection de 1 µg/kg). Du DOM-1 non conjugué a par contre été systématiquement détecté jusqu'à 16 heures après le dernier repas contaminé par le DON [Côté *et al.*, 1986]. Dans une autre étude, aucune trace de DON ou de DOM-1 n'a pu être retrouvée dans le lait de vaches recevant jusqu'à 100 mg/j de DON pendant 10 semaines (même limite de détection) [Charmley *et al.*, 1993].

Ces études ont été réalisées avec des doses très élevées de toxine, bien supérieures aux niveaux de contamination spontanés des aliments. De plus, à ces doses de toxine T-2, des troubles marqués apparaissent, ce qui devrait inciter l'éleveur à retirer le lait de la consommation.

1.4.3. Passage dans les œufs

1.4.3.1. Suite à une administration unique

Chez la poule recevant 0.25 mg/kg PV de toxine T-2 par intubation, la quantité de toxine et/ou de ses métabolites retrouvée dans l'œuf est minime. Le maximum, 0.175 % de la dose administrée, est atteint 24 heures après l'administration. Au bout de 2 et 7 jours l'œuf n'en contient plus que 0.1 et 0.025 % respectivement. La présence de toxine T-2 et/ou de ses métabolites est détectée aussi bien dans le jaune, le blanc que les enveloppes [Chi *et al.*, 1978b].

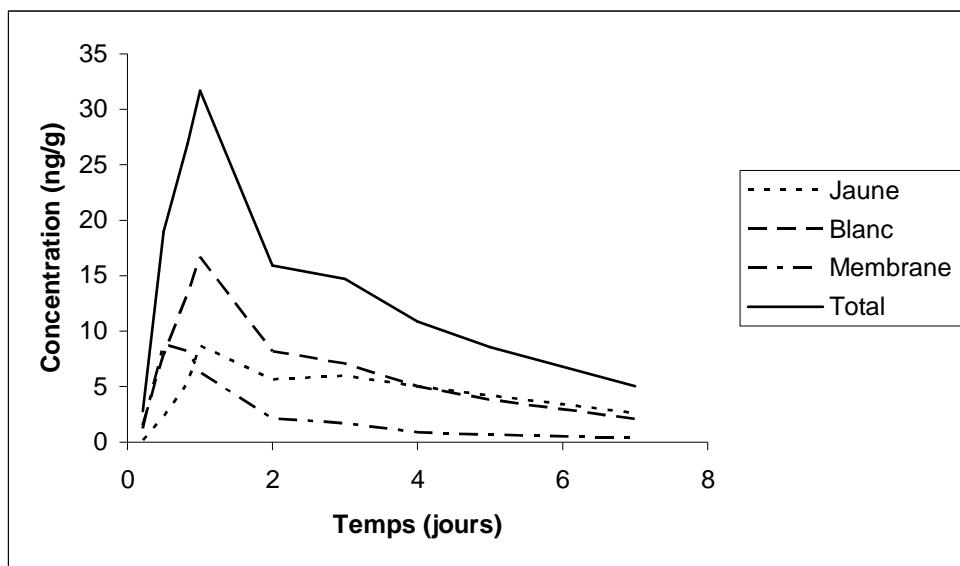


Figure 13 : Evolution des concentrations dans l'oeuf de poule après une administration unique de 0.25 mg/kg PV de toxine T-2 par voie orale [Chi *et al.*, 1978b]

Le DON suit le même profil que la toxine T-2. Après une administration unique de 1.3-1.7 mg/kg PV par voie intragastrique, le maximum atteint dans les parties comestibles de l'œuf à 24 heures est de 1.91 µg de DON et de ses métabolites, soit 0.087 % de la dose administrée, pour atteindre 0.058 et 0.0049 % au bout de 2 et 4 jours, respectivement. La radioactivité spécifique à 24 heures est maximale dans le blanc, suivi des enveloppes et du jaune (dans un rapport de 1:5 environ par rapport au blanc). Seulement 10 % de la toxine se trouve sous sa forme originelle [Prelusky *et al.*, 1987].

1.4.3.2. Suite à des administrations répétées

Chez des poules, avec l'administration orale de 0.1 mg/kg/j PV de toxine T-2 pendant 8 jours, la toxine et/ou ses métabolites s'accumulent dans le jaune. Un plateau est par contre atteint pour le blanc et les enveloppes au bout de 3 jours. Dans toutes les parties de l'œuf, la concentration en toxine diminue très rapidement dès l'arrêt de l'aliment contaminé (Figure 14). En moyenne, le niveau de contamination des parties comestibles de l'œuf serait de 0.9 µg avec un aliment contaminé à hauteur de 1.6 mg/kg, ce qui représente 0.56 % de la dose de toxine T-2 administrée quotidiennement [Chi *et al.*, 1978b].

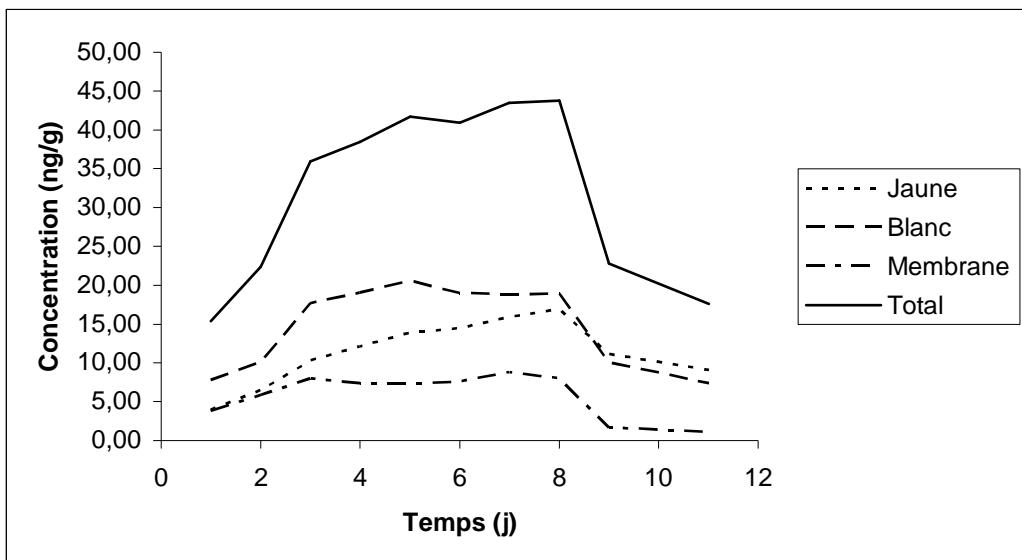


Figure 14 : Evolution des concentrations dans l'oeuf lors de l'administration répétée de 0.10 mg/kg PV pendant 8 jours [Chi *et al.*, 1978b]

Les résultats obtenus avec des poules pondeuses nourries pendant 65 jours avec un aliment contaminé par du DON marqué à hauteur de 5.5 mg/kg diffèrent peu. La contamination de l'œuf est maximale au 8^{ème} jour après une accumulation plus rapide dans le jaune que dans le blanc et un niveau de contamination relatif plus important du jaune. Après 8 jours d'administration, un œuf contient 1.7 µg de DON et de ses métabolites, soit 0.31 % de la dose quotidienne apportée. Seulement 0-10 % de la toxine se trouve encore sous sa forme originelle. La présence du DON et de ses métabolites diminue sensiblement jusqu'au 30^{ème} jour, pour se stabiliser ensuite : l'œuf n'en contient alors plus que 0.4 µg – soit 0.07 % de la dose quotidienne. Cette baisse pourrait être attribuée à une modification progressive de l'équipement enzymatique de la poule et donc du devenir du DON [El-Banna *et al.*, 1983, Prelusky *et al.*, 1987, Prelusky *et al.*, 1989].

2. RESIDUS

Les mesures de résidus musculaires, hépatiques et rénaux ont été réalisées suite à une administration de toxine T-2, de DAS ou de DON à des doses comparables à des niveaux de contamination spontanée [Balzer, 2003]. Ces études ont été menées chez le porc, le veau, le poulet et le canard dans le cadre d'une administration unique, et chez la poule et le poulet dans le cadre d'une administration prolongée.

2.1. Les muscles

Les résidus musculaires des différentes toxines sont présentés dans les tableaux 20 et 21. Les valeurs des résidus y sont données en équivalent-toxine, négligeant le métabolisme subit par les différents trichothécènes. Les niveaux de contamination détectés sont de l'ordre du $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Une administration prolongée de DON pendant 6 jours à des poules amène à des niveaux de contamination 8 fois supérieurs à une administration unique deux jours après l'arrêt du traitement. La décroissance des résidus est aussi plus lente. La distribution pendant plusieurs mois d'un aliment contaminé à hauteur de 5 mg/kg de DON ne permet pas de détecter la toxine dans les tissus de poulet.

2.2. Les abats

Les résidus de trichothécènes détectables dans le foie et les reins sont présentés dans les tableaux 22 à 25. Les valeurs y sont données en équivalent-toxine, négligeant le métabolisme subit par les différents trichothécènes. Les temps de demi-vie tissulaire ont été déterminés suite à une administration unique de DON chez la poule et le porc.

Les niveaux de contamination observés sont 2 à 10 fois supérieurs dans le foie par rapport aux muscles, et 3 à 20 fois supérieurs dans le rein par rapport aux muscles. Ils restent cependant au plus de l'ordre de quelques centaines de $\mu\text{g}/\text{kg}$ et diminuent rapidement.

Suite à une administration prolongée, les données sont très semblables à celles obtenues pour les muscles avec une accumulation 2-4 fois supérieure en terme de niveau de contamination.

Tableau 23 : Résidus musculaires en équivalent-toxine suite à une administration unique

Toxine	Espèce	Voie	Dose (mg/kg PV)	Résidus (µg/kg)						Références
				6 h	8 h	12 h	24 h	2 j	4 j	
DON	Poule	VO	1.3-1.7	8.46		6.6	4.3	2.1	ND	Prelusky <i>et al.</i> , 1986a
	Porc	IV	1		4.6		ND			Prelusky & Trenholm, 1991
DAS	Porc	IV	0.1		15					Coppock <i>et al.</i> , 1988
			0.5		<10					
			1		19.2					
	Veau	IV	0.5		<10					Coppock <i>et al.</i> , 1988
T-2	Poulet	VO	0.126				17			Chi <i>et al.</i> , 1978a
			0.5				57			
			1.895				220			
	Poulet Canard	VO	5	30		30	<10	<10		Giroir <i>et al.</i> , 1991

ND : non détectable

Tableau 24 : Résidus musculaires en équivalent-toxine suite à une administration prolongée

Toxine	Espèce	Voie	Durée	Dose	Résidus (µg/kg)						Références
					2j	4 j	6 j	8 j	10j	12j	
DON	Poule	VO	6 j	1.3-1.7 mg/kg PV	16	17	10	11	7	3	Prelusky <i>et al.</i> , 1986a
	Poulet	VO	28-190 j	5 mg/kg d'aliment	Non détectable (limite 10 µg/kg)						El-Banna <i>et al.</i> , 1983

Tableau 25 : Résidus hépatiques en équivalent-toxine suite à une administration unique

Toxine	Espèce	Voie	Dose (mg/kg PV)	Résidus (µg/kg)						t _{1/2}	Références
				6 h	8 h	12 h	24 h	2 j	4 j		
DON	Poule	VO	1.3-1.7	74		56	30	13	ND	15.7 h	Prelusky <i>et al.</i> , 1986a
	Porc	IV	1		207		8.2			3.48 h	Prelusky & Trenholm, 1991
DAS	Porc	IV	0.1		ND						Coppock <i>et al.</i> , 1988
			0.5		16						
			1		18						
	Veau	IV	0.5		16						Coppock <i>et al.</i> , 1988
T-2	Poulet	VO	0.126				32				Chi <i>et al.</i> , 1978a
			0.5				102				
			1.895				416				
	Poulet	VO	5	130		30	10	<10			Giroir <i>et al.</i> , 1991
	Canard	VO	5	90		40	<10	<10			

ND : non détectable

Tableau 26 : Résidus hépatiques en équivalent-toxine suite à une administration prolongée

Toxine	Espèce	Voie	Durée	Dose	Résidus (µg/kg)						Références
					2j	4 j	6 j	8 j	10j	12j	
DON	Poule	VO	6 j	1.3-1.7 mg/kg PV	37	41	39	25	15	9	Prelusky <i>et al.</i> , 1986a
	Poulet	VO	28-190 j	5 mg/kg d'aliment	Non détectable (limite 10 ng/g)						El-Banna <i>et al.</i> , 1983

Tableau 27 : Résidus rénaux en équivalent-toxine suite à une administration unique

Toxine	Espèce	Voie	Dose (mg/kg PV)	Résidus (µg/kg)						t _{1/2}	Références
				6 h	8 h	12 h	24 h	2 j	4 j		
DON	Poule	VO	1.3-1.7	165		123	44	19	2	8.2 h	Prelusky <i>et al.</i> , 1986a
	Porc	IV	1		330		10			3.15 h	Prelusky & Trenholm, 1991
DAS	Porc	IV	0.1		15						Coppock <i>et al.</i> , 1988
			0.5		23						
			1		26						Coppock <i>et al.</i> , 1988
	Veau	IV	0.5		<10						
T-2	Poulet	VO	0.126				24				Chi <i>et al.</i> , 1978a
			0.5				53				
			1.895				327				
	Poulet	VO	5	30		20	<10	<10			Giroir <i>et al.</i> , 1991
	Canard										

ND : non détectable

Tableau 28 : Résidus rénaux en équivalent-toxine suite à une administration prolongée

Toxine	Espèce	Voie	Durée	Dose	Résidus (µg/kg)						Références
					2j	4j	6j	8j	10j	12j	
DON	Poule	VO	6 j	1.3-1.7 mg/kg PV	60	51	55	21	15	9	Prelusky <i>et al.</i> , 1986a
	Poulet	VO	28-190 j	5 mg/kg d'aliment	Non détectable (limite 10 ng/g)						El-Banna <i>et al.</i> , 1983

Ainsi, l'absorption orale des trichothécènes est très variable selon les espèces : intense chez les mammifères monogastriques, mauvaise chez les ruminants et médiocre chez les volailles.

Dans toutes les espèces, leur distribution est très rapide et leur volume de distribution est très élevé (de l'ordre de 2 L/kg).

Le métabolisme subit par les trichothécènes sous l'action de la flore digestive, du foie et de l'intestin est très intense, à une exception près : l'absence de métabolisme du DON chez le porc. Ces biotransformations sont dominées par des hydrolyses et des oxydations, ainsi que la désactivation de l'époxyde chez le rat, le porc et les ruminants, mais pas chez le chien, le cheval ou le poulet. Ces voies métaboliques correspondent dans l'ensemble à une détoxicification, puisque les composés oxydés ou mis à bas se révèlent 2 à 10 fois moins toxiques que les composés originaux, et que les composés perdant l'époxyde ne sont quasiment plus toxiques.

L'excrétion des trichothécènes se fait principalement par la voie biliaire, sous forme de glucurononoconjugués. Elle est souvent à l'origine d'un cycle entéro-hépatique.

Les résidus contenus dans les denrées animales et d'origine animale sont à des niveaux très faibles et essentiellement sous forme détoxifiée par rapport aux toxines originelles. De plus, les aliments fortement contaminés sont refusés par les animaux. La commission du Codex Alimentarius précise que les niveaux de recommandation établis dans les aliments pour animaux pour le DON (Tableau 16) ne sont pas nécessaires pour protéger la santé des consommateurs, mais peuvent être utiles pour protéger la santé des animaux. Le risque réel pour l'homme se trouve dans les denrées végétales, où les niveaux de contamination sont plus significatifs (Tableau 14). Les niveaux de recommandation récemment déterminés pour le DON par l'Union Européenne sont de 0.5 mg/kg dans les aliments du commerce et de 0.75 mg/kg dans les farines de céréales utilisées comme matière première. Les Etats-Unis ont adopté une teneur indicative de 1 mg/kg dans les produits finis à base de blé, et la Russie de 1 mg/kg dans les céréales, farines et son de blé. Aucune donnée concernant la toxine T-2 et le DAS n'a pu être trouvée [FAO 2002].

PARTIE 3. PHYSIOPATHOLOGIE ET TOXICOLOGIE EXPERIMENTALE

Les mycotoxicoses provoquées par les trichothécènes ont entraîné de nombreux travaux de recherche en toxicologie expérimentale ayant pour but de mieux cerner les propriétés toxiques de ces molécules. Si quelques pionniers ont débuté ces recherches à la fin des années 60, celles-ci se sont multipliées au début des années 80 et continuent de se poursuivre aujourd’hui.

Cette partie a pour objectif d’aborder la toxicité des trichothécènes du point de vue de la physiopathologie, en s’appuyant sur les données obtenues par la reproduction des mycotoxicoses (Partie 1. Mycotoxicoses) et sur celles de la toxicologie expérimentale.

Dans cet objectif, le premier chapitre de cette partie aborde l’intoxication par les trichothécènes chez les espèces de laboratoire, en soulignant ses spécificités et ses similitudes avec les espèces domestiques. Ce chapitre sera également l’occasion de présenter les DL50 dans toutes les espèces.

Les deux chapitres suivants, consacrés à la carcinogénicité et à la génotoxicité ainsi qu’à la toxicité pour les fonctions de reproduction, l’embryotoxicité et la tératogénicité feront le lien entre études spécifiques et données obtenues lors de reproduction de mycotoxicoses sur ces aspects habituellement étudiés pour toute molécule毒ique.

Les chapitres suivants se consacrent à des mécanismes physiopathologiques majeurs de l’intoxication par les trichothécènes : la toxicité cardio-respiratoire et l’altération des paramètres vasculaires, particulièrement affectés lors d’intoxication aiguë, et les toxicité cutanées, digestives, hématologiques et immunitaires, aspects majeurs des intoxications par les trichothécènes.

Enfin, le dernier chapitre aborde les bases moléculaires de la toxicité des trichothécènes et se consacre aux mécanismes cellulaires de l’action de ces toxines.

Notons que les trichothécènes ne sont ni hépatotoxiques ni néphrotoxiques et n’ont pas de toxicité nerveuse à proprement parler (les symptômes et lésions, décrits dans les parties consacrées aux mycotoxicoses et à la toxicité dans les espèces de laboratoire sont la conséquence d’autres troubles, tels que l’ischémie ou la génotoxicité). Bien qu’un certain nombre d’études soient consacrées à l’action des trichothécènes sur les neurotransmetteurs. Les résultats obtenus sont cependant peu concluants et insuffisants, méritant de plus amples explorations [Fitzpatrick et al., 1988, McDonald et al., 1988, Meloche & Smith, 1995, Wang et al., 1998a, 1998 b, Weekley et al., 1989].

1. INTOXICATION PAR LES TRICHOThECENES CHEZ LES ESPECES DE LABORATOIRE

1.1. Toxicité aiguë

1.1.1. DL50

La comparaison des DL50 des trichothécènes dans les différentes espèces, en fonction des voies d'administration, est résumée dans le Tableau 29. Les valeurs concernant les espèces autres que celles de laboratoire y sont rappelées pour comparaison.

Les espèces les plus sensibles aux trichothécènes sont le rat, le cobaye, le chat et le porc, alors que les volailles et la souris se montrent plus résistantes. La plupart des rongeurs meurent 24-48 h après l'administration de toxine. Suite à l'administration de 75 % de la DL50 chez la souris, la mortalité est faible, et quasi-inexistante pour des doses inférieures, ce qui suggère un profil très pentu de la courbe de létalité [Conner *et al.*, 1986, Creasia *et al.*, 1987, 1990, Forsell *et al.*, 1987, Glavits *et al.*, 1989].

Il est intéressant de noter que les sensibilités relatives de ces espèces aux différents trichothécènes sont équivalentes. La seule exception à cette observation se trouve dans les DL50 déterminées suite à une administration par voie orale, où le rôle de la flore digestive et des capacités d'absorption, en sus des conditions expérimentales, rend toute interprétation délicate.

En dehors de la voie orale, les trichothécènes les plus toxiques sont donc la toxine T-2, le diacétoxyscirpénol (DAS), le nivalénol (NIV) et la déetectable (F-X), qui sont environ 10 fois plus toxiques que le déoxynivalénol (DON).

Comme avec la plupart des xénobiotiques, les animaux nouveaux-nés se montrent beaucoup plus sensibles que les adultes, soulignant l'importance des fonctions hépatiques dans la détoxicification des trichothécènes [Arnold *et al.*, 1986].

Il est intéressant de mettre en relation les données toxicocinétiques avec les DL50 des trichothécènes, puisque à peu de choses près, celles-ci sont, pour chaque toxine, équivalentes dans les différentes espèces. En effet, là où les mammifères monogastriques démontrent des capacités d'absorption supérieures aux volailles, on remarque que la destruction des trichothécènes par la flore digestive des volailles est très supérieure à celle observée chez les mammifères monogastriques. Les ruminants, eux, sont protégés des trichothécènes comme de la plupart des autres xénobiotiques par leur rumen. Ce désavantage par rapport aux volailles,

les mammifères monogastriques le compensent par des capacités de métabolisme hépatique très supérieures. L'exception en est le porc, plus sensible que les autres espèces au DON, ce qui concorde avec l'absence de métabolisme de cette toxine dans cette espèce.

Tableau 29 : DL 50 des trichothécènes

Espèce	Voie	Toxines (mg/kg PV)											
		T-2	HT-2	3'OH-HT-2	T-2 tétraol	NEO	DAS	ST	MAS	NIV	15-ADON	DON	F-X
Cobaye	IV	1.3 (d)											
	IP	1.2 (c)											0.5 (m)
	SC												0.1 (m)
	VO	3.06 (m)											
Lapin	IV						1.0 (m)						
Souris (6 sem.)	IV	4.2 (j)					8 (g)			6.3 (j)			3.4 (j)
	IP	5.2 (j)	9 (m)			14.5 (i)	23 (i)			4.1 (j)	113	49 (e)	3.4 (j)
	SC	1.6 (j)								7.2 (m)			4.2 (j)
	VO	10.5 (j)					15.5 (b)			38.9 (m)	34	78 (e)	4.5 (j)
Souris (NN*)	SC	0.15 (j)					0.17 (j)						0.23 (j)
Rat (6 sem.)	IV	0.74 (d)					1.3 (m)						
	IP	1.5 (c) - 2.18 (a)					0.75 (m)						
	IM	0.47 (a)											
	SC	0.56 (a)					0.725 (m)						
	VO	5.2 (j)					7.3 (m)						4.4 (m)
Chat	SC	0.5 (m)											5.0 (m)
Porc (3-50 kg)	IV	1.21 (l)					0.38 (k)						
Poussin (1 jour)	VO	1.75 (m)	6.25 (m)	8.5 (m)	10 (m)		2.0 (h)	9.3 (h)	2.5 (h)			140 (f)	
Poulet	VO	4 (m)					5 (m)						
Caneton	SC											27 (m)	

* NN : Nouveau-né

D'après Brennecke 1982 (NP) (a), Conner 1986 (DMSO:eau, 9:1) (b), Creasia 1990 (éthanol) (c), Feuerstein 1985 (NP) (d), Forsell 1987 (saline) (e), Huff, 1981 (eau) (f), Lafont 1977 (NP) (g), Richardson, 1990 (acétone:eau, 1:9) (h), Ueno, 1972 (saline) (i), Ueno, 1984 (NP) (j), Weaver, 1978a (éthanol) (k), Weaver, 1978c (éthanol) (l), WHO, 1990 (m)

1.1.2. Symptômes et lésions

Les symptômes et lésions observés chez les rongeurs de laboratoire sont particulièrement uniformes dans le cadre d'une intoxication aiguë. Pour cette raison, la description ci-dessous s'appuie sur une étude réalisée avec du DAS chez la souris, administré par voie orale et intrapéritonéale [Conner *et al.*, 1986].

Les rares symptômes relevés sont une léthargie allant jusqu'à la prostration, une ataxie, des tremblements, une diarrhée et une cyanose [Conner *et al.*, 1986, Creasia *et al.*, 1987, 1990].

Les lésions sont caractéristiques et concordent avec les observations réalisées sur les espèces domestiques : nécrose des organes lymphoïdes primaires et secondaires, ainsi que des épithéliums intestinaux. La nécrose intestinale est fréquemment extensive et perforante. Ces lésions sont indépendantes de la voie d'administration, pour le DON, le 15-acétyldéoxynivalénol (15-ADON), la toxine T-2 et le DAS [Conner *et al.*, 1986, Creasia *et al.*, 1987, 1990, Forsell *et al.*, 1987, Glavits *et al.*, 1989].

Les animaux survivants au-delà de 96 heures présentent des lésions similaires mais moins sévères, sans nécrose perforante du tube digestif [Conner *et al.*, 1986].

D'autres lésions moins constantes sont également signalées chez la souris en plus des symptômes décrits ci-dessus :

- Avec de la F-X, une équipe relève un syndrome hémorragique avec une hémoptysie, une hyperhémie intestinale, pulmonaire et rénale [Matsuoka *et al.*, 1979].
- Suite à l'administration de DAS, on observe une dégénérescence de l'épithélium germinatif des tubules séminifères, avec formation de syncitia. Les autres études, quel que soit le trichothécène utilisé, ne relèvent pas ces lésions, mais ne signalent pas non plus leur absence [Conner *et al.*, 1986].
- Suite à l'administration de doses élevées de 15-ADON et de DON, certains ont noté une nécrose tubulaire des anses de Henlé et des tubules contournés distaux, ainsi que des zones de nécrose myocardiques focales à localement extensives [Forsell *et al.*, 1987].

Chez le lapin, suite à une intoxication aiguë par 2-15 mg/kg PV de toxine T-2 administrée par voie orale – ce qui représente des doses très supérieures à une intoxication spontanée – une équipe rapporte une dégénérescence graisseuse du foie. Cette lésion a également été rapportée par d'autres auteurs, mais semble toujours extrêmement transitoire. Les fonctions

hépatiques sont diminuées chez le rat recevant 1 mg/kg PV de toxine T-2 ou de DAS par voie orale [Galtier *et al.*, 1989, Glavits *et al.*, 1989].

Cette apparente uniformité des symptômes et lésions – nécrose des organes lymphoïdes, de l'épithélium digestif, troubles nerveux en hypo, absence de lésions rénales et hépatiques – masque des lésions moins constantes. Ces variations peuvent résulter de différences dans les protocoles expérimentaux, notamment dans les doses employées, ou de différences entre toxines. Ces dernières peuvent s'expliquer soit par des originalités pharmacodynamiques, peu probables au vu de l'uniformité structurelle des trichothécènes, soit par des différences dans la cinétique de ces toxines. Ces éléments, déjà explorés à travers l'étude toxicocinétique (Partie 2. Toxicocinétique), seront également abordées dans l'étude des bases moléculaires de la toxicité des trichothécènes (9. Bases moléculaires de la toxicité).

1.2. Toxicité subaiguë

Les manifestations de la toxicité subaiguë des trichothécènes chez les rongeurs sont proches de celles observées chez les espèces domestiques, notamment le porc.

1.2.1. Symptômes

Les études disponibles permettent de distinguer deux « paliers » de symptômes liés aux doses utilisées. L'altération du pelage, de la consommation alimentaire et du GMQ sont les premiers signes observés, alors qu'à des doses supérieures des lésions cutanéo-muqueuses et pertes de poids apparaissent. Les symptômes et lésions causés par une intoxication subaiguë sont récapitulés pour la souris et le rat dans le Tableau 30.

Le premier palier de symptômes regroupe des troubles non spécifiques tels que l'altération du pelage avec ou sans diminution du poids, du GMQ et de la consommation alimentaire. La diminution du GMQ intervient avant la baisse de consommation alimentaire, prouvant que les troubles de la croissance ne sont pas dus qu'à la dénutrition. Ces troubles se retrouvent évidemment au palier de dose supérieur.

Le premier palier se situe chez le rat à 1 mg/kg PV pour le DAS et le néosolaniol (NEO) [Janse van Rensburg *et al.*, 1987]. On le retrouve chez la souris avec un aliment contenant 5 mg/kg de 15-ADON ou 2 mg/kg de DON (bien que la diminution de consommation

alimentaire n'apparaisse qu'avec un aliment contaminé à hauteur de 25 mg/kg de DON), ou lors de l'administration d'un aliment contaminé dosé pour garder une contamination de 2 mg/kg PV constante malgré les variations de consommations [Forsell *et al.*, 1986, Khera *et al.*, 1984, Petska *et al.*, 1986].

Deux études mettent par ailleurs en évidence un « effet sexe », divergent entre les rats et les souris :

- la perte de poids intervient avec la consommation d'un aliment contaminé par 0.25-1 mg/kg PV de DON chez la ratte, alors qu'elle ne se retrouve qu'à partir de 1 mg/kg PV chez le mâle [Arnold *et al.*, 1986].

- c'est l'inverse chez la souris où la diminution du GMQ et de la consommation alimentaire interviennent avec un aliment contaminé par des doses de 6-30 mg/kg de NIV chez le mâle, alors qu'il faut au moins 12 mg/kg pour l'observer chez les femelles [Yamamura *et al.*, 1989].

Cet « effet sexe » assez inconstant mais déjà décrit dans d'autres espèces (Partie 1.), ne trouve pour l'instant pas d'explication.

Le deuxième palier de dose regroupe des troubles nerveux en hypo et des lésions cutanéo-muqueuses identiques à celles qui ont été décrites dans les espèces domestiques, apparaissant à partir de 15 jours de traitement chez le rat et la souris. La baisse de consommation alimentaire et du GMQ s'aggravent et peuvent conduire à une émaciation sévère.

Les doses liées à ce palier de symptômes sont atteintes avec un aliment contenant 5-15 mg/kg de toxine T-2 chez le rat, 20 mg/kg chez la souris (pas de données disponibles pour des doses inférieures) [Hayes *et al.*, 1980a, Marasas *et al.*, 1969].

La perte de poids et l'émaciation sévères sont atteintes chez le lapin recevant 2 mg/kg PV de toxine T-2 pendant 10 jours par intubation intragastrique, ou un aliment contaminé à hauteur de 12.5-25 mg/kg de toxine T-2 pendant 8 jours. L'absence de lésions cutanéo-muqueuses n'est pas significative étant donné la courte durée de ces études [Fekete *et al.*, 1989, Glavits *et al.*, 1989].

Tableau 30 : Tableau récapitulatif des symptômes et lésions de l'intoxication subaiguë par les trichothécènes chez les rongeurs

		Dose et durée*	Symptômes & Lésions	Références
Souris	T-2	20 mg/kg 6 sem.	<ul style="list-style-type: none"> - Léthargie - Diminution de consommation alimentaire et baisse du GMQ - Dermatite péri-orale de la 2^{ème} à la 4^{ème} semaine - Augmentation du poids relatif et absolu du foie et de l'estomac ; ulcération et hyperplasie de la muqueuse oesophagienne de l'estomac - Atrophie et nécrose des organes lymphoïdes - Anémie normochrome et normocytaire, diminution du VGM, pas de leucopénie mais lymphopénie, éosinopénie et neutrophilie 	Hayes <i>et al.</i> , 1980a
		6.25 mg/kg 18 sem.	Diminution de consommation alimentaire et baisse du GMQ Aucune lésion	
	DON	0.75-7.5 mg/kg PV Gavage 5 sem.	Diminution de consommation alimentaire et baisse du GMQ Tremblements, ataxie Les lésions (atrophie et nécrose des organes lymphoïdes) n'apparaissent qu'à la dose de 7.5 mg/kg PV	Arnold <i>et al.</i> , 1986a, 1986b
		0.5-25 mg/kg 8 sem.	Aucune lésion	Forsell <i>et al.</i> , 1986
	3-ADON	2.5-20 mg/kg 7 sem.	Baisse de consommation alimentaire Perte de poids dose-dépendante L'apathie n'apparaît qu'à la dose de 20 mg/kg Aucune lésion RAS au niveau hématologique	Kasali <i>et al.</i> , 1985
		0.5-2 mg/kg 8 sem.	RAS	
	15-ADON	5 mg/kg 8 sem.	Diminution de consommation alimentaire et baisse du GMQ Diminution du poids relatif du foie, sinon aucune lésion	Petska <i>et al.</i> , 1986
		6-30 mg/kg 12 sem.	Baisse de consommation alimentaire Baisse du GMQ dose-dépendante Aucune lésion	Yamamura <i>et al.</i> , 1989
Rat	T-2	5-15 mg/kg 3 sem.	Diminution de consommation alimentaire et baisse du GMQ Dermatite péri-buccale	Marasas 1969
		1 mg/kg PV 3 fois par sem. Gavage 5 sem.	Pas de modification du comportement alimentaire et du GMQ Nécrose modérée de la muqueuse digestive et des organes lymphoïdes de la 2 ^{ème} à la 4 ^{ème} semaine	Janse van Rensburg 1987
	DAS ; NEO	0.25-1 mg/kg PV Gavage 9 sem.	Diminution de consommation alimentaire et baisse du GMQ Aucune lésion	Arnold 1986a
		6.25 mg/kg 18 sem.	Diminution de consommation alimentaire et baisse du GMQ Aucune lésion	Arnold 1986b

* sauf précision contraire les doses sont indiquées pour un niveau de contamination de l'aliment.

1.2.2. Lésions

- Manifestations générales

Chez la souris, la consommation d'un aliment contaminé à hauteur de 20 mg/kg de toxine T-2 pendant 6 semaines entraîne une augmentation du poids relatif de l'estomac, qui s'explique par une hyperplasie de la muqueuse oesophagienne dès deux semaines de traitement, avec parfois des ulcères de petite taille.

Une gastrite est observée chez le lapin recevant par voie orale 2 mg/kg PV de toxine T-2 pendant 10 jours ou un aliment contaminé à hauteur de 12.5-25 mg/kg de toxine T-2 pendant 8 jours. L'évolution des lésions dans ces courtes expérimentations correspond à celle décrite chez la souris, permettant de supposer que l'hyperplasie serait survenue ultérieurement [Fekete *et al.*, 1989, Glavits *et al.*, 1989, Hayes *et al.*, 1980a].

- Tissus lymphoïdes et hématopoïétiques

Chez la souris, la consommation d'un aliment contaminé à hauteur de 20 mg/kg de toxine T-2 pendant 6 semaines entraîne une atrophie rapide du thymus et des plaques de Peyer. La pulpe blanche de la rate devient macroscopiquement invisible après 3 semaines de traitement, la pulpe rouge s'atrophie rapidement et devient pâle dès le 7^{ème} jour. Tous ces tissus lymphoïdes sont hypocellulaires, voire acellulaires dès la fin de la première semaine de traitement [Fekete *et al.*, 1989, Hayes *et al.*, 1980a].

Une splénomégalie est cependant observée dès la quatrième semaine, avec une pulpe rouge d'apparence macroscopique normale mais composée d'une population cellulaire indifférenciée et de foyers de myélopoïèse neutrophile, avec quelques cellules souches mégacaryocytaires. Dans les semaines suivantes des cellules érythropoïétiques apparaissent en grand nombre, mais avec des images anormales. La moelle osseuse devient progressivement pâle, avec des images d'érythropoïèse anormales, puis régénère à partir de la troisième semaine en présentant une évolution semblable à celle de la pulpe rouge splénique. Ces évolutions suggèrent une sensibilité supérieure de l'érythropoïèse à la toxine T-2 par rapport à la myélopoïèse et à la thrombopoïèse [Hayes *et al.*, 1980a].

- Foie

Le mécanisme par lequel la souris, recevant un aliment contaminé à hauteur de 20 mg/kg de toxine T-2 pendant 6 semaines, parvient à surmonter les effets inhibiteurs de la toxine sur l'hématopoïèse est inconnu, mais pourrait s'expliquer par une capacité accrue du foie à métaboliser la toxine. Cette hypothèse concorde avec l'hépatomégalie progressive observée chez la souris consommant un aliment contenant 5-25 mg/kg de DON [Forsell *et al.*, 1986, Hayes *et al.*, 1980a].

Une étude signale cependant une diminution du poids relatif du foie chez des rats recevant un aliment contaminé par 5 mg/kg de 15-ADON pendant 8 semaines, une dose très inférieure à celle utilisée dans l'étude précédente [Petska *et al.*, 1986].

Les fonctions hépatiques sont cependant diminuées chez le rat recevant pendant 1-8 jours 1 mg/kg PV de toxine T-2 ou de DAS et chez le lapin recevant pendant 5 jours 0.25 mg/kg PV de toxine T-2 [Galtier *et al.*, 1989, Guerre *et al.*, 2000].

1.2.3. Hématologie et biochimie

Chez la souris consommant un aliment contenant 0.5-25 mg/kg de DON, on rapporte une lymphopénie avec éosinopénie et neutrophilie. La consommation d'un aliment contaminé à hauteur de 20 mg/kg de toxine T-2 pendant 6 semaines provoque, en plus de la lymphopénie, une anémie normochrome et normocytaire non régénérative. Ces données correspondent à l'évolution constatée ci-dessus pour les tissus hémolymphopoïétiques [Forsell *et al.*, 1986, Hayes *et al.*, 1980a].

Chez le rat recevant trois fois par semaine 1 mg/kg PV de DAS ou de NEO pendant 5 semaines, on n'observe qu'une anémie, sans altération de la formule leucocytaire [Janse van Rensburg *et al.*, 1987].

Deux études se consacrent à l'évolution des paramètres biochimiques. On note une augmentation nette et dose dépendante des PAL chez des souris recevant un aliment contaminé à hauteur de 6-30 mg/kg de NIV et chez des rats recevant 1 mg/kg PV de toxine T-2 ou de DAS par voie orale pendant 1-8 jours [Galtier *et al.*, 1989, Yamamura *et al.*, 1989].

1.2.4. Conclusion

Les études consacrées à la toxicité subaiguë des trichothécènes chez les espèces de laboratoire confirment les observations réalisées chez les espèces domestiques : diminution des performances zootechniques, lésions digestives, lymphoïdes et hématopoïétiques. Les lésions cutanéo-muqueuses ne sont signalées qu'avec l'emploi de fortes doses de toxine T-2, et d'une manière générale, on n'observe pas de lésions suite à l'administration continue de DON, de 15-ADON, de 3-ADON et de NIV à moins d'utiliser de fortes doses par gavage.

Les symptômes, lésions et manifestations générales de l'intoxication subaiguë par les trichothécènes se révèlent donc équivalents. Comme lors d'intoxication aiguë, les trichothécènes les plus toxiques sont la toxine T-2 et le DAS (ainsi que le néosolaniol), les trichothécènes du groupe B étudiés nécessitant des doses bien plus élevées pour produire des effets équivalents.

1.3. Toxicité chronique

Les études concernant la toxicité chronique des trichothécènes sont rares et souvent anciennes. Les symptômes et lésions observés reprennent les observations de toxicité subaiguë.

- Effet sur la croissance et la consommation alimentaire

Chez le rat, suite à l'administration pendant 2 ans d'un aliment contaminé par de la F-X, on note un ralentissement de la croissance et un poids final inférieur aux contrôles dès la dose de 3.5 mg/kg d'aliment [Saito *et al.*, 1980].

Chez la souris, l'administration d'un aliment contaminé par le NIV pendant 2 ans entraîne une diminution du GMQ, de la consommation alimentaire et une augmentation de l'indice de conversion alimentaire (IC) dès la dose de 6 mg/kg d'aliment. Le poids final atteint par les souris n'est inférieur aux contrôles pour que pour la dose de 30 mg/kg. Cet effet ne se retrouve pas avec l'administration d'un aliment contaminé à hauteur de 1.5-3 mg/kg de toxine T-2 pendant 16 mois [Ohtsubo *et al.*, 1989, Schiefer *et al.*, 1987].

- Autres lésions

Chez les souris recevant un aliment contaminé par 1.5-3 mg/kg de toxine T-2, on note une hyperkératose gastrique équivalente à celle observée dans des études moins longues, et une

augmentation du poids du cœur compatible avec une hypertension chronique. Ces lésions ne sont pas signalées dans l'étude consacrée au NIV [Ohtsubo *et al.*, 1989, Schiefer *et al.*, 1987].

Suite à l'administration intragastrique de toxine T-2 tous les trois mois pendant un an (1-3 mg/kg PV), on observe, 5 mois après la fin du traitement, une augmentation de la pression artérielle chez 2/3 des rats traités. L'examen histologique des parois artérielles révèle un épaissement de l'intima, occluant partiellement la lumière, ainsi qu'une fibrose périvasculaire. Chez certains rats, une hyperplasie des glandes parathyroïdes entraîne une calcification des parois artérielles [Wilson *et al.*, 1982].

- Mortalité et immunomodulation

L'intoxication chronique par les trichothécènes semble provoquer une altération des fonctions du système immunitaire qui peut expliquer à elle seule la mortalité :

- Chez le rat, suite à l'administration pendant 2 ans d'un aliment contaminé à hauteur de 3.5-7 mg/kg de F-X, la durée de vie est réduite proportionnellement à la dose reçue. Les causes de mortalité suggèrent une immunodépression. La cause de mortalité principale est une insuffisance pulmonaire aiguë sur fond de bronchopneumonie chronique. Des pyélonéphrites et otites moyennes accompagnées de méningites sont également détectées, mais seulement à la fin de l'expérimentation. Ces bronchopneumonies chroniques s'accompagnent d'une atrophie des organes hématopoïétiques. Il est cependant impossible de déterminer si cette atrophie est due à l'action directe de la F-X ou si elle est la conséquence d'un épuisement dû à l'infection chronique [Saito *et al.*, 1980].

- Chez la souris, la consommation d'un aliment contaminé par 6-30 mg/kg de NIV entraîne une augmentation de la mortalité attribuable à une amyloïdose, surtout de l'intestin grêle, dérèglement suggérant une production accrue d'immunoglobulines. Lors de la consommation d'un aliment contenant 1.5-3 mg/kg de toxine T-2, l'amyloïdose n'est pas abordée et les causes de mortalité ne sont pas clairement décrites. L'auteur note par contre que la réponse immunitaire – en terme d'anticorps – n'est pas altérée chez les mâles, et qu'elle est même stimulée chez les femelles. Dans ces études, la durée de vie est, paradoxalement, inversement proportionnelle aux doses de NIV et de toxine T-2 reçues. Par ailleurs, la durée de vie est augmentée dans les groupes recevant la toxine T-2 [Ohtsubo *et al.*, 1989, Schiefer *et al.*, 1987].

En conclusion, les effets chroniques des trichothécènes sont difficiles à définir étant donné le faible nombre d'études disponibles. On note chez le rat une immunodépression favorisant des infections opportunistes, alors que les souris voient leur durée de vie prolongée par les toxines, avec une réponse immunitaire peu ou pas altérée. Ces observations divergentes méritent des investigations plus poussées.

2. **CARCINOGENICITE ET GENOTOXICITE**

L'observation de lésions prolifératives, notamment des muqueuses oesophagiennes, lors d'intoxication subaiguë à chronique (Partie 1. Mycotoxicoses et Partie 3. 1.2.2. Lésions) ainsi que l'analyse épidémiologique de certains cancers (de la gorge notamment) dans des régions réputées pour leurs taux élevés de trichothécènes a justifié l'étude de leur carcinogénicité [IARC, 1993a, 1993b].

La présentation des études de carcinogénicité par voie orale puis cutanée sera suivie des tests de génotoxicité réalisés en routine lors de l'étude de molécules potentiellement cancérogènes.

2.1. **Carcinogénicité**

La carcinogénicité de la toxine T-2, du DON, du NIV et de la F-X a fait l'objet d'évaluation par le IARC [IARC, 1993a, 1993b].

2.1.1. **Etudes par voie orale**

Les études de toxicité chronique s'accordent pour la plupart à dénier un rôle carcinogène aux trichothécènes : les auteurs notent une incidence des tumeurs équivalente entre les groupes traités et les contrôles. Des types tumoraux plus rares sont parfois détectés, mais l'absence de relation dose/incidence, ainsi que leur faible nombre, ne permettent pas de conclure que ces tumeurs aient été induites par les trichothécènes.

Ces observations ont été réalisées avec les protocoles suivants :

- chez la souris femelle recevant un aliment contaminé par 6-30 mg/kg de NIV pendant deux ans [Ohtsubo *et al.*, 1989].

- chez le rat mâle recevant pendant un à deux ans un aliment contenant 3.5-7 mg/kg de F-X. A la dose de 7 mg/kg le taux de mortalité suite à des bronchopneumonies est tellement élevé qu'il est difficile de tirer des conclusions concernant les cancers [Saito *et al.*, 1980].

Chez le rat, l'administration d'un aliment contenant 10 mg/kg de DAS pendant 10 semaines induit un épaississement non-tumoral de la couche cellulaire basale de la muqueuse oesophagienne. L'administration simultanée dans l'aliment de 7-10 mg/kg de DAS et de 4-16 mg/kg méthyl-benzyl-nitrosamine (NMBzA) pendant 10-16 semaines n'entraîne aucune potentialisation de cet agent oncogène reconnu. On observerait plutôt une diminution de l'incidence des cancers oesophagiens, un effet attribuable à la cytotoxicité des trichothécènes [Craddock *et al.*, 1986].

Une étude attribue cependant un rôle cancérigène à la toxine T-2. Chez la souris CD-1, l'administration d'un aliment contenant 3 mg/kg de toxine T-2 pendant 16 mois permet de relever une incidence supérieure des adénomes pulmonaires et hépatiques par rapport au groupe de contrôle et à celui recevant un aliment contenant 1.5 mg/kg de toxine T-2 [Schiefer *et al.*, 1987].

2.1.2. Tests de carcinogénicité cutanée

Trois études réalisées chez la souris s'intéressent aux potentiels initiateurs et promoteurs des trichothécènes. Les protocoles utilisés sont résumés dans le Tableau 31.

Ces trois études s'accordent sur l'absence de potentiel promoteur ou initiateur de la toxine T-2, de la F-X et du DON. Cependant, encore une fois, le faible nombre d'études ne permet pas de confirmer ou d'infirmer le potentiel cancérigène des trichothécènes.

Tableau 31 : Protocole des tests de carcinogénicité cutanée des trichothécènes

Toxine	Protocole	Références
Initiation		
T-2	5-25 µg ; une à deux fois par semaine ; 10 semaines ; avec ou sans huile de croton	Marasas <i>et al.</i> , 1969
DON	200 µg une fois suivi ou non de 5 µg de PMA	Lambert <i>et al.</i> , 1995
F-X	2-20 µg ; deux fois par semaine ; 25 semaines	Ueno <i>et al.</i> , 1984
Promotion		
T-2	25 µg de DMBA puis 10 µg de toxine T-2 deux semaines après, puis une fois par semaine ; 10 semaines	Marasas <i>et al.</i> , 1969
DON	4 µg de DMBA puis 50 µg de DON deux fois par semaine ; 25 semaines	Lambert <i>et al.</i> , 1995
F-X	50 µg de DMBA puis 0.4-20 µg de F-X deux fois par semaine ; 25 semaines	Ueno <i>et al.</i> , 1984

PMA : phorbol 12-myristate 13-acétate, agent promoteur

DMBA : 7,8-diméthylbenz(α)anthracène, agent initiateur

2.2. Génotoxicité et mutagénicité

- Tests de mutagénicité

Le DON, en présence ou non d'agents de bioactivation hépatiques (fraction S9), se révèle dénué d'activité mutagène sur test de Ames et sur SOS chromotest. Il n'induit pas non plus de dommages réparables de l'ADN sur *E. coli* K12 capables ou non de réparer leur ADN (gène *rec*) [Knasmüller *et al.*, 1997].

Le DON, en présence ou non d'hépatocytes, se révèle également non mutagène pour le gène de l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transférase (HGPRT), dans les cellules pulmonaires V79 de hamster chinois, testé par la résistance à la 6-thioguanine [Rogers *et al.*, 1983].

La toxine T-2 et la F-X se révèlent également non mutagènes sur une souche de *Bacillus subtilis* dénuée de système de réparation de l'ADN (gène *rec*), pourtant bien plus sensible qu'une souche sauvage aux agents génotoxiques [Ueno & Kubota, 1976].

- Synthèses d'ADN non-programmées (UDS)

Les UDS ont été étudiées avec des fibroblastes humains et des hépatocytes de rat en présence de toxine T-2, HT-2, de T-2 tétraol et de DON (Tableau 32).

Tableau 32 : Effet des trichothécènes sur les synthèses d'ADN non programmées (UDS)

	S9	Dose	Type cellulaire	UDS	Référence
T-2	-	5-500 ng/mL	Fibroblastes humains	+	Oldham <i>et al.</i> , 1980
		6-20000 ng/mL	Fibroblastes humains	0	Agrelo & Schoental, 1980
T-2 tétraol	-	0.1-10 µg/mL	Fibroblastes humains	+	Oldham <i>et al.</i> , 1980
HT-2	-	100 µg/mL	Fibroblastes humains	0	Agrelo & Schoental, 1980
	+	100 µg/mL	Fibroblastes humains	+	
DON	/	0.1-1000 µg/mL	Hépatocytes de rat	0	Bradlaw <i>et al.</i> , 1985

Les résultats divergents concernant les UDS induits par la toxine T-2 ne semblent pas explicables étant donné la similitude des protocoles expérimentaux.

Par ailleurs la toxine HT-2 qui, comme indiqué ci-dessus, n'entraîne pas de lésion de l'ADN détectable grâce aux UDS, augmente les réparations de l'ADN en présence de la fraction S9 de microsomes hépatiques de rat. Ces résultats suggèrent une bioactivation peu cohérente avec les données de la toxicocinétique (Partie 2.) [Agrelo & Schoental, 1980].

- Fragmentation de l'ADN et anomalies chromatiniennes

4 heures après l'administration orale de 2.8 mg/kg PV de toxine T-2 chez la souris, la fragmentation de l'ADN est augmentée de 71 % dans les cellules hépatiques. Ces dégâts pourraient être la conséquence d'un stress oxydatif déclenché par la toxine (9.5. Peroxydation lipidique). Cette hypothèse est confortée par la réduction de la fragmentation de l'ADN lors de traitement préalable des souris par du coenzyme Q10 et/ou de la vitamine E [Atroshi *et al.*, 1997].

A fortes doses la F-X serait capable d'entraîner de rares cassures de l'ADN simple brin mais pas de l'ADN double brin sur des cellules HeLa [Umeda *et al.*, 1972].

Le DON augmente légèrement la fréquence des micronuclei, et nettement, avec un effet dose-dépendant, la fréquence d'apparition d'aberrations chromosomiques dans des hépatocytes de rat. On observe également des anomalies chromatiniennes, telles que résistance à l'hydrolyse acide – soit une incapacité à se décompactier – distribution irrégulière, marginalisation, jusqu'à la caryorrhèse, dans des neurones de rat 8 heures après l'injection IP de 0.45-6 mg/kg de toxine T-2. Ces anomalies de la chromatine (distribution irrégulière, marginalisation) se retrouvent également en présence de toxine T-2 et de T-2 tétraol dans une

culture de fibroblastes humains [Ballough *et al.*, 1989, Knasmüller *et al.*, 1997, Martin *et al.*, 1986, Oldham *et al.*, 1980].

Par contre, la fréquence d'échange de chromatides sœurs (marqueur de lésions de l'ADN) dans des lymphocytes humains n'est pas augmentée avec 1.5-12 ng/mL de toxine T-2 ou de DAS, en présence ou non d'hépatocytes de rat [Cooray, 1984].

2.3. Conclusion

Les résultats des études de carcinogénicité, ainsi que leur faible nombre rendent difficile toute conclusion quand au rôle cancérigène des trichothécènes. On peut cependant noter l'absence de carcinogénicité cutanée de la toxine T-2 et de la F-X, et la tendance à dénier un rôle cancérigène aux trichothécènes du groupe B dans les études de toxicité chronique. Les trichothécènes n'entraînent pas d'augmentation de la fréquence des mutations chez les bactéries ou dans des cultures cellulaires. Les dommages infligés à l'ADN sont variables selon les toxines : nuls pour le DON et la F-X, mais présents pour la toxine T-2. Ils possèdent par contre un effet clastogénique puissant. Le IARC conclue sur un manque d'études de qualité concernant la carcinogénicité du nivalénol, du déoxynivalénol et de la fusarénone-X, et souligne l'insuffisance des preuves quant à celle de la toxine T-2 [IARC, 1993a, 1993b].

3. FONCTIONS DE REPRODUCTION, EMBRYOTOXICITE ET TERATOGENICITE

En dehors de quelques études dont les échantillons d'aliment étaient manifestement contaminés par de la zéaralénone, la reproduction expérimentale des mycotoxicoses provoquées par les trichothécènes met rarement en avant des troubles de la fonction de reproduction ou des lésions de l'appareil génital. Nous aborderons successivement dans ce chapitre la toxicité des trichothécènes pour les gonades, les altérations des indices de fertilité et de fécondité puis l'embryotoxicité et la tératogénicité.

3.1. Action sur les gonades

3.1.1. Ovaires

Chez la brebis soumise à un régime inducteur d'acidose recevant 0.3-0.9 µg/kg PV de toxine T-2 pendant 21 jours, comme chez la brebis recevant un régime normalement équilibré mais contenant 0.9 µg/kg de toxine T-2, on observe une diminution du pic de progestérone au milieu de la phase lutéale, une diminution de durée de vie du corps jaune et une prolongation de la phase folliculaire.

Chez la génisse, la consommation de 25 µg/kg PV de toxine T-2 dans l'aliment pendant 20 jours retarde l'ovulation de deux jours. Le nombre de follicules antraux et la taille du follicule dominant ne sont par contre pas altérés.

Dans les deux cas, la toxine T-2 entraîne donc un retard d'évolution du follicule qui pourrait faire échouer une insémination [Huszenicza *et al.*, 2000].

Chez la lapine, la consommation d'un aliment contaminé à hauteur de 0.189 mg/kg de toxine T-2 pendant 32 jours n'induit aucune altération morphologique des ovaires et de leurs organites. Cependant, après stimulation de l'ovulation à la GnRH (simulant une saillie naturelle), seules 2 lapines sur 5 (contre 5 sur 5 pour les contrôles) répondent avec le développement d'un corps jaune de pseudogestation et une augmentation de progestéronémie. Ceci indique soit un pic de LH insuffisant – et donc une mauvaise réponse de l'hypophyse à la GnRH – soit une incapacité de l'ovaire à répondre à ce pic de LH [Fekete & Huszenicza, 1993].

Chez la souris consommant un aliment contaminé par 20 mg/kg de DON pendant 15 jours on ne détecte aucune altération macro- ou microscopique des ovaires [Morrissey & Vesonder, 1985].

3.1.2. Testicules

Chez la souris, l'injection IP de 1-15 mg/kg PV de DAS entraîne des défauts chromatiniens des spermatogonies, puis l'apparition de sincytia. Une déplétion progressive de l'épithélium germinatif et des spermatides matures se met en place sous une à deux semaines [Conner *et al.*, 1986].

Les protocoles suivants n'entraînent aucune altération testiculaire macro- ou microscopique :

- chez le rat, administration pendant 6 semaines de 0.25-1 mg/kg PV de DON dans l'aliment [Khera *et al.*, 1984].
- chez le rat, administration pendant 60 jours d'un aliment contaminé à hauteur de 20 mg/kg de DON [Morrissey & Vesonder, 1985].
- chez la souris, administration pendant 11 semaines de 0.375-2 mg/kg PV de DON dans l'aliment [Khera *et al.*, 1984].
- chez la souris, l'administration d'un aliment contaminé à hauteur de 10 mg/kg de DON pendant 90 jours [Sprando *et al.*, 1999].

Le DON aurait par contre avec ce dernier protocole un effet significatif en diminuant les poids net et relatif de la queue de l'épididyme, dont la fonction est essentiellement le stockage et la maturation des spermatozoïdes [Sprando *et al.*, 1999].

Chez le coq, la consommation d'un aliment contenant 5-20 mg/kg de DAS entraîne la formation de kystes à la surface des testicules. Ces kystes semblent liés à l'apparition d'une baisse de fertilité des mâles notée à partir d'un niveau de contamination de l'aliment de 10 mg/kg de DAS [Brake *et al.*, 1999].

3.2. Altération de la fertilité et de la fécondité, embryotoxicité

3.2.1. Altération des indices de fertilité et fécondité

- **Chez les mammifères**

Chez la souris, la consommation d'un aliment contenant 2 mg/kg PV de DON pendant 11 semaines avant la mise à la reproduction et pendant les 4 semaines suivantes entraîne une diminution de la fertilité, du nombre de fœtus vivants et une augmentation des résorptions embryonnaires. A la même dose, la consommation de cet aliment pendant seulement 4 semaines avant la mise à la reproduction n'a pas de conséquence (Tableau 33) [Khera *et al.*, 1984].

Chez la ratte, l'administration dès 2 semaines avant la mise à la reproduction d'un aliment contenant 20 mg/kg de DON provoque une baisse marquée de la fertilité – 50 % de femelles

gestantes contre 80 % pour les contrôles. Aucune anomalie dans le taux de survie à 4 jours ou dans la taille et le poids de la portée n'est détectée [Morrissey & Vesonder, 1985].

A des doses inférieures, on ne note aucune altération de la fertilité et de la fécondité (Tableau 33).

Tableau 33 : Protocoles n'induisant pas d'altération de la fertilité et de la fécondité chez les mammifères

		Protocole	Référence
Souris	DON	0.375-2 mg/kg PV, dès 4 semaines avant la mise à la reproduction et pendant 15 semaines	Khera <i>et al.</i> , 1984
Ratte	DON	0.375-1.5 dès 11 semaines avant la mise à la reproduction et pendant 15 semaines	Khera <i>et al.</i> , 1984
Jument	T-2	7 mg <i>in toto</i> , soit 1 mg/kg d'aliment	Juhasz <i>et al.</i> , 1997

- Chez les volailles

La consommation d'un aliment contaminé à hauteur de 1-10 mg/kg de toxine T-2 ou 2 mg/kg de DAS entraîne une chute de ponte proportionnelle à la dose de toxine, avec des œufs plus fragiles que la normale [Chi *et al.*, 1977a, Diaz *et al.*, 1994, Tobias *et al.*, 1991].

Chez les poules de reproduction, une chute de ponte n'est observée qu'après l'administration pendant 3 semaines d'un aliment contenant 20 mg/kg de DAS. Cette résistance relative pourrait s'expliquer par les réserves énergétiques plus importantes chez les reproducteurs que chez les poules pondeuses d'œufs de consommation, la chute de ponte chez ces dernières étant visiblement liée à la diminution de consommation alimentaire [Brake *et al.*, 2002].

A des doses inférieures (1.25-10 mg/kg de DAS dans l'aliment) on constate par contre une amélioration de la fertilité et de l'éclosabilité. Les auteurs suggèrent une amélioration du stockage des spermatozoïdes dans l'oviducte. Signalons par ailleurs que si la fertilité des mâles n'est pas affectée par la consommation d'un aliment contenant 5 mg/kg de DAS, elle l'est nettement pour des niveaux de contamination de 10-20 mg/kg. Ces observations s'accompagnent de lésions kystiques du testicule [Brake *et al.*, 1999].

Chez l'oie, l'administration de toxine T-2 par intubation endogastrique entraîne une diminution de l'éclosabilité dès la dose 0.1 mg/kg PV, et une chute de ponte dès la dose de 0.2 mg/kg PV. Avec une dose de 0.3 mg/kg de PV, la chute de ponte atteint déjà 50 % [Vanyi *et al.*, 1994].

Les poules pondeuses ne sont pas affectées par un aliment contenant 0.05-5 mg/kg de DON [Bergsjø *et al.*, 1992, Hamilton *et al.*, 1985, Trenholm *et al.*, 1984].

3.2.2. Embryotoxicité

L'administration de trichothécènes avant et/ou pendant la gestation et la lactation provoque tout d'abord une diminution du poids moyen et de la taille des jeunes, puis l'apparition de jeunes mort-nés, momifiés, ainsi que des résorptions embryonnaires voire des avortements (Tableau 34). Les jeunes nés de mères ayant subi un tel traitement sont souvent chétifs et faibles.

Cet effet semble lié à une maternotoxicité : si la mère ne subit aucun effet négatif, les fœtus sont également épargnés, chez les mammifères comme chez les volailles. Ces observations concordent avec les priorités métaboliques classiquement constatées : la fonction de reproduction est la première à pâtir d'un problème affectant la mère.

Tableau 34 : Embryotoxicité des trichothécènes

		Dose ; Voie	Moment de l'administration	Sans effet	≤ poids moyen	≤ taille de portée	≤ taux de survie post-natale	≤ implantation	Résorptions embryonnaires	Avortements	Référence
Souris	T-2	0.75 mg/kg PV ; IG	11 ^{ème} jour de gestation	✓							Blakley <i>et al.</i> , 1987
		1.5 mg/kg PV ; IG	11 ^{ème} jour de gestation			✓			✓ (a)		
	DON	0.375-0.75 mg/kg PV ; VO	Dès 4-11 semaines avant la gestation et pendant toute la durée de la gestation et de la lactation	✓							Khera <i>et al.</i> , 1984
		1.5-2 mg/kg PV ; VO	Dès 4-11 semaines avant la gestation et pendant 15 semaines (b)		✓	✓	✓		✓		Khera <i>et al.</i> , 1984
	F-X	0.63-2.6 mg/kg PV ; SC	Une ou plusieurs injections entre les 6 ^{ème} et 14 ^{ème} jours de gestation (c)		✓	✓			✓	✓	Ito <i>et al.</i> , 1980
		5-20 mg/kg d'aliment	Gestation (d)		✓	✓		✓	✓	✓	Ito <i>et al.</i> , 1980
Lapine	DON	0.3-0.6 mg/kg PV ; VO	Gestation	✓							Khera <i>et al.</i> , 1986
		1-1.6 mg/kg PV ; VO	Gestation		✓						Khera <i>et al.</i> , 1986
		1.8-2 mg/kg PV ; VO	Gestation		✓	✓			✓		Khera <i>et al.</i> , 1986
Ratte	DON	0.25-1 mg/kg PV ; VO	Dès 6 semaines avant la mise à la reproduction et pendant toute la durée de la gestation	✓							Khera <i>et al.</i> , 1984
		0.5-5 mg/kg d'aliment	Gestation	✓							Morrissey 1984
		20 mg/kg d'aliment	Dès 2 semaines avant la gestation et pendant toute la durée de la gestation et de la lactation	✓							Morrissey & Vesonder 1985
Truie	T-2	6-24 mg/kg d'aliment	Dernier tiers de la gestation (e)	✓							Vanyi 1991 Weaver 1978b

- (a) Cette étude note une sensibilité très supérieure des fœtus femelles par rapport au fœtus mâles – en terme de résorption embryonnaire – lors d'une administration unique de 1.5 mg/kg PV de toxine T-2 par voie intragastrique au onzième jour de gestation [Blakley *et al.*, 1987]. La majorité des auteurs s'accorde cependant à ne trouver aucune altération de la répartition entre fœtus mâles et femelles suite à l'administration de DON aux mères [Khera *et al.*, 1984, 1986, Morrissey, 1984, Morrissey & Vesonder, 1985].
- (b) Effet durée-dépendant à la dose de 2 mg/kg PV de DON.
- (c) L'effet est dose-dépendant dans sa fréquence comme dans sa période de latence – entre l'injection et l'avortement. Des injections quotidiennes entre les 8^{ème} et 14^{ème} jours se révèlent également plus toxiques.
- (d) L'effet est dose-dépendant.
- (e) Chez la truie, l'administration pendant le dernier mois de la gestation d'un aliment contenant 24 mg/kg de toxine T-2 n'entraîne aucune conséquence sur les porcelets à la mise-bas, mais ceux-ci meurent rapidement de symptômes équivalents à ceux d'une intoxication par les trichothécènes. De la toxine T-2 est détectée dans lait de la truie [Vanyi *et al.*, 1991].

3.3. Tératogénicité

Aucun effet tératogène n'a été détecté avec les protocoles suivants :

- Chez la souris, administration de 0.63-4.1 mg/kg PV de F-X en SC une à six fois, consommation d'un aliment contenant 5-20 mg/kg de F-X pendant toute ou partie de la gestation [Ito *et al.*, 1980].
- Chez la lapine et la souris, consommation d'un aliment contenant du DON aux doses de 0.3-2 mg/kg PV pendant toute la gestation [Khera *et al.*, 1984, 1986].
- Chez la ratte, consommation d'un aliment contenant 0.038-1 mg/kg PV de DON pendant toute la gestation [Khera *et al.*, 1984, Morrissey, 1984].
- Chez la truie, consommation d'un aliment contenant 12 mg/kg de toxine T-2 [Weaver *et al.*, 1978b].

On peut en conclure que le DON et la F-X ne sont pas tératogènes aux doses généralement retrouvées dans les céréales. Les données concernant les autres trichothécènes sont insuffisantes.

3.4. Conclusion

Bien que des troubles de cyclicité aient été détectés avec des doses proches des niveaux de contamination spontanés des aliments par la toxine T-2 les trichothécènes ne semblent pas induire de lésion de l'appareil reproducteur femelle. De même, des doses très élevées sont nécessaires pour provoquer des lésions des testicules ou nuire à la fertilité des mâles.

Les poules pondeuses et les oies se révèlent sensibles à des niveaux de contamination spontanés – bien qu'élevés – de toxine T-2 et de DAS, alors que les poules de reproduction sont beaucoup plus résistantes.

Une embryotoxicité n'est observée chez la souris, la ratte, la lapine et la truie qu'à des doses responsables d'une toxicité maternelle. De même, aucune preuve de la tératogénicité des trichothécènes n'a été apportée.

4. **TOXICITE CARDIO-RESPIRATOIRE ET ALTERATION DES PARAMETRES VASCULAIRES**

L'observation d'un syndrome de choc lors d'intoxication aiguë par les trichothécènes a entraîné un certain nombre d'études visant à préciser son déroulement et ses mécanismes.

4.1. **Déroulement du choc induit par les trichothécènes**

Le déroulement du choc a été étudié sur diverses espèces de laboratoire, sur animal vigile et anesthésié.

- **Animaux vigiles**

Les effets d'une injection IV de 0.5-2 mg/kg PV de toxine T-2 ont été étudiés chez le rat, le cobaye et le chat [Borison & Goodheart, 1989, Borison *et al.*, 1991, Feuerstein *et al.*, 1985] :

- Chez le rat, elle entraîne rapidement une tachycardie et une augmentation de la tension artérielle, qui, après plusieurs heures, diminue rapidement pour devenir une hypotension à la dose de 2 mg/kg.
- Chez le cobaye, on observe une diminution progressive de la fréquence cardiaque et de la tension artérielle.
- Chez le chat, on n'observe pas de modification de la fréquence cardiaque mais une chute de pression artérielle dès 4 heures après l'injection.

Selon une autre étude, chez le rat, la dose de 1 mg/kg PV de toxine T-2 n'entraîne aucune altération des fréquences cardiaque et respiratoire ainsi que de la pression artérielle [Siren & Feuerstein, 1986].

- **Animaux anesthésiés**

Chez le lapin, l'injection IV de 0.5 mg/kg PV de F-X entraîne une diminution de l'amplitude respiratoire, puis une baisse graduelle de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle après 15 min [Matsuoka *et al.*, 1979].

Chez le rat, l'injection IV de 1-3 mg/kg PV de F-X entraîne une diminution précoce de la fréquence respiratoire suivie d'un retour à la normale en 90 min, puis d'une diminution graduelle. La pression artérielle s'élève précocement pour atteindre un pic une heure après

l'injection, avant de s'abaisser jusqu'à la mort. La fréquence cardiaque est par contre peu modifiée. Les doses de 0.3-0.5 mg/kg PV sont sans effet [Matsuoka *et al.*, 1979].

4.2. Rôle du système nerveux

Les modifications hémodynamiques liées à l'administration de la toxine T-2 s'accompagnent chez le rat comme chez le cobaye d'une augmentation rapide et intense des concentrations plasmatiques de catécholamines, indiquant que la toxine stimule fortement le système sympathique. Chez des rats dont le système nerveux central a été détruit, l'augmentation des concentrations en catécholamines, de la fréquence cardiaque et de la tension artérielle n'a pas lieu, indiquant que ces altérations passent par un mécanisme central [Feuerstein *et al.*, 1985].

En outre, il a été démontré chez le chat que le collapsus cardio-vasculaire final ne semble pas dépendre des facteurs nerveux liés à la régulation de la pression artérielle et de la respiration par le taux de CO₂ sanguin. De fait, la toxine T-2 n'a pas d'effet sur la régulation vagale de la respiration [Borison & Goodheart, 1989].

4.3. Modification de l'hémodynamique

L'hypotension observée chez le cobaye malgré la libération de catécholamines peut s'expliquer par l'importance de la réduction du volume d'éjection systolique chez cette espèce par rapport au rat. Cette réduction du volume d'éjection systolique, combinée à la vasoconstriction, entraîne une hypoperfusion des tissus confirmée par l'étude de la résistance vasculaire et des flux de sang régionaux suite à l'injection IV de 1 mg/kg PV de toxine T-2 chez le rat conscient. On observe en effet une forte vasoconstriction des lits vasculaires musculaires, mésentériques et rénaux, commençant une heure après l'injection pour atteindre son maximum au bout de 6 heures, accompagnée d'une diminution importante de ces flux sanguins régionaux [Feuerstein *et al.*, 1985, Siren & Feuerstein, 1986].

4.4. Rôle des pertes sanguines et plasmatiques

L'augmentation de l'hématocrite observée chez le chat après administration de 2 mg/kg PV de toxine T-2 en IV implique probablement une hémococoncentration due à une

hypovolémie, elle-même induite par une perte de plasma et de sang. Cette hypothèse est confirmée par :

- la reproduction du schéma pathogénique de ce syndrome de choc en retirant des quantités adéquates de sang et de plasma,
- l'arrêt du processus suivant l'injection de toxine T-2 en administrant à la fois du plasma et du sang.

Le choc circulatoire induit lors d'intoxication aiguë chez le chat anesthésié est donc du à une perte de plasma et de sang, non à une insuffisance cardiaque. Ces conclusions chez le chat sont plus difficilement applicable à d'autres espèces chez lesquelles les hémorragies sont minimes, même si les pertes plasmatiques existent (notamment *via* les lésions digestives) [Borison & Goodheart, 1989, Borison *et al.*, 1991].

4.5. Toxicité cardiaque

Chez le rat, une administration de 100 mg/kg PV de DON par voie IP ou orale induit des zones de nécrose focales à localement extensives sur le cœur. L'examen histologique révèle souvent la présence de cellules myocardiques nécrotiques, avec lyse de la membrane plasmique mais sans infiltration de cellules inflammatoires.

La mise en culture de cellules myocardique et le maintien *ex vivo* de coeurs de rats permet toutefois de démontrer une grande résistance des cellules myocardiques à la toxine T-2. Des doses inférieures à 50 µg/mL sont sans effet, à partir de 250 µg/mL on observe une diminution de la fréquence et de l'amplitude des contractions cellulaires, mais une cytotoxicité sévère n'apparaît qu'à la dose de 500 µg/mL. Ainsi, chez le rat, les doses nécessaires pour affecter le cœur seraient voisines de 1 g/kg de toxine T-2, alors que la DL50 est de l'ordre du mg/kg. Les lésions observées sur les cellules sont vraisemblablement causées par une ischémie consécutive à l'intoxication plutôt que par une toxicité directe à l'encontre des cellules myocardiques [Forsell *et al.*, 1987, Yarom *et al.*, 1986].

4.6. Altérations biochimiques

Ces altérations « mécaniques » de la circulation sanguine observées chez le rat et le cobaye recevant une injection de 0.5-2 mg/kg PV de toxine T-2 s'accompagnent d'une acidose métabolique sévère. L'acidose métabolique est accélérée par la destruction du système nerveux central, et donc la suppression de la capacité à s'y adapter (*via* le rein ou le

poumon). L'acidose lactique n'est donc pas le fruit d'un mécanisme central mais la conséquence d'une ischémie tissulaire [Feuerstein *et al.*, 1985].

4.7. Conclusion

Lors d'intoxication aiguë, le syndrome de choc classiquement décrit semble dû à une hypovolémie, une vasoconstriction et une ischémie générale, aucune toxicité directe des trichothécènes à l'encontre du cœur ou des poumons n'ayant été mise en évidence.

5. DERMOTOXICITE

La dermotoxicité des trichothécènes peut être importante en pathologie vétérinaire (voir exemple chez les ruminants dans la Partie 1. 3.1. Historique et rapport de cas), en pathologie humaine mais aussi pour des fins diagnostiques [Balzer, 2003].

Les lésions cutanées et muqueuses observées lors d'intoxication par les trichothécènes ont été décrites chez le porc, le bovin, le cheval et les volailles (Partie 1. Mycotoxicoses), mais aussi chez l'homme (stade 3 de l'aleucie toxique alimentaire) ou les espèces de laboratoire.

Elles apparaissent essentiellement lors d'intoxication subaiguë à chronique, bien qu'un érythème précoce, disparaissant en quelques heures, ait également été signalé lors d'intoxication aiguë par le DON chez le porc [Coppock *et al.*, 1985].

Selon les toxines, les doses, les durées d'exposition et l'espèce, ces lésions, qualifiées de « radiomimétiques » apparaissent en quelques jours (espèce très sensible comme le caneton, ou doses élevées) à deux semaines. Le tableau 9 (Partie 1. Mycotoxicoses) rassemble les doses minimales (MED, *minimal effective dose*) nécessaires à l'observation des lésions pour la toxine T-2, le DAS et le DON.

Ces lésions apparaissent, chez le porc, sous la forme d'une inflammation et de croûtes sur la peau du groin, les commissures buccales, les oreilles et le prépuce, mais aussi sur la langue et les muqueuses buccales. Elles ont été observées lors d'administration de toxine T-2 ou de DAS, mais pas de DON. Ces lésions primaires peuvent se compliquer d'infections secondaires. Elles peuvent devenir prolifératives (Partie 1.1. Dans l'espèce porcine) [Harvey *et al.*, 1990, Rafai *et al.*, 1995, Weaver *et al.*, 1981].

Ces lésions ont également été décrites chez la jument (Partie 1.2. Chez le cheval) [Juhasz *et al.*, 1997] ou chez les volailles avec de la toxine T-2 (Partie 1. Chez les volailles)

[Ademoyer & Hamilton, 1991, Chi *et al.*, Chi *et al.*, 1977b, Diaz *et al.*, 1994, Huff *et al.*, 1988, Kubena *et al.*, 1989, Rafai *et al.*, 2000, Richard *et al.*, 1978].

Histologiquement, ces lésions se caractérisent par une hyper- et une parakératose, une acanthose, jusqu'à la nécrose, avec une desquamation des couches superficielles de l'épithélium stratifié, ainsi que des érosions superficielles à profondes atteignant parfois l'hypoderme. Une infiltration dermique par des cellules inflammatoires est systématiquement observée [Harvey *et al.*, 1990, Rafai *et al.*, 1995].

- Lésions cutanées induites par les trichothécènes

Lors d'application cutanée de toxine T-2, on observe une réaction dose-dépendante allant de la simple rougeur à la nécrose de coagulation et l'escarre en passant par une nécrose dermique avec suppuration, se prolongeant pour les doses les plus faibles par un œdème 48 heures après application. L'infiltration leucocytaire déjà signalée lors d'intoxication par voie générale se retrouve ici. Les parois des artères de petite et moyenne taille dans la zone enflammée deviennent perméable et dégénèrent. L'épiderme, sur les bords de la lésion, subit une hyperplasie réactionnelle [Lafont *et al.*, 1977, Marasas *et al.*, 1969, Ueno, 1984].

Lors d'application prolongée de toxine T-2 à la dose de 3.5-4 mg/cm² chez le porc, on observe une évolution de la couleur de la peau depuis le rouge sombre (jours 1-3) vers le violet (jour 7) puis le noir violacé (jour 14). On note un œdème modéré pendant la première semaine. Au cours de la deuxième semaine, un sillon disjoncteur se forme sur les marges de la zone exposée, qui tombe progressivement aux alentours du 14^{ème} jour.

La sévérité et la taille de la lésion cutanée s'accroissent progressivement pour atteindre un plateau au bout de 7 jours : le premier jour, seul l'épiderme et la partie supérieure du derme sont affectés, puis tout le derme et les tissus sous-cutanés superficiels sont concernés au troisième jour et les tissus sous-cutanés profonds au bout de 7 jours. Au bout de 14 jours, le processus de guérison prédomine.

Histologiquement, le premier jour, les lésions sont dominées par une acanthose et une dégénérescence ballonisante multifocale, une dissociation des *strata spinosa* et *basale* et l'apparition de vésicule intraépidermiques. Une infiltration par les GNN, GNE et macrophages débute. On observe une congestion marquée des capillaires dont l'endothélium devient fréquemment nécrotique. Au bout de trois jours, ces lésions s'aggravent pour tendre vers une sévère nécrose de coagulation avec formation de microabcès, ainsi qu'une séparation

dermo-épidermique. Au bout de 7 jours, l'infiltration neutrophilique s'accroît et la nécrose devient extensive, pour atteindre les tissus sous-cutanés. Une hyperplasie de l'épithélium des canaux glandulaire débute vers le 7^{ème} jour. Des croûtes séro-cellulaires avec des colonies bactériennes apparaissent sur la surface de la peau vers le 14^{ème} jour, alors qu'une régénération se met en place au niveau du sillon disjoncteur [Pang *et al.*, 1987a].

- Mécanismes de la dermotoxicité

La dermotoxicité relative des trichothécènes a été abordée dans une étude comparative utilisant des cobayes. La toxine T-2 suivie de la toxine HT-2 et du DAS sont de loin les trois plus toxiques, alors que les doses nécessaires pour induire une dermotoxicité sont bien plus élevées pour le MAS, le néosolaniol et la F-X, le NIV et le 3-ADON, et enfin le DON. En termes de dose minimale efficace, la toxine T-2 est 5000 fois plus puissante que le DON. Ces toxicités relatives sont encore une fois équivalentes à celles observées dans d'autres aspects de la toxicité des trichothécènes [Ueno, 1984].

Paradoxalement, les mécanismes de la dermotoxicité des trichothécènes ont été étudiés avec la F-X alors que c'est pour la toxine T-2 que l'on trouve le plus grand nombre de rapports de dermotoxicité.

L'administration SC de 10 µg entraîne une augmentation biphasique de la perméabilité vasculaire, avec deux maxima à 5 et 24 heures. Cette réaction biphasique se manifeste par deux pics d'œdème, 4 et 12-24 heures après l'injection (10-100 µg de F-X en injection sous-plantaire) [Matsuoka *et al.*, 1979, Ueno, 1984].

L'administration préalable de prométhazine¹ ne diminue pas cette réaction, ce qui suggère que cette dermotoxicité ne passe par la libération d'histamine. Cette hypothèse est confortée par l'absence d'augmentation de la libération d'histamine par des mastocytes mis en présence de 50 ng/mL de F-X, et la stabilité de ces cellules lors de leur incubation en présence de toxine T-2 [Matsuoka *et al.*, 1979, Matsuoka & Kubota, 1987a, Pang *et al.*, 1987a, Ueno, 1984].

L'absence d'effets des anti-inflammatoires non stéroïdiens, de la phentolamine, de dibenzyline, de l'hydrocortisone et de la réserpine permet également d'écartier d'autres médiateurs classiques de l'inflammation tels que la sérotonine, la noradrénaline, les prostaglandines, leucotriènes et thromboxanes.

¹ La prométhazine est un anti-histaminique

L'augmentation de perméabilité vasculaire observée lors d'administration de trichothécènes serait donc due à un mécanisme impliquant des médiateurs inconnus de l'inflammation, ou, plus vraisemblablement, des lésions des parois vasculaires des capillaires [Matsuoka *et al.*, 1979, Matsuoka & Kubota, 1987b, Pang *et al.*, 1987a, Ueno, 1984].

Ainsi, les trichothécènes, notamment ceux du groupe A, sont de puissants agents dermonécrosants. Cette toxicité qui se fait sentir aussi bien par voie orale que locale est liée à une cytotoxicité à l'égard des cellules épidermiques et dermiques et non le déclenchement d'une réaction inflammatoire non spécifique. En médecine vétérinaire, la découverte de manifestations de dermotoxicité constitue un signal sensible d'une intoxication par les trichothécènes. Son association à d'autres signes tels qu'une baisse des performances zootechniques justifie une recherche de trichothécènes si aucune autre étiologie ne s'impose (Partie 1. Mycotoxicoses).

6. **ACTION SUR L'APPAREIL DIGESTIF**

Les trichothécènes perturbent la digestion et le comportement alimentaire. Ce chapitre présente les points les plus importants de cet aspect de leur toxicité : les modifications du comportement alimentaire, leurs propriétés émétisantes, l'induction d'une diarrhée, de modifications des activités enzymatiques digestives et enfin les lésions de la muqueuse digestive.

6.1. **Modification du comportement alimentaire**

L'anorexie partielle, parfois totale, observée lors d'intoxication par les trichothécènes est très largement documentée, surtout chez les espèces domestiques en raison de ses conséquences zootechniques et économiques : diminution du gain moyen quotidien (GMQ), perte de poids, baisse de la fertilité, chute de ponte, *etc.* Les études spécifiques consacrées à ce point particulier de la toxicité des trichothécènes sont cependant rares, voire inexistantes.

L'anorexie partielle induite par les trichothécènes ne se manifeste qu'au bout de quelques jours, et donc seulement en cas d'intoxication subaiguë ou chronique (pour les références et plus de détails, voir Partie 1.).

Chez le porc, elle est dose-dépendante (Partie 1., tableau 2-4) et s'accompagne d'une diminution du GMQ en général sans modification de l'indice de consommation (IC), ce qui semble indiquer que cette dégradation n'est pas due aux effets directs de la toxine, mais à la dénutrition. Dans certaines études, on observe même une amélioration de l'IC qui peut s'expliquer par une meilleure mise en valeur des aliments consommés.

Chez les volailles, lors d'administration de doses relativement importantes de toxine, on observe parfois une augmentation de l'IC qui pourrait s'expliquer par un effet propre de la toxine sur les capacités de l'organisme, au-delà de la dénutrition, ou de lésions digestives trop importantes pour permettre l'absorption efficace des nutriments. A des doses inférieures, l'IC n'est pas modifié, impliquant peut-être l'existence d'un palier de dose.

Une étude consacrée à la digestibilité des nutriments chez le lapin après administration d'un aliment contenant 12.5-25 mg/kg de toxine T-2 abonde d'ailleurs en ce sens : à la dose de 12.5 mg/kg, cette digestibilité est légèrement augmentée (de l'ordre de 5 %) ; avec 5 mg/kg, elle est diminuée (de l'ordre de 8 %) [Fekete *et al.*, 1989].

Signalons pour finir que chez les bovins, aucune amélioration par augmentation de l'appétence de l'aliment contaminé n'a été observée. Un aliment identique, mais non contaminé, est également refusé. De plus, cette diminution de consommation alimentaire s'observe également lors d'administration parentérale de la toxine, ce qui indique que l'aliment contaminé n'est pas refusé à cause d'une altération des ses propriétés organoleptiques ou d'un caractère irritant.

6.2. Caractère émétisant

L'activité émétisante des trichothécènes est l'un des points caractéristiques de leur toxicité, le déoxynivalénol est d'ailleurs connu sous le nom de vomitoxine. Cette toxicité a été décrite chez toutes les espèces capables de vomir (Partie 1. Mycotoxicoses).

Chez le porc, suite à une administration IP ou par voie orale, l'activité émétisante du DON et du 15-ADON est dose-dépendante, tant en terme de vitesse d'apparition des vomissements qu'en terme de durée ou de nombre. Elle apparaît dès des doses de l'ordre de 50-75 µg/kg PV de DON ou de 15-ADON administrés par voie orale ou IP [Petska *et al.*, 1987].

Chez le chien, les vomissements sont déclenchés par 0.3 mg/kg PV de F-X en injection IV, ceux-ci apparaissant environ 5 à 15 minutes après l'administration de toxine, pour se répéter régulièrement avec des intervalles de 30-40 minutes pendant une à trois heures. Les effets sont contrecarrés chez le chien par une injection de métoclopramide ou de chlorpromazine une heure avant l'injection de toxine, ce qui suggère que les trichothécènes agissent dans ce cadre au niveau de la *chemoreceptor trigger zone* (CTZ) dans la moelle allongée. Chez le chat, l'ablation de l'*area postrema* entraîne une augmentation du délai de latence, porté à 5 heures, ce qui valide l'hypothèse impliquant la CTZ. Néanmoins, l'apparition de vomissements plus tardifs implique l'existence d'un autre mécanisme émétique, *via* des afférences viscérales (stimulées par l'inflammation), vestibulaires ou supérieures [Borison & Goodheart, 1989, Matsuoka *et al.*, 1979].

6.3. **Diarrhée**

Une diarrhée est décrite dans le cadre d'intoxications aiguës par les trichothécènes, chez le porc, le chat et la souris [Conner *et al.*, 1986, Creasia *et al.*, 1987, 1990].

Chez le porc, suite à l'administration IV de 0.13-3.2 mg/kg PV de toxine T-2, 0.5 mg/kg PV de DON, et 0.3-0.5 mg/kg PV de DAS on observe dans les 2 (DON), 15 (T-2) à 20 minutes (DAS) après injection intraveineuse de toxine une augmentation de la fréquence d'élimination de selles normales se prolongeant 3-6 heures selon les toxines et les individus. Dans le cas du DON, ces selles deviennent diarrhéiques au bout d'une heure et demie, et s'accompagnent de ténesme, d'un prolapsus rectal partiel et d'une diarrhée mucoïde. Ces symptômes disparaissent 10 heures après l'injection de DON [Coppock *et al.*, 1985, Weaver *et al.*, 1978a, 1978c].

Après une administration IP de 1mg/kg PV de F-X chez le rat, cette diarrhée apparaît en 12-24 heures. Très aqueuse, elle devient particulièrement sévère après 36-48 heures, pour se résoudre 3-4 jours après l'injection [Matsuoka & Kubota, 1981].

Son mécanisme a été étudié chez le rat l'injection IP de 1mg/kg PV de F-X augmente la vitesse du transit digestif 6-24 heures après l'administration. Celle-ci peut-être due à une augmentation du péristaltisme ou de la fluidité du contenu digestif.

La dilatation intestinale observée 24 heures après l'injection de 1 mg/kg PV de F-X en IP ou 1-24 h après administration par voie orale de 1.5 mg/kg PV de F-X confirme l'hypothèse

d'une augmentation de la fluidité du contenu digestif due à un influx de liquide depuis le compartiment sanguin. Cet influx de liquide est la conséquence d'une augmentation de la perméabilité digestive – confirmée par l'augmentation de l'absorption du D-xylose – et du passage de plasma depuis le compartiment sanguin vers la lumière digestive, comme l'indique le passage massif de bleu d'Evan injecté en IV – une molécule qui se lie fortement à l'albumine – mais pas de l'hémoglobine, qui reste dans le sang. Cette observation est de plus concordante avec la mise en cause d'une hypovolémie dans le syndrome de choc du à une intoxication par les trichothécènes ainsi qu'avec les lésions de dermotoxicité (4. Toxicité cardio-respiratoire et altération des paramètres vasculaires et 5. Dermotoxicité).

Signalons toutefois que les effets à très court terme ou à très faible dose de la F-X sont différents de ceux observés à moyen terme ou à forte dose. En effet, l'injection IV de 1 mg/kg PV de F-X induit cependant une inhibition du péristaltisme d'abord partielle 20-30 minutes après l'injection puis totale, 40 minutes après l'injection. Celle-ci dure 2 heure et apparaît dès la dose de 0.2 mg/kg PV en IV mais est de plus courte durée à ces doses inférieures [Li *et al.*, 1997, Li & Shimizu, 1997, Matsuoka *et al.*, 1979, Matsuoka & Kubota, 1981].

6.4. Modification des activités enzymatiques

Une étude s'intéresse aux activités enzymatiques digestives lors d'intoxication par la toxine T-2. Chez le poulet une légère diminution de l'activité de la trypsine, de l'amylase et de la ribonucléase, sans modification de la teneur en sels biliaires, a été décrite lors d'administration d'un aliment contenant 8-16 mg/kg de toxine T-2 (aucun effet à des doses inférieures). Elle s'accompagne d'une stéatorrhée (environ deux fois plus de lipides dans les selles) [Osborne *et al.*, 1982].

6.5. Lésions du tube digestif

Les lésions du tube digestif sont fréquemment rapportées lors d'intoxication par les trichothécènes chez les espèces domestiques comme de laboratoire. Elles touchent tous les étages du tube digestif, de l'œsophage au rectum. Elles sont décrites pour tous les trichothécènes dans le cadre d'intoxications aiguës à chroniques et sont indépendantes de la voie d'administration. Toutes les espèces sont concernées, y compris les ruminants.

La toxine T-2 est encore une fois la plus毒ique, suivie du DAS puis du DON : les lésions sont plus étendues, plus sévères avec les trichothécènes du groupe A.

Lors d'intoxication aiguë, une inflammation congestive à fibrino-nécrotique se met en place. Elle se traduit histologiquement par des images de dégénérescence et de nécrose des cellules de la muqueuse et des cryptes de l'iléon et du jéjunum. Dans certains cas, avec la toxine T-2 ou le DAS, notamment chez le porc, le poussin et le chat, la muqueuse est hémorragique et le tube digestif emplit de sang [Hoerr *et al.*, 1981, Huff *et al.*, 1981, Lutsky *et al.*, 1978, Richardson & Hamilton, 1990, Weaver *et al.*, 1978a, 1978c, 1980]. Chez la souris, la nécrose intestinale est fréquemment extensive et perforante [Conner *et al.*, 1986, Creasia *et al.*, 1987, 1990, Forsell *et al.*, 1987, Glavits *et al.*, 1989].

L'étude des effets de l'administration par voie orale de 1.5 mg/kg PV de F-X chez le rat par microscopie optique, électronique et par la méthode TUNEL dans les 0-48 heures suivant l'administration a permis d'élucider l'un des mécanismes de ces lésions digestives : comme avec les cellules immunitaires, la F-X entraîne une apoptose rapide et de courte durée des cellules à multiplication rapide. La zone la plus sensible est la région fundique de l'estomac [Li & Shimizu, 1997].

Lors d'intoxication subaiguë à chronique des lésions, majoritairement érosives, voire prolifératives, sont observées.

Chez le porc, l'administration d'un aliment contaminé à hauteur de 4 mg/kg de DAS entraîne une hyperplasie des cellules glandulaires et épithéliales de la muqueuse de l'intestin grêle [Weaver *et al.*, 1981].

Une congestion et des érosions, voire des ulcères, des muqueuses gastriques et intestinales sont également décrites lors d'intoxication subaiguë des porcs par le DON ou de poules par la toxine T-2, pendant les premières semaines d'intoxication [Chi *et al.*, 1977a, Coté *et al.*, 1984]. Ultérieurement, un épaissement et une kératinisation de la muqueuse oesophagienne de l'estomac proportionnels à la concentration en DON dans l'aliment apparaissent. Ils peuvent sans doute s'expliquer comme une réaction aux lésions érosives [Trenholm *et al.*, 1984]. Une augmentation du poids relatif du gésier est également observée chez des poussins recevant un aliment contaminé à hauteur de 16 mg/kg de DON [Huff *et al.*, 1986, Kubena *et al.*, 1989].

Ce double aspect des lésions – érosives puis prolifératives – se retrouve également dans les espèces de laboratoire, où l'augmentation de poids de l'estomac chez la souris consommant un aliment contaminé à hauteur de 20 mg/kg de toxine T-2 pendant 6 semaines s'explique par une hyperplasie de la muqueuse oesophagienne dès deux semaines de

traitement, avec parfois des ulcères de petite taille. Dans des études plus longues, cette prolifération devient hyperkératose gastrique. Une gastrite est par ailleurs observée chez le lapin recevant par voie orale 2 mg/kg PV de toxine T-2 pendant 10 jours ou un aliment contaminé à hauteur de 12.5-25 mg/kg de toxine T-2 pendant 8 jours. L'évolution des lésions décrites dans ces courtes expérimentations correspond à celle décrite chez la souris, permettant de supposer que l'hyperplasie serait survenue ultérieurement [Fekete *et al.*, 1989, Glavits *et al.*, 1989, Hayes *et al.*, 1980a, Ohtsubo *et al.*, 1989, Schiefer *et al.*, 1987].

Ainsi, les trichothécènes possèdent d'indéniables propriétés émétisantes, passant par une stimulation de la CTZ. Ils induisent en outre une diminution de la consommation alimentaire, elle-même responsable d'une dégradation des indices zootechniques et d'une fragilisation de l'organisme. Ils entraînent d'importantes lésions digestives accompagnées de diarrhée et de pertes importantes de plasma. Dans les cas les plus graves ces effets peuvent être responsables d'un syndrome de choc. Dans les autres cas, ils contribuent à l'affaiblissement général de l'organisme.

7. HEMATOTOXICITE

Les intoxications expérimentales réalisées avec les trichothécènes ont parfois révélé des lésions des organes hématopoïétiques, des lésions hémorragiques générales, ainsi que des modifications de l'hémogramme.

7.1. In vivo

Le Tableau 35 récapitule les altérations hématologiques concernant les hématies et les plaquettes dans les espèces domestiques comme de laboratoire. Les données concernant les leucocytes seront abordées dans le chapitre 8. Immunotoxicité.

Les études consacrées aux altérations hématologiques lors d'intoxication aiguë sont rares, la majorité des études disponibles concernent la toxicité subaiguë (Tableau 35)

Chez la souris, lors d'injection IP de 15 mg/kg PV de DAS, on observe une chute de l'hématocrite (Ht) au bout de 24 heures rapidement suivie d'un retour à la normale, avec une augmentation du nombre d'hématies nucléées indiquant une réponse normale de l'erythropoïèse. Chez le veau, cette chute de l'Ht survient 48-96 heures après injection IV de

0.25 mg/kg de toxine T-2. Cette chute de 10 % reste cependant dans les valeurs usuelles [Conner *et al.*, 1986, Gentry *et al.*, 1984].

Lors d'intoxication par de fortes doses de toxines pendant quelques semaines on observe une anémie décrite comme non régénérative. A des doses plus proches de celles qui peuvent être observées dans des aliments contaminés, les trichothécènes n'induisent pas d'altération des hématies ou des plaquettes. De même lors d'intoxication chronique, même avec des doses élevées de toxines.

Tableau 35 : Tableau récapitulatif des altérations hématologiques non leucocytaires

		Espèce, dose et durée	Troubles observés	Référence
Porc	T-2	8 mg/kg ; 4 sem.	Pl-hémoglobine diminuée, sinon RAS	Harvey 1994
		10 mg/kg ; 4 sem.	Anémie ferriprive	Harvey 1990
		12 mg/kg ; 2-7 mois	RAS	Weaver 1978b
	DAS	2-9 mg/kg ; 9 sem.	RAS	Weaver 1981
	DON	0.7-5.8 mg/kg ; 3-4 sem.	RAS	Cote 1985, Harvey 1989
Ruminants	T-2	OV ; 0.3 mg/kg PV ; 3 sem.	RAS	Friend 1983
		OV ; 0.6 mg/kg PV ; 3 sem.	Diminution de l'érythropoïèse, mais pas d'anémie.	Friend 1983
		Veau ; 0.25 mg/kg PV IV	RAS	Gentry 1984
	DON	OV ; 15.6 mg/kg ; 4 sem.	RAS	Harvey 1986
Volailles	T-2	CA ; 0.2-4 mg/kg ; 7 sem.	RAS	Rafai 2000
		PP ; 0.5-8 mg/kg ; 8 sem.	RAS	Chi 1977a
		P ; 0.2-4 mg/kg ; 3-9 sem.	RAS	Chi 1977b, Huff 1988
	DON	P ; 16mg/kg ; 3 sem.	Diminution du VGM	Kubena 1989
		P ; 16mg/kg ; 3 sem.	Diminution du nombre d'hématies et de l'hématocrite	Huff 1986
Souris	T-2	20 mg/kg ; 4 sem.	Anémie non régénérative	Hayes 1980b
	DAS	15 mg/kg PV IP une fois	Chute de l'Ht à 24h puis retour à la normale, augmentation du nombre d'hématies nucléées	Conner 1986
	NIV	6-30 mg/kg ; 2 ans	Légère augmentation du nombre d'hématies, de l'hématocrite et de l'hémoglobinémie, tout en restant dans les valeurs usuelles	Ohtsubo 1989
	3-ADON	2.5-10 mg/kg ; 3 sem.	RAS	Kasali 1985
	15-ADON	0.5-5 mg/kg ; 8 sem.	Diminution du temps de saignement mais pas d'altération des autres paramètres de la coagulation	Petska 1986
Rat	DAS	1m/kg PV 3/s ; 5 sem.	Diminution du nombre d'hématies, de l'Ht et Pl-Hb et augmentation du nombre de plaquettes géantes	Janse van Rensburg 1987
	DON	0.25-1 mg/kg PV ; 9 sem.	RAS	Arnold 1986
Chat	T-2	0.06-0.10 mg/kg PV VO	Anémie, hématies anormales, thrombopénie	Lutsky 1978

Les effets toxiques des trichothécènes sur les cellules sanguines s'expriment également à travers leur action sur les tissus hématopoïétiques. Les doses toxiques pour les tissus hématopoïétiques sont rassemblées dans le Tableau 36.

La plupart des études démontrant des lésions des organes hématopoïétiques ont été réalisées chez les rongeurs de laboratoire en utilisant des doses très élevées de trichothécènes.

Chez les espèces domestiques, seules quelques études réalisées chez les volailles avec des doses relativement élevées de toxine T-2 et de DAS ont révélé une nécrose et une atrophie semblables à celles obtenues chez la souris et le rat.

Lors de reproduction expérimentale de l'aleucie toxique alimentaire chez le chat, par administration tous les deux jours de 0.06-0.1 mg/kg de toxine T-2 par voie orale, une régénération de la lignée érythroïde se met en place au bout de 3 semaines de traitement, avec des mégacaryoblastes en apparence normaux mais sans formation de plaquettes. Une régénération du même type débute chez le rat dès la quatrième semaine d'un traitement de 0.1 mg/kg PV de DAS, trois fois par semaine. On n'observe aucune lésion de la moelle osseuse dans les études de toxicité subaiguë, même à des doses relativement importantes de toxine (Tableau 36), ce qui pourrait s'expliquer par cette régénération [Janse van Rensburg *et al.*, 1987, Lutsky *et al.*, 1978].

Tableau 36 : Toxicité des trichothécènes pour les tissus hématopoïétiques

		Espèce, dose et durée	Troubles observés	Référence
Souris	T-2	20 mg/kg ; 4 sem.	Atrophie	Hayes 1980b
	DAS	5-15 mg/kg PV IP	Nécrose dose-dépendante, dès une heure après injection	Conner 1986
	NIV	6-30 mg/kg ; 4-12 sem.	RAS	Yamamura 1989
	DON	100 mg/kg PV VO 60 mg/kg PV IP	Nécrose	Forsell 1987
	15-ADON	60 mg/kg PV VO 160 mg/kg PV IP	Nécrose	Forsell 1987
Rat	DAS	1 mg/kg PV 3 fois par semaine ; 5 sem.	Atrophie, déplétion de la population mégacaryocytaire	Janse van Rensburg 1987
	DON	0.25-1 mg/kg PV ; 9 sem.	RAS	Arnold 1986
Chat	T-2	0.06-0.1 mg/kg PV VO tous les deux jours	Disparition des mégacaryocytes et nécrose des érythroblastes	Lutsky 1978
Porc	T-2	0.13-3.2 mg/kg PV IV	RAS	Weaver 1978c
		1-10 mg/kg ; 4-8 sem.	RAS	Harvey 1990 Weaver 1978c
	DAS	0.35-0.45 mg/kg PV IV	RAS	Weaver 1978a
Bovins	T-2	0.44 mg/kg PV VO ; 15 j.	RAS	Weaver 1980
Vollailles	T-2	P ; 0.2-4 mg/kg ; 9 sem.	RAS	Chi 1977b
		PP ; 0.5-8 mg/kg ; 3-8 sem.	RAS	Chi 1977a Diaz 1994
		P ; 2-2.5 mg/kg PV VO	Nécrose et déplétion cellulaire à partir de 6 h et jusqu'à 72 h, intensité et vitesse d'apparition dose-dépendantes	Hoerr 1981
		CA ; 20-30 mg/kg ; 2-3 sem.	RAS	Hayes 1983
	DAS	P ; 2.7 mg/kg PV VO	Nécrose et déplétion cellulaire à partir de 6 h et jusqu'à moins de 72 h	Hoerr 1981
		2 mg/kg ; 24 j.	RAS	Diaz 1994

7.2. *In vitro*

L'anémie, la chute de l'hématocrite et la diminution du nombre d'hématies observées lors de certaines intoxications ont conduit à l'étude *in vitro* du pouvoir hémolytique des trichothécènes.

En ce qui concerne la toxine T-2, on observe au bout de 4 heures au maximum une hémolyse de 50 % des hématies de rat avec 5 ng/mL de toxine, et 100 % pour des doses de 7.6-15 ng/mL. Des hématies de cobaye mises en présence de 20-100 µg/mL de toxine T-2 ne sont pratiquement pas hémolysées, alors qu'elles le sont totalement au bout de 6 heures avec 200 µg/mL. Dans d'autres études, 45 ng/mL de toxine T-2 sont nécessaires pour entraîner une hémolyse de 30 % d'hématies de rat, alors que dans les mêmes conditions, seules 7.5 % des hématies de bovin sont détruites [DeLoach *et al.*, 1987, Segal *et al.*, 1983].

L'érythroyse est ainsi fortement influencée par l'espèce. Ce résultat pourrait s'expliquer par la quantité de phosphatidyl choline contenue dans la membrane plasmique : aucune pour les ruminants et les cobayes, alors que les rats sont l'espèce qui en possède le plus (9.1. Altérations de la membrane plasmique) [DeLoach *et al.*, 1987].

L'hémolyse est temps-, concentration- et température-dépendante, comme le démontre l'augmentation de l'érythroyse avec l'augmentation de température. Elle est également catalysée par la lumière, ce qui suggère un mécanisme impliquant des radicaux libres, confirmé lorsque des agents anti-oxydants sont ajoutés dans le milieu [Gyongyossy-Issa *et al.*, 1985b, Segal *et al.*, 1983].

Par ailleurs, en ce qui concerne les autres trichothécènes :

- aucun pouvoir hémolysant du DON n'est mis en évidence lors d'incubation d'hématies de mouton ou de rat même avec des concentrations très élevées (0.1-4.5 mg/mL) après une demi-heure à une nuit d'incubation.
- l'érythroyse d'hématies de rats n'est ni accélérée ni ralentie par la F-X après 24 heures d'incubation (10-100 ng/mL) [Matsuoka *et al.*, 1979, Miller & Atkinson, 1986].

7.3. Altération de la coagulation

La description historique de l'aleucie toxique alimentaire et de cas de syndrome hémorragique sur le bétail bétail associés (à tort) aux trichothécènes a conduit à l'exploration de l'hémostase primaire et de l'hémostase secondaire² dans le cadre d'une intoxication par ces mycotoxines.

L'administration de 0.2 mg/kg PV de DAS à des veaux pendant 11 jours ou de 0.1 mg/kg PV de toxine T-2 ou de DAS à des porcs pendant 14-36 jours n'entraînent aucune altération de l'hémostase. De même chez le poulet recevant un aliment contaminé par 2 mg/kg de toxine T-2 pendant 3 semaines [Doerr *et al.*, 1981, Patterson *et al.*, 1979].

- Hémostase primaire

Le nombre de plaquettes circulantes n'est pas affecté lors d'intoxication aiguë ou subaiguë par les trichothécènes, sauf chez le chat recevant 0.06-0.1 mg/kg PV de toxine T-2 tous les deux jours pendant plusieurs semaines. Signalons également une augmentation du nombre de plaquettes géantes chez le rat recevant 3 fois par semaine 1 mg/kg PV de DAS pendant 5 semaines [Janse van Rensburg *et al.*, 1987].

In vitro, les trichothécènes n'induisent pas d'altérations ultrastructurelles des plaquettes, et n'inhibent pas leur capacité à se déformer [Bondy *et al.*, 1989].

Toutefois, l'agrégation plaquettaire déclenchée par l'ajout d'ADP ou de collagène est inhibée de manière dose-dépendante en présence de toxine T-2, HT-2, de DAS ou de DON (jusqu'à 60-80 % pour des concentrations de 4 ng/mL de toxine T-2). L'inhibiteur le plus puissant est la toxine T-2, suivie de la toxine HT-2, du DAS puis du DON. Cette inhibition n'est pas temps-dépendante.

De la même manière, les trichothécènes inhibent de manière dose-dépendante la libération de thromboxane B₂, un puissant agrégant plaquettaire synthétisé par les plaquettes lors de l'initialisation de l'hémostase primaire.

L'effet majeur des trichothécènes sur l'hémostase primaire réside cependant plus dans l'instabilité de l'agrégat plaquettaire qu'ils induisent que dans l'inhibition de sa formation.

² L'hémostase primaire ne fait intervenir que les plaquettes, et aboutit à la formation d'un agrégat plaquettaire. L'hémostase secondaire aboutit au terme de la cascade des facteurs plasmatiques de la coagulation à la transformation du fibrinogène en fibrine.

Les trichothécènes semblent en effet déclencher dans les plaquettes des évènements semblables à ceux de la phase initiale de la coagulation, ce qui expliquerait leur réponse diminuée aux facteurs stimulant la coagulation, comme l'ADP ou le PAF (*platelet activating factor*), la diminution de la stabilité de l'agrégat plaquettaire et l'insensibilité marquée des plaquettes à une seconde stimulation [Bondy *et al.*, 1989, Chan & Gentry, 1984].

- Hémostase secondaire

On observe chez des veaux recevant 0.2 mg/kg PV de toxine T-2 pendant 11 jours une augmentation du temps de prothrombine, test explorant en partie la voie commune de la cascade de la coagulation. L'injection IV de 0.25 mg/kg de toxine T-2 entraîne une diminution de l'activité des facteurs VII, IX, X et XI, ainsi qu'une baisse de la concentration de fibrinogène. Ces altérations sont maximales 6-24 heures après l'injection, et se prolongent selon les facteurs jusqu'à 48-72 heures. Le facteur VIII n'est par contre pas affecté. De manière cohérente avec ces observations, les temps de thrombine et, dans une moindre mesure, de Quick, sont allongés, surtout de 6-24 heures après l'injection [Gentry & Cooper, 1983, Patterson *et al.*, 1979].

Chez le poulet, l'exploration de différents facteurs de la coagulation suite à la consommation pendant 3 semaines d'un aliment contenant 4-16 mg/kg de toxine T-2 révèle une diminution de l'activité des facteurs VII et X, de la prothrombine et du fibrinogène, mais une insensibilité du facteur V. Le plus sensible est le facteur VII, affecté dès la dose de 4 mg/kg, son activité étant diminuée de 38 % à 16 mg/kg, alors que le facteur X, la prothrombine et le fibrinogène ne sont affectés qu'à la dose de 16 mg/kg. A des niveaux de contamination inférieurs, la cascade de la coagulation n'est pas altérée [Doerr *et al.*, 1981].

Ainsi, si les trichothécènes ne modifient pas le nombre de plaquettes, ils sont par contre capables d'inhiber leur agrégation et la libération de thromboxane B₂, de diminuer la stabilité du thrombus primaire et de diminuer l'activité d'un certain nombre de facteurs de l'hémostase secondaire. Ces effets se font cependant ressentir à des doses bien supérieures à celles provoquant d'autres symptômes et lésions de l'intoxication.

8. IMMUNOTOXICITE

De nombreuses études de toxicité aiguë, subaiguë et chronique réalisées tant chez des espèces domestiques que de laboratoire ont permis de mettre en évidence une immunotoxicité marquée des trichothécènes. Historiquement, les trichothécènes ont été considérés comme des agents immunodépresseurs, notamment à cause de l'aleucie toxique alimentaire (Partie 1. 5. L'aleucie toxique alimentaire). Des études de laboratoire ont cependant révélé une paradoxale immunostimulation.

Cette immunotoxicité se manifeste à travers des lésions des organes lymphoïdes primaires et secondaires, des altérations de la formule sanguine et de la résistance aux agents pathogènes (Partie 1. Mycotoxicoses et Partie 3. 1. Intoxication par les trichothécènes dans les espèces de laboratoire).

Ces études ont donc conduit à la réalisation de nombreuses recherches visant à éclaircir les mécanismes et conséquences de l'immunotoxicité des trichothécènes.

L'immunotoxicité des trichothécènes a d'ailleurs fait l'objet de revues spécifiques [Sharma, 1993, Vidal, 1990].

8.1. Atteinte des organes lymphoïdes

- Aspects macroscopiques

Lors d'intoxication aiguë par les trichothécènes, et ce quelle que soit l'espèce, on note une dégénérescence voire une nécrose des cellules des organes lymphoïdes primaires et secondaires. Comme détaillé dans les parties précédentes, ces lésions sont cependant transitoires, les organes lymphoïdes se régénérant rapidement après l'arrêt du traitement par les trichothécènes.

Lors d'intoxication subaiguë ou chronique, ces lésions ne sont présentes qu'avec des doses élevées. La moelle osseuse parvient à se régénérer, des foyers d'hématopoïèse se reconstituent, notamment dans la rate chez la souris, mais le thymus et la bourse de Fabricius surtout s'atrophient et se fibrosent.

Le Tableau 37 récapitule les doses nécessaires à l'apparition de lésions des organes lymphoïdes.

Tableau 37 : Doses toxiques pour les organes lymphoïdes (mg/kg PV)

Espèce	Toxine		
	T-2	DAS	DON
Porc	0.13-3.2 mg/kg ; IV	0.3-0.5 mg/kg ; IV	0.5 mg/kg ; IV
Agneaux	0.3-0.6 mg/kg ; IG		
Poussin	2-2.7 mg/kg ; IG	2.5 mg/kg ; IG	
Souris	20 mg/kg* ; 6 sem.	5-15 mg/kg ; IP	60 mg/kg ; IP 100 mg/kg ; VO
Lapin	2-15 mg/kg ; IG		

* Dose exprimée en mg/kg de toxine dans l'aliment distribué

D'après Conner *et al.*, 1986, Forsell *et al.*, 1987, Friend *et al.*, 1983, Hoerr *et al.*, 1981, Richard *et al.*, 1978, Weaver *et al.*, 1978a, 1978c

- Aspects microscopiques

L'étude histologique des tissus lymphoïdes primaires et secondaires permet d'observer des différences de sensibilités entre populations leucocytaires et donne des pistes sur la cytotoxicité des trichothécènes à l'encontre du système immunitaire.

Après trois injections IP de 3 mg/kg PV de F-X chez des souris, on note une très nette atrophie thymique avec une disparition quasi complète du cortex. Le nombre de thymocytes est alors réduit à 2.2 % des valeurs des groupes de contrôle. Les cellules les plus atteintes sont les thymocytes CD4+ CD8+ (leur nombre est divisé par 400), alors que les thymocytes CD4+ CD8-, CD4- CD8+ et les cellules CD4- CD8- ne sont que peu affectés (réduction de l'ordre de 2-7 fois). Les cellules matures de la rate ne sont pas affectées par ce traitement. L'étude de cette atrophie thymique en microscopie électronique et *via* la fragmentation de l'ADN met en évidence une déplétion cellulaire par apoptose. Ceci démontre donc que le mécanisme de l'atrophie thymique due à la F-X est l'apoptose, et que les thymocytes peu différenciés y sont bien plus sensibles que les cellules différenciées. L'apoptose induite par les trichothécènes est étudiée dans le chapitre 9.6. L'apoptose [Miura *et al.*, 1998].

Cette sensibilité supérieure des précurseurs des cellules lymphoïdes se retrouve dans une étude évaluant les effets de la toxine T-2 administrée à des souris gestantes, par gavage à la dose de 1.2-1.5 mg/kg PV du 14^{ème} au 17^{ème} jour de la gestation. Les cellules du foie fœtal

exprimant les antigènes CD44 et CD45 (prolymphocytes) se montrent particulièrement sensibles à l'effet de la toxine. La réduction de l'expression de l'antigène CD45R démontre également une réduction significative du nombre de cellules lymphocytaires B. L'étude *in vitro* des populations cellulaires du foie fœtal, exposées à la toxine T-2, permet de mettre en évidence une population de prolymphocytes quasiment complètement éliminée, et ce de manière très sélective, par la toxine T-2. Ces cellules semblent proches des lymphocytes B CD45R+ [Holladay *et al.*, 1995].

Suite à l'administration de 1.75 mg/kg PV de toxine T-2 par gavage pendant 5 jours chez la souris adulte, on note une réduction d'une population de cellules CD44^{lo} et CD45R+ de la moelle osseuse similaires à celles observées dans le foie fœtal [Holladay *et al.*, 1995].

La cible des trichothécènes semble donc être les cellules lymphocytaires les moins différenciées, ces mycotoxines exerçant leur cytotoxicité en induisant une apoptose.

8.2. Altération de la formule sanguine

8.2.1. Toxicité aiguë

Les profils leucocytaires sont rapidement modifiés par l'administration de trichothécènes.

- Espèces domestiques

Suite à l'administration IV unique de doses faibles de toxine T-2 (10-25 % de la DL50) chez le porc, on ne note aucune altération de la formule sanguine [Weaver *et al.*, 1978c].

Chez le porc, avec des doses plus élevées de DAS (130-260 % de la DL50) on note une leucocytose transitoire (2-4 h) puis une leucopénie progressive s'accompagnant de la libération de nombreuses cellules blanches immatures, dont certaines sont anormales (notamment de la lignée myélocytaire), avec un virage à gauche des granulocytes neutrophiles (GNN). A la dose de 0.5 mg/kg PV IV, chez le chien et la génisse, on observe les mêmes altérations sans la leucocytose initiale [Coppock *et al.*, 1989].

- Espèces de laboratoire

Chez le rat :

- on observe 24 heures après une injection de 0.5 mg/kg PV (25-33 % de la DL50) de toxine T-2 en IP une leucopénie dose-dépendante. L'analyse de la formule leucocytaire permet d'observer une granulocytophilie, une légère lymphopénie et une sévère monocytopénie [Yarom *et al.*, 1984].
- l'administration IP de toxine T-2 à des doses atteignant 1 à 7 fois la DL50 entraîne une lymphopénie modérée pendant 2 jours, suivie d'une granulocytophilie puis d'un retour à la normale sous 2-3 jours [Bergers *et al.*, 1987].
- avec 3-5 injections quotidiennes de 0.5 mg/kg PV (25-33 % de la DL50) de toxine T-2 en IP, on observe 24 heures après la dernière injection une leucopénie dose-dépendante une granulocytopénie, une légère lymphocytose et une monocytopénie [Yarom *et al.*, 1984].

Chez la souris, l'administration de toxine T-2 en IP entraîne une lymphopénie dose-dépendante rapide suivie d'un retour à la normale. 24 heures après l'injection d'une dose supérieure à la DL50, on observe une granulocytophilie. Par contre, 24 heures après l'administration d'une dose inférieure à la DL50, on observe une granulocytopénie. Dans tous les cas, on observe par la suite une granulocytopénie suivie d'un retour progressif à la normale [Bergers *et al.*, 1987].

La population leucocytaire, suite à une administration unique de trichothécènes, présente donc une évolution complexe fonction de la dose et peut-être de l'espèce et de la toxine. Le faible nombre d'études disponibles ne permet en effet pas de conclure de manière claire. De plus, l'intérêt de certaines de ces observations est largement discutable au vu des doses utilisées, qui ne correspondent absolument pas aux niveaux de contamination observés, même les plus élevés.

8.2.2. Toxicité subaiguë

Lors d'administration prolongée, les études se partagent entre celles qui démontrent une leucopénie et/ou une lymphopénie, parfois précédées d'une leucocytose transitoire, et celles qui ne notent aucune altération de la formule leucocytaire.

On note une lymphopénie chez la souris :

- suite à l'administration pendant 71 semaines d'un aliment contenant 1.5-3 mg/kg de toxine T-2, ou pendant 6 semaines d'un aliment contenant 20 mg/kg de toxine T-2 [Hayes *et al.*, 1980a, Schiefer *et al.*, 1987].
- avec un aliment contenant 0.5-25 mg/kg de DON pendant 8 semaines, on rapporte une lymphopénie avec éosinopénie, monocytopénie et neutrophilie [Forsell *et al.*, 1986].

Une leucopénie est observée :

- Chez des singes recevant pendant 4 semaines 0.1 mg/kg PV de toxine T-2 par jour par intubation intragastrique [Jagadeesan *et al.*, 1982].
- Chez des porcs recevant un aliment contenant 10 mg/kg de toxine T-2 pendant 4 semaines, avec une diminution de toutes les populations leucocytaires, ou 0.5-3 mg/kg de toxine T-2 pendant 3 semaines, la leucopénie étant dose-dépendante [Harvey *et al.*, 1990, Rafai *et al.*, 1995].
- Chez des agneaux recevant 0.6 mg/kg PV de toxine T-2 dans l'aliment pendant 21 jours. La leucopénie est accompagnée d'une lymphopénie au bout de 7 jours. La lymphopénie se prolonge encore une semaine alors que la leucopénie se corrige progressivement, pour un retour complet à la normale au bout de trois semaines [Friend *et al.*, 1983].
- Chez le chat, en administrant 0.06-0.1 mg/kg PV de toxine T-2 par voie orale tous les deux jours, dans la cadre de la reproduction expérimentale de l'aleucie toxique alimentaire, la leucopénie apparaît progressivement par granulocytopénie et lymphopénie. On observe des GNN anormaux (« neutrophiles toxiques »). Cette leucopénie est précédée d'une leucocytose transitoire [Lutsky *et al.*, 1978, Lutsky & Mor, 1981]

De nombreuses études n'observent par contre aucune altération de la formule leucocytaire, comme indiqué dans le Tableau 38.

Tableau 38 : Protocoles expérimentaux ne provoquant pas d'altération de la formule leucocytaire (administration prolongée)

Espèce	Toxine		
	T-2	DAS	DON
Caneton	0.2-2 mg/kg ; 7 sem.		
Poulet	0.2-4 mg/kg ; 9 sem.		
Poule (repro)	1-8 mg/kg ; 8 sem.		
Agneaux		5 mg/kg ; 5 sem.	15.6 mg/kg PV ; 4 sem.
Porc	8 mg/kg ; 4 sem.	2-9 mg/kg ; 9 sem.	
Rat		1 mg/kg PV, 3 fois par sem. ; 5 sem.	

D'après Chi *et al.*, 1977a, 1977b, Harvey *et al.*, 1986, 1994, 1995, Janse van Rensburg *et al.*, 1987, Rafai *et al.*, 2000, Weaver *et al.*, 1981

Ces résultats sont donc parfois contradictoires (notamment chez le porc avec la toxine T-2), et il semble difficile d'en tirer des conclusions étant donné l'hétérogénéité des protocoles, des espèces et des toxines utilisées. Signalons que les effets observés sur les populations leucocytaires dépendent non seulement des morts cellulaires, mais aussi de la production de nouvelles cellules, de la mobilisation des réserves cellulaires extravasculaires, *etc.*

La diversité de ces résultats et leur manque de signification clinique poussent à étudier les effets des trichothécènes sur la fonction immunitaire. D'une part à travers des études de résistance aux agents pathogènes, d'autre part *via* l'étude des altérations du fonctionnement des cellules immunitaires.

8.3. Altération de la sensibilité aux agents infectieux

L'étude de l'immunotoxicité des trichothécènes a été motivée par les troubles hématologiques observés dans l'aleucie toxique alimentaire et par l'augmentation de l'incidence ou de la sévérité de certaines maladies ou parasitoses lors de la reproduction expérimentale de mycotoxicoses (Partie 1. Mycotoxicoses).

L'étude de la sensibilité aux maladies suite à l'administration de toxines permet d'apprécier l'effet immunomodulateur global des trichothécènes. La connaissance de l'effet exact de la pathogénie des agents utilisés permet en outre de comprendre quelles phases de la réponse immunitaires sont altérées.

Pour mieux comprendre les études suivantes il est utile de rappeler les mécanismes présidant à la réponse immunitaire contre *Listeria*, HSV1 et *Salmonella*.

Lors d'infection par *Listeria* chez la souris, l'organisme se défend tout d'abord grâce à ses macrophages et granulocytes neutrophiles qui agissent de façon non sélective. Au bout de deux jours, la réaction immunitaire spécifique est essentiellement cellulaire, mettant en jeu les lymphocytes T CD8+ (LT) et une activation des macrophages. Ce sont également des mécanismes de l'immunité à médiation cellulaire qui sont mis en œuvre contre les salmonelles et l'Herpes Virus Simplex de type 1 (HVS1) [Corrier & Ziprin, 1986, 1987, Friend *et al.*, 1983b, Petska *et al.*, 1987b, Tryphonas *et al.*, 1986, Ziprin & Corrier, 1987, Ziprin *et al.*, 1987].

Les données concernant la réponse immunitaire spécifique à médiation humorale font par contre défaut. Certaines études ont été menées en utilisant des salmonelles, en s'appuyant sur des données erronées (la réponse immunitaire dirigée contre les salmonelles était considérée comme une réponse immunitaire à médiation humorale) [Boonchuvit *et al.*, 1975, Tai & Petska, 1988].

Ces éléments ayant été précisés voyons les principaux effets des trichothécènes sur ces infections. Les effets immunodépresseurs puis les paradoxaux effets immunostimulateurs seront successivement présentés.

8.3.1. Immunodépression

Chez le rat, après injection IP de 0.5 mg/kg PV de toxine T-2 pendant 1-5 jours, la réponse immunitaire non spécifique à l'injection IM de *Staphylococcus aureus* est diminuée de manière dose-dépendante, pour être quasiment annulée après le traitement de 5 jours : les macrophages et GNN sont rares dans le foyer infectieux, et ne phagocytent pas les bactéries [Yarom *et al.*, 1984].

Chez la souris, l'administration de trichothécènes avant et/ou pendant une infection par *Listeria* entraîne les conséquences suivantes :

- l'administration de 4-6 mg/kg PV de DAS *in toto* par gavage pendant les deux jours avant l'inoculation de *Listeria* entraîne une augmentation dose-dépendante de la mortalité. Le comptage bactérien splénique ne révèle aucun effet les deux jours suivant l'inoculation, mais

une augmentation très nette du nombre de *Listeria* au bout de 5 jours. L'administration de 2 mg/kg PV de DAS selon le même protocole n'entraîne par contre aucune modification de la cinétique de l'infection, pas plus qu'une administration unique de 4 mg/kg PV de DAS 6 jours avant l'infection à *Listeria* [Ziprin & Corrier, 1987]

- l'administration de 1-2 mg/kg PV de toxine T-2 par gavage le jour de l'inoculation de *Listeria* et les trois jours suivants entraîne une augmentation de la mortalité et une réduction de la durée de vie pour la dose de 2 mg/kg PV. Les comptages bactériens spléniques sont augmentés de manière dose-dépendante 2 et 5 jours après l'inoculation [Corrier & Ziprin, 1987].

- l'administration de 0.25-1 mg/kg PV de DON pendant 5 semaines dans un aliment contaminé n'entraîne pas d'augmentation de la mortalité mais une diminution dose-dépendante de l'espérance de vie suite à l'inoculation de *Listeria* [Tryphonas *et al.*, 1986].

- l'administration de 5-25 mg/kg de DON pendant deux semaines dans un aliment contaminé entraîne une augmentation du comptage splénique de *Listeria* dès un jour, et quatre jours après l'inoculation. Des résultats équivalents sont obtenus entre un groupe soumis au régime contenant 25 mg/kg de DON et un groupe de contrôle soumis à une restriction alimentaire correspondant à la baisse de consommation du groupe traité. Ces résultats tendraient donc à prouver que la baisse des défenses immunitaires serait simplement due, dans ce cas, à la dénutrition [Petska *et al.*, 1987b].

Si la consommation d'un aliment contenant 5 mg/kg de DON est commencée 8 semaines avant le challenge infectieux, on ne note pas d'augmentation du nombre de *Listeria* spléniques un et quatre jours après l'inoculation (52^{ème} jour du traitement). Cette différence avec les résultats obtenus lors du traitement durant 2 semaines peut s'expliquer soit par la meilleure immunocompétence des souris, alors plus âgées, soit par une tolérance acquise à la mycotoxine [Petska *et al.*, 1987b]. Cette dernière hypothèse semble vraisemblable étant donné la faiblesse de la dose pour des souris adultes et la régénération de l'hématopoïèse observée chez les souris lors d'intoxication subaiguë par les trichothécènes.

Chez la souris, des résultats similaires sont obtenus lors de l'inoculation de grandes quantités d'Herpès Virus Simplex de type 1 (HSV1) suite à la consommation d'un aliment contenant 10-20 mg/kg de toxine T-2 pendant 2-3 semaines. On note une augmentation dose-dépendante de la mortalité, ainsi que de l'étendue et de la sévérité des lésions [Friend *et al.*, 1983b].

Chez la souris, l'administration de toxine T-2 à la dose de 1 mg/kg PV par gavage un jour sur deux pendant trois semaines à partir du jour d'inoculation de *Salmonella typhimurium* entraîne une augmentation de la gravité des symptômes et de la mortalité. On observe des effets semblables lors d'une administration unique de toxine T-2 à J-1, J5 ou J9 par rapport à l'inoculation. L'observation de la cinétique de l'infection dans la rate permet en outre de mettre en évidence un effet plus sévère de la toxine sur la mise en place de l'immunité spécifique par rapport à la réponse précoce. Les effets sont par contre moindres, voir presque nuls à mesure que l'on s'éloigne de la date de l'inoculation (administration à J9-13-23). Ceci met en évidence un faible effet de la toxine sur la réponse immunitaire spécifique une fois celle-ci enclenchée [Tai & Petska, 1988].

Chez le poussin, la consommation d'un aliment contenant 16 mg/kg de toxine T-2 pendant trois semaines avant inoculation de salmonelles entraîne une augmentation de la mortalité. La réponse immunitaire à médiation humorale est inhibée, comme le démontre l'absence d'élévation du taux d'anticorps [Boonchuvit *et al.*, 1975].

On observe donc une diminution des défenses immunitaires non-spécifiques (basées essentiellement sur les macrophages et les granulocytes neutrophiles) et de la réponse immunitaire spécifique à médiation cellulaire (faisant intervenir les macrophages, les LTh et les LT cytotoxiques). Ces effets sont dose-dépendants. Il faut cependant noter que pour la toxine T-2 et le DAS, ces résultats ont été obtenus avec des doses très supérieures à celles observées lors de contamination spontanée des aliments. Pour le DON, par contre, l'immunodépression observée dans ces études pourrait très bien apparaître dans le cadre d'une intoxication spontanée.

8.3.2. Immunostimulation

Un effet paradoxal a été remarqué chez la souris suite à l'administration de 0.5-2 mg/kg PV de toxine T-2 aux jours -5, -4, -3, -2, -1, +1 et +3 par rapport à l'inoculation de *Listeria*, ou pendant les 5 jours précédent l'inoculation. On remarque en effet une importante diminution dose-dépendante de la mortalité. Parmi les hypothèses avancées, la stimulation non-spécifique des macrophages par les bactéries traversant la muqueuse digestive suite aux lésions provoquées par la toxine T-2 a été écartée, ainsi que la stimulation de la myélopoïèse due au LPS bactérien (aucun effet d'un traitement antibiotique simultané sur la résistance à la listériose, absence de macrophages immunoactivés). L'effet d'un jeûne aigu, reconnu comme

facteur de résistance à la listériose, est également abandonné puisque un groupe de contrôle recevant la même quantité d'aliment que celle consommée par les souris traitées se montre aussi sensible que le groupe de contrôle, qui ne subit que l'inoculation. De plus, un jeûne intense entraîne une cinétique de résistance différente de celle observée avec la toxine T-2 [Corrier & Ziprin, 1986, Ziprin *et al.*, 1987].

Cette immunostimulation trouve un écho dans les observations réalisées *in vitro* et *ex vivo* à partir de populations leucocytaires, effectivement stimulées par les trichothécènes (8.5.2. Réponse immunitaire spécifique).

8.4. Altération de la sensibilité aux tumeurs

Les défenses immunitaires contre les cellules cancéreuses, orchestrée par les LT cytotoxiques et les cellules *natural killer* (NK), est également diminuée par les trichothécènes.

Suite à l'administration par gavage de 2 mg/kg PV pendant 5 jours ou d'une dose unique de 4 mg/kg PV de toxine T-2, la susceptibilité à différentes cellules tumorales administrées par injection sous-cutanée (mélanomes B16F1, sarcomes TNM, ascites carcinomateuses d'Ehrlich) est augmentée. L'effet est plus marqué suite au traitement de 5 jours qu'à celui à dose unique. Il est intéressant de noter que plusieurs semaines après le traitement, les tumeurs induites par l'injection de cellules de l'ascite carcinomateuse d'Ehrlich ont régressé tant chez les souris des groupes de contrôle que chez celles ayant reçu la toxine T-2, ce qui implique que l'action au long terme du système immunitaire contre ces cellules n'est pas altérée [Corrier *et al.*, 1988].

8.5. Exploration spécifique du système immunitaire

Ce chapitre a pour objectif d'étudier les mécanismes de l'altération de la réponse immunitaire non spécifique, puis des réponses immunitaires spécifiques à médiation humorale et cellulaire. Enfin, l'étude de l'altération des synthèses d'immunoglobulines et d'interleukines permettra de faire le lien avec la modulation des synthèses macromoléculaires (chapitre suivant).

8.5.1. Réponse immunitaire non spécifique

La réponse immunitaire non spécifique repose essentiellement sur l'inflammation et sur l'activité phagocytaire non spécifique des macrophages et des granulocytes neutrophiles. Elle constitue la première ligne de défense immunitaire contre les infections.

Rares sont les études consacrées à la modulation de la réaction inflammatoire par les trichothécènes. Chez des souris recevant un aliment contaminé à hauteur de 0.5 mg/kg de DON pendant 5 semaines, on note une légère diminution des taux sériques d' α_2 - et β -globulines, alors qu'à la dose de 1 mg/kg de DON, on note une diminution des taux sériques d' α_1 - et α_2 -globulines. L'effet est dose-dépendant pour les α_2 -globulines. Ceci suggère une diminution modérée de la réaction inflammatoire de ces souris³ [Tryphonas *et al.*, 1986].

Les effets de la toxine T-2 ont été explorés sur les GNN en culture. Les principaux résultats obtenus sont :

- une diminution du chimiotactisme dès la dose de 3 $\mu\text{g}/10^6$ cellules.
- une diminution de la LDCL (*luminol-dependant chemiluminescence*) induite par des streptocoques opsonisés pour des doses de 1-20 $\mu\text{g}/10^6$ cellules.
- une diminution de l'index phagocytaire (nombre de bactéries phagocytées par les GNN, cultures traitées *vs* cultures contrôles) dès la dose de 3 $\mu\text{g}/10^6$ cellules.
- d'importants dégâts des GNN à partir de la dose de 300 $\mu\text{g}/10^6$ cellules. Les cellules mononucléées sont, à cette dose, structurellement peu affectées [Yarom *et al.*, 1984].

Chez le singe, l'administration de toxine T-2 à la dose de 0.1 mg/kg PV par gavage pendant 4 semaines entraîne une diminution de l'activité bactéricide des GNN [Jagadeesan *et al.*, 1982].

Cependant, une étude réalisée chez de jeunes porcs ingérant un aliment contenant 0.5-3 mg/kg de toxine T-2 pendant trois semaines, soit une dose quotidienne d'environ 0.04-0.16 mg/kg PV, ne trouve aucune diminution de l'activité phagocytaire (proportion de cellules phagocytant au moins un élément) et de l'index phagocytaire. De même, chez le veau, l'administration de 0.3 mg/kg de toxine T-2 par gavage pendant 7 semaines n'entraîne aucune

³ Les α_1 - et α_2 -globulines sont des protéines de la phase aiguë de l'inflammation (haptoglobuline, α_2 -macroglobuline, céroloplasmine) – mais aussi des lipoprotéines sans rapport avec l'immunité (HDL et LDL) – et les β -globulines des protéines de l'inflammation (globulines du complément C3 et C4, transferrine et ferritine, protéine C réactive, fibrinogène, *etc.*).

conséquence sur les capacités de chimiotactisme, migration, phagocytose et bactéricidie des GNN [Mann *et al.*, 1984, Rafai *et al.*, 1995].

Ces résultats contradictoires tendent cependant à démontrer une très nette diminution d'activité des cellules phagocytaires *in vitro*, à rapprocher des résultats obtenus *in vivo* dans les études de résistance aux infections (Partie 3. 8.3.1. Immunodépression). En considérant la sensibilité des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses digestives (GALT), ces résultats suggèrent une diminution de l'immunité non spécifique et donc de la première ligne de défense immunitaire contre les infections [Jagadeesan *et al.*, 1982, Yarom *et al.*, 1984].

8.5.2. Réponse immunitaire spécifique

Les résultats très différents observés lors d'études *in vitro* et *in vivo* (ou *ex vivo*) amènent à les présenter séparément avant d'envisager les conclusions globales pouvant en être tirées. De même, la séparation des études consacrées aux réactions immunitaires à médiations cellulaire et humorale, bien qu'artificielle au vu de leurs nombreuses interactions, permet de faciliter la présentation et la compréhension de l'immunotoxicité des trichothécènes.

8.5.2.1. Réponse immunitaire à médiation humorale

8.5.2.1.1. Etudes *in vivo* et *ex vivo*

- Effets des trichothécènes sur la synthèse d'immunoglobulines

L'existence d'une relation dose-dépendante des effets des trichothécènes sur le système immunitaire, et notamment sur la synthèse d'immunoglobulines, amène à présenter les résultats par dose croissante.

Chez le porc, l'administration de 15 mg/kg PV de toxine T-2 en topique cutané, suite à une immunisation par des GRM aux jours 0 et 21 de l'étude, n'entraîne pas d'altération de la réponse en anticorps aux GRM [Pang *et al.*, 1987b].

Chez la souris :

- l'administration de 0.5-1 mg/kg PV de DON pendant 5 semaines n'induit pas d'altération de la réponse en anticorps à l'immunisation par des globules rouges de mouton

(GRM). Le niveau total d'immunoglobulines sériques n'est pas affecté non plus [Tryphonas *et al.*, 1986].

- la consommation d'un aliment contenant 2.5-10 mg/kg de 3-ADON pendant 5 semaines n'entraîne pas d'altération de la réaction en anticorps aux GRM (réponse T-dépendante), au DNP-ficoll (réponse T-indépendante et macrophages-dépendante) et à *E. coli* O127 (réponse T-dépendante et macrophages-indépendante) [Tomar *et al.*, 1987].

- l'injection IP de 5-10 µg de F-X pendant 7 jours n'influe pas significativement sur la synthèse d'immunoglobulines. Aux doses de 25-50 µg, par contre, la réponse humorale est fortement diminuée 2-3 semaines après immunisation ou stimulation au mitogène pokeweed (PWM – mitogène pour le cellules B, T-dépendant), et ce dès la première injection. A noter que cet effet de la toxine n'est observé que si elle est administrée avant immunisation. Injectée selon le même protocole à partir de l'immunisation, son effet est bien moindre [Masuda *et al.*, 1982a, 1982b].

Toujours avec des souris :

- la consommation d'un aliment contaminé par 2-10 mg/kg de DON pendant 6 semaines entraîne une augmentation dose-dépendante des immunoglobulines A (IgA) sériques et une diminution dose-dépendante des IgM sériques. A un niveau de contamination de 25 mg/kg de DON dans l'aliment, la quantité d'IgA est par contre inférieure au niveau atteint pour 10 mg/kg de DON, tout en restant supérieure aux valeurs des groupes de contrôle [Forsell *et al.*, 1986].

- la consommation d'un aliment contenant 2-50 mg/kg de DON pendant 24 semaines entraîne, dès 4 semaines à 25 mg/kg, une augmentation des IgA sériques atteignant 17 fois le niveau basal au bout de 24 semaines.

- L'augmentation maximale est obtenue avec un dosage de 25 mg/kg.
- On observe également une commutation des IgA monomériques vers les IgA polymériques (qui est physiologiquement la forme majoritaire des IgA dans le sang).
- Le niveau des IgA salivaires et intestinales (IgA sécrétoires) n'est pas altéré.

Par ailleurs, la consommation d'un aliment contaminé par 25 mg/kg de DON pendant 8 semaines induit une différenciation *ex vivo* des LB issus des plaques de Peyer en plasmocytes producteurs d'IgA si rapide qu'elle suggère qu'*in vivo*, cette différenciation ait lieu directement dans les plaques de Peyer au lieu de se dérouler sur le site de l'infection – la *lamina propria*. Ceci pourrait expliquer l'augmentation des IgA sériques sans augmentation des IgA sécrétoires digestives.



- En outre on observe, de manière concomitante, une stagnation ou une diminution des niveaux d'IgG et IgM.
- La viabilité des lymphocytes n'est pas modifiée (l'augmentation de la production d'IgA ne vient donc pas d'une augmentation de la durée de vie des plasmocytes) mais ceux-ci sont plus nombreux *in vivo*, observation qui se confirme *ex vivo*.
- *Ex vivo*, la mise en culture des splénocytes de ces souris démontre que la production d'IgA est augmentée tant en présence de LPS qu'en son absence.
- Avec de la concanavaline A (Con A), plus spécifique des populations T, cette production d'IgA est diminuée (sans toutefois atteindre celle des contrôles), un effet qui peut s'expliquer par la stimulation des LT suppresseurs [Bondy & Petska, 1991, Petska *et al.*, 1989].
- L'administration de 0.9-1.2 mg/kg PV de toxine T-2 par gavage pendant 3 semaines induit une augmentation du nombre de cellules produisant des immunoglobulines [Cooray & Lindhal-Kiessling, 1987].
- Cet effet immunostimulateur se fait ressentir même lors d'intoxication aiguë : l'administration de 25 mg/kg de DON par gavage deux heures avant euthanasie et mise en culture des cellules de la rate et des plaques de Peyer permet d'observer une augmentation de la production d'IgA avec ou sans lipopolysaccharide (LPS, activateur des LB et des macrophages) ou PMA+IONO (phorbol myristate acétate + ionomycine, activateur des LB et surtout des LT) – cette augmentation étant plus marquée dans les cultures en présence de LPS que de PMA+IONO, ce qui cadre encore une fois avec une induction des LT suppresseurs par les mitogènes plus spécifiques des populations T [Yan *et al.*, 1986].

Lors d'intoxication subaiguë par des doses de trichothécènes stimulant la production d'IgA, et entraînant en conséquence une augmentation des IgA polymériques sériques et des complexes immuns IgA circulants, on observe une accumulation mésangiale d'IgA chez toutes les souris traitées selon un schéma proche de la néphropathie humaine causée par les IgA. L'injection IP des IgA monoclonales produites en culture par des lymphocytes de souris traitées par le DON permet de reproduire très fidèlement ce schéma anatomo-pathologique, avec accumulation d'IgA, d'IgG et de fragment C3 de complément. La toxicité pour le glomérule est confirmée par une augmentation dose-dépendante de l'hématurie [Petska *et al.*, 1989, Yan *et al.*, 1998a].

In vivo comme *ex vivo*, les trichothécènes n'ont, à faible dose, aucune incidence sur la synthèse d'immunoglobulines. A des doses plus élevées, par contre (entre 10-25 mg/kg de DON, les seuils variant selon les conditions expérimentales), on note une commutation isotypique se traduisant par augmentation de la synthèse d'IgA et une stagnation ou une diminution de la production d'IgM et d'IgG. Cette synthèse accrue passe notamment par une augmentation du nombre de plasmocytes. Cette différenciation aurait lieu dans les plaques de Peyer plutôt que dans les tissus cibles habituels, expliquant l'augmentation des IgA sériques sans augmentation des IgA sécrétoires.

- Etude *in vivo* et *ex vivo* des effets des trichothécènes sur la prolifération cellulaire

Chez la souris, l'administration de 0.5-1 mg/kg PV de DON ou d'un aliment contenant 2.5-10 mg/kg de 3-ADON pendant 5 semaines n'induit pas d'altération de la réponse des cellules spléniques aux agents mitogènes tels que la phytohémagglutinine P (PHA-P), la Con A ou le LPS [Tomar *et al.*, 1987, Tryphonas *et al.*, 1986].

Chez le porc, l'administration de 15 mg/kg PV de toxine T-2 en topique cutané induit une réponse diminuée au PWM (mitogène T-dépendant pour les LB) à doses optimale (le mitogène seul suffit à induire la prolifération) comme sub-optimale (la présence de macrophages – et de l'IL-2 qu'ils produisent – est nécessaire pour que le mitogène soit efficace). La réponse au LPS (mitogène pour les LB) n'est par contre pas altérée, à concentration optimale comme sub-optimale [Pang *et al.*, 1987b].

Chez le veau recevant 0.3 mg/kg PV de toxine T-2 par gavage pendant 8 semaines, la réponse *in vivo* des LB à la PHA est légèrement augmentée à 7 jours, fortement diminuée à 14 jours et revient à la normale à 42 jours. La réponse *ex vivo* des LB isolés de veau recevant 0.5 mg/kg PV de toxine T-2 pendant 4 semaines est par contre fortement diminuée jusqu'à 7 jours, pour revenir ensuite aux valeurs normales [Mann *et al.*, 1984].

A faibles doses, on observe donc, comme pour la synthèse d'immunoglobulines une absence d'effets des trichothécènes. A des doses plus élevées, les rares études démontrent immunodépression et immunostimulation selon les doses et le moment du test par rapport au début de l'intoxication.

8.5.2.1.2. Etudes *in vitro*

- Effets des trichothécènes sur la synthèse d'immunoglobulines

Dans une culture de lymphocytes humains stimulés au PWM, la synthèse d'immunoglobulines est inhibée par le NIV et le DON pour des valeurs équivalentes à celles qui inhibent la prolifération cellulaire, soit entre 160-600 ng/mL pour les IgA, IgG et IgM. Par contre, les IC50 pour la synthèse d'immunoglobulines en présence de toxine T-2 sont deux à trois fois supérieures à celle de la prolifération cellulaire (soit environ 3 ng/mL). Pour le DAS, seule l'IC50 de la synthèse d'IgG diffère significativement de l'IC50 de la prolifération cellulaire [Thuvander *et al.*, 1999].

A des concentrations inférieures, par contre, l'ajout de trichothécène dans la culture de lymphocytes humains en présence de PWM stimule la synthèse d'immunoglobulines. L'effet est plus marqué pour les IgA que les IgG et IgM. En outre, la toxine T-2, par rapport au DAS, au NIV et au DON, est le plus puissant stimulateur de la synthèse d'immunoglobulines. Les concentrations les plus élevées stimulant cette synthèse sont de l'ordre de 1 ng/mL pour la toxine T-2, 2 ng/mL pour le DAS, 100 ng/mL pour le NIV et 200 ng/mL pour le DON. A ces niveaux, qui représentent environ un tiers des IC50 de la synthèse d'immunoglobulines, la prolifération induite par les mitogènes est réduite d'environ 25 % [Thuvander *et al.*, 1999].

On observe donc, *in vitro* comme *in vivo*, une stimulation de la synthèse d'immunoglobulines pour des faibles doses de trichothécènes. A doses plus élevées, cette synthèse est inhibée. Si l'on ne retrouve pas ce dernier effet *in vivo*, il faut aussi prendre en compte l'absence d'études utilisant des doses élevées de toxines.

- Etude *in vitro* des effets des trichothécènes sur la prolifération cellulaire

In vitro, à partir d'une concentration de 100 ng/mL de 3-ADON la réponse de splénocytes murins au mitogène LPS est fortement inhibée. Cette réponse est supprimée à 400 ng/mL. Pour la fusarénone-X, cet effet est détecté vers 10 ng/mL, et la prolifération est complètement inhibée pour environ 750 ng/mL. Les concentrations capables d'inhiber la réponse de 50 % sont données dans le Tableau 39. L'effet de la toxine est également temps-dépendant : la prolifération des cellules sous l'influence du LPS est diminuée de manière inversement

proportionnelle au temps laissé entre le début de la culture et l'ajout du 3-ADON [Masuda *et al.*, 1982a, Tomar *et al.*, 1987].

Sur une culture de lymphocytes humains stimulés à la PHA ou au PWM, le plus puissant inhibiteur de la prolifération est la toxine T-2, 3 fois plus puissante que le DAS, 200 fois plus puissante que le NIV et 300 fois plus puissante que le DON (en termes d'IC50) [Thuvander *et al.*, 1999].

Le 3-ADON stimule la prolifération cellulaire lorsqu'il est ajouté seul à un milieu de culture de cellules spléniques [Tomar *et al.*, 1987].

Tableau 39 : Concentration en trichothécènes inhibant à 50 % la réponse des lymphocytes à différents agents mitogènes

Toxines (ng/mL)	Mitogènes					
	Con A	LPS	PHA		PWM	
	Souris	Souris	Homme	Rat	Souris	Homme
3-ADON	187	167	450	1060	230	
DON			90-430	220		380
NIV			350			270
F-X	50	500			50	
T-2			1.4			1.1
DAS			4			4

D'après Atkinson & Miller, 1984, Masuda *et al.*, 1982a, Meki *et al.*, 2001, Thuvander *et al.*, 1999, Tomar *et al.*, 1987.

In vitro, les doses employées sont donc exclusivement inhibitrices concernant la prolifération lymphocytaire suite à l'utilisation de mitogènes spécifiques des cellules B. Les données *in vivo* disponibles tendent à démontrer une semblable inhibition de la prolifération des lymphocytes, mêmes si certaines concentrations font entrevoir une stimulation.

8.5.2.2. Réponse immunitaire à médiation cellulaire

8.5.2.2.1. Etude *in vivo* et *ex vivo*

Chez le canard consommant pendant 7 semaines un aliment contenant 0.2-4 mg/kg de toxine T-2, on note une diminution non dose-dépendante de la réponse à la PHA et à la Con A [Rafai *et al.*, 2000].

Chez le porc, la consommation d'un aliment contenant 0.5-3 mg/kg de DON pendant 3 semaines induit une diminution nette de la réponse des leucocytes à la PHA et la Con A

(toutes deux mitogènes spécifiques des LT). Cette diminution commence à apparaître à J7 pour se confirmer à J21 [Rafai *et al.*, 1995].

Toujours chez le porc, l'administration de 15 mg/kg PV de toxine T-2 en topique cutané induit une réponse diminuée à la PHA et à la Con A à doses optimale (le mitogène seul suffit à induire la prolifération) comme sub-optimale (la présence de macrophages – et de l'IL-1 qu'ils produisent – est nécessaire pour que le mitogène soit efficace) [Pang *et al.*, 1987b].

Chez le veau, l'administration de 0.3 mg/kg PV de toxine T-2 par gavage pendant 8 semaines entraîne une diminution de la réponse à la PHA injectée en intradermique. Cette réaction est clairement diminuée à 14 jours, avant de rejoindre progressivement les valeurs normales au bout de 6 semaines. *Ex vivo*, les cellules T isolées de veau recevant 0.5 mg/kg de toxine T-2 pendant 4 semaines répondent moins bien à la PHA au bout de 19 jours, avant de voir leur réponse augmentée à 28 jours [Mann *et al.*, 1984].

Chez la souris, l'administration de 25-50 µg IP de F-X pendant 7 jours induit *ex vivo* une diminution de la réponse des cellules spléniques à la Con A [Masuda *et al.*, 1982a].

Chez la souris, la consommation de 0.5-1 mg/kg PV de DON dans l'aliment pendant 5 semaines induit une augmentation de la réponse à la PHA [Tryphonas *et al.*, 1986]

Chez l'agneau, l'administration de 5 mg/kg de DAS dans l'aliment pendant 5 semaines n'entraîne aucune altération de la réponse blastogène à la PHA (mitogène spécifique des LT) [Harvey *et al.*, 1995].

On observe donc encore une fois, selon les espèces et les protocoles employés, une absence d'effet, une dépression ou une stimulation de la prolifération cellulaire après administration de trichothécènes. Les doses inhibant la prolifération cellulaire des LT sont sensiblement les mêmes que celles qui inhibent la prolifération des LB.

8.5.2.2. Etude *in vitro*

Dans le cas du DON, de faibles concentrations pendant la culture (0.005-0.5 ng/mL) augmentent la prolifération induite par la PHA, et l'incorporation de thymidine de 130 %. Cet effet ne se retrouve pas avec du 3-ADON [Miller & Atkinson, 1986].

A de plus fortes concentrations de DON (50-100 ng/mL), de 3-ADON (200 ng/mL), de F-X (à partir de 50 ng/mL) ou de toxine T-2 (1-2 ng/mL) la prolifération induite par la PHA est

inhibée, et l'incorporation de thymidine réduite à 50-60 % des valeurs des groupes de contrôles. Cette inhibition est dose-dépendante. La prolifération est réduite à néant pour une concentration de 400 ng/mL de 3-ADON. La réponse des lymphocytes spléniques de souris à la Con A est également diminuée à partir de 50 ng/mL de F-X. Les concentrations capables d'inhiber la réponse de 50 % (IC50) sont données dans le Tableau 39 [Berek *et al.*, 2001, Masuda *et al.*, 1982a, Meky *et al.*, 2001, Miller & Atkinson, 1986, Tomar *et al.*, 1987].

Cette action des trichothécènes sur la prolifération cellulaire varie également selon la durée et le moment de l'incubation en présence de la toxine :

- à la concentration de 90 ng/mL de DON ou de 220 ng/mL de 3-ADON, la réponse à la PHA n'est pas diminuée si la toxine n'est laissée en présence des cellules que pendant une heure avant incubation – elle est même augmentée dans le cas du DON, avec une incorporation de thymidine atteignant les 130 % des valeurs de contrôle [Miller & Atkinson, 1986].
- avec la PHA, si l'effet inhibiteur de la prolifération est net lorsque le 3-ADON est ajoutée dans les 8 premières heures, celui-ci devient quasiment nul ensuite [Tomar *et al.*, 1987].

Les trichothécènes nuisent également à la viabilité de LTh spléniques murins :

- ils exercent leurs effets cytotoxiques dès 5 jours de culture en présence de 50-500 ng/mL de DON, une constatation cohérente avec les concentrations nécessaires pour inhiber la réponse aux mitogènes.
- par contre, si l'on observe entre les troisième et septième jours de culture cette même toxicité en présence de PMA+IONO, meilleur activateur de la blastogenèse lymphocytaire que la Con A, au bout de 9 jours, le nombre de cellules viables augmente. A des doses supérieures, la prolifération est inhibée en permanence [Azcona-Oliveira *et al.*, 1995b, Ouyang *et al.*, 1996a].

D'autres études réfutent cette atteinte de la viabilité des lymphocytes par des concentrations semblables de DON et 3-ADON [Atkinson & Miller, 1984].

La toxicité relative des différents trichothécènes se retrouve donc autant *in vitro* avec des cultures lymphocytaires qu'*in vivo* dans le cadre des mycotoxicoses, comme observé dans la Partie 1. Sur une culture de lymphocytes humains stimulés à la PHA ou au PWM, le plus puissant inhibiteur de la prolifération est la toxine T-2, 3 fois plus puissante que le DAS, 200 fois plus puissante que le NIV et 300 fois plus puissante que le DON (en termes d'IC50).

Cependant, de rares études démontrent que comme dans le cas des LB, de très faibles concentrations de toxine peuvent avoir un effet stimulant sur la prolifération des lymphocytes T [Thuvander *et al.*, 1999].

In vitro, la toxine T-2 (à partir de 50 ng/mL, plus basse concentration testée) et le DON (à partir de 50 ng/mL, plus basse concentration testée) inhibe la cytotoxicité dépendante des anticorps de lymphocytes humains. Cet effet est dose-dépendant pour la toxine T-2, dont les effets se feraient probablement sentir à des concentrations inférieures qui n'ont malheureusement pas été testées [Berek *et al.*, 2001].

In vitro, le DON, le NIV et la toxine T-2 inhibe l'activité des cellules *natural killer* (NK) humaines de manière dose-dépendante à partir de 50 ng/mL pour le DON et la toxine T-2, 10 ng/mL pour le NIV (plus basses concentrations testées), ce qui est cohérent avec la diminution des défenses lors d'injection de cellules tumorales (8.4. Altération de la sensibilité aux tumeurs) [Berek *et al.*, 2001].

Comme le démontre ces deux dernières études, l'immunotoxicité des trichothécènes, largement explorée sur le plan de la blastogenèse, se retrouve également dans des études plus fonctionnelles de l'immunité, à travers leur inhibition de l'activité NK et de la cytotoxicité dépendante des anticorps. Cette inhibition a été démontrée à des doses équivalentes à celles qui inhibent la prolifération cellulaire.

8.6. Etude des mécanismes de l'immunotoxicité

8.6.1. Modulation de la synthèse d'immunoglobulines

L'étude *ex vivo* des populations cellulaires de rates de souris traitées pendant une semaine par des injections IP de 25-50 µg de F-X avant immunisation démontre un diminution nette de la population de LT auxiliaire (ou LT *helper*, LTh, CD4+ CD8-) [Masuda *et al.*, 1982a].

Des expériences de reconstruction des populations cellulaires spléniques avec des populations sIg+ et sIg- (immunoglobulines de surface présentes, sIg+, ou non : sIg-) entre souris traitées par 25-50 µg IP de F-X et souris de contrôle démontrent que le pouvoir suppresseur de la synthèse des immunoglobulines réside dans la population sIg-, composée de LT, macrophages et granulocytes. Cette activité suppressive est perdue lorsque l'on retire de

la fraction sIg- les macrophages et GNN pour ne garder que les LT. On la retrouve avec les macrophages et GNN sans LT. Ces résultats tendent à prouver que les LB et LT ne sont pas directement affectés par le traitement *in vivo* par la F-X, au contraire des cellules sIg- non lymphocytaires. Ces cellules suppressives démontrant des propriétés d'adhésion, il est plus probable qu'il s'agisse de macrophages que de GNN [Masuda *et al.*, 1982a, 1982b].

A l'inverse, *ex vivo*, la mise en culture des splénocytes de souris alimentées pendant 24 semaines avec un aliment contenant 2-50 mg/kg de DON – et chez lesquelles la production d'IgA est augmentée *in vivo* - démontre que si la production d'IgA est augmentée tant en présence de LPS qu'en son absence, avec de la Con A, plus spécifique des populations T, cette production d'IgA est diminuée (sans toutefois atteindre celle des contrôles), un effet qui peut s'expliquer par la stimulation des LT suppresseurs [Petska *et al.*, 1989].

Le rôle des LT est confirmé dans une étude mêlant LB de souris non traitées par les trichothécènes et LT de souris ayant reçu du DON dans l'aliment pendant 8 semaines. En effet la différenciation de ces LB en plasmocytes producteurs d'IgA a lieu en présence de Con A, mitogène spécifique des cellules T [Bondy & Petska, 1991].

L'effet immunomodulateur des trichothécènes sur la synthèse d'immunoglobulines passe donc, comme le démontre ces études, par une action sur les cellules régulatrices de l'immunité plutôt que *via* une action directe sur les populations B. Ces effets, encore peu clairs, dépendent de l'équilibre relatif de l'action des LTh, LT suppresseurs et macrophages et/ou GNN. Toutes ces cellules agissent principalement *via* deux moyens de communication intercellulaires : le contact direct, important mais pas indispensable, et la synthèse d'interleukines.

8.6.2. Le rôle des interleukines dans l'immunotoxicité des trichothécènes

Les interleukines sont des cytokines produites – entre autres – par les leucocytes. Elles participent d'un dense réseau de communications intercellulaires dont les effets ne se limitent pas au seul système immunitaire. Les sources et principaux effets immunologiques des interleukines étudiées sont rappelés dans le Tableau 41.

L'étude des effets des trichothécènes sur la production et la libération des interleukines est forcément complexe : probablement fortement influencée par les conditions expérimentales tant *in vitro* qu'*in vivo*, l'action d'une interleukine ne peut de plus être envisagée seule, chacune d'entre elle pouvant altérer l'activité des autres *via* la modulation de leur synthèse, de

leur libération ou de la modification du nombre et du type des récepteurs cellulaires, ou de la transduction intracellulaire du signal. Par souci de simplification, cette partie a pour but de définir les grandes tendances et d'en retenir les possibles conséquences.

- Le rôle des interleukines et des cellules auxiliaires dans l'immunotoxicité des trichothécènes

Le rôle des interleukines (l'IL-1 et l'IL-2, induite par l'IL-1) et de l'influence du DON sur leur libération par les macrophages est mis en évidence en mettant en culture des thymocytes dans le surnageant d'une culture de macrophages mis en présence de DON et/ou de Con A. La prolifération des thymocytes est maximale avec le surnageant des macrophages cultivés avec la Con A et 300 ng/mL de DON [Miller & Atkinson, 1986].

Chez la souris, l'administration de 25 mg/kg de DON par gavage deux heures avant euthanasie et mise en culture des cellules de la rate et des plaques de Peyer permet d'observer une augmentation de la production d'IgA avec ou sans LPS (activateur des LB et des macrophages) ou PMA+IONO (activateur des LB et surtout des LT) – cette augmentation étant plus marquée dans les cultures en présence de LPS que de PMA+IONO, et concordante avec les proportions d'IL-6 dans le milieu de culture (supérieures avec le LPS). L'IL-6 est connue pour augmenter la production d'immunoglobulines an présence de PWM, un effet qui peut peut-être s'extraire au LPS et au PMA+IONO, ces trois mitogènes agissant sur les populations B. Le retrait des macrophages de ces cultures induit une diminution de la production d'IgA et d'IL-6. Pour élucider plus précisément le rôle des macrophages et de l'IL-6, la culture de cellules spléniques avec ou sans macrophages spléniques et/ou péritonéaux, la culture de LB seuls, en présence de macrophages péritonéaux ou non permet de conclure que l'élévation de la production d'IgA est médiée par les macrophages, et, dans une moindre mesure, par les LTh, mais que l'élévation de la quantité d'IL-6 dans le milieu est essentiellement due aux macrophages. Enfin, la mise en culture de LB et de macrophages séparés par une membrane autorisant le passage des éléments solubles – et donc de l'IL-6 – met en évidence le rôle majeur de l'interleukine mais également des contacts cellulaires directs dans cette élévation de la production d'IgA [Cavaillon, 1996, Yan *et al.*, 1986].

- Perturbations des fonctions des interleukines

L'ajout d'IL-1 ou d'IL-2 dans un milieu de culture contenant des doses de toxine inhibant la prolifération cellulaire – 200 ng/mL de 3-ADON – reste sans effet [Tomar *et al.*, 1987]. Cette observation est concordante avec l'augmentation de la quantité de cytokines dans le milieu alors même que la prolifération cellulaire est inhibée, démontrée dans d'autres études. En présence de trichothécènes, il y a donc un découplage entre les quantités de cytokines présentes et leur activité.

Chez le porc, l'administration de 15 mg/kg de toxine T-2 en topique cutané induit *ex vivo* une diminution de la réponse aux mitogènes (Con A, PHA, PWM). A des doses suboptimales, où la costimulation fournie par les macrophages et leur IL-2 est indispensable à la réponse aux mitogènes, cette dernière n'est pas inférieure à celle observée avec les doses optimales. *Ex vivo* et dans ces conditions expérimentales, l'activité des macrophages n'est donc pas affectée sur ce plan [Pang *et al.*, 1982b].

- Cinétique *in vitro* de la libération des interleukines en présence de trichothécènes

La mise en culture de LTh en présence de Con A pendant 2 à 7 jours permet d'observer :

- au bout de deux jours une inhibition de la libération d'interleukines 2, 4 et 5 dans le milieu pour le DON, le 3-ADON, le 15-ADON, le NIV et la toxine T-2, quelle que soit la concentration des toxines.

- au bout de 7 jours, par contre, les niveaux d'interleukines augmentent notablement en présence de relativement faibles concentrations de trichothécènes (au maximum, 100-250 ng/mL de DON ou de NIV, 500-2500 ng/mL de 3- ou de 15-ADON, 1ng/mL de toxine T-2).

Au-delà de ces concentrations, la libération d'interleukines est inhibée. D'une manière générale, les IL-4 et 5 sont inhibées à des niveaux inférieurs à ceux nécessaires pour inhiber la libération d'IL-2. L'IL-6 est par contre inhibée quelle que soit la concentration utilisée – une observation à tempérer par la production augmentée d'IL-6 par les macrophages dans une culture complète de splénocytes. Pour chaque trichothécène, les doses altérant la viabilité cellulaire et inhibant la prolifération cellulaire, ainsi que la synthèse protéique, sont paradoxalement équivalentes à celles qui entraînent la superinduction des interleukines par la Con A. L'utilisation de PMA+IONO permet d'observer les mêmes tendances mais

exacerbées, et avec une meilleure résistance aux toxines [Azcona-Olivera *et al.*, 1995b, Ouyang *et al.*, 1995, Ouyang *et al.*, 1996a].

Dans une culture de lymphocytes humains, à des concentrations de DON inhibant la prolifération cellulaire en présence de PHA, on note dès 24 h une augmentation temps- et dose-dépendante de la quantité d'IL-2 dans le milieu, avec un maximum au bout de 5 jours (400 ng/mL de DON : concentration 32 fois supérieure à la culture de contrôle) mais des niveaux toujours élevés à 8 jours. Les concentrations d'IL-4 et d'IL-6 ne sont pas altérées avant trois jours, où l'on note une légère augmentation de l'IL-4 et une légère baisse de l'IL-6 avant de revenir vers les valeurs de contrôle. A la concentration de 200 ng/mL de DON, il n'y a plus d'IFN- γ dans le milieu pendant trois jours, avant de monter à un niveau supérieur à la normale au bout de 5 jours [Meky *et al.*, 2001].

Dans une culture de macrophages murins, en présence de LPS et de DON (100-250 ng/mL) on note une augmentation temps-dépendante de l'IL-6 et du TNF- α dans le milieu. L'IL-1 par contre reste à un niveau très bas. A des concentrations supérieures de DON (500 ng/mL) la concentration en interleukines dans le milieu est fortement diminuée. L'étude des concentrations intracellulaires de cytokines permet d'observer, en présence de LPS et de 100-250 ng/mL de DON, une augmentation de la proportion de cellules contenant du TNF- α mais pas des niveaux intracellulaires. Pour l'IL-6, c'est l'inverse : proportion de cellules contenant de l'IL-6 stable, mais augmentation des quantités intracellulaires. L'étude des ARNm de ces cytokines permet d'observer une concordance avec les quantités de cytokines observées. Par contre, on note une forte augmentation de la quantité d'ARNm de l'IL-1, ce qui peut signifier que celle-ci reste intracellulaire, ou qu'elle ne se trouve que sous forme liée à des récepteurs [Wong *et al.*, 1998].

Selon les types de cultures utilisés – populations cellulaires spécifiques isolées ou non – on note dans le milieu une augmentation nette, temps- et dose-dépendante, de la quantité d'IL-2, avec un délai de latence de 24-48 heures. L'augmentation est moins nette pour l'IFN- γ , le TNF- α , l'IL-4 et l'IL-5, et on note plutôt une diminution de la quantité d'IL-6 produite par les lymphocytes mais une augmentation de sa production par les macrophages. Concernant l'IL-1, les études tendent plutôt à démontrer une augmentation de sa concentration dans le milieu, avec peut-être une inhibition de sa libération par les macrophages.

D'un point de vue immunologique, de telles altérations des niveaux d'interleukines devraient globalement avoir pour conséquence – à supposer que ces observations, réalisées *in*

vitro ou au mieux *ex vivo*, puissent être extrapolées à ce qui se passe dans l'organisme – une activation du système immunitaire, avec prolifération des populations lymphocytaires et production d'immunoglobulines. Si cette dernière se réalise effectivement, la commutation isotypique vers les IgA peut s'expliquer par l'effet de l'IL-5, mais l'absence d'étude sur l'IL-10, également capable d'entraîner la commutation isotypique vers les IgA, rend toute conclusion difficile.

- Stimulation de la synthèse d'interleukines

En effet, de nombreuses interleukines voient leur synthèse et/ou leur libération dans le milieu de culture augmentées en présence de trichothécènes, même à des doses inhibant les synthèses protéiques et la prolifération cellulaire. Ceci passe par une augmentation du nombre de cellules synthétisant une interleukine, sans augmentation de leur production individuelle (exemple du TNF- α dans une culture de macrophages murins en présence de LPS et de 100-250 ng/mL de DON), ou à l'opposé, une augmentation de la production cellulaire sans prolifération (exemple de l'IL-6 dans une culture de macrophages murins en présence de LPS et de 100-250 ng/mL de DON) [Wong *et al.*, 1998].

Certaines équipes ont également signalé une augmentation de la production d'IL-2, -4 et -5 alors même que la quantité d'IL-6 diminue, en présence de divers trichothécènes et de Con A ou de PMA+IONO dans une culture de LTh spléniques. Ces augmentations peuvent atteindre 100 fois le niveau des cultures de contrôle, notamment pour l'IL-2 dont l'élévation est la plus intense et durable. Cette superinduction se traduit par la libération de grandes quantités d'interleukines dès 24-48 heures pour l'IL-2, alors que l'IL-5 apparaît plus tardivement (3-5 jours après le début de la culture en présence de DON), à des concentrations inhibant la synthèse protéique globale (50% d'inhibition pour une concentration de 40 ng/mL de DON dans une culture de LTh en présence de PMA+IONO). Le Tableau 40 présente les concentrations maximales permettant une superinduction des interleukines en présence de Con A pendant 2-7 jours [Azcona-Olivera *et al.*, 1995b, Ouyang *et al.*, 1995, 1996a].

Tableau 40 : Concentrations maximales en trichothécènes (ng/mL) permettant une augmentation de la synthèse d'interleukines, et concentrations induisant une augmentation (+) ou une diminution(-) de la quantité d'ARNm d'interleukines

Toxine	J	IL-2		IL-4		IL-5	
		+	-	+	-	+	-
DON	2	<i>100</i>	<i>250</i>	<i>50</i>	<i>250</i>	<i>50</i>	<i>250</i>
	7	<i>250</i>		<i>100</i>		<i>100</i>	
NIV	2	<i>50</i>		<i>50</i>	<i>250</i>		<i>250</i>
	7	<i>250</i>		<i>100</i>		<i>100</i>	
15-ADON	2	<i>100</i>			<i>500-1000</i>		<i>500-1000</i>
	7	<i>1000</i>		<i>500</i>		<i>500</i>	
3-ADON	2	<i>1500</i>					
	7	<i>2500</i>		<i>1000</i>		<i>1000</i>	
T-2	2	<i>0.5</i>			<i>1-2.5</i>		<i>1-2.5</i>
	7			<i>1</i>		<i>1</i>	

Les valeurs en italiques correspondent aux ARNm des interleukines concernées, les valeurs en casse droite celles des interleukines elles-mêmes. Les cases vides ou les valeur non renseignées, notamment l'absence de valeur superinduisant les interleukines à J2, correspondent à une absence d'effet significatif.

D'après Ouyang *et al.*, 1995

L'étude du Tableau 40 permet d'observer deux jours après le début d'une culture de LTh en présence de trichothécènes et de Con A une augmentation de la quantité d'ARNm d'interleukines par rapport aux valeurs de contrôles, alors même que la quantité d'ARNm du gène HPRT, utilisé comme témoin, est très fortement diminué. Cet effet est donc spécifique des ARNm d'interleukines. A ce moment, la quantité d'interleukines dans le milieu de culture n'est pas modifiée. 7 jours après le début de la mise en culture, par contre, les niveaux des interleukines 2, 4 et 5 sont fortement augmentés. A cet égard, la toxine T-2 se révèle encore une fois la plus toxique. Les doses efficaces pour l'inhibition des synthèses protéiques, de la prolifération cellulaire et pour la superinduction des IL sont similaires, pour chaque trichothécène. La capacité des trichothécènes à superinduire les IL pourrait donc être liée à leur capacité à inhiber la synthèse protéique [Ouyang *et al.*, 1995].

Cette augmentation des quantités d'ARNm d'interleukines a également été démontrée *in vivo* chez la souris dans des protocoles d'administrations uniques, multiples ou de consommation prolongée (4 semaines) d'un aliment contenant du DON. Avec des doses de 0.5-5 mg/kg PV administrées par gavage pendant 2 à 7 jours, les quantités d'ARNm d'interleukines augmentent avec le nombre de doses [Zhou *et al.*, 1998].

- Mécanismes de la superinduction des interleukines en présence de trichothécènes

Quatre hypothèses non exclusives peuvent être avancées :

- une altération de l'activité des régulateurs de la transcription
- une augmentation de la stabilité des ARNm.
- une diminution de la consommation d'IL, puisque la prolifération cellulaire est inhibée (internalisation des récepteurs).
- une diminution du catabolisme des IL.

Altération de l'activité des régulateurs de la transcription

In vitro, en présence de DON et de PMA+IONO, on observe une augmentation dose-dépendante de la liaison à l'ADN des activateurs de la transcription NF-κB/Rel et c-Rel/p50, entre 2 et 48 heures après la mise en culture. Cette modulation passe notamment par une diminution dose-dépendante de la concentration de IkB α , l'inhibiteur cytoplasmique de NF-κB/Rel, et de l'homodimère inhibiteur p50 [Ouyang *et al.*, 1996b].

Le DON affecte également l'activité de la protéine activatrice 1 (AP-1) de manière dose- et temps-dépendante. L'induction de l'activité de l'AP-1 par le PMA+IONO est supprimée par le DON pendant les 12 premières heures, pour être augmentée lors d'exposition prolongée à la toxine (48-72 h). Le DON affecte préférentiellement la capacité de liaison des formes phosphorylées de c-Jun, Jun B, c-Fos et Fra-2, sans modifier celle de Jun D et Fra-1. Ces altérations augmentent le potentiel transactivateur de l'AP-1 [Li *et al.*, 2000].

La liaison du facteur de transcription ZEB à l'élément régulateur négatif NRE-A joue un rôle majeur dans l'inhibition de l'expression du gène de l'IL-2 dans la lignée cellulaire de thymome murin EL-4. Le DON diminue la capacité de NRE-A à se lier à ZEB, en présence de PMA+IONO comme en son absence, alors qu'il n'affecte que très peu la transcription et la traduction de ZEB. Ceci suggère donc un effet post-traductionnel du DON sur l'activité de ZEB [Yang & Petska, 2002].

Augmentation de la stabilité des ARNm

Dans une culture de cellules de thymome murin EL-4 en présence de DON et de PMA+IONO, on observe une augmentation dose-dépendante de la durée de vie des ARNm de l'IL-2 [Li *et al.*, 1997].

Même si cela n'a pas été démontré, on peut supposer que les trichothécènes inhibent la synthèse de RNases, ce qui explique donc l'augmentation de la durée de vie de cet ARNm d'interleukines. Cette hypothèse permettrait également d'expliquer l'augmentation de la quantité d'ARNm dans le foie de souris exposées à la toxine T-2 alors même que les synthèses sont soit inhibées, soit inaltérées.

Tableau 41 : Tableau simplifié des sources et activités des interleukines

IL	Source	Activité
IL-1	Macrophage NK - LB	<ul style="list-style-type: none"> - Co-activation des cellules B et T, activation des NK, augmentation de l'activité anti-tumorale, anti-microbienne, de la production d'anticorps, de cytokines, de la phagocytose et du chimiotactisme - Prolifération des LT (via IL-2 et IL-4), des LB (en synergie)
IL-2	LTh ₁	<ul style="list-style-type: none"> - Expansion clonale des LT activés - Prolifération des NK, induction de leur activité cytotoxique - Prolifération des LB en présence de LPS ou d'antigènes spécifiques, induction de la production d'IgA, d'IgG et d'IgM - Stimulation de l'activité cytotoxique et antibactérienne des macrophages
IL-4	LTh ₂	<ul style="list-style-type: none"> - Co-activation des LB - Bloque la prolifération des LB induite par l'IL-2 - Commutation vers IgE et IgG₁ – inhibe la production d'IgG, d'IgM et d'IgA - Prolifération des LT et NK co-stimulés par un mitogène – inhibe les effets de l'IL-2 concernant les LT et NK
IL-5	LT activés NK Mastocytes GNE	<ul style="list-style-type: none"> - Activation des GNE, chimiotactique pour les GNE, augmentation de la production de GNE - Prolifération des LB activés, stimulation de la production d'IgA et d'IgM par les LB activés, après commutation, augmente la synthèse d'IgA - en synergie avec l'IL-4 : augmentation de la synthèse d'IgG₁ et d'IgE - Activation des GNB
IL-6	Toutes les cellules de l'immunité, plus de nombreuses autres	<ul style="list-style-type: none"> - En synergie avec l'IL-4, augmentation de la production d'IgE - En synergie avec l'IL-5, augmentation de la production d'IgA - Avec PWM, augmentation de la production d'IgA, d'IgM ou d'IgG - Induit la réceptivité à l'IL-2 - Co-activateur des thymocytes et LT en synergie avec des mitogènes des cellules T - Activation des NK et de leur production d'IFN-γ - Effet variable sur les macrophages
IFN-γ	LT et NK	<ul style="list-style-type: none"> - Effet antiviral - Activation des macrophages, des GNN - Commutation vers IgG_{2a}, inhibition des IgE - Activation des LT et de leur production d'IL-2 - Activation des NK
TNF-α	Toutes les cellules de l'immunité, plus de nombreuses autres	<ul style="list-style-type: none"> - Activité anti-tumorale - Co-activation des LT, co-induction de la production d'IL-2 - Co-activation des LB - Activation des macrophages et de leur production d'IL - Activation des GNN - Action pro-inflammatoire

D'après Cavaillon, 1996.

8.7. Conclusion

Les trichothécènes induisent de graves lésions des organes lymphoïdes primaires et secondaires, les cellules les moins différenciées, telles que les précurseurs lymphocytaires, se montrant les plus sensibles. Le mécanisme de cette cytotoxicité est l'apoptose.

Ces lésions des organes lymphoïdes s'accompagnent de modifications des profils leucocytaires se traduisant le plus souvent par une lymphopénie et une leucopénie. De nombreuses observations divergentes existent cependant, et les doses nécessaires à l'apparition de ces modifications hématologiques sont, pour la toxine T-2, très supérieures aux niveaux de contamination spontanée des aliments, alors qu'elles restent « réalistes » pour le DON.

Enfin, ces observations se traduisent par une diminution de la résistance à différents agents infectieux, bien qu'encore une fois, des résultats divergents existent et suggèrent une immunostimulation.

Les leucocytes matures se montrent plus résistants que les cellules peu différenciées. Ils voient, suivant des doses croissantes, leur prolifération inaltérée, stimulée (surtout pour les LT) puis inhibée.

On observe une diminution des quantités de molécules de l'inflammation dans le sang, ainsi qu'une inhibition de la phagocytose, du chimiotactisme et des capacités bactéricides des macrophages comme des GNN.

L'activité des cellules NK et la cytotoxicité dépendante des anticorps sont également inhibées.

Concernant la réponse immunitaire à médiation humorale, les trichothécènes, à faible dose, entraîne une commutation isotypique vers les IgA et une différenciation très rapide des LB en plasmocytes. Cet emballlement de la synthèse d'immunoglobulines passe par une augmentation du nombre de plasmocytes. A de plus fortes doses, les trichothécènes inhibent finalement toute synthèse d'immunoglobulines.

Il semble que ces mycotoxines agissent plutôt sur les cellules auxiliaires de l'immunité que sur les lymphocytes B et T cytotoxiques, ce qui explique la complexité des troubles observés. Ainsi, les LTh comme les macrophages voient leurs productions d'interleukines complètement modifiées, et ce sur une très large fourchette de niveaux de contamination. A des doses inhibant la prolifération cellulaire et la synthèse protéique, la libération d'interleukines comme d'IgA reste élevée. On observe une augmentation de la libération

d'IL-2 surtout, mais aussi d'IL-4, 5, d'IFN- γ et de TNF- α . La libération d'IL-6 par les macrophages est augmentée, alors qu'elle est diminuée chez les LTh. Avec de plus fortes doses de trichothécènes, la libération de ces interleukines est finalement complètement supprimée.

Entre immunotoxicité directe et misère physiologique, il n'en reste pas moins que les trichothécènes induisent une plus grande sensibilité aux maladies, l'exemple type étant l'aleucie toxique alimentaire. Au-delà de l'immunodépression le plus souvent constatée – et ce malgré quelques contre-exemples – l'état de faiblesse induit par ces mycotoxines, *via* la malnutrition et la cytotoxicité générale, entraîne une plus grande sensibilité aux maladies. En outre, certaines études démontrent notamment que la malnutrition engendrée par la baisse de consommation alimentaire suffit à provoquer la baisse des quantités d'immunoglobulines sériques observée dans certaines études de toxicité subaiguë...

9. BASES MOLECULAIRES DE LA TOXICITE

De nombreuses études ont permis de cerner les symptômes, lésions et altérations biologiques induites lors d'intoxication par les trichothécènes. Ce chapitre a pour objectif de présenter l'état actuel des connaissances sur les mécanismes de la toxicité des trichothécènes. Cette présentation commencera par les deux points qui sont probablement les plus importants : l'action directe sur la membrane plasmique et la modulation des synthèses macromoléculaires. L'étude de la cinétique de l'absorption et du métabolisme cellulaires des trichothécènes permettra d'élucider certaines différences de sensibilité entre différents types cellulaires, et de mieux cerner les différences de potentiel toxique de certains trichothécènes. Ensuite, d'autres mécanismes plus difficiles à relier aux connaissances actuelles du mode d'action des trichothécènes seront abordés, telles que la toxicité mitochondriale et la peroxydation lipidique. Enfin, l'étude du rôle de l'apoptose permettra d'achever ce chapitre consacré aux bases moléculaires de la toxicité des trichothécènes.

9.1. Altérations de la membrane plasmique

In vitro, dans un modèle utilisant des myoblastes L-6, il faut une concentration d'au moins 4 ng/mL de toxine T-2 pour menacer l'intégrité membranaire – appréciée par la fuite de

lactate déshydrogénase – et ce dès 10 minutes après l'addition de toxine T-2 [Bunner & Morris, 1988].

L'étude du pouvoir hémolytique de la toxine T-2 en fonction de la température et des altérations morphologiques qu'elle provoque dans les hématies permet de démontrer que celle-ci se lie préférentiellement au feuillet externe de la bicouche phospholipidique des hématies de cobaye et de bovin. Elle se lierait plutôt au feuillet interne dans les hématies de rat. Une autre différence interspécifique majeure est la sensibilité au pouvoir érythrolytique de la toxine T-2 (partie 3. 7.1. Altérations hématologiques). La principale différence de composition membranaire entre ces espèces est le taux de phosphatidyl-choline, presque nul chez le cobaye et les bovins, mais atteignant 30 % chez le rat. Cette interaction entre la toxine et la membrane implique que certains mécanismes toxiques pourraient prendre naissance lors d'interactions membranaires [DeLoach *et al.*, 1987, Giongyossy-Issa *et al.*, 1986].

L'existence de ces mécanismes toxiques est démontrée dans un modèle utilisant des myoblastes L-6. La toxine T-2 provoque 10 minutes après l'addition d'une dose de 4 pg/mL ou plus une diminution de l'absorption membranaire du calcium, du glucose, du rubidium (un équivalent du potassium en terme de passage transmembranaire), de la leucine, de la tyrosine et de la thymidine. Ces effets se font plus nettement ressentir à la dose de 4 ng/mL (30-60 % de réduction selon les métabolites envisagés), qui est l'IC50 pour les synthèses protéiques dans ce modèle. A la dose de 0.4 pg/mL, l'absorption de thymidine est par contre augmentée. Les effets de la toxine T-2 sur ces absorptions membranaires n'augmentent quasiment pas entre les doses de 40 et 400 ng/mL (40-85 % de réduction selon les métabolites envisagés) [Bunner & Morris, 1988].

Ces mécanismes toxiques très précoces peuvent s'expliquer par l'action de la toxine T-2 sur les lipides membranaires, induisant une modification des interactions entre lipides et protéines membranaires et une altération de la fluidité de la membrane plasmique. Cette altération est connue pour provoquer des modifications de l'activité des enzymes membranaires, des canaux ioniques, des transporteurs, *etc.* L'inhibition des synthèses protéiques ne peut être impliquée ici vu la précocité de l'apparition de ces troubles.

Les concentrations provoquant une altération de l'absorption des métabolites dans le modèle des myoblastes L-6 – dès 4 pg/mL – correspondent aux concentrations tissulaires qui peuvent être obtenues lors d'intoxication par des aliments spontanément contaminés.

9.2. Modulation des synthèses macromoléculaires

9.2.1. Modulation des synthèses de protéines et d'acides nucléiques

9.2.1.1. Inhibition des synthèses

- Etudes *in vivo*

L'effet de la toxine T-2 sur la teneur totale en acides nucléiques et en protéines a été étudié dans la muqueuse intestinale et le foie de rats (Tableau 41) :

Tableau 42 : Effets de la toxine T-2 sur la quantité de protéines et d'acides nucléiques dans le foie et la muqueuse intestinale de rats

	Doses	1.5 mg/kg PV VO	0.75 mg/kg PV VO		
	Durée	4 jours	7 j	14 j	21 j
Muqueuse intestinale	Protéines	⊖			
	ADN	↔			
	ARN	↗			
Foie	Protéines	⊖	↔	↔	⊖
	ADN	⊖	⊖	⊖	⊖
	ARN	↔	↗	↗	↗

↔ pas d'altération ; ⊖ diminution ; ↗ augmentation

D'après Suneha *et al.*, 1983, 1987.

On observe donc globalement une diminution de la quantité de protéines et d'ADN, ce qui peut s'interpréter comme une diminution des synthèses ou une augmentation du catabolisme, ou les deux. La quantité d'ARN serait elle globalement augmentée, ce qui, à l'opposé, pourrait résulter d'une augmentation de la transcription – peu probable au vu de la baisse des quantités de protéines – ou une diminution du catabolisme, plus vraisemblable.

L'utilisation de leucine et de thymine tritiées permet d'étudier chez la souris l'évolution des synthèses de protéines et d'ADN (Tableau 43).

Tableau 43 : Evolution des synthèses d'ADN et de protéines après administration de toxine T-2 chez la souris

Administration unique			Rate – Thymus Moelle osseuse	Foie
Dose T-2	Délai	Molécule		
0.3-2 mg/kg PV IP	3 h	Protéines	↓↓	↓↓
		ADN	↓↓	↓↓
	8-9 h	Protéines	↓	↓
		ADN	↔/↔	↔/↔
0.75 mg/kg PV IP	20 h	Protéines	↔	↔↔
		ADN	↔	↔↔
Administration prolongée				
0.75 mg/kg PV pendant 3 jours	Protéines	↓	↔	
	ADN	↓	↔	
1.5 mg/kg PV pendant 4 jours	Protéines			↓
0.75 mg/kg PV pendant 7 jours	Protéines	↓	↔	
	ADN	↓↓	↓	
	ARN		↔/↔	
0.75 mg/kg PV pendant 14 jours	Protéines		↓	
	ADN		↔	
	ARN		↓	
0.75 mg/kg PV pendant 21 jours	Protéines		↓	
	ADN		↔	
	ARN		↔	

↔ équivalent aux valeurs de contrôle ; ↓ diminution ; ↔ augmentation

D'après Rosenstein & Lafarge-Frayssinet, 1983, Suneja *et al.*, 1983, 1987, Thompson & Wannemacher, 1990.

L'effet de la toxine T-2 sur l'inhibition des synthèses protéiques est dose-dépendant, tant dans l'intensité de cette inhibition que dans sa durée. Avec une dose élevée (2 mg/kg), ces synthèses sont toujours inhibées 9 heures après l'injection. Avec une dose plus faible, mais encore 10-100 fois supérieure aux niveaux de contamination usuellement constatés (0.3 mg/kg), au bout de 9 heures, le niveau est revenu aux valeurs de contrôle, voire augmenté dans le foie. Comme l'indique l'augmentation des synthèses de protéines et d'ADN après 3-4 jours de traitement, cet organe se révèle par ailleurs capable de surmonter partiellement les effets de la toxine T-2 avec des doses proches de la DL50 [Rosenstein & Lafarge-Frayssinet, 1983, Suneja *et al.*, 1983, 1987, Thompson & Wannemacher, 1990].

Les niveaux d'ARN ne sont pas modifiés dans le foie après une administration de 1.5 mg/kg PV de toxine T-2 par voie orale pendant 4 jours. Ils sont augmentés dans la muqueuse intestinale. Lors d'une administration prolongée de toxine T-2 à la dose de 0.75 mg/kg PV par

gavage, le niveau des ARN hépatiques est d'abord augmenté à 7 jours, pour passer sous les valeurs de contrôles au bout de 14 jours et y revenir après 21 jours de traitement. Ces observations peuvent s'expliquer par de faibles effets de la toxine T-2 sur la transcription et une inhibition de la synthèse des enzymes chargées de détruire les ARN [Suneja *et al.*, 1983, 1987].

- Etudes *in vitro*

In vitro, dans les cellules d'hépatome de rat, dans les fibroblastes et myoblastes L-6 humains et dans les lymphocytes stimulés par la phytohémagglutinine (PHA), la toxine T-2 inhibe les synthèses d'ADN et de protéines. Cette inhibition est dose-dépendante, et concerne toutes les cellules : il ne s'agit pas d'une réponse de type « tout ou rien » ne touchant qu'une partie des cellules en culture. A la CL50 (0.7 µg/mL pour les fibroblastes humains), l'inhibition des synthèses protéiques atteint pratiquement les 100 %. L'inhibition de la synthèse d'ADN dans des lymphocytes humains a également été démontrée en présence de DAS [Agrelo & Schoental, 1980, Bunner & Morris, 1988, Cooray, 1984, Giongyossy-Issa & Khachatourians, 1985, Oldham *et al.*, 1980, Rosenstein & Lafarge-Frayssinet, 1983].

Dans un modèle utilisant des cellules ovariennes de hamster chinois (CHO), les courbes d'inhibition des synthèses protéiques pour la toxine T-2 et le T-2 tétraol, l'un de ses métabolites terminaux, sont très semblables. L'IC50 des synthèses protéiques est cependant de 3 ng/mL pour la toxine T-2, et de 1 µg/mL pour le T-2 tétraol, ce qui souligne le rôle de détoxification du métabolisme des trichothécènes (Partie 2. 1. Toxicocinétique) [Middlebrook & Leatherman, 1989].

Par contre, dans une culture de lymphocytes T auxiliaires (LTh) en présence de PMA+IONO, un agent mitogène, et de DON, cette inhibition des synthèses protéiques ne dépasse jamais les 75 %, même à des doses atteignant 1-10 mg/mL. Dans ce modèle, la concentration inhibant à 50 % les synthèses protéiques est de 40 ng/mL [Ouyang *et al.*, 1996a].

Dans la majorité des études, les trichothécènes peuvent inhiber complètement les synthèses protéiques et seraient donc des antagonistes possédant une puissance variable.

9.2.1.2. Stimulation des synthèses

S'il existe une stimulation réactionnelle des synthèses protéiques suite à une inhibition, démontrée chez la souris 20 heures après une administration unique en IP de 0.75 mg/kg PV de toxine T-2, on observe également une stimulation des synthèses dans le foie même après 7 jours de traitement à la même dose [Rosenstein & Lafarge-Frayssinet, 1983].

Ces constations rejoignent la paradoxale augmentation de libération d'IgA observée tant *in vivo* qu'*in vitro* avec de faibles doses de trichothécènes (8.5.2. Réponse immunitaire spécifique). Si celle-ci passe notamment par une augmentation du nombre de plasmocytes, il est probable qu'une augmentation de la synthèse d'IgA par ces cellules intervienne également, les macrophages et LTh jouant un rôle prépondérant dans ces altérations *via* l'augmentation de la synthèse et de la libération de certaines interleukines [Bondy & Petska, 1991, Cooray & Lindhal-Kiessling, 1987, Petska *et al.*, 1989].

In vitro, dans un modèle utilisant des myoblastes L-6, une augmentation de l'incorporation de thymidine est observée à la dose de 0.4 pg/mL, une dose très inférieure à celles provoquant une inhibition des synthèses protéiques. Aucune stimulation des synthèses protéiques n'a été observée dans ce modèle [Bunner & Morris, 1988].

L'effet modulateur des trichothécènes sur les synthèses macromoléculaires liées au système immunitaire est présenté dans le chapitre consacré à l'immunotoxicité (8. Immunotoxicité).

9.2.1.3. Cinétique de modulation des synthèses

Dans un modèle *in vitro* utilisant des myoblastes L-6, l'inhibition des synthèses protéiques apparaît très précocement – dès 10 minutes après l'addition de toxine T-2. Dans ce modèle, la dose minimale provoquant une inhibition des synthèses protéiques est de 4 pg/mL, l'IC50 de 4 ng/mL. Pour les synthèses d'ADN comme de protéines, l'effet est dose-dépendant et il ne semble pas exister de palier marqué de toxicité [Bunner & Morris, 1988].

Dans un autre modèle *in vitro*, utilisant des lymphocytes murins en présence ou non de mitogènes, la synthèse de protéines est stimulée pour les doses les plus faibles – 125 pg/mL

de toxine T-2 – et diminuée avec des doses plus élevées – 12.5-1250 ng/mL. Pour ces deux dernières doses, la synthèse de protéines est presque complètement inhibée. Une inhibition dose-dépendante de la synthèse d'acides nucléiques est observée à partir de 4 heures après l'addition de toxine T-2 avec des lymphocytes non stimulés. En présence de mitogène, l'effet est le même pour la synthèse d'ARN mais la synthèse d'ADN n'est diminuée qu'après le premier cycle cellulaire. L'inhibition des synthèses est, au terme de 24 heures d'incubation, équivalente pour les doses de 12.5 et 1250 ng/mL. La dose ne joue qu'au niveau du temps nécessaire pour que cette inhibition devienne effectivement totale. Selon cette étude, la dose n'influerait donc pas sur l'intensité de l'inhibition des synthèses, mais sur sa vitesse d'apparition. Cette réponse de type « tout ou rien » apparaît dans ce modèle pour un seuil de 1.1 ng/mL de toxine T-2, soit environ $5.7 \cdot 10^5$ molécules de toxine par cellule, une valeur équivalente au nombre de sites de liaison de forte affinité pour la toxine T-2 (9.3. Toxicocinétique cellulaire). Ce palier est le même que les cellules soient stimulées par la PHA ou non, contredisant l'idée classiquement reçue d'une sensibilité supérieure des cellules se multipliant activement. Le temps nécessaire à l'apparition des effets toxiques dans la cellule est par contre supérieur dans une cellule en repos [Giongyossy-Issa & Khachatourians, 1985].

Au-delà de ce palier de toxicité, la vitesse d'apparition des effets toxiques pourrait être liée à la loi d'action de masse, à la concentration en toxine et au nombre de récepteurs, et donc au type cellulaire. Le palier de dose de toxine T-2 nécessaire à l'apparition de l'inhibition des synthèses dans les lymphocytes de souris correspond en effet au nombre de sites capables de lier la toxine T-2, et donc à l'occupation de tous ces récepteurs dans ce type cellulaire [Giongyossy-Issa & Khachatourians, 1985].

Ces deux études aboutissent donc à des résultats complètement opposés, le type cellulaire étant la seule véritable différence. Aucune explication n'a été avancée pour expliquer cette contradiction.

9.2.1.4. Mécanisme d'inhibition des synthèses

Les trichothécènes inhibent la synthèse protéique en interagissant avec les ribosomes avant ou au cours de la traduction, selon qu'ils inhibent son initiation (type I) ou l'elongation (type E). La toxine T-2 inhibe uniquement l'initiation, alors que la F-X et le NIV, s'ils ont principalement une action de type I, peuvent avoir à forte dose une action de type E.

Le DON appartient lui au type E. Les trichothécènes se lient à la sous-unité 60 S du ribosome et interfèrent avec l'action de la peptidyltransférase [Ehrlich & Daigle, 1987].

Cette activité inhibitrice nécessite la présence d'une double liaison 9-10 intacte et de l'époxyde C-12,13 (Figure 15). Les différences de toxicité entre trichothécènes – et même la séparation entre type E et type I – pourraient notamment s'expliquer par l'encombrement stérique des substituants, influençant sur la capacité des toxines à se fixer aux ribosomes. Les différents sites hydrophiles et lipophiles, la formation de liaisons hydrogènes intramoléculaires stabilisant la toxine ou facilitant son interaction avec le ribosome sont également des facteurs qui ont certainement leur influence sur la capacité des trichothécènes à inhiber la traduction. Si ces différences jouent sur le potentiel toxique des trichothécènes à l'encontre des synthèses protéiques, il reste cependant à déterminer si elles peuvent également provoquer d'autres effets toxiques, que certains trichothécènes pourraient engendrer et d'autres non [Ehrlich & Daigle, 1987].

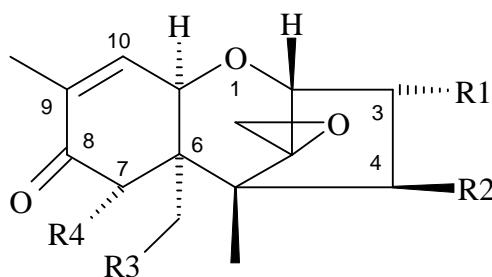


Figure 15 : Structure de base des trichothécènes

Dans un modèle utilisant des myoblastes L-6, dès 10 minutes après l'addition de toxine T-2, l'absorption et l'incorporation des acides aminés et de thymidine sont diminuées. Ces effets sont bien trop précoce pour découlent d'une diminution des synthèses enzymatiques, ce qui suggère que s'il a été démontré que les trichothécènes inhibaient la traduction, ils agiraient également directement sur la synthèse d'acides nucléiques, au-delà des conséquences de l'inhibition des synthèses protéiques sur toutes les synthèses macromoléculaires. La baisse d'absorption des acides aminés et de la thymidine pourrait en outre, à moyen terme, jouer un rôle dans la diminution des synthèses [Bunner & Morris, 1988].

9.2.2. Inhibition des synthèses lipidiques

Chez le rat, l'administration de 1.5 mg/kg PV de toxine T-2 par voie orale pendant 4 jours entraîne une augmentation des lipides totaux, du cholestérol libre, des triglycérides et des phospholipides totaux dans le foie, alors que le niveau de sphingomyéline-lysophosphatidyl éthanolamine est diminué. En revanche, les niveaux de cholestérol estérifié et de phosphatidyl éthanolamine ne sont pas modifiés. Dans le même temps, la lipogenèse est diminuée, comme le démontre la baisse d'incorporation d'acéate marqué, ce qui indique que la libération des lipides dans le sang depuis le foie est diminuée. On note à cette dose une nette diminution des synthèses protéiques, ce qui suggère que la diminution des synthèses lipidiques pourrait être due à une diminution de la quantité d'enzymes nécessaires à la lipogenèse. Les auteurs suggèrent également que l'interaction de la toxine T-2 avec le groupement -SH des enzymes observé *in vitro* pourrait avoir pour conséquence une baisse d'activité des enzymes de la lipogenèse, dont les sites réactifs possèdent de tels groupements [Suneja *et al.*, 1984].

9.2.3. Conclusion

Les trichothécènes sont capables d'inhiber directement les synthèses protéiques en interagissant avec les ribosomes lors de la traduction. Ces toxines inhibent également d'autres synthèses macromoléculaires comme celle des acides nucléiques ou des lipides.

Cette inhibition des synthèses d'ADN ne survient ni à des doses inférieures ni avant l'inhibition des synthèses protéiques, mais simultanément. Les cinétiques de ces inhibitions sont d'ailleurs remarquablement semblables. Il faut par contre noter que la perturbation des synthèses enzymatiques n'est pas le seul mécanisme mis en œuvre dans l'inhibition des synthèses d'acides nucléiques puisque cette dernière survient très précocement à des doses 10 fois supérieures à celles inhibant les synthèses protéiques.

Il est intéressant de noter que cette inhibition peut engendrer une stimulation des synthèses de certaines molécules que l'on pourrait qualifier de prioritaires pour l'organisme : les cytokines, ou comme on le verra plus bas, les caspases. Cette stimulation passe notamment par une inhibition de la synthèse des inhibiteurs, ce qui a des conséquences très rapides étant donné l'important turnover de ces molécules inhibitrices.

9.3. Toxicocinétique cellulaire

La toxicocinétique étudiée à l'échelle cellulaire permet d'élucider partiellement le mode d'action des trichothécènes et notamment les différences de toxicité observées entre différents trichothécènes, au-delà des différences pharmacodynamiques présentées précédemment (9.2. Modulation des synthèses macromoléculaires), ainsi que certaines différences de sensibilité entre type cellulaires.

9.3.1. Cinétique d'absorption et de liaison cellulaire

Les modèles cinétiques de l'absorption, de la liaison et de la dissociation cellulaire de la toxine T-2 et de son métabolite terminal, le T-2 tétraol, beaucoup moins toxique, ont été étudié dans des cultures de lymphocytes et de cellules CHO.

L'absorption de la toxine T-2 par les lymphocytes et les cellules CHO est rapide – elle est accomplie en 10-15 minutes. Elle est dose-dépendante jusqu'à un plateau de saturation. Elle est également température dépendante. Un certain nombre de paramètres de l'absorption de ces mycotoxines sont réunis ci-dessous (Tableau 44) [Gyongyossy-Issa & Khachatourians, 1984, Middlebrook & Leatherman, 1989].

Tableau 44 : Paramètres de l'absorption de la toxine T-2 et du T-2 tétraol dans des lymphocytes murins et des cellules ovariennes de hamster chinois

	T-2		T-2 tétraol
	Lymphocytes	CHO	CHO
Nombre total de molécules absorbées (37°C)	10^5	$3 \cdot 10^6$	$20 \cdot 10^6$
Constante d'affinité (37°C)	$1.6 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$		
Nombre de molécules liées spécifiquement (37°C)		$2.5 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^6$
Temps nécessaire pour saturer l'absorption totale	10-15 min	30 min	2-3 heures

D'après Gyongyossy-Issa & Khachatourians, 1984, Middlebrook & Leatherman, 1989

Après saturation, les lymphocytes libèrent dans un milieu sans toxine 75 % de la toxine accumulée. Cette libération de la toxine T-2 par les lymphocytes est température-dépendante. La toxine T-2 et le T-2 tétraol possèdent des vitesses de dissociation semblables dans les cellules CHO, avec des temps de demi-vie de 3.3 et 3.7 heures, respectivement [Gyongyossy-Issa & Khachatourians, 1984, Middlebrook & Leatherman, 1989].

Le fait que l'absorption et la libération de toxine T-2 soient influencées par la température indique que celles-ci dépendent d'un processus requérant de l'énergie ou dépendant de la fluidité membranaire, voire des deux. L'utilisation d'inhibiteurs de l'énergie permet d'établir que l'absorption de la toxine dans les lymphocytes dépend pour un quart de mécanismes énergie-dépendants [Gyongyossy-Issa & Khachatourians, 1984].

Des études sur lymphocytes en culture montre que la toxine T-2 serait absorbée par deux mécanismes : le premier, saturable, reposera sur un nombre limité de sites à haute affinité, le second, non saturable, sur une multitude de sites à faible affinité ou une simple diffusion transmembranaire. Les premiers pourraient dépendre de l'énergie disponible. Ces données sont partiellement contradictoire avec celles obtenues avec les cellules CHO, qui révèlent également l'existence d'un certain nombre de site de liaison spécifique, mais qui arrive néanmoins à saturation pour les liaisons non spécifiques [Gyongyossy-Issa & Khachatourians, 1984, Middlebrook & Leatherman, 1989].

La comparaison de la cinétique de la toxine T-2 et du T-2 tétraol permet de mieux envisager les conséquences du métabolisme de cette toxine, bien que le T-2 tétraol soit un métabolite minoritaire par rapport à la toxine HT-2. Rappelons qu'en termes de DL50, le T-2 tétraol est beaucoup moins toxique que la toxine T-2 (Partie 2. 1. Toxicocinétique).

Dans un modèle utilisant des cellules CHO, la liaison de la toxine T-2 aux cellules débute dès des concentrations 100 fois inférieures à celles permettant une liaison du T-2 tétraol (de l'ordre de 1 ng/mL et 100 ng/mL, respectivement).

Pour la toxine T-2, une saturation de cette liaison apparaît à une dose proche de celle qui provoque une inhibition complète des synthèses protéiques (9.2.1.1. Inhibition des synthèses). Cette liaison est spécifique, comme l'indique le blocage de association cellulaire de la toxine T-2 marquée en présence d'un excès de toxine non marquée.

Pour le T-2 tétraol, des concentrations très supérieures sont nécessaires pour engendrer une association cellulaire, et aucun plateau n'est atteint aux concentrations maximales utilisées dans l'étude (10 µg/mL). Contrairement à la toxine T-2, cette association semble majoritairement non-spécifique (Tableau 44).

La corrélation entre les courbes de liaison spécifique des toxines et d'inhibition des synthèses protéiques est remarquable. Des niveaux de liaison spécifique équivalents entre toxine T-2 et T-2 tétraol produisent une inhibition de synthèses protéiques équivalente.

La comparaison de la liaison des toxines aux ribosomes de cellules CHO révèle une affinité très légèrement inférieure du métabolite par rapport à la toxine T-2, avec un nombre de sites de liaison équivalent. Dans les deux cas, la liaison est spécifique. Les deux sont en compétition pour la liaison aux ribosomes, indiquant probablement des sites de liaison communs (quoiqu'une modification allostérique empêchant la fixation de l'autre toxine ne puisse être écartée). Cette compétition n'est pas équivalente face à la cellule entière : si le T-2 tétraol et la toxine T-2 sont effectivement de très bons compétiteurs de la toxine T-2, aucun des deux n'est un bon compétiteur du T-2 tétraol.

L'absorption de toxine T-2 dans les cellules CHO est bien plus rapide que celle du T-2 tétraol ou de l'eau, ces deux derniers ayant une cinétique d'absorption cellulaire très semblable [Middlebrook & Leatherman, 1989].

Ces données permettent de proposer un modèle des différences de toxicité entre toxine T-2 et T-2 tétraol : la toxine T-2 diffuserait rapidement à travers la membrane plasmique, et, à l'intérieur de la cellule, se lierait très rapidement aux ribosomes – les sites de liaison à haute affinité évoqués plus haut. Le T-2 tétraol, par contre, serait incapable de diffuser à travers la membrane plasmique et dépendrait d'un mécanisme lent et saturable reposant sur l'existence de pores ou de transporteurs spécifiques membranaires des molécules polaires, semblable à la pinocytose subie par l'eau. Une fois à l'intérieur de la cellule, le T-2 tétraol pourrait se lier aux ribosomes comme la toxine T-2. La différence de toxicité entre la toxine T-2 et son métabolite serait donc une conséquence de leurs cinétiques respectives et non de divergences pharmacodynamiques. Ce modèle concorde avec les différences de lipophilie entre les deux molécules : la toxine T-2 est environ 14000 fois plus lipophile que le T-2 tétraol [Middlebrook & Leatherman, 1989].

9.3.2. Sensibilité relative des types cellulaires

De nombreuses différences de sensibilité entre types cellulaires face à la toxine T-2 ou d'autres trichothécènes ont été mises en évidence dans les études présentées précédemment. Plusieurs études se sont consacrées à élucider les causes de ces différences.

En présence de toxine T-2, les cellules rénales bovines (MDBK) se révèlent 10 fois plus sensibles que les cellules CHO en termes d'inhibition des synthèses protéiques et de toxicité mitochondriale. Cette différence pourrait venir d'une capacité supérieure à lier la toxine, mais

cette hypothèse est écartée par la comparaison des quantités de toxine T-2 tritiée liée au bout de 5 heures [Holt & DeLoach, 1988].

L'origine de la différence de sensibilités entre cellules lymphoïdes face à la toxine T-2 a été explorée en culture en comparant l'absorption et le métabolisme de cette toxine dans différents types cellulaires (Tableau 45).

Tableau 45 : IC50 et absorption de la toxine T-2 pour différents types cellulaires

	IC50 (ng/mL)	Pic d'absorption	
		Moment	Intensité
Lymphocytes murins	1.1	4-10 h	25 %
Daudi	1.0	16 h	20-30 %
REH	>20	16 h	3 %
KE37	>20	16 h	3 %

D'après Porcher *et al.*, 1988

La nature des métabolites et leur importance relative dans les différents types cellulaires sont équivalentes. Les données présentées ci-dessus (Tableau 45) indiquent de plus clairement que les cellules les plus sensibles sont également celles qui absorbent le mieux la toxine T-2.

On peut donc en conclure que la sensibilité relative de ces différents types cellulaires n'est pas due à des capacités métaboliques différentes, mais à leur capacité à absorber la toxine et/ou à la rejeter dans le milieu de culture [Porcher *et al.*, 1988].

9.3.3. Conclusion

La comparaison de la cinétique de la toxine T-2 et de son métabolite le plus polaire, le T-2 tétraol, a permis de mettre en évidence l'importance de la lipophilie de ces deux trichothécènes dans leur potentiel toxique, et donc du mécanisme de diffusion passive dans l'accès de la toxine à ses sites d'action intracellulaires. Par contre, l'utilisation de lignées lymphocytaires cancéreuses résistantes à la toxine T-2 suggère l'existence d'autres mécanismes, puisque cette résistance semble provenir d'une capacité à avoir moins de toxine en position intracellulaire. La diffusion passive pourrait donc passer par des transporteurs passifs – inexistant dans les lignées résistantes et/ou être renforcée par des mécanismes actifs – une hypothèse appuyée par la révélation de l'existence d'un mécanisme énergie-dépendant responsable pour un quart de l'absorption de la toxine T-2 dans des lymphocytes murins.

Ces différences de lipophilie ont également certainement leur importance dans les interactions des trichothécènes avec les fonctions membranaires – les études disponibles ne permettent malheureusement pas de cerner précisément ce point.

Par ailleurs, la différence de toxicité entre trichothécènes ne peut s'expliquer par la seule cinétique, comme le démontrent les données présentées dans la partie consacrée aux mécanismes de l'inhibition des synthèses protéiques. Celles-ci suggèrent cependant que ces différences pharmacodynamiques seraient notamment – mais pas exclusivement – engendrées par des différences d'encombrement stérique, ce qui nous renvoie aux frontières de la cinétique...

9.4. Toxicité mitochondriale

Dans une culture de cellules rénales bovines (MDBK), la toxine T-2 diminue l'activité mitochondriale dès la dose de 0.66 ng/mL, l'inhibition maximale étant atteinte pour une dose de 5 ng/mL. Avec des cellules plus résistantes à l'action des trichothécènes, telles les cellules CHO, les premiers effets apparaissent à la dose de 5-10 ng/mL de toxine T-2 pour atteindre leur maximum à 20 ng/mL [Holt & DeLoach, 1988].

L'intensité de cette réponse mitochondriale est équivalente à celle de la diminution des synthèses protéiques provoquée par la toxine T-2. La toxicité de la toxine T-2 pour les mitochondries a également été démontrée avec des levures, *Saccharomyces cerevisiae* et *S. carlsbergensis* [Holt & DeLoach, 1988, Schappert & Khachatourians, 1983].

Il n'est par contre pas déterminé si cette action毒ique pour les mitochondries est le résultat d'une toxicité directe des trichothécènes pour ces organites ou une conséquence d'autres mécanismes toxiques, comme l'inhibition des synthèses protéiques ou le stress oxydatif, s'il précède la toxicité mitochondriale.

9.5. Peroxydation lipidique

La peroxydation des lipides est un processus complexe engendrant de nombreuses molécules biologiquement actives telles que les alkanals, 2-alkenals, 4-hydroxyalkenals ou le malondialdéhyde (MDA). Ces aldéhydes réagissent très rapidement avec des thiols comme la cystéine et le glutathion, mais inhibent également de nombreuses réactions enzymatiques en se complexant probablement avec les thiols des cystéines incluses dans les sites catalytiques,

ainsi que la synthèse d'ADN et de protéines, participant ainsi probablement à la toxicité des trichothécènes.

L'activité des trichothécènes sur la peroxydation lipidique peut s'évaluer par leur effet sur les agents antioxydants comme sur les produits de cette peroxydation. L'étude des effets des agents antioxydants sur la toxicité des trichothécènes fournit également des pistes sur leurs mécanismes d'action et d'éventuels moyens de prévention.

9.5.1. Effets des trichothécènes sur les produits de la peroxydation lipidique

Le niveau de malondialdéhyde (MDA) hépatique est augmenté chez la souris dès 20 heures après une administration unique de 4-6.25 mg/kg PV de toxine T-2 par voie orale, pour atteindre un maximum vers 48-72 heures après l'intoxication [Vilà *et al.*, 2002].

On retrouve un effet équivalent chez le rat recevant une dose unique de 3.6 mg/kg PV par voie orale, avec une augmentation de la formation de diènes conjugués et de MDA. L'augmentation du MDA est également obtenue, mais dans une bien moindre mesure, avec une dose unique de 28 mg/kg PV de DON administrée par gavage. Il est intéressant de noter que la cinétique d'apparition de ce stress oxydatif suit la cinétique de distribution de la toxine T-2 (Partie 2. 1. Toxicocinétique) [Chang & Mar, 1988, Rizzo *et al.*, 1994].

L'apparition de MDA dans le foie de volailles suite à une intoxication subaiguë par la toxine T-2 est controversée :

- le MDA est détectable dès de très basses doses de toxine T-2 (0.2-0.6 mg/kg dans l'aliment) chez le poulet, le canard et l'oie mais la méthode utilisée est ancienne et critiquée par d'autres auteurs pour son manque de spécificité [Mézes *et al.*, 1998].
- avec de meilleurs moyens de détection, la production de MDA hépatique va également en augmentant pendant trois semaines chez des poulets recevant dans l'aliment 1.5 mg/kg PV de toxine T-2 par jour [Leal *et al.*, 1999].
- mêmes méthodes analytiques, mais pas d'augmentation du niveau de MDA hépatique chez le poulet consommant un aliment contenant jusqu'à 5 mg/kg de toxine T-2 pendant 10 jours [Hoehler & Marquardt, 1996].

9.5.2. Effets des trichothécènes sur les agents antioxydants

- α -tocophérol

Chez la souris, l'administration de 4-6.25 mg/kg PV de toxine T-2 entraîne une diminution de la concentration plasmatique en α -tocophérol, qui atteint un minimum 20 heures après l'intoxication. La durée de cette baisse de concentration est augmentée avec la dose [Vilà *et al.*, 2002].

La concentration hépatique en α -tocophérol est également diminuée chez le poulet recevant un aliment contenant 4 mg/kg de toxine T-2 [Hoeler & Marquardt, 1996].

- Glutathion et glutathion peroxydase

Chez le rat, une administration unique de 3.6 mg/kg PV de toxine T-2 ou de 28 mg/kg PV de DON par gavage entraîne une diminution du glutathion hépatique de 48 et 25 %, respectivement [Rizzo *et al.*, 1994].

Avec des doses de toxine T-2 avoisinant les maxima détectés lors de contamination spontanée (0.2-0.6 mg/kg dans l'aliment pendant 10 jours) chez le poulet, le canard et l'oie, la concentration hépatique en glutathion réduit diminue légèrement, alors que celle du glutathion oxydé augmente progressivement avec l'administration prolongée de l'aliment contaminé. L'effet est évidemment beaucoup plus marqué lors de la consommation d'un aliment contaminé à hauteur de 1.5 mg/kg PV de toxine T-2 chez le poulet, mais tend à se réduire avec le temps pour atteindre le niveau des contrôles au bout de trois semaines de traitement [Leal *et al.*, 1999, Mézes *et al.*, 1998].

L'activité de la glutathion peroxydase est diminuée chez l'oie recevant l'aliment contaminé à hauteur de 0.4-0.6 mg/kg, alors que cet effet n'est pas obtenu chez le poulet et le canard recevant l'aliment contaminé par 0.2 mg/kg de toxine T-2. Cette activité est augmentée chez le poulet après 7 jours de consommation d'un aliment contenant 1.5 mg/kg PV de toxine T-2, ce que les auteurs interprètent comme une réaction adaptative du foie au stress oxydatif, tout comme l'augmentation concomitante de l'activité des glutathion S-transférases et γ -glutamyl transférases [Leal *et al.*, 1999, Mézes *et al.*, 1998].

9.5.3. Effets des agents antioxydants sur la toxicité des trichothécènes

Chez la souris, les niveaux de MDA hépatiques sont inversement proportionnels à la quantité de vitamine E dans l'aliment donné pendant une semaine avant l'administration de toxine T-2. La vitamine E, à des concentrations normales (60 UI/kg PV) parvient même à bloquer les effets de la toxine T-2 sur les teneurs hépatiques en MDA lorsque celle-ci est administrée à une dose allant jusqu'à 2 mg/kg PV par voie orale – cette dose de toxine étant déjà supérieure aux quantités de toxine pouvant être ingérées avec des niveaux de contamination spontanée des aliments. Une augmentation de la dose de vitamine E au-dessus des valeurs recommandées (500 UI/kg PV) permet également de contrer une dose d'au plus 3 mg/kg PV de toxine T-2. A la dose de 4 mg/kg PV de toxine T-2, l'effet toxique sur la peroxydation lipidique n'est plus totalement contré par la vitamine E [Vilà *et al.*, 2002].

De même chez le rat, une supplémentation élevée de l'aliment en sélénium, vitamine C et vitamine E diminue les effets de la toxine T-2 ou du DON sur les niveaux hépatiques de MDA et de glutathion, ainsi que la gravité des symptômes observés [Rizzo *et al.*, 1994].

Le lycopène, un caroténoïde extrait de la tomate, se révèle également efficace dans la diminution des effets de 1.5 mg/kg PV de toxine T-2 administrée dans l'aliment pendant trois semaines chez le poulet sur les niveaux de MDA et de glutathion hépatiques. Il diminue également l'intensité de la stimulation de la glutathion peroxydase, de la glutathion S-transférase et de la γ -glutamyl transférase [Leal *et al.*, 1999].

9.5.4. Conclusion

L'intoxication par les trichothécènes entraîne donc un stress oxydatif qui se manifeste par une augmentation des produits de la peroxydation lipidique et une utilisation des équivalents-réducteurs. Le mécanisme exact du déclenchement de ce stress oxydatif reste cependant inconnu, et l'on ne sait même pas s'il est du à l'action directe des trichothécènes ou s'il n'est qu'une conséquence indirecte de l'intoxication – et notamment des baisses de synthèses protéique.

La supplémentation de l'aliment en agents antioxydants tels que la vitamine E, la vitamine C, le sélénium ou le lycopène diminue l'intensité de ce stress oxydatif en complétant l'action des systèmes réducteurs de l'organisme, et diminue du même coup la gravité des symptômes d'une intoxication aiguë par les trichothécènes.

Si les données sont insuffisantes pour conclure définitivement sur ce point, il semble néanmoins que le simple fait d'assurer des niveaux en vitamine E dans l'aliment conformes aux recommandations classiques permettent déjà de prévenir les effets des trichothécènes sur le stress oxydatif – des animaux carencés étant eux bien plus sensibles.

9.6. L'apoptose

Une unique injection IP de 0.35-3.5 mg/kg PV de toxine T-2 ou une triple injection IP de 3 mg/kg PV de F-X induisent une atrophie temps- et dose-dépendante du thymus chez la souris. La morphologie des cellules thymiques – fragmentation cellulaire et condensation nucléaire – la fragmentation de la chromatine en nucléosomes (200 pb et multiples), et les résultats obtenus par la méthode TUNEL sont caractéristiques d'un processus d'apoptose [Islam *et al.*, 1998, Miura *et al.*, 1998].

Un processus d'apoptose est également observé *in vitro* dans une culture de thymocytes murins en présence de F-X. Comme *in vivo*, l'intensité de cette apoptose est dose- et temps-dépendante. L'utilisation d'inhibiteurs des caspases supprime complètement l'induction de l'apoptose par la F-X. Les concentrations intracellulaires des caspases-3, -8 et -9 sont d'ailleurs fortement augmentées 2-3 heures après l'ajout de F-X dans le milieu de culture. La libération de cytochrome *c* depuis les mitochondries vers le cytoplasme, où cette molécule active la cascade des caspases, indique que la F-X est capable, directement ou non, de perturber le fonctionnement mitochondrial et d'induire cette libération [Miura *et al.*, 2002].

L'administration d'un inhibiteur des synthèses protéiques, le cycloheximide, 5 minutes après une injection IP de 1.75 mg/kg PV de toxine T-2 chez la souris inhibe l'induction de l'apoptose, indiquant que la synthèse *de novo* de protéines (probablement des caspases ou de leurs activateurs allostériques, les Apafs) est indispensable. Comme l'indiquent les résultats obtenus avec des souris surrénalectomisées ou l'utilisation d'anticorps dirigés contre le TNF- α , ni les glucocorticoïdes ni le TNF- α ne sont impliqués dans ce processus apoptotique, ce qui a priori écarte l'implication de molécules apoptogènes membranaires (exemple : fas) ou nucléaires (exemple : p53) [Islam *et al.*, 1998].

9.7. Conclusion

La toxine T-2 est capable d'interagir directement avec la membrane plasmique en s'intercalant dans la bicouche phospholipidique, ce qui en traîne une perte de l'intégrité membranaire et des diminution des capacités de transport transmembranaire.

Les trichothécènes sont également capables d'induire une inhibition des synthèses macromoléculaire en se fixant sur la sous-unité 60 S des ribosomes. Avec des doses très faibles, on observe paradoxalement une stimulation des synthèses. Ce dernier mécanisme a des effets non négligeables sur le système immunitaire notamment. L'inhibition des synthèses protéique serait, selon les études, dose-dépendante ou de type « tout ou rien ».

Le potentiel toxique des trichothécènes est influencé à la fois par leur capacité à pénétrer la cellule. Plus ils sont lipophiles plus cette pénétration est facilitée, leur permettant ainsi d'agir sur leurs cibles intracellulaires. Leur capacité d'action sur la membrane plasmique implique également que les plus lipophiles soient, à cet égard, les plus toxiques. La lipophilie relative des trichothécènes ne suffit cependant pas à expliquer leur toxicité relative, puisque, au niveau des ribosomes, leur capacité à inhiber la traduction dépend également de leur encombrement stérique, de leurs sites de liaison faible et de leur stabilité intrinsèque. Il est d'ailleurs intéressant de rapprocher ces conclusions de la lipophilie relative du DON et du NIV, très proches alors même que le NIV est beaucoup plus toxique, et de celle de la F-X qui a le même potentiel toxique que le NIV mais qui est bien plus lipophile.

Les trichothécènes engendrent également un stress oxydatif – probablement très modéré si l'animal n'est pas carencé en vitamine E – et possèdent une toxicité mitochondriale non négligeable. Dans l'état actuel des connaissances, il est impossible d'affirmer l'existence d'un lien entre ces aspects de la toxicité des trichothécènes et leur action sur la synthèse protidique, par exemple. D'autre part, l'augmentation des conditions oxydantes intracellulaires et/ou l'altération des synthèses protidiques sont capables de déclencher un processus d'apoptose.

Remarquons enfin que la cytotoxicité des trichothécènes implique également le déclenchement d'un processus d'apoptose.

Les trichothécènes ont suscité de nombreuses recherches en toxicologie expérimentale, comme le démontre la multiplicité des sources utilisées dans cette partie. Ces études permettent aujourd’hui de cerner assez précisément les conséquences et mécanismes d’une telle intoxication.

Les trichothécènes ne sont a priori pas cancérogènes, même s’ils induisent des lésions de la chromatine ou de la double hélice d’ADN.

Ils ne sont pas non plus tératogènes, mais se révèlent par contre fortement embryotoxiques, et diminuent la fertilité des femelles et secondairement des mâles – ces effets sont temporaires.

Ils n’ont pas de toxicité spécifique à l’encontre des deux principaux organes émonctoires, les reins et le foie, ni envers le système nerveux.

Ils possèdent une toxicité cutanée importante, tant par contact que lors d’intoxication par voie générale.

Ils entraînent de graves lésions digestives, une diminution de la consommation alimentaire, des vomissements et une diarrhée responsables d’une baisse de croissance et d’un affaiblissement général de l’organisme.

Ils induisent une forte diminution de l’hématopoïèse, mais qui ne se révèle que temporaire, et semblent capables d’affecter à long terme le système vasculaire, même si ce n’est pas là le principal aspect de leur toxicité.

Leur immunotoxicité est par contre très importante, et procède de mécanismes complexes qui ne sont pas encore totalement élucidés. Ils induisent une stimulation de certains aspects du système immunitaire à faible dose, et une immunodépression à plus forte dose.

La comparaison de ces différents aspects de leur toxicité évoque de grandes similitudes mécanistiques entre la dermotoxicité, les lésions digestives, la destruction des cellules immunitaires et hématopoïétiques, toutes passant par une intense cytotoxicité cellulaire. A cet égard, la toxine T-2 se montre plus毒ique que le DAS, le DON étant bien moins毒ique.

Ces différences passent notamment par la capacité des différents trichothécènes à atteindre leurs cibles cellulaires et à s’y fixer. Leur cible principale est le ribosome, ce qui induit une inhibition de la traduction et des synthèses protéiques, mais on observe également une inhibition des synthèses d’acides nucléiques et de lipides. D’autres mécanismes cytotoxiques sont mis en jeu, tels que la peroxydation lipidique ou l’altération des fonctions membranaires, tous ces dérèglements pouvant conduire au déclenchement d’un processus d’apoptose. Notons

enfin que certains effets paradoxaux à l'incidence physiopathologique peuvent apparaître, tels qu'une augmentation des synthèses protéiques concernant notamment les interleukines, molécules-clefs dans les communications intercellulaires, et les immunoglobulines, induisant une éventuelle immunostimulation mais également des désordres dus à l'accumulation de ces protéines.

CONCLUSION

La toxicité relative des trichothécènes entre eux et entre espèces semble être la conséquence de leurs cinétiques relatives plus que de réelles divergences dans leur pharmacodynamie : leur homogénéité structurale se retrouve dans l'homogénéité de leurs effets toxiques. La toxicité relative des trichothécènes s'explique notamment par leur capacité à atteindre leurs cibles intracellulaires et à interagir avec les membranes cellulaires, ces capacités étant conditionnée par leur lipophilie.

Les trichothécènes possèdent globalement une toxicité équivalente chez le porc et les volailles, alors que les ruminants se montrent bien plus résistants. Ils sont rapidement et intensivement absorbés chez les mammifères monogastriques, après avoir subie d'importantes dégradations par la flore digestive, chez le porc notamment. Ce métabolisme, conduisant à une détoxicification des trichothécènes, se poursuit dans le foie, et amène, après glucuronoconjuguaison, à une élimination essentiellement biliaire. Chez les volailles, l'absorption est médiocre, mais le métabolisme hépatique bien moins intense... Chez les ruminants, les trichothécènes sont très largement détruits dans le rumen, et l'absorption est mauvaise. Ces deux facteurs suffisent probablement à expliquer la résistance de ces derniers aux trichothécènes. Notons enfin que le porc, contrairement aux autres espèces, est incapable de réaliser les voies métaboliques de phase I du déoxynivalénol, et se montre ainsi particulièrement sensible à cette toxine.

Les trichothécènes agissent essentiellement sur des cellules au métabolisme actif, à multiplication rapide : l'embryon, les cellules des épithéliums cutanés et digestifs, hématopoïétiques et immunitaires. Elles inhibent les synthèses de protéines et d'acides nucléiques, entraîne un stress oxydatif et altèrent les fonctions membranaires. Un processus d'apoptose est souvent mis en cause. L'état actuel des connaissances ne permet pas encore de cerner précisément la place de chacun de ces aspects dans la physiopathologie cellulaire de la toxicité des trichothécènes.

On note également des troubles centraux, tels que vomissements, anorexie, apathie, parésie... Ceux-ci pourraient notamment s'expliquer par le dérèglement important des synthèses d'interleukines, ces messagers cellulaires synthétisés par les cellules lymphoïdes qui affectent une multitude de cible dans tout l'organisme.

Notons enfin que malgré leur embryotoxicité, les trichothécènes ne sont pas tératogène. Ils ne sont pas non plus cancérogènes, ni hépatotoxiques et néphrotoxiques.

La reproduction expérimentale des mycotoxicoses provoquées par les trichothécènes a permis de mettre en évidence, dans le cas d'une intoxication aiguë, des manifestations cliniques particulièrement visibles : vomissements, diarrhée, parésie et apathie chez le porc, anorexie, diarrhée et apathie chez les volailles. De tels troubles ne sont cependant observés qu'à des doses très largement supérieures à celles qui sont communément relevées dans les céréales. Les ruminants et les chevaux se montrent beaucoup plus résistants à ces mycotoxines et les rares formes aiguës signalées résultent de protocoles expérimentaux incompatibles avec une intoxication spontanée.

Concernant les mycotoxicoses chroniques, elles se manifestent essentiellement par une baisse des performances zootechniques globales, le plus souvent accompagnée d'une diminution de la prise alimentaire. Des lésions inflammatoires assez caractéristiques, qualifiées de radiomimétiques, sont observées notamment autour et dans la cavité buccale. Encore une fois, les niveaux de contaminations de l'aliment nécessaires à l'apparition de troubles, même modérés, sont 10 (pour le DON) à 1000 (pour la toxine T-2 et le DAS) fois supérieurs à ceux qui sont généralement constatés dans les céréales. Cette fois, le risque n'est plus négligeable pour le DON mais reste encore peu élevé pour les trichothécènes du groupe A.

En pratique, il est probable que ces troubles se manifestent le plus souvent par des symptômes particulièrement frustres et peu spécifiques. Seule la mise en relation de l'apparition des troubles et de la distribution d'un nouvel aliment, ou d'un aliment visiblement altéré, permettent de suspecter rapidement une origine mycotoxique. Si l'on se souvient que de plus, la distribution des fragments moisissus peut être très hétérogène, on comprend l'existence d'épisodes très violents, comme ceux rapportés dans la partie 1, et la difficulté à établir un diagnostic de certitude (Partie 1. 6. Diagnostic et moyens de lutte).

Le risque réel d'intoxication par les trichothécènes est en conséquence très difficile à évaluer, mais ne doit probablement pas être sous-estimé. En tant que facteur de dégradation des indices zootechniques et qu'agents favorisants de pathologies infectieuses ou de « technopathies », les trichothécènes peuvent certainement jouer un rôle non négligeable dans des productions animales toujours plus intensives, où l'animal est soumis à un ensemble de conditions concourant à le fragiliser, loin des conditions optimales de laboratoire utilisées dans les reproductions expérimentales.

Signalons enfin que le risque pour l'homme se trouve dans les denrées végétales et non dans les denrées animales ou d'origine animale, dans lesquelles les niveaux résiduels sont très faibles, avec des toxines sous forme métabolisée, détoxifiée.

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, P. DESNOYERS, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que
M. GREVET Nicolas, Roger, Paul
a été admis(e) sur concours en : 1998
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 9 juillet 2003
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, P. GUERRE, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
autorise la soutenance de la thèse de :
M. GREVET Nicolas, Roger, Paul
intitulée :
« Modes d'action et toxicité des trichothécènes »

Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Philippe GUERRE



Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Jean-Louis FONVIEILLE



Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Docteur Pierre DESNOYERS



Vu le : 27 NOV. 2003
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Jean-François SAUPEREAU



BIBLIOGRAPHIE

1. **Ademoyer AA, Hamilton PB.** - Mouth lesions in broiler chickens caused by scirpenol mycotoxins. - *Poult Sci.*, 1991a, **70** (10):2082-9.
2. **Ademoyer AA, Hamilton PB.** - Research note : influence of acetylation of scirpenol mycotoxines on feed refusal by chickens. - *Poultry Sci.*, 1989, **68** : 854-856.
3. **Ademoyer AA, Hamilton PB, Cullen JM.** - Scirpentriol toxicity in young broiler chickens. - *Poultry Sci.*, 1991b, **70** : 2090-2093.
4. **Agrelo CE, Schoental R.** - Synthesis of DNA in human fibroblasts treated with T-2 and HT-2 toxin (the trichothecene metabolites of *Fusarium* species) and the effect of hydroxyurea. - *Toxicol Let.*, 1980, **5** : 155-160.
5. **Albright JL, Aust SD, Byers JH, Fritz TE, Brodie BO, Olsen RE, Link RP, Simon J, Rhoades HE, Brewer RL.** - Moldy corn toxicosis in cattle. - *JAVMA*, 1964, **144** (9) : 1013-1019.
6. **Alexopoulos C.** - Association of *Fusarium* mycotoxicosis with failure in applying an induction of parturition program with PGF2alpha and oxytocin in sows. - *Theriogenology*, 2001, **55** (8):1745-57.
7. **Arnold DL, Karpinsky KF, McGuire PF, Nera EA, Zawidzka ZZ, Lok E, Campbell JS, Tryphonas L, Scott PM.** - A short-term feeding study with deoxynivalenol (vomitoxin) using rats. - *Fundam Appl. Toxicol.*, 1986a, **6** : 691-96.
8. **Arnold DL, McGuire PF, Nera EA, Karpinski KF, Bickis MG, Zawidzka ZZ, Fernie S, Vesonder RF.** - The toxicity of orally administered deoxynivalenol (vomitoxin) in rats and mice. - *Food Chem Toxicol.*, 1986b, **24** (9) : 935-41.
9. **Atkinson HAC & Miller K.** - Inhibitory effect of deoxynivalneol, 3-acetyldeoxynivalenol and zearalenone on induction of rat and human lymphocyte proliferation. - *Toxicol Let.*, 1984, **23** : 215-221.
10. **Atroshi F, Rizzo A, Biese I, Veijalainen P, Antila E, Westermark T.** - T-2 toxin-induced DNA damage in mouse livers : the effect of pretreatment with coenzyme Q₁₀ and α -tocopherol. - *Molec Asp Med.*, 1997, **18** : s255-258.
11. **Azcona-Olivera JI, Ouyang Y, Murtha J, Chu FS, Pestka JJ.** - 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.*, 1995a, **133** (1):109-20.
12. **Azcona-Olivera JI, Ouyang Y, Warner RL, Linz JE, Petska JJ.** - Effects of vomitoxin (deoxynivalenol) and cycloheximide on IL-2, 4, 5 and 6 secretion and mRNA levels in murine CD4+ cells. - *Food Chem Toxicol.*, 1995b, **33** (6) : 433-441.
13. **Ballough GP, Pritchard GA, Miller-Patrick K, Kan RK, Anthony A.** - Cytophotometric analysis of T-2 toxin induced alterations in chromatin condensation and neuronal nuclear volume of rat supraoptic-magnocellular neurons. - *Life Sci.*, 1989, **45** : 189-196.
14. **Balzer A.** - Les trichothécènes : nature et origine. - Th. : Med. Vet. : Toulouse : 2003-TOU 3 – 4146.
15. **Banotai C, Greene-McDowell DM, Azcona-Olivera JI, Pestka JJ.** - Effects of intermittent vomitoxin exposure on body weight, immunoglobulin levels and haematuria in the B6C3F1 mouse. - *Food Chem Toxicol.*, 1999, **37** (4):343-50.
16. **Bata A, Vanyi A, Sandor GS.** - Metabolization of trichothecene toxins (T-2 toxin and diacetoxyscirpenol) in embryonated hen's egg. - *Acta Vet. Hungar.*, 1983, **31** (4) : 189-192.

17. **Bauer J, Bollwahn W, Gareis M, Gedek B, Heinritzi K.** – Kinetic profiles of diacetoxyscirpenol and two of its metabolites in blood serum of pigs. – *Appl Environ Microbiol.*, 1985, **49** : 842-845.
18. **Berek L, Petri IB, Mesterhazy A, Téren B, Molnar J.** – Effects of mycotoxins on human immune fonctions in vitro. – *Toxicol. in vitro*, 2001, **15** : 25-30.
19. **Bergers WWA, Van Dura EA, Van der Stap JGMM.** - Changes in circulatory white blood cells of mice and rats due to acute trichothecene intoxication. – *Toxicol Letters.*, 1987, **36** : 173-79.
20. **Bergmann F, Fainmesser M, Yagen B.** – Central effects of cycloheximide alone and of its combination with T-2 toxin. – *Toxicol Let.*, 1991, **57** : 1-9.
21. **Bergmann F, Yarom R, Yagen B.** – Comparison of the toxicity of two trichothecenes applied topically to brain and liver of rats. – *Toxicol Let.*, 1989, **48** : 49-56.
22. **Bergsjø B, Herstad O, Nafstad I.** – Effects of feeding deoxynivalenol-contaminated oats on reproduction performance in white leghorn hens. – *Br. Poult. Sci.*, 1993, **34** : 147-159.
23. **Blakley BR, Hancock DS, Rousseaux CG.** – Embryotoxic effets of prenatal T-2 toxin exposure in mice. – *Can J Vet Res.*, 1987, **51** : 399-403.
24. **Bondy GS, Gentry PA, Basrur PK.** - Structure-function relationship of the action of T-2 toxin on bovine platelets. - *Fundam Appl Toxicol.*, 1989, **12** (1):109-16.
25. **Bondy GS, Pestka JJ.** - Dietary exposure to the trichothecene vomitoxin (deoxynivalenol) stimulates terminal differentiation of Peyer's patch B cells to IgA secreting plasma cells. - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1991, **108** (3):520-30.
26. **Boonchuvit B, Hamilton PB, Burmeister HR.** – Interaction of T-2 toxin with *Salmonella* infections of chickens. – *Poult. Sci.*, 1975, **54** : 1693-1696.
27. **Borison HL, Goodheart ML.** - Neural factors in acute emetic, cardiovascular, and respiratory effects of T-2 toxin in cats. - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1989, **101** (3):399-413.
28. **Borison HL, Goodheart ML, Thut DC.** - Hypovolemic shock in acute lethal T-2 mycotoxicosis. - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1991, **108** (1):107-13.
29. **Bradlaw JA, Swentzel KC, Alterman E, Hauswirth JW.** - Evaluation of purified 4-deoxynivalenol (vomitoxin) for unscheduled DNA synthesis in the primary rat hepatocyte-DNA repair assay. - *Food Chem Toxicol.*, 1985, **23** (12) : 1063-7.
30. **Brake J, Hamilton PB, Kittrell RS.** - Effects of the tricothecene mycotoxin diacetoxyscirpenol on egg production of broiler breeders. - *Poult Sci.*, 2002, **81** (12):1807-10.
31. **Brake J, Hamilton PB, Kittrell RS.** - Effects of the trichothecene mycotoxin diacetoxyscirpenol on feed consumption, body weight, and oral lesions of broiler breeders. - *Poult Sci.*, 2000, **79** (6):856-63.
32. **Brake J, Hamilton PB, Kittrell RS.** - Effects of the tricothecene mycotoxin diacetoxyscirpenol on fertility and hatchability of broiler breeders. - *Poult Sci.*, 1999, **78** (12):1690-4.
33. **Brenecke LH & Neufeld HA.** – Pathologic effects and LD50 doses of T-2 toxin in rats by intramuscular, subcutaeous, and intraperitonel routes of administration. – *Fed. Proc.*, 1982, **41** : 924.
34. **Bunner DL & Morris ER.** – Alteration of multiple cell membrane functions in L-6 myoblasts by T-2 toxin : an important mechanism of action. – *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1988, **92** : 113-21.
35. **Carson MS & Smith TK.** – Role of bentonite in prevention of T-2 toxicosis in rats. – *J. Anim. Sci.*, 1983, **57** (6) : 1498-1506.

36. **Cavaillon JM.** – *Les cytokines*, 2ème édition. – Paris : Masson, 1996, 590 p.
37. **Chan PK & Gentry PA.** - Inhibition of bovine platelet function by T-2 toxin, HT-2 toxin, diacetoxyscirpenol and deoxynivalenol. - *Food Chem Toxicol.*, 1984, **22** (8) : 643-8.
38. **Chang IM & Mar WC.** – Effect of T-2 toxin on lipid peroxydation in rats : elevation of conjugated diene formation. – *Toxicol. Let.*, 1988, **40** : 275-280.
39. **Charmley E, Trenholm HL, Thompson BK, Vudathala D, Nicholson JW, Prelusky DB, Charmley LL.** - Influence of level of deoxynivalenol in the diet of dairy cows on feed intake, milk production, and its composition. - *J Dairy Sci.*, 1993, **76** (11):3580-7.
40. **Chi MS, Mirocha CJ, Kurtz HJ, Weaver G, Bates F, Shimoda W.** – Effects of T-2 toxin on reproductive performance and health of laying hens. – *Poult. Sci.*, 1977a, **56** : 628-637.
41. **Chi MS, Mirocha CJ, Kurtz HJ, Weaver G, Bates F, Shimoda W.** – Subacute toxicity of T-2 toxin in broiler chicks. – *Poult. Sci.*, 1977b, **56** : 306-313.
42. **Chi MS, Robison TS, Mirocha CJ, Swanson SP, Shimoda W.** – Excretion and tissue distribution of radioactivity from tritium-labeled T-2 toxin in chicks. – *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1978a, **45** : 391-402.
43. **Chi MS, Robison TS, Mirocha CJ, Swanson SP, Shimoda W.** – Transmission of radioactivity into eggs from laying hens (*Gallus domesticus*) administered tritium labeled T-2 toxin. – *Poultry Sci.*, 1978b, **57** : 1234-1238.
44. **Coddington KA, Swanson SP, Hassan AS, Buck WB.** – Enterohepatic circulation of T-2 toxin metabolites in the rat. – *Drug Metab Disp.*, 1989, **17** (6) : 600-5.
45. **Collet MG & Zumpt I.** – Diacetoxyscirpenol detected in mouldy pig feed in the Western Cape. – *J S Afr Vet Assoc.*, 1986, **57** (1) : 74.
46. **Conner WM, De Camargo J, Punyarit P, Riengropitak S, Rogers AE, Newberne PM.** – Toxicity of anguidine in mice. – *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1986, **7** : 163-164.
47. **Conrady-Lorck S, Gareis M, Feng XC, Amselgruber W, Forth W, Fichtl B.** – Metabolism of T-2 toxin in vascularly autoperfused jejunal loops of rats. – *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1988, **94** : 23-33.
48. **Cooray R.** - Effects of some mycotoxins on mitogen-induced blastogenesis and SCE frequency in human lymphocytes. - *Food Chem Toxicol.*, 1984, **22** (7) : 529-34.
49. **Cooray R, Lindahl-Kiessling K.** - Effect of T2 toxin on the spontaneous antibody-secreting cells and other non-lymphoid cells in the murine spleen. - *Food Chem Toxicol.*, 1987, **25** (1) : 25-9.
50. **Coppock RW, Hoffmann WE, Gelberg HB, Bass D, Buck WB.** - Hematologic changes induced by intravenous administration of diacetoxyscirpenol in pigs, dogs, and calves. - *Am J Vet Res.*, 1989, **50** (3):411-5.
51. **Coppock RW, Swanson SP, Gelberg HB, Buck WB.** - Tissue residues of diacetoxyscirpenol in pigs and calves after intravenous dosing. - *Am J Vet Res.*, 1988, **49** (11):1997-9.
52. **Coppock RW, Swanson SP, Gelberg HB, Koritz GD, Buck WB, Hoffman WE.** – Pharmacokinetics of diacetoxyscirpenol in cattle and swine : effects of halothane. – *Am J Vet Res.*, 1987, **48** (4) : 691-695.
53. **Coppock RW, Swanson SP, Gelberg HB, Koritz GD, Hoffman WE, Buck WB, Vesonder BS.** – Preliminary study of the pharmacokinetics and toxicopathy of deoxynivalenol (vomitoxin) in swine. – *Am. J. Vet. Res.*, 1985, **46** (1) : 169-174.
54. **Corrier DE & Norman JO.** - Effects of T-2 mycotoxin on tumor susceptibility in mice. - *Am J Vet Res.*, 1988, **49** (12):2147-50.

55. **Corrier DE & Ziprin RL.** – Enhanced resistance to listeriosis induced in mice by preinoculation treatment with T-2 mycotoxin. – *Am J Vet Res.*, 1986, **47** (4) : 856-859.
56. **Corrier DE & Ziprin RL.** – Immunotoxic effects of T-2 mycotoxin on cell-mediated resistance to *Listeria monocytogenes* infection. – *Vet Immunol Immunopathol.*, 1987, **14** : 11-21.
57. **Cote LM, Beasley VR, Bratich PM, Swanson SP, Shivaprad HL, Buck WB.** – Sex-related reduced weight gains in growing swine fed diets containing deoxynivalenol. – *J. Anim. Sci.*, 1985, **61** (4) : 942-950.
58. **Cote LM, Buck W, Jeffery E.** - Lack of hepatic microsomal metabolism of deoxynivalenol and its metabolite, DOM-1. - *Food Chem Toxicol.*, 1987, **25** (4) : 291-5.
59. **Cote LM, Dahlem AM, Yoshizawa T, Swanson SP, Buck WB.** - Excretion of deoxynivalenol and its metabolite in milk, urine, and feces of lactating dairy cows. - *J Dairy Sci.*, 1986, **69** (9):2416-23.
60. **Craddock VM, Sparrow S, Henderson AR.** – The effect of the trichothecene mycotoxin diacetoxyscirpenol on nitrosamine-induced esophageal cancer in the rat. – *Cancer Lett.*, 1986, **31** : 197-204.
61. **Creasia DA, Thurman JD, Jones LJ, Nealley ML, York CG, Wannemacher RW, Bunner DL.** – Acute inhalation toxicity of T-2 mycotoxin mice. – *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1987, **8** : 230-235.
62. **Creasia DA, Thurman JD, Wannemacher RW, Bunner DL.** – Acute inhalation toxicity of T-2 mycotoxin in the rat and guinea pig. – *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1990, **14** : 54-59.
63. **Creppy EE.** - Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. - *Toxicol Lett.*, 2002, **127** (1-3):19-28.
64. **DeLoach JR, Andrews K, Naqi A.** – Interaction of T-2 toxin with bovine carrier erythrocytes : effects on cell lysis, permeability, and entrapment. – *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1987, **88** : 123-131.
65. **Diaz GJ, Squires EJ, Julian RJ, Boermans HJ.** - Individual and combined effects of T-2 toxin and DAS in laying hens. - *Br Poult Sci.*, 1994, **35** (3):393-405.
66. **Diekman MA, Green ML.** - Mycotoxins and reproduction in domestic livestock. - *J Anim Sci.*, 1992, **70** (5):1615-27.
67. **Doebler JA, Martin LJ, Morse JD, Ballough GP, Strauss JA, Anthony A.** - Mesenteric mast cell degranulation in acute T-2 toxin poisoning. - *Toxicol Lett.*, 1992, **62** (1):33-8.
68. **Doer JA, Hamilton PB, Burmeister HR.** – T-2 toxicosis and blood coagulation in young chickens. – *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1981, **60** : 157-162.
69. **Dyson DA & Reed JBH.** – Haemorrhagic syndrome of cattle of suspected mycotoxic origin. – *Vet. Rec.*, 1977, **100** : 400-402.
70. **El-Banna AA, Hamilton RMG, Scott PM, Trenholm HL.** – Nontransmission of deoxynivalenol (vomitoxin) to eggs and meat in chickens fed deoxynivalenol-contaminated diets. – *J Agric Food Chem.*, 1983, **31** : 1381-1384.
71. **Ehrlich KC & Daigle KW.** – Protein synthesis inhibition by oxo-8-12,13-epoxytrichothecenes. - *Biochim Biophys Acta.*, 1987, **923** : 206-213.
72. **FAO** – Commission du Codex Alimentarius – Document de travail sur le déoxynivalénol – Page consultée le 9 mars 2004 - ftp://ftp.fao.org/codex/ccfac34/fa02_29f.pdf.
73. **Fekete S, Huszenicza G.** - Effects of T-2 toxin on ovarian activity and some metabolic variables of rabbits. - *Lab Anim Sci.*, 1993, **43** (6):646-9.

74. **Fekete S, Tamas J, Vanyi A, Glavits R, Bata A.** – Effect of T-2 toxin on feed intake, digestion and pathology of rabbits. – *Lab Anim Sci.*, 1989, **39** (6) : 603-6.
75. **Feuerstein G, Goldstein DS, Ramwell PW, Zerbe RL, Lux WE, Faden AI, Bayorh MA.** – Cardiorespiratory, sympathetic and biochemical responses to T-2 toxin in Guinea pig and rat. – *J Pharm Exp Ther.*, 1985, **232** (3) : 786-794.
76. **Feuerstein G, Leader P, Siren AL, Braquet P.** – Protective effect of a PAF-acether antagonist, BN 52021, in trichothecene toxicosis. – *Toxicol. Lett.*, 1987, **38** : 271-274.
77. **Fioramonti J, Fargeas MJ, Bueno L.** – Action of T-2 toxin on gastrointestinal transit in mice : protective effect of an argillaceous compound. – *Toxicol. Lett.*, 1987, **36** : 227-232.
78. **Fitzpatrick DW, Boyd KE, Watts BM.** - Comparison of the trichothecenes deoxynivalenol and T-2 toxin for their effects on brain biogenic monoamines in the rat. - *Toxicol Lett.*, 1988, **40** (3):241-5.
79. **Forgacs J.** – Alimentary toxic aleukia (ATA) in man. – In : Forgacs J & Carll WT. – Mycotoxicosis – *Adv. Vet. Sci.*, 1962, **7** : 347-358.
80. **Forsell JH, Jensen R, Tai JH, Witt M, Lin WS, Pestka JJ.** - Comparison of acute toxicities of deoxynivalenol (vomitoxin) and 15-acetyldeoxynivalenol in the B6C3F1 mouse. - *Food Chem Toxicol.*, 1987, **25** (2) : 155-62.
81. **Forsell JH, Witt MF, Tai JH, Jensen R, Pestka JJ.** - Effects of 8-week exposure of the B6C3F1 mouse to dietary deoxynivalenol (vomitoxin) and zearalenone. - *Food Chem Toxicol.*, 1986, **24** (3) : 213-9.
82. **Friend SCE, Hancock DS, Schiefer HB, Babiuk LA.** – Experimental T-2 toxicosis in sheep. – *Can. J. Comp. Med.*, 1983a, **47** : 291-297.
83. **Friend SCE, Schiefer HB, Babiuk LA.** – The effects of dietary T-2 toxin on acute Herpes Simplex Virus type 1 infection in mice. – *Vet Pathol.*, 1983b, **20** : 737-760.
84. **Galtier P, Paulin F, Eeckhoutte C, Larrieu G.** - Comparative effects of T-2 toxin and diacetoxyscirpenol on drug metabolizing enzymes in rat tissues. - *Food Chem Toxicol.*, 1989, **27** (4) : 215-20.
85. **Gareis M, Hashem A, Bauer J, Gedek B.** – Identification of glucuronide metabolites of T-2 toxin and diacetoxyscirpenol in the bile of isolated perfused rat liver. – *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1986, **84** : 168-172.
86. **Gentry PA & Cooper ML.** – Effects of intravenous administration of T-2 toxin on blood coagulation in calves. – *Am J Vet Res.*, 1983, **44** (5) : 741-746.
87. **Gentry PA, Ross ML & Chan PKC.** – Effect of T-2 toxin on hematological and serum enzymes parameters. – *Vet Hum Toxicol.*, 1984, **26** (1) : 24-28.
88. **GeotraceAgri** – page consultée le 9 mars 2004 – Réglementation concernant les mycotoxines associées à la fusariose de l'épi. - http://www.geotraceagri.net/proto/gta_be3.php.
89. **Giroir LE, Ivie GW, Huff WE.** - Comparative fate of the tritiated trichothecene mycotoxin, T-2 toxin, in chickens and ducks. - *Poult Sci.*, 1991, **70** (5):1138-43.
90. **Glavits R, Vanyi A, Fekete S, Tamas J.** - Acute toxicological experiment of T-2 toxin in rabbits. - *Acta Vet Hung.*, 1989, **37** (1-2):75-9.
91. **Greenway JA & Puls R.** – Fusariotoxicosis from barley in british columbia I. Natural occurence and diagnosis. – *Can. J. Comp. Med.*, 1976, **40** : 12-15.
92. **Guerre P, Eeckhoutte C, Burgat V, Galtier P.** - The effects of T-2 toxin exposure on liver drug metabolizing enzymes in rabbit. – *Food Addit Contam.*, 2000, **17** (12) : 1019-26.
93. **Gyongyossy-Issa MI & Khachatourians GG.** – Interaction of T-2 toxin with murine lymphocytes. - *Biochim Biophys Acta.*, 1984, **803** : 197-202.

94. **Gyongyossy-Issa MI & Khachatourians GG.** – Interaction of T-2 toxin and murine lymphocytes and the demonstration of a threshold effect on macromolecular synthesis. - *Biochim Biophys Acta.*, 1985a, **844** : 167-173.
95. **Gyongyossy-Issa MI, Khanna V, Khachatourians GG.** – Characterisation of hemolysis induced by T-2 toxin. - *Biochim Biophys Acta.*, 1985b, **838** : 252-256.
96. **Gyongyossy-Issa MI, Khanna V, Khachatourians GG.** - Changes induced by T-2 toxin in the erythrocyte membrane. - *Food Chem Toxicol.*, 1986, **24** (4) : 311-7.
97. **Hamilton RMG, Thompson BK, Trenholm HL, Fiser PS, Greenhalgh R.** – Effects of feeding white leghorn hens diets that contain deoxynivalenol (vomitoxin)-contaminated wheat. – *Poult. Sci.*, 1985, **64** : 1840-1852.
98. **Harvey RB, Edrington TS, Kubena LF, Elissalde MH, Corrier DE, Rottinghaus GE.** - Effect of aflatoxin and diacetoxyscirpenol in ewe lambs. *Bull Environ Contam Toxicol.*, 1995, **54** (3):325-30.
99. **Harvey RB, Kubena LF, Corrier DE, Witzel DA, Phillips TD, Heidelbaugh ND.** - Effects of deoxynivalenol in a wheat ration fed to growing lambs. - *Am J Vet Res.*, 1986, **47** (7):1630-2.
100. **Harvey RB, Kubena LF, Elissalde MH, Corrier DE, Huff WE, Rottinghaus GE, Clement BA.** – Cocontamination of swine diets by aflatoxin and diacetoxyscirpenol. – *J Vet Diag Invest.*, 1991, **3** : 155-160.
101. **Harvey RB, Kubena LF, Elissalde MH, Rottinghaus GE, Corrier DE.** - Administration of ochratoxin A and T-2 toxin to growing swine. - *Am J Vet Res.*, 1994, **55** (12):1757-61.
102. **Harvey RB, Kubena LF, Huff WE, Corrier DE, Clark DE, Phillips TD.** - Effects of aflatoxin, deoxynivalenol, and their combinations in the diets of growing pigs. - *Am J Vet Res.*, 1989, **50** (4):602-7.
103. **Harvey RB, Kubena LF, Huff WE, Corrier DE, Rottinghaus GE, Phillips TD.** - Effects of treatment of growing swine with aflatoxin and T-2 toxin. - *Am J Vet Res.*, 1990, **51** (10):1688-93.
104. **Hayes MA, Bellamy JEC, Schiefer HB.** – Subacute toxicity of dietary T-2 toxin in mice : morphological and hematological effects. – *Can. J. Comp. Med.*, 1980a, **44** : 203-218.
105. **Hayes MA & Schiefer HB.** – Subacute toxicity of dietary T-2 toxin in mice : influence of protein nutrition. – *Can. J. Comp. Med.*, 1980b, **44** : 219-228.
106. **Hayes MA & Wobeser GA.** – Subacute toxic effects of dietary T-2 toxin in young mallard ducks. – *Can J Comp Med.*, 1983, **47** : 180-187.
107. **He P, Young LG, Forsberg C.** – Microbial transformation of deoxynivalenol (vomitoxin). – *Appl Environ Microbiol.*, 1992, **58** (12) : 3857-3863.
108. **He P, Young LG, Forsberg C.** – Microbially detoxified vomitoxin-contaminated corn for young pigs. – *J Anim Sci.*, 1993, **71** (2) : 963-967.
109. **Hoehler D, Marquardt RR.** - Influence of vitamins E and C on the toxic effects of ochratoxin A and T-2 toxin in chicks. - *Poult Sci.*, 1996, **75** (12):1508-15.
110. **Hoerr FJ, Carlton WW, Yagen B.** – Mycotoxicosis caused by a single dose of T-2 toxin or diacetoxyscirpenol in broiler chickens. – *Vet. Pathol.*, 1981, **18** : 652-664.
111. **Holden C.** – “Unequivocal” evidence of soviet toxin use. – *Science*, 1982, **216** : 154-155.
112. **Holladay SD, Smith BJ, Luster MI.** - B lymphocyte precursor cells represent sensitive targets of T2 mycotoxin exposure. - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1995, **131** (2):309-15.
113. **Holt PS & DeLoach JR.** – Cellular effects of T-2 mycotoxin on two different cell lines. – *Biochim Biophys Acta.*, 1988, **971** : 1-8.

114. **Huff WE, Doerr JA, Hamilton PB, Vesonder RF.** – Acute toxicity of vomitoxin (deoxynivalenol) in broiler chickens. – *Poult. Sci.*, 1981, **60** : 1412-1414.
115. **Huff WE, Harvey RB, Kubena LF, Rottinhaus GE.** – Toxic synergism between aflatoxin and T-2 toxin in broiler chickens. – *Poult. Sci.*, 1988, **67** : 1418-1423.
116. **Huff WE, Kubena LF, Harvey RB, Hagler WM Jr, Swanson SP, Phillips TD, Creger CR.** - Individual and combined effects of aflatoxin and deoxynivalenol (DON, vomitoxin) in broiler chickens. - *Poult Sci.*, 1986, **65** (7):1291-8.
117. **Hughes DM, Gahl MJ, Graham CH, Grieb SL.** - Overt signs of toxicity to dogs and cats of dietary deoxynivalenol. - *J Anim Sci.*, 1999, **77** (3):693-700.
118. **Hulan HW & Proudfoot FG.** – Effects of feeding vomitoxin contaminated wheat on the performance of broiler chickens. – *Poult. Sci.*, 1982, **61** : 1653-1659.
119. **Huszenicza G, Fekete S, Szigeti G, Kulcsar M, Febel H, Kellems RO, Nagy P, Cseh S, Veresegyhazy T, Hullar I.** - Ovarian consequences of low dose peroral Fusarium (T-2) toxin in a ewe and heifer model. - *Theriogenology.*, 2000, **53** (8):1631-9.
120. **IARC** - Toxins derived from Fusarium graminearum, *F. culmorum* and *F. Crookwellense* : zearalenone, deoxynivalenol, nivalenol and fusarenone X. - *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum.*, 1993a, **56** :397-444.
121. **IARC** - Toxins derived from Fusarium sporotrichioides: T-2 toxin. - *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum.*, 1993b, **56** :467-88.
122. **Islam Z, Moon YS, Zhou HR, King LE, Fraker PJ, Pestka JJ.** - Endotoxin potentiation of trichothecene-induced lymphocyte apoptosis is mediated by up-regulation of glucocorticoids. - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 2002, **180** (1):43-55.
123. **Islam Z, Nagase M, Yoshizawa T, Yamauchi K, Sakato N.** - T-2 toxin induces thymic apoptosis in vivo in mice. – *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1998, **148** (2):205-14.
124. **Ito Y, Ohtsubo K, Saito M.** – Effects of fusarenon-X, a trichothecene produced by *Fusarium nivale*, on pregnant mice and their fetuses. – *Jpn J Exp Med.*, 1980, **50** (3) : 167-172.
125. **Jagadeesan V, Rukmini C, Vijayaraghavan M, Tulpule PG.** - Immune studies with T-2 toxin: effect of feeding and withdrawal in monkeys. - *Food Chem Toxicol.*, 1982, **20** (1) : 83-7.
126. **Janse van Rensburg DF, Thiel PG, Jaskiewicz K.** - Short-term effects of two fusarium toxins, diacetoxyscirpenol and neosolaniol monoacetate, in male Wistar rats. - *Food Chem Toxicol.*, 1987, **25** (10) : 767-71.
127. **JEFCA** – page consultée le 11 juin 2003 – Déoxynivalénol - <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je05.htm> .
128. **JEFCA** – page consultée le 11 juin 2003 - T-2 and HT-2 toxins. - <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je06.htm> .
129. **Johnson PJ, Casteel SW, Messer NT.** - Effect of feeding deoxynivalenol (vomitoxin)-contaminated barley to horses. - *J Vet Diagn Invest.*, 1997, **9** (2):219-21.
130. **Juhasz J, Nagy P, Huszenicza G, Szigeti G, Reiczigel J, Kulcsar M.** - Long term exposure to T-2 Fusarium mycotoxin fails to alter luteal function, follicular activity and embryo recovery in mares. - *Equine Vet J Suppl.*, 1997, (25):17-21.
131. **Karpinnen E, Rizzo A, Saari L, Berg S, Boström H.** – Investigation on trichotecene-stimulated lipid peroxydation and toxic effects of trichotecenes in animals. – *Acta vet. Scand.*, 1989, **30** – 391-399.
132. **Kasali OB, Schiefer HB, Hancock DS, Blakley BR, Tomar RS, Greenhalgh R.** – Subacute toxicity of dietary 3-acetyldeoxynivalenol in mice. – *Can J Comp Med.*, 1985, **49** : 319-22.

133. **Kemppainen BW, Riley RT, Biles-Thurlow S.** - Comparison of penetration and metabolism of [³H]diacetoxyscirpenol, [³H]verrucarin A and [³H]T-2 toxin in skin. - *Food Chem Toxicol.*, 1987, **25** (5) : 379-86.
134. **Kemppainen BW, Riley RT, Pace JG.** - Penetration of [³H]T-2 toxin through excised human and guinea-pig skin during exposure to [³H]T-2 toxin adsorbed to corn dust. - *Food Chem Toxicol.*, 1984, **22** (11) : 893-6.
135. **Kemppainen BW, Riley RT, Pace JG, Hoerr FJ.** - Effects of skin storage conditions and concentration of applied dose on [³H]T-2 toxin penetration through excised human and monkey skin. - *Food Chem Toxicol.*, 1986a, **24** (3) : 221-7.
136. **Kemppainen BW, Riley RT, Pace JG, Hoerr FJ, Joyave J.** - Evaluation of monkey skin as a model for *in vitro* percutaneous penetration and metabolism of [³H]T-2 toxin in human skin. - *Fundam Appl Toxicol.*, 1986b, **7** : 367-375.
137. **Khera KS, Arnold DL, Whalen C, Angers G, Scott PM.** - Vomitoxin (4-deoxynivalenol) : effects on reproduction of mice and rats. - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1984, **74** : 345-56.
138. **Khera KS, Whalen C, Angers G.** - A teratology study on vomitoxin (4-deoxynivalenol) in rabbits. - *Food Chem Toxicol.*, 1986, **24** (5) : 421-4.
139. **Kiessling KH, Pettersson H, Sandholm K, Olsen M.** - Metabolism of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, and three trichotecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa, and rumen bacteria. - *Appl Environ Microbiol.*, 1984, **47** (5) : 1070-1073.
140. **King RR, MacQueen RE, Levesque D, Greenhalgh R.** - Transformation of deoxynivalenol (vomitoxin) by rumen microorganisms. - *J Agric Food Chem.*, 1984, **32** : 1181-1183.
141. **Knasmuller S, Bresgen N, Kassie F, Mersch-Sundermann V, Gelderblom W, Zohrer E, Eckl PM.** - Genotoxic effects of three Fusarium mycotoxins, fumonisin B1, moniliformin and vomitoxin in bacteria and in primary cultures of rat hepatocytes. - *Mutat Res.*, 1997, **391** (1-2):39-48.
142. **Knupp CA, Corley DG, Tempesta MS, Swanson SP.** - Isolation and characterization of 4'-hydroxy T-2 toxin, a new metabolite of the trichothecene mycotoxin T-2. *Drug Metab Disp.*, 1987a, **15** (6) : 816-20.
143. **Knupp CA, Swanson SP, Buck WB.** - Comparative *in vitro* metabolism of T-2 toxin by hepatic microsomes prepared from phenobarbital-induced or control rats, mice, rabbits and chickens. - *Food Chem Toxicol.*, 1987b, **25** (11) : 859-65.
144. **Kobayashi J, Horikoshi T, Ryu JC, Tashiro F, Ishii K, Ueno Y.** - The cytochrome P-450-dependent hydroxylation of T-2 toxin in various animal species. - *Food Chem Toxicol.*, 1987, **25** (7) : 539-44.
145. **Kosuri NR, Grove MD, Yates SG, Tallent WH, Ellis JJ, Wolff IA, Nichols RE.** - Response of cattle to mycotoxins of *Fusarium tricinctum* isolated from corn and fescue. - *JAVMA*, 1970, **157** (7) : 938-940.
146. **Kubena LF, Huff WE, Harvey RB, Phillips TD, Rottinghaus GE.** - Individual and combined toxicity of deoxynivalenol and T-2 toxin in broiler chicks. - *Poult Sci.*, 1989, **68** (5):622-6.
147. **Lafont P, Lafarge-Frayssinet C, Lafont J, Bertin G, Frayssinet C.** - Métabolites toxiques de *Fusarium*, agents de l'aleucie toxique alimentaire. - *Ann Microbiol.*, 1977, **128** (B) : 215-220.
148. **Lake BG, Phillips JC, Walters DG, Bayley DL, Cook MW, Thomas LV, Gilbert J, Startin JR, Baldwin NC, Bycroft BW, Dewick PM.** - Studies on the metabolism of deoxynivalenol in the rat. - *Food Chem Toxicol.*, 1987, **25** (8) : 589-92.

149. **Leal M, Shimada A, Ruiz F, Gonzalez de Majia E.** – Effect of lycopene on lipid peroxydation and glutathione-dependant enzymes induced by T-2 toxin *in vivo*. – *Toxicol Let.*, 1999, **109** : 1-10.
150. **Leblanc JC, Malmauret L, Delobel D, Verger P.** - Simulation of the exposure to deoxynivalenol of French consumers of organic and conventional foodstuffs. - *Regul Toxicol Pharmacol.*, 2002, **36** (2):149-54.
151. **Li S, Ouyang YL, Dong W, Pestka JJ.** - Superinduction of IL-2 gene expression by vomitoxin (deoxynivalenol) involves increased mRNA stability. - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1997, **147** (2):331-42.
152. **Li S, Ouyang Y, Yang GH, Pestka JJ.** - Modulation of transcription factor AP-1 activity in murine EL-4 thymoma cells by vomitoxin (deoxynivalenol). - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 2000, **163** (1):17-25.
153. **Li J & Shimizu T.** – Course of apoptotic changes in the rat gastric mucosa caused by oral administration of fusarenon-X. – *J. Vet. Med. Sci.*, 1997, **59** (3) : 191-199.
154. **Li J, Shimizu T, Miyoshi N, Yasuda N.** – Rapid apoptotic changes in the gastric glandular epithelium of rats administered intraperitoneally with fusarenon-X. – *J Vet Med Sci.*, 1997, **59** (1) : 17-22.
155. **Lorenzana RL, Beasley VR, Buck WB.** – Changes in hemodynamics, catecholamines, 6-keto-PGF1 α , thromboxane B2 and serum ions during T-2 toxin induced shock. – *Fed Proc.*, 1984, **43** : 657.
156. **Lutsky I & Mor N.** – Experimental alimentary toxic aleukia in cats. – *Lab. Anim. Sci.*, 1981, **31** (1) : 43-47.
157. **Lutsky I, Mor N, Yagen B, Joffe AZ.** - The role of T-2 toxin in experimental alimentary toxic aleukia : a toxicity study in cats. - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1978, **43** (1):111-24.
158. **MacDonald EJ, Cavan KR, Smith TK.** – Efect of acute oral doses of T-2 toxin on tissue concentrations of biogenic amines in the rat. – *J. Anim. Sci.*, 1988, **66** : 434-441.
159. **Malarkey DE, Conner BH, Rogers AE, Conner MW, Newberne PM.** – Reduction of anguidine toxicity in rats by atropine and methylatropine. – *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1989, **97** : 512-524.
160. **Mann DD, Buening GM, Osweiler GD, Hook BS.** – Effect of subclinical levels of T-2 toxin on the bovine cellular immune system. – *Can. J. Comp. Med.*, 1984, **48** : 308-312.
161. **Marasas WFO, Bamburg JR, Smalley EB, Strong FM, Ragland WL, Degurse PE.** – Toxic effects on trout, rats and mice of T-2 toxin produced by the fungus *Fusarium tricinctum* (Cd.) Snyd. et Hans. – *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1969, **15** : 471-482.
162. **Marpegan MR, Perfumo CJ, Godoy HM, Sala de Miguel M, Diaz E, Rissó MA.** – Feed refusal of pigs caused by *Fusarium* mycotoxins in Argentina. – *J. Vet. Med. A*, 1988, **35** : 610-616.
163. **Martin LJ, Doeblner JA, Anthony A.** – Scanning cytophotometric analysis of brain neuronal nuclear chromatin changes in acute T-2 toxin-treatd rats. - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1986, **85** – 207-214.
164. **Masuda E, Takemoto T, Tatsuno T, Obara T.** – Immunosuppressive effect of a trichothecene mycotoxin, fusarenon-X in mice. – *Immunology*, 1982a, **45** : 743-749.
165. **Masuda E, Takemoto T, Tatsuno T, Obara T.** – Induction of suppressor macrophages in mice by fusarenon-X. – *Immunology*, 1982b, **47** : 701-708.
166. **Matsuoaka Y, Kubota K.** – Characteristics of inflammation induced by fusarenon-X, a trichothecene mycotoxin from *Fusarium* species. - *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1987a, **91** : 333-340.

167. **Matsuaoka Y, Kubota K.** – Studies on mechanisms of diarrhea induced by fusarenon-X, a trichothecene mycotoxin from *Fusarium* species. – *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1981, **57** : 293-301.
168. **Matsuaoka Y, Kubota K.** – Studies on mechanisms of diarrhea induced by fusarenon-X, a trichothecene mycotoxin from *Fusarium* species : fusarenon-X-induced diarrhea is not mediated by cyclic nucleotides. - *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1987b, **91** : 326-332.
169. **Matsuaoka Y, Kubota K, Ueno Y.** – General pharmacological studies of fusarenon-X, a trichothecene mycotoxin from *Fusarium* species. – *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1979, **50** : 87-94.
170. **Matthews JG, Patterson DSP, Roberts BA, Shreeve BJ.** – T-2 toxin and haemorrhagic syndromes of cattle. – *Vet. Rec.*, 1977, 391.
171. **Meky FA, Hardie LJ, Evans SW, Wild CP.** - Deoxynivalenol-induced immunomodulation of human lymphocyte proliferation and cytokine production. - *Food Chem Toxicol.*, 2001, **39** (8):827-36.
172. **Meloche JL, Smith TK.** - Altered tissue amino acid metabolism in acute T-2 toxicosis. - *Proc Soc Exp Biol Med.*, 1995, **210** (3):260-5.
173. **Mezes M, Barta M, Nagy G.** - Comparative investigation on the effect of T-2 mycotoxin on lipid peroxidation and antioxidant status in different poultry species. - *Res Vet Sci.*, 1999, **66** (1):19-23.
174. **Middlebrook JL & Leatherman DL.** – Differential association of T-2 and T-2 tetraol with mammalian cells. – *J Pharm Exp Therap.*, 1989, **250** (3) : 860-6.
175. **Miller K, Atkinson HA.** - The *in vitro* effects of trichothecenes on the immune system. - *Food Chem Toxicol.*, 1986, **24** (6-7) : 545-9.
176. **Miura K, Aminova L, Murayama Y.** – Fusarenon-X induced apoptosis in HL-60 cells depends on caspase activation and cytochrome c release. – *Toxicology*, 2001, **172** : 130-112.
177. **Miura K, Nakajima Y, Yamanaka N, Terao K, Shibato T, Ishino S.** – Induction of apoptosis with fusarenon-X in mouse thymocytes. – *Toxicology*, 1998, **127** : 195-206.
178. **Moore CJ, Blaney BJ, Spencer RA, Dodman RL.** – Rejection by pigs of mouldy grain containing deoxynivalenol. – *Austr. Vet. J.*, 1985, **62** (2) : 60-62.
179. **Morrissey RE.** - Teratological study of Fischer rats fed diet containing added vomitoxin. - *Food Chem Toxicol.*, 1984, **22** (6) : 453-7.
180. **Morrissey RE & Vesonder RF.** – Effect of deoxynivalenol (vomitoxin) on fertility, pregnancy, and postnatal development of Sprague-Dawley rats. – *Appl Environ Microbiol.*, 1985, **49** (5) : 1062-1066.
181. **Mutoh A, Ishii K, Ueno Y.** – Effects of radioprotective compounds and anti-inflammatory agents on the acute toxicity of trichothécènes. – *Toxicol. Let.*, 1988, **40** : 165-174.
182. **Ohtsubo K, Ryu JC, Nakamura K, Izumiya N, Tanaka T, Yamamura H, Kobayashi T, Ueno Y.** - Chronic toxicity of nivalenol in female mice: a 2-year feeding study with *Fusarium nivale* Fn 2B-moulded rice. - *Food Chem Toxicol.*, 1989, **27** (9) : 591-8.
183. **Oldham JW, Allred LE, Milo GE, Kindig O, Capen CC.** – The toxicological evaluation of the mycotoxins T-2 and T-2 tetraol using normal human fibroblasts *in vitro*. – *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1980, **52** : 159-168.
184. **Olsen GH, Carpenter JW, Gee GF, Thomas NJ, Dein FJ.** – Mycotoxin-induced disease in captive whooping cranes (*Grus americana*) and sandhill cranes (*Grus canadensis*). – *J. Zoo Wildl. Med.*, 1995, **26** (4) 569-576.

185. **Osborne DJ, Huff WE, Hamilton PB, Burmeister HR.** – Comparison of ochratoxin, and T-2 toxin for their effects on selected parameters related to digestion and evidence for specific metabolism of carotenoids in chickens. – *Poult. Sci.*, 1982, **61** : 1646-1652.
186. **Ouyang YL, Azcona-Olivera JI, Murtha J, Pestka JJ.** – Vomitoxin-mediated IL-2, IL-4 and IL-5 superinduction in murine CD4+ T cells stimulated with phorbol ester and calcium ionophore : relation to kinetics of proliferation. – *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1996a, **138** : 324-334.
187. **Ouyang YL, Azcona-Olivera JI, Pestka JJ.** - Effects of trichothecene structure on cytokine secretion and gene expression in murine CD4+ T-cells. - *Toxicology.*, 1995, **104** (1-3) : 187-202.
188. **Ouyang YL, Li S, Petska JJ.** – Effects of vomitoxin (deoxynivalenol) on transcription factor NF-κB/Rel binding activity in murine EL-4 thymoma and primary CD4+ cells. – *Toxicol Appl Pharmacol.* – 1996b, **140** : 328-336.
189. **Pace JG.** – Metabolism and clearance of T-2 mycotoxin in perfused rat livers. – *Fundam Appl Toxicol.*, 1986, **7** : 424-433.
190. **Pace JG, Watts MR, Burrows EP, Dinterman RE, Matson C, Hauer EC, Wannemacher RW.** – Fate and distribution of 3H-labeled T-2 mycotoxin in guinea pigs. – *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1985, **80** : 377-385.
191. **Pang VF, Felsburg PJ, Beasley BR, Buck WB, Haschek WM.** – The toxicity of T-2 toxin in swine following topical application : I. Clinical signs, pathology, and residue concentrations. – *Fundam Appl Toxicol.*, 1987a, **9** : 41-49.
192. **Pang VF, Felsburg PJ, Beasley BR, Buck WB, Haschek WM.** – The toxicity of T-2 toxin in swine following topical application : II. Effects on hematology, serum biochemistry, and immune response. – *Fundam Appl Toxicol.*, 1987b, **9** : 50-59.
193. **Parkhurst CR, Hamilton PB, Ademoyer AA.** – Abnormal feathering in chicks caused by scirpenol mycotoxins differing in degree of acetylation. – *Poult. Sci.*, 1992, **71** : 833-837.
194. **Patterson DSP, Matthews JG, Shreeve BJ, Roberts BA, McDonald SM, Hayes AW.** – The failure of trichothecene mycotoxins and whole cultures of *Fusarium tricinctum* to cause experimental haemorrhagic syndromes in calves and pigs. – *Vet Rec.*, 1979, **105** : 252-255.
195. **Petrie L, Robb J, Stewart AF.** – The identification of T-2 toxin and its association with a haemorrhagic syndrome in cattle. – *Vet. Rec.*, 1977, **101** : 326.
196. **Pestka JJ, Lin WS, Forsell JH.** - Decreased feed consumption and body-weight gain in the B6C3F1 mouse after dietary exposure to 15-acetyldeoxynivalenol. - *Food Chem Toxicol.*, 1986, **24** (12) : 1309-13.
197. **Pestka JJ, Lin WS, Miller ER.** - Emetic activity of the trichothecene 15-acetyldeoxynivalenol in swine. - *Food Chem Toxicol.*, 1987a, **25** (11) : 855-8.
198. **Pestka JJ, Moorman MA, Warner RL.** - Dysregulation of IgA production and IgA nephropathy induced by the trichothecene vomitoxin. - *Food Chem Toxicol.*, 1989, **27** (6) : 361-8.
199. **Petska JJ, Tai JH, Witt MF, Dixon DE, Forsell JH.** – Suppression of immune response in the B6C3F1 mouse after dietary exposure to the *Fusarium* mycotoxins deoxynivalenol (vomitoxin) and zearalenone. – *Food Chem Toxicol.*, 1987b, **25** (4) : 297-304.
200. **Poapolathee A, Sugita-Konishi Y, Doi K, Kumagai S.** – The fates of trichothecenes mycotoxins, nivalenol and fusarenon-X, in mice. – *Toxicon*, 2003, *in press*.
201. **Pollman DS, Koch BA, Seitz LM, Mohr HE, Kennedy GA.** – Deoxynivalenol-contaminated wheat in swine diets. – *J. Anim. Sci.*, 1985, **60** (1) : 239-247.

202. **Porcher JM, Dahel C, Lafarge-Frayssinet C, Chu FS, Frayssinet C.** - Uptake and metabolism of T-2 toxin in relation to its cytotoxicity in lymphoid cells. - *Food Chem Toxicol.*, 1988, **26** (7) : 587-93.
203. **Prelusky DB, Hamilton RM, Trenholm HL.** - Transmission of residues to eggs following long-term administration of 14C-labelled deoxynivalenol to laying hens. - *Poult Sci.*, 1989, **68** (6):744-8.
204. **Prelusky DB, Hamilton RM, Trenholm HL, Miller JD.** - Tissue distribution and excretion of radioactivity following administration of 14C-labeled deoxynivalenol to white leghorn hens. - *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1986a, **7** : 635-645.
205. **Prelusky DB, Hartin KE, Trenholm HL, Miller JD.** - Pharmacokinetic fate of 14C-labeled deoxynivalenol in swine. - *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1988, **10** : 276-286.
206. **Prelusky DB, Trenholm HL.** - Tissue distribution of deoxynivalenol in swine dosed intravenously. - *J. Agric. Food Chem.*, 1991, **39** : 748-751.
207. **Prelusky DB, Trenholm HL, Hamilton RMG, Miller JD.** - Transmission of [14C]deoxynivalenol to eggs following oral administration to laying hens. - *J agric food chem.*, 1987, **35** : 182-186.
208. **Prelusky DB, Veira DM, Trenholm HL, Hartin KE.** - Excretion profiles of the mycotoxin deoxynivalenol, following oral and intravenous administration to sheep. - *Fundam Appl Toxicol.*, 1986b, **6** : 356-363.
209. **Puls R & Greenway JA.** - Fusariotoxicosis from barley in british columbia II. Analysis and toxicity of suspected barley. - *Can. J. Comp. Med.*, 1976, **40** : 16-19.
210. **Rafai P, Bata A, Vanyi A, Papp Z, Brydl E, Jakab L, Tuboly S, Tury E.** - Effect of various levels of T-2 toxin on the clinical status, performance and metabolism of growing pigs. - *Vet Rec.*, 1995a, **136** (19):485-9.
211. **Rafai P, Tuboly S, Bata A, Tilly P, Vanyi A, Papp Z, Jakab L, Tury E.** - Effect of various levels of T-2 toxin in the immune system of growing pigs. - *Vet Rec.*, 1995b, **136** (20):511-4.
212. **Rafai P, Pettersson H, Bata A, Papp Z, Glavits R, Tuboly S, Vanyi A, Soos P.** - Effect of dietary T-2 fusariotoxin concentrations on the health and production of white Pekin duck broilers. - *Poult Sci.*, 2000, **79** (11):1548-56.
213. **Richard JL, Cysewski SJ, Pier AC, Booth GD.** - Comparison of effects of dietary T-2 toxin on growth, immunogenic organs, antibody formation, and pathological changes in turkeys and chickens. - *Am. J. Vet. Res.*, 1978, **39** (10) : 1674-1679.
214. **Richardson KE, Hamilton PB.** - Comparative toxicity of scirpentriol and its acetylated derivatives. - *Poult Sci.*, 1990, **69** (3):397-402.
215. **Rizzo AF, Atroshi F, Ahotupa M, Sankari S, Elovaara E.** - Protective effect of antioxydants against free radical-mediated lipid peroxydation induced by DON and T-2 toxin. - *J. Vet. Med. A*, 1994, **80** : 81-90.
216. **Robb J, Kirkpatrick KS, Norval M.** - Association of toxin-producing fungi with disease in broilers. - *Vet. Rec.*, 1982, **111** : 389-390.
217. **Robinson TS, Mirocha CJ, Kurtz HJ, Behrens JC, Chi MS, Weaver GA, Nystrom SD.** - Transmission of T-2 toxin into bovine and porcine milk. - *J. Dairy Sci.*, 1979, **62** (4) : 637-641.
218. **Rogers CG & Héroux-Metcalf C.** - Cytotoxicity and absence of mutagenic activity of vomitoxin (4-deoxynivalenol) in a hepatocyte-mediated mutation assay with V79 chinese hamster lung cells. - *Cancer Let.*, 1983, **20** : 29-35.
219. **Rosenstein Y & Lafarge-Frayssinet C.** - Inhibitory effects of Fusarium T-2 toxin on lymphoid DNA and protein synthesis. - *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1983, **70** : 283-288.

220. **Saito M, Horiuchi T, Ohtsubo K, Hatanaka Y, Ueno Y.** – Low tumor incidence in rats with long-term feeding of fusarenon-X, a cytotoxic trichothecene produced by *Fusarium nivale*. – *Jpn J Exp Med.*, 1980, **50** (4) 293-302.
221. **Schappert KT & Khachatourians GG.** – Effects of fusariotoxin T-2 on *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces carlsbergensis*. – *Appl. Environ. Microbiol.*, 1983, **45** (3) : 862-867.
222. **Schiefer HB, Rousseaux CG, Hancock DS, Blakley BR.** - Effects of low-level long-term oral exposure to T-2 toxin in CD-1 mice. - *Food Chem Toxicol.*, 1987, **25** (8) : 593-601.
223. **Schoental R.** - Chronic, including teratogenic and carcinogenic effects of trichothecenes: a short review. - *Vet Res Commun.*, 1983, **7** (1-4):165-70.
224. **Schoental R, Joffe AZ, Yagen B.** – Cardiovascular lesions and various tumors found in rats given T-2 toxin, a trichothecene metabolite of *Fusarium*. – *Cancer Res.*, 1979, **39** : 2179-89.
225. **Segal R, Milo-Goldzweig I, Foffe AZ, Yagen B.** – Trichotecene-induced hemolysis. - *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1983, **70** – 343-349.
226. **Sharma RP.** - Immunotoxicity of mycotoxins. - *J Dairy Sci.*, 1993, **76** (3):892-7.
227. **Sheu CW, Moreland FM, Lee JK, Dunkel VC.** - Morphological transformation of BALB/3T3 mouse embryo cells *in vitro* by vomitoxin. - *Food Chem Toxicol.*, 1988, **26** (3) : 243-5.
228. **Shlosberg A, Weisman Y, Handji Vyagen B, Shore L.** – A severe reduction in egg laying in a flock of hens associated with trichothecene mycotoxins in the feed. – *Vet. Hum. Toxicol.*, 1984, **26** (5) : 384-386.
229. **Shreeve BJ & Patterson DSP.** – Mycotoxicosis. – *Vet. Rec.*, 1975a, **97** : 279-280.
230. **Shreeve BJ, Patterson DSP, Roberts BA.** – Investigation of suspected cases of mycotoxicosis in farm animals in Britain. – *Vet. Rec.*, 1975b, **97** : 275-278.
231. **Sintov A, Bialer M, Yagen B.** – Pharmacokinetics of T-2 toxin and its metabolite HT-2 toxin, after intravenous administration in dogs. – *Drug Metab Disp.*, 1986, **14** (2) : 250-4.
232. **Siren AL & Feuerstein G.** – Effect of T-2 toxin on regional blood flow and vascular resistance in the conscious rat. – *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1986, **83** : 438-44.
233. **Sprando RL, Pestka J, Collins TF, Rorie J, O'Donnell M, Hinton D, Chirtel S.** - The effect of vomitoxin (Deoxnivalenol) on testicular morphology, testicular spermatid counts and epididymal sperm counts in IL-6KO [B6129-IL6 [TmlKopf](IL-6 gene deficient)] and WT [B6129F2 (wild type to B6129-IL6 with an intact IL-6 gene)] mice. - *Food Chem Toxicol.*, 1999, **37** (11):1073-9.
234. **Spyker MS & Spyker DA.** – Yellow rain : chemical warfare in southeast Asia and Afghanistan. – *Vet Hum Toxicol.*, 1983, **25** : 335-40.
235. **Sudakin DL.** – Trichothecenes in the environment : relevance to human health. – *Toxicol. Let.*, 2003, **143** : 97-107.
236. **Suneja SK, Ram GC, Wagle DS.** – Effect of feeding T-2 toxin on RNA, DNA and protein content of liver and intestinal mucosa of rats. – *Toxicol Let.*, 1983, **18** : 73-76.
237. **Suneja SK, Ram GC, Wagle DS.** – Effect of T-2 toxin administration to rats on lipid metabolism in liver. – *Toxicol Let.*, 1984, **22** : 113-118.
238. **Suneja SK, Wagle DS, Ram GC.** - Effects of T-2 toxin gavage on the synthesis and contents of rat-liver macromolecules. - *Food Chem Toxicol.*, 1987, **25** (5) : 387-92.
239. **Swanson SP, Helaszek C, Buck WB, Rood HD Jr, Haschek WM.** - The role of intestinal microflora in the metabolism of trichothecene mycotoxins. - *Food Chem Toxicol.*, 1988, **26** (10) : 823-9.

240. **Szkudelska K, Szkudelski T, Nogowski L.** - Short-time deoxynivalenol treatment induces metabolic disturbances in the rat. - *Toxicol Lett.*, 2002, **136** (1):25-31.
241. **Tai JH & Pestka JJ.** - Impaired murine resistance to *Salmonella typhimurium* following oral exposure to the trichothecene T-2 toxin. - *Food Chem Toxicol.*, 1988, **26** (8) : 691-8.
242. **Tédeux-Herrdeux** – Tricot et scènes. – *Red Review.*, 2003, **-10** : 666.
243. **Thompson & Wannemacher RW.** – *In vivo* effects of T-2 mycotoxin on synthesis of proteins and DNA in rat tissues. – *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1990, **105** : 483-491.
244. **Thurman JD, Creasia DA, Trotter RW.** – Mycotoxicosis caused by aerosolized T-2 toxin administered to female mice. – *Am J Vet Res.*, 1988, **49** (11) : 1928-31.
245. **Thuvander A, Wikman C, Gadhasson I.** - In vitro exposure of human lymphocytes to trichothecenes: individual variation in sensitivity and effects of combined exposure on lymphocyte function. - *Food Chem Toxicol.*, 1999, **37** (6):639-48.
246. **Tobias S, Rajic I, Vanyi A.** - Effect of T-2 toxin on egg production and hatchability in laying hens. - *Acta Vet Hung.*, 1992, **40** (1-2):47-54.
247. **Tomar RS, Blakley BR, DeCoteau WE.** - Immunological responsiveness of mouse spleen cells after *in vivo* or *in vitro* exposure to 3-acetyldeoxynivalenol. - *Food Chem Toxicol.*, 1987, **25** (5) : 393-8.
248. **Trenholm HL, Hamilton RMG, Friend DW, Thompson BK, Hartin KE.** – Feeding trials with vomitoxin (deoxynivalenol)-contaminated wheat : effects on swine, poultry and dairy cattle. – *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1984, **185** (5) : 527-531.
249. **Trenholm HL, Thompson BK, Hartin KE, Greenhalgh R, MacAllister AJ.** – Ingestion of vomitoxin (deoxynivalenol)-contaminated wheat by nonlactating cows. – *J. Dairy Sci.*, 1985, **68** : 1000-1005.
250. **Tryphonas H, Iverson F, So Y, Nera EA, McGuire PF, O'Grady L, Clayton DB, Scott PM.** – Effects of deoxynivalenol (vomitoxin) on the humoral and cellular immunity of mice. – *Toxicol Let.*, 1986, **30** : 137-150.
251. **Ueno Y.** – Toxicological features of T-2 toxin and related trichothecenes. – *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1984, **4** : S124-S132.
252. **Ueno Y, Ishii K, Sakai K, Kanaeda S, Tsunoda H, Tanaka T, Enomoto M.** – Toxicological approaches to the metabolites of *Fusaria*. IV. Microbial survey on “bean-hull poisoning of horses” with the isolation of toxic trichothecenes, neosolaniol and T-2 toxin of *Fusarium solani* M-1-1. – *Jpn. J. Exp. Med.*, 1972, **42** (3) : 187-203.
253. **Ueno Y & Kubota K.** – DNA-attacking ability of carcinogenetic mycotoxins in recombination-deficient mutant cells of *Bacillus subtilis*. – *Cancer Res.*, 1976, **36** : 445-451.
254. **Umeda M, Yamamoto T, Saito M.** – DNA-strand breakage of HeLa cells induced by several mycotoxins. – *Jpn J Exp Med.*, 1972, **42** (6) : 527-535.
255. **Vanyi A, Bata A, Kovacs F.** - Effects of T-2 toxin treatment on the egg yield and hatchability in geese. - *Acta Vet Hung.*, 1994, **42** (1):79-85.
256. **Vanyi A, Glavits R, Gajdacs E, Sandor G, Kovacs F.** - Changes induced in newborn piglets by the trichothecene toxin T-2. - *Acta Vet Hung.*, 1991, **39** (1-2):29-37.
257. **Velazco V, Faifer GC, Godoy HM.** - Differential effects of T-2 toxin on bone marrow and spleen erythropoiesis in mice. - *Food Chem Toxicol.*, 1996, **34** (4):371-5.
258. **Vidal DR.** – Propriétés immunosuppressives des mycotoxines du groupe des trichotécènes. – *Bull. Inst. Pasteur*, 1990, **88** : 159-192.
259. **Vila B, Jaradat ZW, Marquardt RR, Frohlich AA.** - Effect of T-2 toxin on *in vivo* lipid peroxidation and vitamin E status in mice. - *Food Chem Toxicol.*, 2002, **40** (4):479-86.



260. **Visconti A, Mirocha CJ.** – Identification of various T-2 metabolites in chicken excreta and tissues. – *Appl Environ Microbiol.*, 1985, **49** (5) : 1246-1250.
261. **Wang JS, Busby WF Jr, Wogan GN.** - Percutaneous absorption and tissue distribution of [3H]diacetoxyscirpenol (anguidine) in rats and mice. - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1996, **140** (2):264-73.
262. **Wang J, Fitzpatrick DW, Wilson JR.** - Effect of T-2 toxin on blood-brain barrier permeability monoamine oxidase activity and protein synthesis in rats. - *Food Chem Toxicol.*, 1998, **36** (11):955-61.
263. **Wang J, Fitzpatrick DW, Wilson JR.** - Effects of the trichothecene mycotoxin T-2 toxin on neurotransmitters and metabolites in discrete areas of the rat brain. - *Food Chem Toxicol.*, 1998, **36** (11):947-53.
264. **Wang JS, Busby WF, Wogan GN.** – Comparative tissue distribution and excretion of orally administered [3H]Diacetoxyscirpenol (anguidine) in rats and mice. – *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1990, **103** : 430-440.
265. **Weaver GA, Kurtz HJ, Bates FY, Chi MS, Mirocha CJ, Behrens JC, Robison TS.** – Acute and chronic toxicity of T-2 mycotoxin in swine. – *Vet. Rec.*, 1978c, **103** : 531-535.
266. **Weaver GA, Kurtz HJ, Bates FY, Mirocha CJ, Behrens JC, Hagler WM.** – Diacetoxyscirpenol toxicity in pigs. – *Res. Vet. Sci.*, 1981, **31** : 131-135.
267. **Weaver GA, Kurtz HJ, Mirocha CJ, Bates FY, Behrens JC.** – Acute toxicity of the mycotoxin diacetoxyscirpenol in swine. – *Can. Vet. J.*, 1978a, **19** : 267-271.
268. **Weaver GA, Kurtz HJ, Mirocha CJ, Bates FY, Behrens JC, Robison TS.** – Effects of T-2 toxin on porcine reproduction. – *Can. Vet. J.*, 1978b, **19** : 310-313.
269. **Weaver GA, Kurtz HJ, Mirocha CJ, Bates FY, Behrens JC, Robison TS, Swanson SP.** – The failure of purified T-2 mycotoxin to produce hemorrhaging in dairy cattle. – *Can. Vet. J.*, 1980, **21** : 210-213
270. **Weekley LB, O'Rear CE, Kimbrough TD, Llewellyn GC.** – Acute and chronic effects of the trichotecene mycotoxin T-2 on rat brain regional concentrations of serotonin, tryptophan, and tryosine. – *Vet. Hum. Toxicol.*, 1989, **31** (3):221-224.
271. **Williams PP.** – Effects of T-2 mycotoxin on gastrointestinal tissues : a review of in vivo and in vitro models. – *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1989, **18** : 374-387.
272. **Wilson CA, Everard DM, Schoental R.** – Blood pressure changes and cardiovascular lesions found in rats given T-2 toxin, a trichothecene secondary metabolite of certain *Fusarium* microfungi. – *Toxicol Letters.*, 1982, **10** : 35-40.
273. **Wong S, Schwartz RC, Pestka JJ.** - Superinduction of TNF-alpha and IL-6 in macrophages by vomitoxin (deoxynivalenol) modulated by mRNA stabilization. - *Toxicology.*, 2001, **161** (1-2):139-49.
274. **Wong SS, Zhou HR, Marin-Martinez ML, Brooks K, Pestka JJ.** - 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.*, 1998, **36** (5):409-19.
275. **World Health Organization.** – *Environmental health criteria for selected mycotoxins : ochrotoxins, trichotecenes, and ergot.* – Vammala (Finland) : Vammalan Kirjapaino Oy, 1990, 249 p.
276. **Worrell NR, Mallett AK, Cook WM, Baldwin NC, Shepherd MJ.** - The role of gut micro-organisms in the metabolism of deoxynivalenol administered to rats. - *Xenobiotica.*, 1989, **19** (1):25-32.
277. **Wu W, Cook ME, Chu FS, Buttles T, Hunger J, Sutherland P.** – Case study of bovine dermatitis caused by oats straw infected with *Fusarium sporotrichioides*. – *Vet Rec.*, 1997, **140** : 399-400.

278. **Wyatt RD & Hamilton PB.** – Some case reports of T-2 toxicosis and aflatoxicosis in chickens. – *Poult. Sci.*, 1975, **54** (5) : 1830.
279. **Wyatt RD, Hamilton PB, Burmeister HR.** – The effects of T-2 toxin in broiler chickens. – *Poultry Sci.*, 1973, **52** : 1853-1859.
280. **Yamamura H, Kobayashi T, Ryu JC, Ueno Y, Nakamura K, Izumiya N, Ohtsubo K.** - Subchronic feeding studies with nivalenol in C57BL/6 mice. - *Food Chem Toxicol.*, 1989, **27** (9): 585-90.
281. **Yan D, Rumbeiha WK, Petska JJ.** – Experimental murine IgA nephropathy following passive administration of vomitoxin-induced IgA monoclonal antibodies. – *Food Chem Toxicol.*, 1998a, **36** : 1095-1106.
282. **Yan D, Zhou HR, Brooks KH, Pestka JJ.** - Potential role for IL-5 and IL-6 in enhanced IgA secretion by Peyer's patch cells isolated from mice acutely exposed to vomitoxin. - *Toxicology.*, 1997, **122** (1-2):145-58.
283. **Yan D, Zhou HR, Brooks KH, Pestka JJ.** - Role of macrophages in elevated IgA and IL-6 production by Peyer's patch cultures following acute oral vomitoxin exposure. - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1998b, **148** (2):261-73.
284. **Yang GH, Li S, Pestka JJ.** - Down-regulation of the endoplasmic reticulum chaperone GRP78/BiP by vomitoxin (Deoxynivalenol). - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 2000, **162** (3):207-17.
285. **Yang GH, Pestka JJ.** - Vomitoxin (deoxynivalenol)-mediated inhibition of nuclear protein binding to NRE-A, an IL-2 promoter negative regulatory element, in EL-4 cells. - *Toxicology.*, 2002, **172** (3):169-79.
286. **Yarom R, Hasin Y, Raz S, Shimoni Y, Fixler R, Yagen B.** – T-2 toxin effect on cultured myocardial cells. – *Toxicol Let.*, 1986, **31** : 1-8.
287. **Yarom R, Sherman Y, More R, Ginsberg I, Borinski R, Yagen B.** – T-2 toxin effect on bacterial infection and leucocyte functions. – *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1984, **75** : 60-68.
288. **Zhou HR, Yan D, Pestka JJ.** - Differential cytokine mRNA expression in mice after oral exposure to the trichothecene vomitoxin (deoxynivalenol): dose response and time course. - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1997, **144** (2):294-305.
289. **Zhou HR, Yan D, Pestka JJ.** - Induction of cytokine gene expression in mice after repeated and subchronic oral exposure to vomitoxin (Deoxynivalenol): differential toxin-induced hyporesponsiveness and recovery. - *Toxicol Appl Pharmacol.*, 1998, **151** (2):347-58.
290. **Ziprin LR & Corrier DE.** – Listeriosis in diacetoxyscirpenol-treated mice. – *Am J Vet Res.*, 1987, **48** (10) : 1516-9.
291. **Ziprin LR, Corrier DE, Ziegler HK.** – T-2 toxin-enhanced resistance against listeriosis in mice : importance of gastrointestinal lesions. – *Am J Vet Res.*, 1987, **48** (6) : 998-1002.

Toulouse, 2003

NOM : GREVET

PRENOM : NICOLAS

TITRE : MODES D'ACTION ET TOXICITE DES TRICHOThECENES

RESUME : Les trichothécènes possèdent une toxicité variable mais qui se manifeste par des troubles similaires : baisses de performances, vomissements, lésions cutanées, digestives et hématopoïétiques ainsi qu'une modulation des défenses immunitaires (le plus souvent une immunodépression). Le porc et les volailles sont les espèces les plus sensibles. Ces toxines ne sont ni cancérogènes ni tératogènes. Elles agissent sur la membrane plasmique, inhibent la traduction et induisent un stress oxydatif. Si leurs mécanismes d'action sont communs, leur potentiel toxique est influencé par leur cinétique et leur capacité à atteindre et à se lier à leurs cibles intracellulaires. Bien que les profils cinétiques varient selon les espèces et les toxines, les trichothécènes sont rapidement absorbés après un métabolisme digestif intense, se distribuent très largement dans l'organisme et sont intensément métabolisés dans le foie et rapidement éliminés.

MOTS-CLEFS : Mycotoxine – Trichothécène – Toxine T-2 – Déoxynivalénol – Vomitoxine – Diacétoxyscirpénol – Anguidine.

ENGLISH TITLE : TRICHOThECENES : MODES OF ACTION AND TOXICITY

ABSTRACT : Trichothecenes possess a variable toxicity which manifests by similar disorders : performances decrease, vomiting, cutaneous, digestive and hematopoietic lesions, a modulation of immunity (often an immunodepression). Pigs and poultry are the the more susceptibles. Trichothecenes aren't carcinogenic nor teratogenic. They alter cell membrane functions, inhibit translation and cause an oxydative stress. If their modes of action are similar, their toxicity is influenced by their kinetic and ability to reach and bind their intracellular target. Although kinetic varies with species and toxins, trichothecenes'uptake, after digestive metabolism, is fast and their distribution is broad. The hepatic metabolization is intense and they are rapidly eliminated.

KEY WORDS : Mycotoxin – Trichothecene – T-2 toxin – Deoxynivalenol – Vomitoxin – Diacetoxyscirpenol – Anguidine.