

Les mycotoxines "masquées" : un nouveau risque en production porcine ?

Alix PIERRON (1,2,3), Imourana ALASSANE-KPEMBI (1,2), Delphine PAYROS (1,2), Philippe PINTON (1,2),
Isabelle P. OSWALD (1,2)

(1) INRA, UMR 1331, Toxalim, Research Center in Food Toxicology, 31300 Toulouse, France

(2) Université de Toulouse, INP, UMR 1331, Toxalim, 31400 Toulouse, France

(3) BIOMIN Research Center Technopark 1, 3430 Tulln, Austria

Alix.Pierron@toulouse.inra.fr, Isabelle.Oswald@toulouse.inra.fr

Les mycotoxines "masquées" : un nouveau risque en production porcine ?

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires de moisissures qui peuvent contaminer différentes céréales et par conséquent l'alimentation du porc. Au niveau européen, des réglementations et des recommandations pour l'alimentation animale ont été édictées pour six mycotoxines dont la toxicité est documentée. Les avancées dans les techniques de détection ont permis de mettre en évidence des dérivés de ces mycotoxines "natives", appelés mycotoxines "modifiées" ou plus spécifiquement mycotoxines "masquées" lorsqu'elles sont issues d'une métabolisation par la plante.

Du fait de leur caractérisation récente, peu d'informations sont disponibles sur leur occurrence dans l'alimentation du porc et leur toxicité pour cette espèce. Les données préliminaires indiquent que ces toxines peuvent être présentes à de fortes concentrations dans les aliments. Le porc pourrait être une espèce cible également pour ces "nouvelles" mycotoxines, du fait de sa grande sensibilité à la présence de mycotoxines conventionnelles, et à son régime alimentaire composé en grande partie de céréales. Ces mycotoxines "modifiées" peuvent augmenter la somme de mycotoxines auquel le porc est exposé, si elles sont hydrolysées dans l'organisme de l'animal.

Cette revue recense les connaissances actuelles sur la toxicité des formes "modifiées" du déoxynivalénol, des toxines T2 et HT2, de la zéaralenone, de la fumonisine et de l'ochratoxine A pouvant se retrouver dans l'alimentation du porc. Nous nous attacherons à comparer le métabolisme et la toxicité des formes "modifiées" à celle de leurs précurseurs et à analyser la possible reconversion de ces formes "modifiées" par la flore intestinale ou les voies de métabolisation du porc.

Masked mycotoxins: a new risk in pig production?

Mycotoxins are secondary metabolites originating from mold, which contaminate many cereals and their by-products and so can be found in the pig's diet. Some recommendations and regulations for animal feed have been decreed in the EU for six mycotoxins for which the toxicity is well known. Recent detection methods have revealed new mycotoxins and new molecules that are derivatives of these mycotoxins. They were originally called "Masked" mycotoxins because they are not detected by conventional analytical methods. Then, they are more generally called "Modified", and "masked" when they are metabolized by the plant.

So because of the difficulty in detecting them, there is little information about the toxicity of these molecules and they are not included in the current regulation on mycotoxin contamination in pig feed. Moreover, a high proportion of these modified mycotoxins can be found in co-contamination with the mycotoxins. Pigs are really sensitive to mycotoxins, and their high cereal-rich diet means that they are highly susceptible to mycotoxins and to these modified mycotoxins. These modified mycotoxins can potentially increase the amount of mycotoxins to which pigs are exposed if they are hydrolyzed in the animal.

This review summarizes recent knowledge about the toxicity of the modified mycotoxins of deoxynivalenol, T2 and HT2 toxins, zearalenone, fumonisin and ochratoxin A, and presents recent studies about the metabolization and toxic effects on the animals of these modified mycotoxins, and their potential impact on their health.

INTRODUCTION

À l'heure actuelle, la contamination des denrées par les moisissures reste inévitable. Les conditions écologiques favorables aux moisissures (mauvaises conditions climatiques, humidité, forte chaleur, sensibilité de la plante...) rendent la gestion de la contamination des matières premières difficilement maîtrisable. Lors d'une contamination par des moisissures au champ ou plus tard pendant le stockage, des métabolites secondaires toxiques, les mycotoxines, sont produits et se retrouvent dans les grains. Ces toxines sont présentes sur de nombreuses céréales et dans leurs co-produits. Une enquête récente réalisée sur 1100 échantillons d'aliments destinés aux animaux a indiqué qu'environ 70% des échantillons sont contaminés (Streit *et al.*, 2013). La présence de ces mycotoxines constitue une menace sérieuse en matière de santé (Bryden, 2007 ; Wild et Gong, 2010). Les syndromes dus à l'ingestion de doses fortes ou moyennes de mycotoxines sont bien caractérisés et vont de la mortalité aiguë à une croissance réduite ou à des problèmes de reproduction (Bryden, 2012). La consommation de quantités moindres de toxines peut conduire à une altération de la réponse immunitaire et diminuer la résistance aux maladies infectieuses (Oswald, 2007). Certaines mycotoxines ont une toxicité aiguë (exposition unique à une forte dose) très marquée, mais il est exceptionnel en Europe d'être exposé à des doses toxiques en une seule ingestion d'aliments contaminés. Les effets chroniques (exposition répétée à de faibles, voire très faibles doses) sont les plus redoutés en raison du régime alimentaire répétitif des animaux et de la rémanence de ces toxines souvent résistantes aux températures et aux procédés technologiques mis en œuvre dans l'industrie de l'alimentation animale.

Les avancées récentes dans le domaine des techniques analytiques ont mis en évidence de nouvelles mycotoxines ainsi que des formes de mycotoxines dites "masquées", non détectées par les méthodes conventionnelles. Actuellement, seules les mycotoxines "natives" sont réglementées et prises en compte dans le calcul de l'exposition totale dans les aliments bruts ou transformés. En effet, peu de données sont disponibles sur ces nouvelles molécules d'où le risque de sous-estimer la toxicité induite par ces composés non pris en compte dans la réglementation. Il devient donc important de mieux connaître ces mycotoxines "masquées", pour permettre de mieux évaluer le risque qu'elles représentent pour l'homme et l'animal.

Après un rappel sur les mycotoxines conventionnelles habituellement détectées, cette revue propose une synthèse des connaissances actuelles sur les mycotoxines "masquées", leur identité, leur occurrence, leur métabolisme et leur toxicité. Elle pose un constat sur le danger éventuel que peuvent représenter ces toxines « masquées » sur la santé du porc.

1. LES MYCOTOXINES RÉGLEMENTÉES DANS L'ALIMENTATION DU PORC

En alimentation animale, seules les aflatoxines (AF) font l'objet d'une réglementation au sens strict en Europe. Des recommandations (Tableau 1) ont été édictées pour cinq autres toxines, qui sont régulièrement présentes et qui sont connues pour leur toxicité sur le porc.

Il s'agit de l'ochratoxine A (OTA), du deoxynivalenol (DON), des toxines T2 et HT2, des fumonisines (FB₁, FB₂) et de la zéaralénone (ZEN) (Bennett et Klich, 2003) (Tableau 1).

Tableau 1 – Mycotoxines pour lesquelles une réglementation ou des recommandations ont été édictées pour l'alimentation du porc : type d'aliments et teneur maximales retenues (EC Directive 2002/32/EC, et EC Recommandations 2006/576/EC et 2013/165/EU) (adapté de Stoev, 2014).

Mycotoxines	Type d'aliment	Teneurs maximales, mg/kg d'aliment
AFB ₁ + B ₂	Tout type de céréales pour animaux	60
	Aliment complet pour porc, cheval, lapin et animaux de compagnie	0,5
OTA	Aliment complet et compléments alimentaires pour porc	0,05
DON	Tout type de céréales pour animaux (sauf co-produits de maïs)	8 (12)
	Aliment complet et compléments alimentaires pour porc	0,9
ZEN	Tout type de céréales pour animaux (sauf co-produits de maïs)	2 (3)
	Aliment complet et compléments alimentaires : - pour porcelet et cochette - pour truie et porc charcutier	0,1 0,25
FB ₁ +FB ₂	Tout type de céréales pour animaux	60
	Aliment complet et compléments alimentaires pour porc, cheval et lapin	5
T2+HT2	Produits céréaliers et aliments composés pour animaux :	
	- produits de mouture d'avoine	1
	- autres produits céréaliers - aliments composés exceptés pour chat	0,5 0,25

Abréviations : Aflatoxine B₁ (AFB₁), Aflatoxine B₂ (AFB₂), Ochratoxine A (OTA), Deoxynivalenol (DON), Zéaralénone (ZEN), Fumonisine B₁ (FB₁), Fumonisine B₂ (FB₂), Toxine T2 (T2) et toxine HT2 (HT2).

Ces composés appartiennent à différentes familles de mycotoxines, avec des structures chimiques très différentes, et donc des effets très divers sur le porc. Leur degré de toxicité dépend de nombreux paramètres, notamment la dose, la durée d'exposition, l'espèce concernée, l'âge, le statut de l'animal (sain ou malade) et son statut hormonal et nutritionnel (Bryden, 2007 ; Wild, 2007).

Le tableau 2 recense les principaux effets connus de ces mycotoxines sur la santé du porc.

Les AF sont rapidement absorbées et métabolisées au niveau du foie par le système microsomal qui active ou modifie les métabolites (Riley, 1998; Haschek *et al.*, 2002). Les AF altèrent la réponse immunitaire globale (innée et cellulaire) chez le porc (Meissonnier *et al.*, 2006).

L'OTA est principalement toxique pour le foie et les reins et induit des néphropathies chez le porc. L'OTA affecte le tubule proximal rénal (Krogh, 1987 ; Marquardt et Frohlich, 1992). De plus l'OTA acquiert un caractère génotoxique après sa métabolisation oxydative dans l'organisme (Aish *et al.*, 2004 ; Pfohl-Leszkwicz et Manderville, 2007 ; Steyn *et al.*, 2009). Le DON est le plus courant des trichothécènes B. Le porc est très sensible à cette mycotoxine, qui peut induire à faible concentration un refus de s'alimenter, et à plus forte concentration des vomissements (Haschek *et al.*, 2002). A des doses chroniques (faibles concentrations sur du long terme), il induit chez le porc une perte de poids, une anorexie, une immunomodulation et une modification de la fonction de barrière de l'intestin (Trenholm *et al.*, 1984 ; Rotter *et al.*, 1996 ; Haschek *et al.*, 2002 ; Pinton, Oswald, 2014).

Les toxines T2 et HT2 qui appartiennent à la famille des trichothécènes A présentent des effets de même nature mais plus prononcés que les trichothécènes B. Elles induisent des irritations au niveau du tube digestif et de la peau, et elles augmentent la sensibilité de l'animal aux maladies (Bryden, 2012).

Les fumonisines constituent un groupe de 12 composés parmi lesquels la fumonisine B₁ (FB₁) est la plus toxique et la plus étudiée. Les fumonisines induisent de multiples effets toxiques chez l'animal, avec un effet carcinogène reconnu. Chez le porc, la FB₁ affecte la réponse spécifique et la réponse humorale en modifiant la balance des lymphocytes T auxiliaires TH1/TH2 (Taranu *et al.*, 2005 ; Marin *et al.*, 2006). La FB₁ induit des œdèmes pulmonaires chez le porc (Haschek *et al.*, 2002). La zéaralénone (ZEN) a un effet important sur la reproduction et en particulier la fertilité dans l'espèce porcine. La α-zéaralénol (α-ZEL) et la β-zéaralénol (β-ZEL), issus de la réduction de la ZEN par les ketones-reductases de l'hôte, sont des œstrogènes non stéroïdiens qui induisent l'activité ostrogénique chez l'animal (Fink-Gremmels et Malekinejad, 2007). La ZEN et ses dérivés provoquent une rougeur et une tuméfaction de la vulve, un prolapsus vaginal et parfois un prolapsus rectal chez la truie. Chez les porcelets femelles, elles peuvent induire un gonflement important de la vulve (Gaumy *et al.*, 2001).

Tableau 2 – Effets associés à la présence de mycotoxines¹ dans l'aliment du porc

Effets ²	Mycotoxines					
	AFB ₁ AFB ₂	OTA	DON	T2 HT2	FB ₁ FB ₂	ZEN
Anorexie	+	+	+++	+++	+	
Croissance	+++	+	+++	++	+	
Hépatotoxicité	+++	+			++	
Néphrotoxicité		+++			+	
Avortement					+	++
Infertilité						+++
Vulvovaginite						+++
Œdème pulmonaire					+++	
Immuno-modulation	+++		++	++	+++	+

¹Abréviations : Aflatoxine B₁ (AFB₁), Aflatoxine B₂ (AFB₂), Ochratoxine A (OTA), Deoxynivalenol (DON), Zéaralénone (ZEN), Fumonisine B₁ (FB₁), Fumonisine B₂ (FB₂), Toxine T2 (T2) et toxine HT2 (HT2).

²+, ++, +++ : effet faible, moyen, et fort de la (les) mycotoxine(s) sur le paramètre étudié

2. LES MYCOTOXINES "MODIFIEES" DANS L'ALIMENTATION DU PORC

2.1. Présentation

Les avancées dans le domaine analytique ont permis l'identification de nouveaux métabolites secondaires fongiques, mais également des produits de transformation des mycotoxines.

Le terme de mycotoxines "masquées" a été introduit dès 1990 par Gareis pour décrire un glucoside de zéaralénone non détecté lors des analyses de routine, mais hydrolysé pendant la digestion (Gareis *et al.*, 1990).

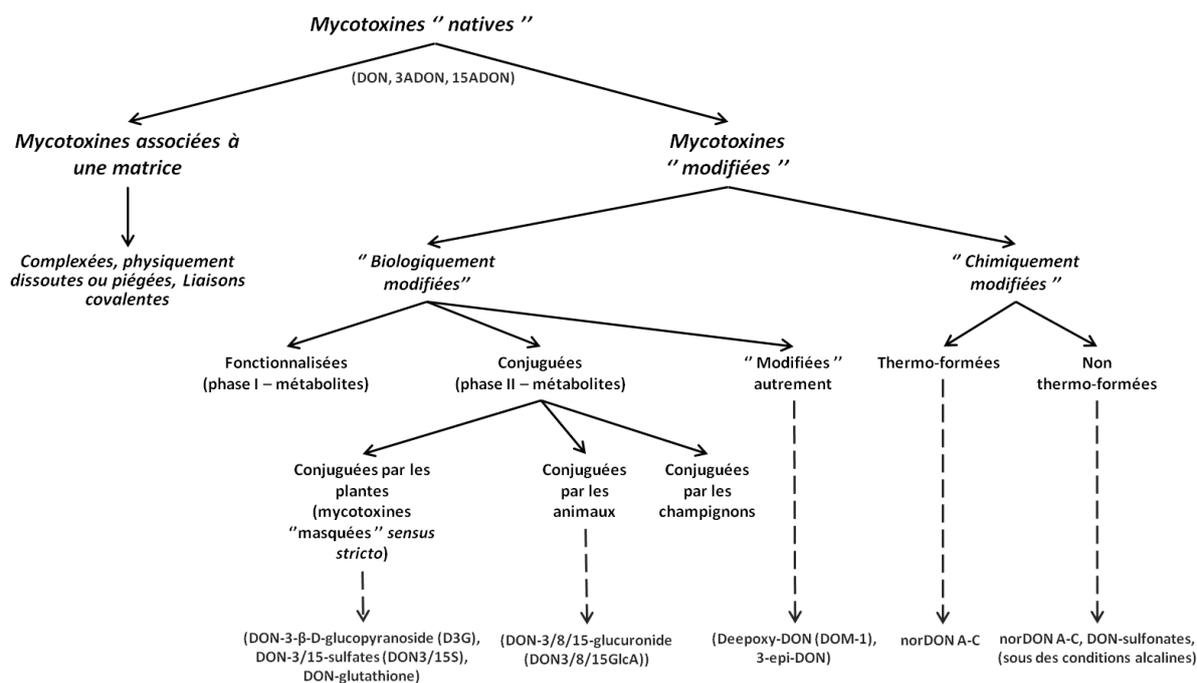


Figure 1 – Nomenclature des différentes formes de modification des mycotoxines: exemple du Déoxynivalénol (DON) (adapté de Rychlik *et al.*, 2014)

Les mycotoxines peuvent en effet subir différentes modifications de leur structure qui les rendent indétectables par les techniques d'analyse classiques (Tableau 3). Il s'agit de modifications d'origine biologique (mises en œuvre par une plante, le champignon ou un organisme animal) ou d'origine chimique comme par exemple lors de la mise en œuvre de procédés thermiques de transformation alimentaire.

La dénomination de "mycotoxines masquées" a souvent fait l'objet d'une utilisation ambiguë, et récemment des auteurs ont proposé une terminologie plus précise pour les différentes formes de mycotoxines (Berthiller *et al.*, 2013 ; Rychlik *et al.*, 2014). Ces auteurs ont reprécisé la terminologie de "mycotoxines masquées" au sens strict et introduit la notion de "mycotoxines modifiées". La figure 1 illustre pour l'exemple du DON, l'ensemble des formes décrites de cette mycotoxine.

Les **mycotoxines dites "natives"** correspondent aux structures de base des mycotoxines formées par les moisissures. Les plus susceptibles d'être retrouvées dans l'alimentation du porc sont le DON, la ZEN, les fumonisines, les aflatoxines, ainsi que l'OTA.

Les **mycotoxines associées à une matrice** correspondent aux mycotoxines "natives" liées à une matrice c'est à dire physiquement dissoutes, et/ou piégées et/ou formant une liaison covalente avec cette matrice. Ainsi, les fumonisines sont capables de se lier aux polysaccharides ou aux protéines par leurs deux chaînes acides tricarballoxyliques, formant ainsi les fumonisines dites cachées (F cachées) ou liées à l'amidon (F liées à l'amidon) (Seefelder *et al.*, 2003).

En dehors de ces phénomènes de liaison à une matrice, les mycotoxines "natives" peuvent subir des transformations d'origine biologique ou purement chimique. Le terme de "**mycotoxine modifiée**" a été proposé pour désigner toute modification biologique ou chimique de la structure chimique d'une mycotoxine "native" (Rychlik *et al.*, 2014).

Les mycotoxines "**modifiées biologiquement**" désignent des composés issus d'une biotransformation par un organisme animal, végétal ou une moisissure. Les biotransformations sont divisées en deux types principaux : les réactions de phase I (oxydation, réduction ou hydrolyse) et les réactions de phase II (conjugaison). Généralement, la biotransformation permet une détoxification des toxiques, notamment en facilitant leur excréation. Cependant dans certains cas, elle peut conduire à un composé plus toxique que la molécule mère. C'est par exemple le cas de l'aflatoxine B₁-époxyde qui est issue de l'oxydation de l'AFB₁ par les cytochromes P450 pendant les réactions de biotransformation de la phase I chez l'animal.

Les formes glucuronides (DON3-GlcA, ZEN14-GlcA, T2-GlcA, HT2-3/4-GlcA) sont issues de la phase II de biotransformation des mycotoxines "natives" correspondantes par l'animal, et représentent des exemples de mycotoxines dites "**biologiquement modifiées - conjuguées**". Elles correspondent à des formes d'excrétion des mycotoxines natives de l'organisme animal.

Le DON-3-β-D-glucopyranoside (D3G), et la zéaralénone-14-β-D-glucopyranoside (ZEN14G) issus de la phase II de biotransformation par les végétaux respectivement du DON ou de la ZEN, en sont d'autres exemples. Par convention, la terminologie de "**mycotoxines masquées**" a été retenue pour les seules mycotoxines "biologiquement modifiées" issues d'une réaction de conjugaison dans une plante (Berthiller *et al.*, 2013). A l'heure actuelle, les quatre principales mycotoxines "masquées" au sens strict sont la ZEN14G, le

D3G, la toxine T2-glucoside (T2-Glc) et la toxine HT2-glucoside (HT2-Glc) (Lattanzio *et al.*, 2012). Il est intéressant de souligner le cas du dérivé acétylé du 3ADON, un dérivé acétylé du DON. Ce composé peut être produit à la fois par le champignon, dans ce cas c'est une mycotoxine "native", et par les variétés transgéniques de riz, de blé et d'orge exprimant le gène de la 3-O-acetyltransférase, et donc considéré comme une mycotoxine "masquée". Le transfert du gène de l'3-O-acetyltransférase à des plantes est envisagé comme une stratégie d'avenir pour la réduction du pouvoir pathogène des fusarioses qui affectent certaines espèces végétales. Il est en effet établi que la conversion en 3ADON par la plante du DON produit par la moisissure, permet de limiter l'agressivité de la fusariose (Karlovsky, 2011).

Tableau 3 – Principales mycotoxines "modifiées" recensées (adapté de Broekaert *et al.*, 2015)

Mycotoxine "native"	Mycotoxine "modifiée"
Déoxynivalénol	15-acétyl-DON (15ADON) 3-acétyl-DON (3ADON) DON-3-O-glucoside (DON3O-Glc) DON-3/8/15-glucuronide (DON3/8/15-GlcA) 3-acétyl-DON-glucuronide (3ADON-GlcA) DON-3-β-D-glucopyranoside (D3G) DON-oligosaccharides Deepoxy-DON (DOM-1) 3-epi-DON 9-hydroxymethyl DON lactone Nor-DON A-F DON-sulfonate (DON-S)
Zéaralénone	ZEN-14-glucuronide (ZEN14-GlcA) ZEN-14-β-D-glucopyranoside (ZEN14G) ZEN-14-sulfate (ZEN14S) α-zearalenol (α-ZEL) β-zearalenol (β-ZEL) α-zearalenol-14-α-D-glucopyranoside (α-ZEL14G) β-zearalenol-14-β-D-glucopyranoside (β-ZEL14G)
T2	T2-glucuronide (T2-GlcA) T2-glucoside (T2-Glc)
HT2	HT2-3/4-glucuronide (HT2-3/4-GlcA) HT2-glucoside (HT2-Glc)
Fumonisine	F N-(carboxyméthyl) FB ₁ N-(1-deoxy-D-fructos-1-μl) HFb _x F-N-acetyl F-O-acetyl F cachées F liées à l'amidon
Aflatoxine	AFB ₁ -époxyde
Ochratoxine	OTA-oligosaccharides 14-(R)-OTA 14-decarboxy-OTA

En gras : les mycotoxines masquées au sens strict.

D'autres mycotoxines peuvent être "biologiquement modifiées" par l'action d'un micro-organisme, et sont regroupées sous le vocable de "mycotoxines **modifiées différemment**". Le Deepoxy-DON (DOM-1) et le 3-epi-DON, issus de la transformation du DON par des bactéries extraites du microbiote humain ou animal, appartiennent à ce groupe (Eriksen *et al.*, 2002 ; Karlovsky, 2011 ; Gratz *et al.*, 2013).

Les mycotoxines "**chimiquement modifiées**" constituent le dernier groupe. Les modifications chimiques peuvent dépendre ou non de la chaleur.

Les mycotoxines "**chimiquement modifiées thermoformées**" apparaissent lors de la mise en œuvre des procédés de transformation alimentaire tels que la cuisson, le grillage, la congélation ou l'extrusion. Ces modifications thermo-dépendantes sont connues pour de nombreuses mycotoxines, notamment les fumonisines capables d'entrer dans une réaction de Maillard, du fait de la réduction des sucres, avec l'obtention par exemple de la fumonisine B₁ N-(1-deoxy-D-fructos-1-yl) et de la fumonisine N-(carboxyméthyl) (Humpf et Voss, 2004). On peut citer également comme produits de dégradation thermique des dérivés du DON (norDON A-F et 9-hydroxyméthyl DON lactone) dont certains peuvent être retrouvés dans des échantillons d'aliment du commerce (Bretz *et al.*, 2005).

Les mycotoxines "**chimiquement modifiées non thermoformées**" proviennent quant à elles d'une variété de procédés, dont l'hydrolyse mise en œuvre avec les fumonisines (HFBx), la sulfatation du DON aboutissant au DON-sulfonate ou les produits de dégradation des ochratoxines par les rayons UV (Beyer *et al.*, 2010 ; Schmidt-Heydt *et al.*, 2012).

2.2. Occurrence des mycotoxines "natives" et "modifiées"

Certaines mycotoxines "modifiées", en particulier les formes "masquées" mais également les formes associées à la matrice et certaines formes chimiquement modifiées peuvent se retrouver dans les aliments destinés au porc. Le tableau 4 représente des données d'occurrence des principales mycotoxines et de leurs formes "modifiées" dans des échantillons de céréales (blé, orge, maïs, avoine et riz) sur la période de 2010 à 2014.

Les mycotoxines "natives" représentent la part majoritaire dans la contamination des aliments. Cependant, les autres formes sont également retrouvées de façon concomitante dans les aliments. Il est actuellement possible de détecter de nombreuses mycotoxines "modifiées", mais peu de données quantitatives sont disponibles, notamment en raison d'un manque de standards analytiques et de matériel de référence.

Le tableau 5 apporte de plus amples informations sur la proportion de certaines mycotoxines "modifiées", pour lesquelles quelques données sont disponibles, par rapport à leur forme "native". Pour certaines mycotoxines, comme la T2-Glc et la HT2-Glc, les données d'occurrence du tableau 4 ne proviennent que d'une seule étude. Leur présence a été rapportée pour la première fois en 2012 dans du blé et de l'avoine naturellement contaminés (Lattanzio *et al.*, 2012).

Pour le D3G, plus anciennement découvert, plus de données sont disponibles sur son occurrence et sur sa proportion par rapport au DON. La proportion de cette mycotoxine "masquée" est assez stable dans les aliments et correspond en moyenne à 20% du DON présent (Berthiller *et al.*, 2009). Cependant les ratios sont très variables selon la céréale, le génotype concerné, le pays et l'année de récolte et peuvent augmenter jusqu'à 46%. (Berthiller *et al.*, 2009 ; De Boevre *et al.*, 2012). De plus l'utilisation croissante de plantes résistantes à *Fusarium*, capables de glucosyler de façon importante le DON en D3G, pourrait encore augmenter le ratio D3G/DON. Certaines études sur ces plantes résistantes ont même trouvé jusqu'à 2,7 fois plus de D3G présent dans la plante que de DON (Sasanya *et al.*, 2008).

Les ZEN14S et ZEN14G sont aussi retrouvés en proportion assez stables, jusqu'à 30% de la ZEN présente (Scheneweis *et al.*, 2002 ; Streit *et al.*, 2013b).

Tableau 4 – Occurrence des trichothécènes et de la zéaralénone et de leurs formes "modifiées" dans des céréales (échantillons de blé, orge, maïs, avoine et riz issus de différents pays)

(adapté de Broekaert *et al.*, 2015)

Mycotoxines ¹	Nombre d'échantillons ²	Incidence, %	Moyenne, µg/kg d'aliment
<i>DON</i>	5743	84	458
3ADON	2227	22	14,7
15ADON	686	31	36,6
D3G	529	55	85
<i>NIV</i>	3062	32	17,8
<i>ZEN</i>	2158	12	39,6
ZEN14G	36	25	37
ZEN14S	12	25	6
<i>T2</i>	321	45	16,7
<i>HT2</i>	321	54	61
T2G	15	73	2,4
HT2G	15	80	5,1

¹Abréviations: Nivalénol (*NIV*), voir également tableaux 1 et 3. Les mycotoxines "natives" sont indiquées en italique et les mycotoxines "modifiées" en gras.

²Pays d'origine des différentes céréales analysées : Allemagne, Autriche, Belgique, Chine, Danemark, Finlande, Italie, Nigeria, Norvège, République Tchèque et Suède.

Pour ce qui est des fumonisines associées à la matrice (piégées physiquement), leurs proportions par rapport aux fumonisines libres sont plus variables. Leur présence a été montrée après une étape d'hydrolyse des matières premières (Dall'Asta *et al.*, 2009). La proportion de ces formes physiquement piégées change selon le génotype du maïs et selon les conditions de culture (Dall'Asta *et al.*, 2012).

En conclusion, plus de données d'occurrence, sur différentes céréales et dans différents pays, sont nécessaires pour évaluer correctement le risque associé à la présence de ces nouvelles mycotoxines.

2.3. Métabolisation et toxicité des mycotoxines "modifiées" chez le porc

L'occurrence des mycotoxines "modifiées" dans les denrées alimentaires et l'exposition des animaux à ces nouvelles toxines suscitent un certain nombre d'interrogations et le besoin d'investiguer la métabolisation et la toxicité de ces composés (EFSA, 2014). Il est en effet important d'étudier la toxicité intrinsèque de ces toxines, mais également de connaître leur métabolisme et en particulier de déterminer si les mycotoxines "modifiées" sont reconverties en formes "natives" correspondantes.

Quelques récentes études se sont intéressées aux effets de ces mycotoxines "modifiées" sur le porc, sur des modèles *in vitro* ou *in vivo*. La majorité de ces études portent sur le métabolisme de ces molécules et peu sur leur toxicité.

Tableau 5 - Proportion des mycotoxines "modifiées" présentes par rapport à leur mycotoxine "native" dans des matières premières naturellement contaminées

Matière première	Mycotoxines "modifiées"	Nombre d'échantillons	Proportion de mycotoxine "modifiée" / "native", %	Références
Blé, Maïs	D3G	77	20% jusqu'à 46%	Berthiller <i>et al.</i> (2009)
Céréales	D3G	21	6-29%	Desmarchelier et Seefelder (2011)
Maïs, Blé, Avoine	D3G	11	jusqu'à 30%	De Boevre <i>et al.</i> (2012)
Maïs	ZEN14S	41	jusqu'à 30%	Streit <i>et al.</i> (2013)
Blé	ZEN14G	10	jusqu'à 30%	Scheneweis <i>et al.</i> (2002)
Blé	T2-Glc, HT2-Glc	9	jusqu'à 12%	Lattanzio <i>et al.</i> (2012)
Avoine	T2-Glc, HT2-Glc	9	2%	Lattanzio <i>et al.</i> (2012)
Maïs	Fumonisines associées à la matrice	31	jusqu'à 100%	Dall'Asta <i>et al.</i> (2010)
	Fumonisines associées à la matrice	97	jusqu'à 60%	Dall'Asta <i>et al.</i> (2010)
	Fumonisines associées à la matrice	120	jusqu'à 60%	Dall'Asta <i>et al.</i> (2012)

Abréviations: voir tableaux 1 et 3.

2.3.1. Toxicité intrinsèque des mycotoxines "modifiées" pour le porc

Les études consacrées à la toxicité des mycotoxines "modifiées" concernent en grande partie les formes "modifiées" du DON et de la ZEN. La majorité de ces études ont été réalisées *in vitro* sur des cellules humaines et seulement quelques-unes s'intéressent à la toxicité *in vivo* chez l'animal, notamment la souris et le porc.

La toxicité du DON a été comparée à celle de ses dérivés acétylés (3ADON et 15ADON) en prenant en compte la prolifération cellulaire, l'activation des MAPKs (Mitogen-activated protein kinases) et de l'expression des protéines de jonctions serrées, ainsi que l'expression des cytokines chez le porc (Pinton *et al.*, 2012). Les pourcentages de réduction de la viabilité cellulaire des cellules intestinales de porc (IPEC-1) incubées 24 heures en présence de DON, 3ADON et 15ADON sont respectivement de 60%, 13% et 69%. L'expression des protéines de jonction par ces cellules intestinales porcines est diminuée de 40% en présence du 15ADON, et est équivalente pour le DON et le 3ADON. Le 15ADON a également montré plus de toxicité que le DON et le 3ADON au niveau de l'activation des MAPKs, *in vitro* sur les cellules IPEC-1, *ex vivo* sur des cultures d'explants de jéjunum de porc ou *in vivo* dans le tissu jéjunal de porcelets (Pinton *et al.*, 2012).

Un des dérivés connu du DON est le DOM-1 issu d'une transformation bactérienne réduisant le groupement 12,13-epoxy qui est essentiel dans la toxicité du DON et des trichothécènes en général (Schatzmayer *et al.*, 2006 ; Zhou *et al.*, 2008). De ce fait le DOM-1 est considéré comme un métabolite non toxique du DON. Une étude *in vitro* a montré que le DOM-1 était 54 fois moins toxique que le DON au niveau de la synthèse d'ADN sur des fibroblastes de souris (Eriksen et Pettersson, 2004). La toxicité du DOM-1 sur les paramètres zootechniques a été évaluée *in vivo* sur des porcs. Les animaux recevant l'aliment contaminé avec du DON à 5mg/kg d'aliment et la souche bactérienne, capable de déépoxyder le DON, ne présentaient pas de diminution de la prise alimentaire ou de prise de poids (He *et al.*, 1993 ; Li *et al.*, 2011). Cependant l'évaluation de la toxicité de DOM-1 pur sur l'intestin et l'organisme du porc n'a pas été évaluée.

Comparé au DON, le D3G s'est avéré non toxique *ex vivo* sur des jéjunums de porcs, avec une incapacité du D3G à induire un stress ribotoxique et à activer la voie des MAPKs centrale dans la mise en œuvre de la réponse pro-inflammatoire observée avec le DON (Pierron *et al.*, 2016). Cette inaptitude du D3G contrairement au DON à induire une réponse pro-inflammatoire se confirme chez le rat avec une absence de sur-expression des cytokines et chemokines (Wu *et al.*, 2014a). Par ailleurs, le pouvoir émétique du D3G semble beaucoup plus faible que celui du DON (Wu *et al.*, 2014b).

Plusieurs études ont comparé les pouvoirs oestrogéniques de la ZEN et de ses deux dérivés α -ZEL et β -ZEL. L'oestrogénicité de ces molécules se classe ainsi comme suit : β -ZEL < ZEN < α -ZEL (Mukherjee *et al.*, 2014). Au niveau cellulaire, de plus fortes cytotoxicité et génotoxicité de la β -ZEN comparée à la α -ZEN ont été montrées sur des cellules endométriales de porc (Tiemann *et al.*, 2003 ; Othmen *et al.*, 2008) tandis que, l' α -ZEL s'est révélée plus toxique que la β -ZEL sur les oocytes de porc (Alm *et al.*, 2002). En résumé, la hiérarchie dans la toxicité des deux mycotoxines "modifiées", α -ZEL et β -ZEL, n'est pas clairement établie et elle dépend du type cellulaire considéré. Dans l'ensemble, leur toxicité est moindre que celle de la ZEN.

Les formes glucosylée et sulfatée de la ZEN, les ZEN14G et ZEN14S, semblent incapables de se lier aux récepteurs oestrogéniques et d'induire une toxicité *in vitro* (Poppenberger *et al.*, 2006; Berthiller *et al.*, 2009).

De façon globale, les composés issus des voies de détoxification des plantes, les formes "masquées" *sensu stricto* sont moins toxiques ou inactivés par rapport à la molécule "native". Les voies de biotransformation de la plante, qui sont similaires à celles des animaux (par exemple les réactions de conjugaison aux différentes molécules sulfate, glutathione ou acide glucuronique), augmentent la polarité de ces molécules, facilitant ainsi leur excrétion et diminuant leur toxicité (Yiannikouris et Jouany, 2002 ; Homolya *et al.*, 2003).

2.3.2. Métabolisation des mycotoxines "modifiées" chez le porc

Les interrogations sur une reconversion des mycotoxines "modifiées" en mycotoxines "natives" sont aussi vieilles que la découverte des premières mycotoxines "modifiées".

Très tôt en effet, il a été montré qu'en exposant oralement pendant 2 semaines un porcelet à du ZEN14G, il était possible de retrouver dans ses urines et ses fèces des quantités variables de ZEN et de son métabolite oestrogénique α -ZEL (Gareis *et al.*, 1990). Cette étude souligne le fait qu'une partie non négligeable de l'exposition du porc à une mycotoxine pourrait provenir de la conversion des mycotoxines "modifiées". Une telle reconversion peut être due à l'activité des enzymes digestives et du métabolisme de l'animal. Elle peut également résulter de l'activité enzymatique de la flore digestive suivie de la réabsorption de la mycotoxine "native" et/ou de ses métabolites. Le tableau 6 récapitule le devenir de certaines mycotoxines "modifiées" le long du tractus digestif et leur hydrolyse en leur forme "native".

Le porc est un animal physiologiquement très proche de l'homme, notamment pour ce qui est de la digestion. Dans un système *in vitro* humain mimant en étapes successives l'action du suc salivaire, du suc gastrique, du suc intestinal et de la bile, le D3G, la ZEN14G et la ZEN14S sont conservés respectivement à 99,5%, 97,3% et 98,6% (De Nijs *et al.*, 2012 ; Dall'Erta *et al.*, 2013).

Toutefois, le D3G qui n'est pas transformé par les enzymes présentes dans la salive et l'estomac des mammifères, pourrait être hydrolysé par l'acide lactique produit par certaines espèces bactériennes telles que *Enterococcus mundtii* et *Lactobacillus plantarum* présentes dans le tube digestif (Berthiller *et al.*, 2011).

Tableau 6 –Devenir de certaines mycotoxines "modifiées" le long du tractus digestif (adapté de Boevre *et al.*, 2015)^{1,2}

Compartiment	Mycotoxines					
	D3G ¹	3 ADON & 15ADON ³	ZEA14G ³	ZEA14S ⁴	Fumonisines cachées ⁴	Fumonisines liées ⁴
Salive	<i>Stable</i>	<i>Stable</i>	<i>Stable</i>	<i>Stable</i>	<i>Stable</i>	<i>Stable</i>
Estomac	<i>Stable</i>	11% DON (3ADON) 13% DON (15ADON)	Max.19% ZEN	<i>Stable</i>	<i>Stable</i>	<i>Stable</i>
Intestin grêle	<i>Max. 5% D3G détecté</i>	0% 3ADON 0% 15ADON	<i>Traces de ZEN14G détectées</i>	<i>Stable</i>	<i>Stable</i>	<i>Stable</i>
Colon	<i>Max. 2% D3G détecté</i> Fèces : DON+DOM-1	Déacétylation + glucuronidation	Fèces : 40% ZEN Fèces : 60% catabolites	Fèces : 40% ZEN Fèces : 60% catabolites	Max.99% fumonisines	<i>Stable</i>

¹Voir les tableaux 1 et 3 pour les abréviations.

²En italique: % de la mycotoxine "modifiée" retrouvée telle quelle après ingestion orale dans les différents compartiments du tractus digestif. En caractères normaux: % de la mycotoxine "modifiée" hydrolysée et retrouvée sous sa forme "native" dans les différents compartiments du tractus digestif. "Traces" si elle est très légèrement retransformée et "stable" si elle n'est pas retransformée dans ce compartiment.

³Données basées sur des expérimentations *in vitro* et *in vivo*.

⁴Données basées sur des expérimentations *in vivo*.

Tout comme pour le DON, les formes "modifiées" de la ZEN peuvent être déconjuguées après une fermentation fécale par le microbiote humain, et la forme "native" de la mycotoxine relarguée dans la lumière intestinale (Dall'Erta *et al.*, 2013). Une augmentation de 30-50% de fumonisines détectables après digestion de la matrice alimentaire est également observée (Dall'Asta *et al.*, 2010). Ce constat suggère que les enzymes gastro-intestinales sont capables de détruire les interactions entre la matrice et les fumonisines, relarguant les formes "natives" des mycotoxines. Pour le DOM-1, issu d'une transformation bactérienne, il n'y a pas d'études *in vivo* où les animaux auraient reçu du DOM-1 pur.

La réaction d'épimérisation à l'origine de la formation du 3-epi-DON est une réaction irréversible (Karlovsy, 2011). Mais actuellement aucune donnée n'est disponible sur sa toxicité. Pour ce qui est des formes acétylés du DON, elles sont très vite déacétylés au sein de l'organisme en DON (Wu *et al.*, 2010).

Ces résultats obtenus *in vitro* montrent donc que certaines des mycotoxines "modifiées" peuvent être retransformées en leur mycotoxines "natives" dans des proportions variables, et suggèrent que cette transformation serait principalement due au microbiote intestinal.

Une étude s'est intéressée au devenir du DON ou du D3G administré oralement et aussi au D3G administré par voie intraveineuse à des porcelets (Nagl *et al.*, 2014). Le DON est excrété en très grande partie par voie urinaire, principalement dans les huit premières heures post-exposition, majoritairement sous forme "native" et minoritairement sous forme de DON-3-glucuronide (DON3-GlcA) et de DON-15-glucuronide (DON15-GlcA). Quant au D3G administré oralement, son excrétion urinaire, bien que majoritaire, est plus tardive, apparaissant entre la 8^{ème} et la 24^{ème} heure post-exposition. Seule une infime partie du D3G a été retrouvée non transformée dans l'urine, la majeure partie étant convertie en DON, et accessoirement en DON3-GlcA et en DON15-GlcA. Dans le cas du D3G administré par voie parentérale, presque toute la dose administrée était retrouvée sous forme inchangée dans les urines dans les huit premières heures. Cette étude démontre (i) que le D3G contaminant les aliments de porc peut être converti en DON dans le tube digestif, (ii) en raison de l'élimination urinaire tardive, que cette conversion a probablement lieu dans la portion basse du tube digestif, et (iii) que le DON provenant de l'hydrolyse microbienne du D3G pourrait très bien être réabsorbé et contribuer de façon significative à l'exposition totale en DON du porc.

3. EVALUATION DE L'EXPOSITION ET CARACTERISATION DU RISQUE POUR LES MYCOTOXINES "MODIFIEES" CHEZ LE PORC

Un travail d'évaluation de l'exposition du porc à certaines mycotoxines "modifiées" et de caractérisation du risque associé a été effectué par l'EFSA en 2014 (EFSA, 2014). Les mycotoxines concernées sont la ZEN, le nivalénol (NIV) (une mycotoxine de la famille des trichothécènes comme le DON), les toxines T2 et l'HT2 et les fumonisines.

Les calculs d'exposition ont été faits en traduisant en exposition cumulée, l'accroissement de l'exposition en une mycotoxine donnée qui résulterait de la conversion de la mycotoxine modifiée en mycotoxine "native".

Comme chez l'homme, cet accroissement a été estimé à 100% pour la ZEN, 30% pour le NIV, 10% pour T2 et HT2, et 60% pour les fumonisines.

Le tableau 7 présente les estimations d'exposition cumulée à ces mycotoxines "modifiées" et à leur forme "native".

Sur la base de la NOEL (No Observed Effect Level ; dose maximale sans effet nocif observé) de la ZEN fixée à 10 µg/kg poids vif/jour par rapport à ses effets oestrogéniques, l'EFSA a estimé que l'accroissement d'exposition liée à la prise en compte des formes "modifiées" n'était pas suffisant pour remettre en cause les recommandations en vigueur pour les valeurs limites de ZEN en alimentation porcine.

La LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level ; dose minimale avec effet nocif observé) établie pour le NIV chez le porc est de 100 µg/kg poids vif/jour (EFSA, 2013). L'estimation de l'exposition cumulée en NIV natif et en NIV converti à partir des formes "modifiées" représenterait 2-3% de cette valeur (Tableau 7). Sur cette base, l'EFSA a estimé que la prise en compte des formes "modifiées" de NIV n'était pas de nature à remettre en cause la sécurité des aliments pour porc.

Tableau 7 - Estimations d'exposition des porcs à certaines mycotoxines (cumul des formes "natives" et "modifiées") selon deux hypothèses (h) haute et basse (adapté de EFSA, 2014)

Catégories d'âge	Poids vif, kg	Ingéré alimentaire, kg/jour	Niveau d'exposition, µg/kg poids vif/jour							
			ZEN "natif" & "modifié"		NIV "natif" & "modifié"		Toxines T2 + HT2 "natif" & "modifié"		Fumonisines "natif" & "modifié"	
			h basse	h haute	h basse	h haute	h basse	h haute	h basse	h haute
Porcelet	20	1	0,7	1	0,53	2,07	0,3	1,43	3,7	10,3
Porc à l'engraissement	100	3	0,6	0,9	0,31	1,21	0,31	0,96	7,4	11,1
Truie	200	6	2,2	2,5	0,32	1,26	0,33	0,92	4,6	11,9

Abréviations: voir tableaux 1, 3 et 4.

En partant des hypothèses les plus pessimistes, l'exposition cumulée en T2 et HT2, et en leur formes "modifiées" correspondrait à 9% de la LOAEL de groupe établie à 29 µg/kg poids vif/j pour ces trichothécènes du groupe A (EFSA, 2011). Sur cette base, l'EFSA a estimé que la prise en compte des formes "modifiées" de T2 et HT2 également, n'était pas de nature à remettre en cause le niveau de sécurité des aliments pour porc pour ces mycotoxines.

Dans les hypothèses hautes, l'exposition cumulée aux fumonisines "natives" et à leurs formes "modifiées" représenterait 25% de la LOAEL établie par l'EFSA en 2005 à 200 µg/kg poids vif/j. Pour ces mycotoxines également, la sécurité des aliments pour porc ne semble donc pas remise en cause.

En résumé, l'EFSA a rendu un avis concernant quatre mycotoxines ou groupes de mycotoxines (ZEN, NIV, T2- HT2 et fumonisines) pour lesquelles aucune préoccupation nouvelle ne semble émerger suite à la prise en compte de l'exposition aux formes "modifiées". Un avis sur le DON et ses formes "modifiées" est en cours de rédaction. De tels travaux de référence n'existent pas encore pour les aflatoxines et les ochratoxines qui sont deux familles des mycotoxines faisant respectivement l'objet d'une réglementation et d'une recommandation en alimentation du porc.

CONCLUSION

Les avancées en techniques analytiques et en toxicologie contribuent à augmenter les connaissances sur les dangers chimiques dans l'aliment. Elles ont mis en évidence de

nouvelles formes de mycotoxines. Cependant, l'impact de ces mycotoxines "modifiées" et "masquées" sur la santé est encore peu connu. A l'heure actuelle, seulement quelques données *in vitro* et *in vivo* sont disponibles sur la métabolisation de ces formes "modifiées" au sein de l'animal. De plus amples études *in vivo* sur la biodisponibilité et sur la toxicité de ces mycotoxines "modifiées" chez l'animal seront nécessaires pour mieux comprendre leur impact sur la santé du porc et sur la santé des consommateurs.

La proportion de mycotoxines "modifiées" dans l'aliment et leur toxicité sont généralement inférieures à celles de leur forme "native". Ce qui veut dire que les effets toxiques observés suite à une contamination sont principalement dus aux mycotoxines "natives". Cependant, la possible hydrolyse des mycotoxines "modifiées" au niveau de l'intestin pose le problème d'une exposition totale augmentée, avec, si ces formes "modifiées" ne sont pas prise en compte, un risque sous-estimé pour l'animal.

Plusieurs mycotoxines "modifiées" sont retransformées en la mycotoxine "native". Pour cette raison il est important de prendre en considération les mycotoxines "modifiées" lors du calcul de l'exposition, alors qu'actuellement seules les mycotoxines "natives" sont prises en compte dans la réglementation. Les mycotoxines "modifiées" peuvent être en proportion importante dans les céréales par rapport à leur forme "native". Par exemple, les formes glucosylées comme le D3G peuvent aller jusqu'à 30% de la proportion de la mycotoxine "native". Les travaux récents de l'EFSA tendent à considérer la somme des mycotoxines "natives" et "modifiées" pour calculer les risques liés à l'exposition aux mycotoxines.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aish J.L., Rippon E.H., Barlow T., Hattersley S.J., 2004. Ochratoxin A. In : N. Magan & M. Olsen (Eds.), *Mycotoxins in Food*, 307-338. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Alm H., Greising T., Brussow K.P., Torner H., Tiemann U., 2002. The influence of the mycotoxins deoxynivalenol and zearalenol on in vitro maturation of pig oocytes and in vitro culture of pig zygotes. *Toxicol. In Vitro*, 16, 643-648.
- Bennett J.W., Klich M., 2003. *Mycotoxins. Clin. Microbiol. Rev.*, 16, 497-516.
- Berthiller F., Dall'asta C., Corradini R., Marchelli R., Sulyok M., Krska R., Adam G., Schuhmacher R., 2009. Occurrence of deoxynivalenol and its 3-beta-D-glucoside in wheat and maize. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.*, 26, 507-511.
- Berthiller F., Krska R., Domig K.J., Kneifel W., Juge N., Schuhmacher R., Adam G., 2011. Hydrolytic fate of deoxynivalenol-3-glucoside during digestion. *Toxicol. Lett.*, 206, 264-267.
- Berthiller F., Crews C., Dall'Asta C., Saeger S.D., Haesaert G., Karlovsky P., Oswald I.P., Seefelder W., Speijers G., Stroka J., 2013. Masked mycotoxins: a review. *Mol. Nutr. Food Res.*, 57, 165-186.
- Beyer M., Danicke S., Rohweder D., Humpf H.U., 2010. Determination of deoxynivalenol-sulfonate (DONs) in cereals by hydrophilic interaction chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Mycotoxin Res.*, 26, 109-117.
- Boevre M.D., Graniczowska K., Saeger S.D., 2015. Metabolism of modified mycotoxins studied through in vitro and in vivo models: an overview. *Toxicol. Lett.*, 233, 24-28.
- Bretz M., Knecht A., Gockler S., Humpf H.U., 2005. Structural elucidation and analysis of thermal degradation products of the Fusarium mycotoxin nivalenol. *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 309-316.
- Broekaert N., Devreese M., De Baere S., De Backer P., Croubels S., 2015. Modified Fusarium mycotoxins unmasked: From occurrence in cereals to animal and human excretion. *Food Chem. Toxicol.*, 80, 17-31.
- Bryden W.L., 2007. Mycotoxins in the food chain: human health implications. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 16 Suppl 1, 95-101.
- Bryden W.L., 2012. Mycotoxin contamination of the feed supply chain : Implications for animal productivity and feed security. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 173, 134-158.
- Dall'Asta C., Falavigna C., Galaverna G., Dossena A., Marchelli R., 2010. In vitro digestion assay for determination of hidden fumonisins in maize. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 12042-12047.
- Dall'Asta C., Falavigna C., Galaverna G., Battilani P., 2012. Role of maize hybrids and their chemical composition in Fusarium infection and fumonisin production. *J. Agric. Food Chem.*, 60, 3800-3808.
- Dall'Erta A., Cirilini M., Dall'Asta M., Del Rio D., Galaverna G., Dall'Asta C., 2013. Masked mycotoxins are efficiently hydrolyzed by human colonic microbiota releasing their aglycones. *Chem. Res. Toxicol.*, 26, 305-312.
- De Boevre M., Di Mavungu J.D., Maene P., Audenaert K., Deforce D., Haesaert G., Eeckhout M., Callebaut A., Berthiller F., Van Peteghem C., De Saeger S., 2012. Development and validation of an LC-MS/MS method for the simultaneous determination of deoxynivalenol, zearalenone, T-2-toxin and some masked metabolites in different cereals and cereal-derived food. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.*, 29, 819-835.
- De Nijs M., Van den Top H.J., Portier L., Oegema G., Kramer E., Van Egmond H.P., Hoogenboom R.L.A.P., 2012. Digestibility and absorption of deoxynivalenol-3-β-glucoside in in vitro models. *World Mycotox. J.*, 5, 319-324.
- Desmarchelier A., Seefelder W., 2011. Survey of deoxynivalenol and deoxynivalenol-3-glucoside in cereal-based products by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *World Mycotox. J.*, 4, 29-35.
- EFSA, 2011. Scientific Opinion on risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. *EFSA Journal*, 9, 187.
- EFSA, 2013. Deoxynivalenol in food and feed: occurrence and exposure. *EFSA Journal*, 11 (10), 3379.
- EFSA, 2014. Scientific Opinion on the risks for human and animal health related to the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed. *EFSA Journal*, 12 (12), 3916.
- Eriksen G.S., Pettersson H., Johnsen K., Lindberg J.E., 2002. Transformation of trichothecenes in ileal digesta and faeces from pigs. *Arch. Tierernahr*, 56, 263-274.
- Eriksen G.S., Pettersson H., 2004. Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 114, 205-239.
- Fink-Gremmels J., Malekinejad H., 2007. Clinical effects and biochemical mechanisms associated with exposure to the mycoestrogen zearalenone. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 137, 326-341.
- Gareis M., Bauer J., Thiem J., Plank G., Grabley S., Gedek B., 1990. Cleavage of zearalenone-glycoside, a "masked" mycotoxin, during digestion in swine. *Zentralbl Veterinarmed B*, 37, 236-240.
- Gaumy J.L., Bailly J.D., Burgat V., Guerre P., 2001. Zéaralénone : propriétés et toxicité expérimentale. *Revue de médecine vétérinaire*, 152, 219-234.
- Gratz S.W., Duncan G., Richardson A.J., 2013. The human fecal microbiota metabolizes deoxynivalenol and deoxynivalenol-3-glucoside and may be responsible for urinary deepoxy-deoxynivalenol. *Appl. Environ. Microbiol.*, 79, 1821-1825.
- Haschek W.M., Voss K.A., Beasley V., 2002. Selected mycotoxins affecting animal and human health. In : W.M. Haschek, C.G. Rousseaux, & M.A. Wallig (Eds.), 645-699. *Handbook of Toxicological Pathology*, 1, Academic press, New York.
- He P., Young L.G., Forsberg C., 1993. Microbially detoxified vomitoxin-contaminated corn for young pigs. *J. Anim. Sci.*, 71, 963-967.
- Homolya L., Varadi A., Sarkadi B., 2003. Multidrug resistance-associated proteins: Export pumps for conjugates with glutathione, glucuronate or sulfate. *Biofactors*, 17, 103-114.
- Humpf H.U., Voss K.A., 2004. Effects of thermal food processing on the chemical structure and toxicity of fumonisin mycotoxins. *Mol. Nutr. Food Res.*, 48, 255-269.
- Karlovsky P., 2011. Biological detoxification of the mycotoxin deoxynivalenol and its use in genetically engineered crops and feed additives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 91, 491-504.
- Krogh P., 1987. Ochratoxins in food. In : Krogh, P. (Ed.). *Mycotoxins in Food*, 97-121. Academic Press, London.
- Lattanzio V.M., Visconti A., Haidukowski M., Pascale M., 2012. Identification and characterization of new Fusarium masked mycotoxins, T2 and HT2 glycosyl derivatives, in naturally contaminated wheat and oats by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry. *J. Mass. Spectrom.*, 47, 466-475.
- Li X.Z., Zhu C., de Lange C.F., Zhou T., He J., Yu H., Gong J., Young J.C., 2011. Efficacy of detoxification of deoxynivalenol-contaminated corn by *Bacillus* sp. LS100 in reducing the adverse effects of the mycotoxin on swine growth performance. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo Risk Assess.*, 28, 894-901.

- Marin D.E., Taranu I., Pascale F., Lionide A., Burlacu R., Bailly J.D., Oswald I.P., 2006. Sex-related differences in the immune response of weanling piglets exposed to low doses of fumonisin extract. *Br. J. Nutr.*, 95, 1185-1192.
- Marquardt R.R., Frohlich A.A., 1992. A review of recent advances in understanding ochratoxigenesis. *J. Anim. Sci.*, 70, 3968-3988.
- Meissonnier G.M., Marin D.E., Galtier P., Bertin G., I. T., Oswald I.P., 2006. Modulation of the immune response by a group of fungal food contaminant, the aflatoxins. In : E. Mengheri, M. Roselli, M.S. Bretti & A. Finamore (Eds), *Nutrition and Immunity*, 147-166. Research signpost, Inc, Roma.
- Mukherjee D., Royce S.G., Alexander J.A., Buckley B., Isukapalli S.S., Bandera E.V., Zarbl H., Georgopoulos P.G., 2014. Physiologically-based toxicokinetic modeling of zearalenone and its metabolites: application to the Jersey girl study. *PLoS One*, 9, e113632.
- Nagl V., Woechtl B., Schwartz-Zimmermann H.E., Hennig-Pauka I., Moll W.D., Adam G., Berthiller F., 2014. Metabolism of the masked mycotoxin deoxynivalenol-3-glucoside in pigs. *Toxicol. Lett.*, 229, 190-197.
- Oswald I.P., 2007. Effets immunosupresseur des mycotoxines chez le porc. *Journées Rech. Porcine*, 39, 419-426.
- Othmen Z.O., Gollı E.E., Abid-Essefi S., Bacha H., 2008. Cytotoxicity effects induced by Zearalenone metabolites, alpha Zearalenol and beta Zearalenol, on cultured Vero cells. *Toxicology*, 252, 72-77.
- Pfohl-Leschkowicz A., Manderville R.A., 2007. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Mol. Nutr. Food Res.*, 51, 61-99.
- Pierron A., Mimoun S., Murate L.S., Loiseau N., Lippi Y., Bracarense A.F., Liaubet L., Schatzmayr G., Berthiller F., Moll W.D., Oswald I.P., 2016. Intestinal toxicity of the masked mycotoxin deoxynivalenol-3-beta-D-glucoside. *Arch. Toxicol.* [[in press, doi:10.1007/s00204-015-1592-8].
- Pinton P., Oswald I.P., 2014. Effect of deoxynivalenol and other Type B trichothecenes on the intestine: a review. *Toxins (Basel)*, 6, 1615-1643.
- Pinton P., Tsybulskyy D., Lucieli J., Laffitte J., Callu P., Lyazhri F., Grosjean F., Bracarense A.P., Kolf-Clauw M., Oswald I.P., 2012. Toxicity of deoxynivalenol and its acetylated derivatives on the intestine: differential effects on morphology, barrier function, tight junction proteins, and mitogen-activated protein kinases. *Toxicol. Sci.*, 130, 180-190.
- Poppenberger B., Berthiller F., Bachmann H., Lucyshyn D., Peterbauer C., Mitterbauer R., Schuhmacher R., Krska R., Glossl J., Adam G., 2006. Heterologous expression of Arabidopsis UDP-glucosyltransferases in *Saccharomyces cerevisiae* for production of zearalenone-4-O-glucoside. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72, 4404-4410.
- Riley R., 1998. Mechanistic interactions of mycotoxins: theoretical considerations. In: K.K. Sinha & D. Bhatnagar (Eds), *Mycotoxins in Agriculture and food Safety*, 227-253. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Rotter B.A., Prelusky D.B., Pestka J.J., 1996. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *J. Toxicol. Environ. Health*, 48, 1-34.
- Rychlik M., Humpf H.U., Marko D., Danicke S., Mally A., Berthiller F., Klaffke H., Lorenz N., 2014. Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of mycotoxins including "masked" mycotoxins. *Mycotoxin Res.*, 30, 197-205.
- Sasanya J.J., Hall C., Wolf-Hall C., 2008. Analysis of deoxynivalenol, masked deoxynivalenol, and *Fusarium graminearum* pigment in wheat samples, using liquid chromatography-UV-mass spectrometry. *J. Food Prot.*, 71, 1205-1213.
- Schatzmayr G., Zehner F., Taubel M., Schatzmayr D., Klimitsch A., Loibner A.P., Binder E.M., 2006. Microbiologicals for deactivating mycotoxins. *Mol. Nutr. Food Res.*, 50, 543-551.
- Scheneweis I., Meyer K., Engelhardt G., Bauer J., 2002. Occurrence of zearalenone-4-beta-D-glucopyranoside in wheat. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 1736-1738.
- Schmidt-Heydt M., Cramer B., Graf I., Lerch S., Humpf H.U., Geisen R., 2012. Wavelength-dependent degradation of ochratoxin and citrinin by light in vitro and in vivo and its implications on *Penicillium*. *Toxins (Basel)*, 4, 1535-1551.
- Seefelder W., Knecht A., Humpf H.U., 2003. Bound fumonisin B1: analysis of fumonisin-B1 glyco and amino acid conjugates by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 5567-5573.
- Steyn P.S., Gelderbloom W.C.A., Shepard G.S., Van Heerden F.R., 2009. Mycotoxins with a special focus on aflatoxins, ochratoxins and fumonisins. In : B. Ballantyne, T. Marrs & T. Syversen (Eds), *General and Applied Toxicology*, third ed., 3467-3527. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK.
- Stoev S.D., 2014. Foodborne mycotoxicoses, risk assessment and underestimated hazard of masked mycotoxins and joint mycotoxin effects or interaction. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 39, 794-809.
- Streit E., Naehrer K., Rodrigues I., Schatzmayr G., 2013. Mycotoxin occurrence in feed and feed raw materials worldwide: long-term analysis with special focus on Europe and Asia. *J. Sci. Food Agric.*, 93, 2892-2899.
- Taranu I., Marin D.E., Bouhet S., Pascale F., Bailly J.D., Miller J.D., Pinton P., Oswald I.P., 2005. Mycotoxin fumonisin B1 alters the cytokine profile and decreases the vaccinal antibody titer in pigs. *Toxicol. Sci.*, 84, 301-307.
- Tiemann U., Viergutz T., Jonas L., Schneider F., 2003. Influence of the mycotoxins alpha- and beta-zearalenol and deoxynivalenol on the cell cycle of cultured porcine endometrial cells. *Reprod. Toxicol.*, 17, 209-218.
- Trenholm H.L., Hamilton R.M., Friend D.W., Thompson B.K., Hartin K.E., 1984. Feeding trials with vomitoxin (deoxynivalenol)-contaminated wheat: effects on swine, poultry, and dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 185, 527-531.
- Wild C.P., 2007. Aflatoxin exposure in developing countries: the critical interface of agriculture and health. *Food Nutr. Bull.*, 28, S372-380.
- Wild C.P., Gong Y.Y., 2010. Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis*, 31, 71-82.
- Wu Q., Dohnal V., Huang L., Kuca K., Yuan Z., 2010. Metabolic pathways of trichothecenes. *Drug Metab. Rev.*, 42, 250-267.
- Wu W., He K., Zhou H.-R., Berthiller F., Adam G., Sugita-Konishi Y., Watanabe M., Krantis A., Durst T., Zhang H., Pestka J.J., 2014a. Effects of oral exposure to naturally-occurring and synthetic deoxynivalenol congeners on proinflammatory cytokine and chemokine mRNA expression in the mouse. *Toxicol. Applied Pharmacol.*, 278, 107-115.
- Wu W., Zhou H.R., Bursian S.J., Pan X., Link J.E., Berthiller F., Adam G., Krantis A., Durst T., Pestka J.J., 2014b. Comparison of anorectic and emetic potencies of deoxynivalenol (vomitoxin) to the plant metabolite deoxynivalenol-3-glucoside and synthetic deoxynivalenol derivatives EN139528 and EN139544. *Toxicol. Sci.*, 142, 167-181.
- Yiannikouris A., Jouany J.P., 2002. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Anim. Res.*, 51, 81-99.
- Zhou B., He G.Q., Schwarz P.B., 2008. Occurrence of bound deoxynivalenol in *Fusarium* head blight-infected barley (*Hordeum vulgare* L.) and malt as determined by solvolysis with trifluoroacetic acid. *J. Food Prot.*, 71, 1266-1269.