

# La présence de fumonisines à des doses inférieures aux recommandations européennes induit des altérations histologiques chez les porcelets

Chloé TERCILOLO (1), Ana Paula BRACARENSE (2), Pollyana C.M.C. SOUTO (3), Anne-Marie COSSALTER (1), Léonie DOPAVOGUI (1), Nicolas LOISEAU (1), Carlos A. F. OLIVIERA (3), Philippe PINTON (1), Isabelle P. OSWALD (1)

(1) Toxalim (Research Center in Food Toxicology), Université de Toulouse, INRAE, ENVT, INP-Purpan, UPS, 31300 Toulouse, France

(2) Laboratory of Animal Pathology, Universidade Estadual de Londrina, 86057-970, Londrina, PR, Brésil

(3) Universidade de São Paulo, Departamento de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, 13635-900, Pirassununga, SP, Brésil

[chloe.terciolo@inrae.fr](mailto:chloe.terciolo@inrae.fr)

## La présence de fumonisines à des doses inférieures aux recommandations européennes induit des altérations histologiques chez les porcelets

Les fumonisines de type B (FBs) sont des mycotoxines produites par des champignons de l'espèce *Fusarium*. La présence de ces mycotoxines dans l'alimentation provoque des pathologies variées. Chez les animaux, le porc en particulier, l'exposition aux FBs provoque des œdèmes pulmonaires. Par conséquent, l'Union Européenne a mis en place une limite maximale réglementaire à 1 µg/kg de poids corporel pour l'alimentation humaine et une recommandation de 5 mg/kg de céréales destinées à l'alimentation animale. L'objectif de cette étude est d'évaluer la toxicité des FBs à des doses inférieures ou proches des recommandations européennes. Pour cela, quatre groupes de porcelets mâles castrés (n=6/groupe) ont été exposés après le sevrage pendant 28 jours à 0, 3,7, 8,1 et 12,2 mg de FBs/kg d'aliment et les effets ont été observés par l'analyse de paramètres plasmatiques et des observations histologiques. Une exposition à 3,7 mg de FBs/kg d'aliment entraîne une augmentation du ratio Sphinganine/Sphingosine plasmatique. Cette exposition se traduit par l'apparition d'altérations histologiques dans le cœur et l'intestin. L'exposition à 8,1 mg de FBs/kg d'aliment entraîne des altérations tissulaires rénales. La plus forte concentration de FBs entraîne des lésions tissulaires dans tous les organes analysés. Ces lésions sont associées à des variations des concentrations plasmatiques de biomarqueurs hépatiques et rénaux. En conclusion, nos données indiquent que la présence de FBs dans l'aliment à des doses autorisées par la réglementation européenne entraîne des altérations de différents tissus. Cela suggère donc que la recommandation européenne sur la teneur en FBs en alimentation animale devrait être modifiée pour une meilleure protection de la santé animale.

## Fumonisin at doses below EU recommendations induce histological alterations in piglets

Fumonisin type B (FBs) are mycotoxins produced by *Fusarium* species that can contaminate food and feedstuff. Due to the deleterious effects of FB in animals such as pulmonary edema in pigs, the European Union (EU) set a recommendation of 5 mg FBs (B1+B2)/ kg for complete feed for pigs and a regulation of 1 µg FBs/kg body weight per day for humans. The aim of this study was to evaluate the toxicity of dietary exposure to low doses of FBs, including a dose below the EU recommendation. Four groups of weaned castrated male piglets (n=6/group) were exposed for 28 days to feed containing 0, 3.7, 8.1 and 12.2 mg/kg of FBs, respectively; impact was measured through biochemical analysis and histopathological observations. Dietary exposure to FBs at 3.7 mg/kg of feed increased the plasmatic Sphinganine-to-Sphingosine ratio significantly. FB-contaminated diets induced histological modifications in the intestines, heart, lungs, lymphoid organs, kidneys and the liver. The histological alterations appeared at the lowest dose of FB-contaminated diet (3.7 mg/kg feed) in the heart and intestines and at the intermediate dose (8.1 mg/kg feed) in the kidneys. At the highest dose tested (12.2 mg/kg feed), all the organs examined displayed histological alterations. This dose also induced biochemical changes indicative of kidney and liver alterations. In conclusion, our data indicate that an FB-contaminated diet at doses below the EU regulatory limits induces histological lesions in several organs. This study suggests that the EU recommendation for FB concentration in animal feed, especially for pigs, should be decreased to protect animal health better.

## INTRODUCTION

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires fongiques susceptibles de contaminer l'alimentation animale et humaine à tous les stades de la chaîne alimentaire. Parmi les mycotoxines, les fumonisines sont produites par des champignons du genre *Fusarium* (Rheeder *et al.*, 2002). De par leur structure similaire à celle des sphingolipides, les fumonisines de type B (FBs) perturbent la synthèse des sphingolipides. Ils inhibent la céramide synthase (Wang *et al.*, 1991), ce qui engendre une accumulation de bases sphingolipides et une déplétion en céramides (Loiseau *et al.*, 2007 ; Masching *et al.*, 2016) modifiant de nombreuses fonctions cellulaires (Bouhet *et al.*, 2004 ; Bracarense *et al.*, 2012). Plus d'une trentaine de fumonisines ont été identifiées dont les plus abondantes sont la fumonisine B1 (FB1) et la B2 (FB2) (Voss et Riley, 2013). La présence de ces mycotoxines dans l'alimentation provoque des affections variées. En effet, chez l'homme, la consommation de FBs peut être en relation avec une forte prévalence de cancers de l'œsophage (IARC, 1993). Chez les animaux de rente, l'exposition aux FBs provoque diverses pathologies, principalement une leucoencéphalo-malacie chez le cheval et un œdème pulmonaire chez le porc (Haschek *et al.*, 2001). De par ses effets toxiques chez les animaux, la quantité maximale autorisée par l'EFSA de FBs dans les produits à base de maïs est de 60 mg/kg. Etant donnée la sensibilité des porcs aux mycotoxines et plus particulièrement aux FBs (Burel *et al.*, 2013), la quantité maximale autorisée dans le maïs destiné à l'alimentation porcine est de 5 mg/kg (Knutsen *et al.*, 2018). De plus, une dose maximale sans effet néfaste observable de 1 mg de FB1/kg d'aliment a été identifiée par l'EFSA pour le porc (Knutsen *et al.*, 2018).

Le but de ce travail était d'évaluer la toxicité des FBs à des doses proches de la réglementation européenne chez le porc. Par son alimentation riche en céréales, le porc est exposé à de fortes concentrations de FBs.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Animaux

Les phases d'expérimentation animale ont été réalisées dans les installations de TOXALIM (Toulouse, France) en stricte conformité avec la directive européenne relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques (2010/63/EU). Des porcelets sevrés à 21 jours (n = 24) et âgés de 28 jours ont été répartis entre quatre groupes de six animaux (contrôle, FBs à 3,7, 8,1 ou 12,2 mg/kg d'aliment). L'eau et la nourriture étaient en accès libre durant toute l'expérience. A la fin de l'expérimentation, les animaux ont été anesthésiés par électroanesthésie et euthanasiés (saignée par section des veines jugulaires et des artères carotides).

### 1.2. Composition des aliments

Les aliments ont été préparés à base d'orge, de blé, de tourteau de soja et d'un complément minéral vitaminé comme précédemment décrit (Tableau 1) (Souto *et al.*, 2017). Des céréales non contaminées ont servi à la fabrication de tous les régimes. Les mycotoxines provenant d'un laboratoire de diagnostic médical vétérinaire (Université du Missouri, Columbia, USA) ont été ajoutées à l'aliment pour obtenir les concentrations souhaitées en FBs (3,7 ; 8,1 et 12,2 mg /kg

d'aliment). Les concentrations en FBs totales ont été mesurées dans les aliments par une technique de chromatographie liquide couplée à de la spectrométrie de masse par le laboratoire LABOCEA (Ploufragan, France). D'autres mycotoxines telles que le deoxynivalenol, l'ochratoxine A, les aflatoxines, les toxines T-2 et HT-2 et les alcaloïdes de l'ergot ont également été mesurés et leurs concentrations étaient en dessous du seuil de détection.

**Tableau 1** – Composition des aliments

Ingrédients	%
Blé	47,50
Tourteau de soja	24,30
Orge	22,90
Phosphate de calcium	1,12
Carbonate de calcium	1,00
Complément minéral vitaminé	0,50
Huile végétale	1,40
Chlorure de sodium	0,40
Phytase	0,01
Lysine	0,465
Méthionine	0,165
Thréonine	0,195
Tryptophane	0,045
Composition	/kg
Amidon (g)	476,8
Protéines (g)	218,3
Cellulose brute (g)	37,5
Ca (g)	10,5
P (g)	6,5
K (g)	8,7
Energie brute (MJ)	15,6

### 1.3. Biochimie sanguine

Au 14<sup>ème</sup> et 28<sup>ème</sup> jours de l'expérimentation, du sang a été prélevé sur la veine jugulaire externe de tous les animaux pour collecter du plasma et effectuer une analyse biochimique. Les concentrations plasmatiques de marqueurs des fonctions rénale (créatinine, urée,) et hépatique (triglycérides) ont été déterminées sur la plateforme GenoToul-Anexplo (Toulouse, France). Le ratio des bases sphinganine et sphingosine (Sa/So) a été mesuré dans le plasma comme précédemment décrit (Loiseau *et al.*, 2015).

### 1.4. Analyse histopathologique

A l'issue de l'expérimentation les animaux ont été autopsiés. Dans un premier temps, le cœur, le poumon, le jéjunum, le colon, les organes lymphoïdes, le foie et le rein ont été prélevés et pesés. Ensuite, des échantillons tissulaires ont été fixés dans du formol tamponné à 10% (Sigma, Saint-Quentin Fallavier, France) puis déshydratés dans des bains d'alcool et moulés dans la paraffine. Des lames de 5 µm ont été colorées à l'hématoxyline-éosine pour une analyse histo-pathologique.

Un score lésionnel a été établi pour comparer les modifications histologiques. L'étendue et la sévérité de chaque lésion est prise en compte dans le score. Le score prend en compte le degré de gravité (facteur de sévérité) et l'étendue de chaque lésion (intensité notée de 0 à 3). Pour chaque lésion de chaque organe, un score est calculé en multipliant l'intensité par le facteur de sévérité. Le score total maximum est obtenu en multipliant l'intensité maximum des lésions par la sévérité de chaque lésion et pour chaque critère par organe (Tableau 2).

**Tableau 2** – Etablissement du score lésionnel pour l'analyse histologique

Tissu	Cœur	Intestin	Rein	Organes lymphoïdes	Foie	Poumon
Critère (facteur de sévérité)	Œdème (2) Hémorragie (2) Congestion (1) Infiltrat inflammatoire (2) Hypertrophie cardiaque (1) Dégénération cardiaque (2) Nécrose (3)	Atrophie villositaire (2) Fusion villositaire (2) Dilatation lymphatique (1) Œdème (2) Aplatissement entérocyte (2) Vacuolisation cytoplasmique (1) Nécrose (3)	Congestion (1) Infiltrat inflammatoire (2) Débris cellulaire (1) Vacuolisation cytoplasmique (1) Vacuolisation nucléaire (1) Nécrose (3)	Hyperplasie lymphoïde (1) Déplétion lymphoïde (1) Histiocytose (2) Infiltrat inflammatoire (2) Apoptose (1) Mitose (1) Nécrose (3)	Désorganisation trabéculaire (1) Infiltrat inflammatoire (1) Vacuolisation cytoplasmique (1) Vacuolisation nucléaire (1) Mégaloctose (2) Apoptose (2) Nécrose (3)	Œdème (2) Infiltrat inflammatoire (2) Hémorragie (2) Congestion (1)
Score total maximum	39	39	27	36	33	21

(1)-(3) correspond à l'intensité de chaque lésion ; le score total maximum est obtenu en multipliant l'intensité maximum des lésions par la sévérité de chaque lésion et pour chaque critère par organe.

### 1.5. Analyses statistiques

L'effet du traitement sur les animaux a été analysé sur les données histologiques et biochimiques obtenues sur six animaux par groupe ont été analysées par ANOVA suivi d'un test de Tukey. Le logiciel GraphPad Prism a été utilisé pour analyser les données (logiciel GraphPad, San Diego, USA). Les effets du modèle statistique étaient considérés significatifs à  $P < 0,05$ .

## 2. RESULTATS

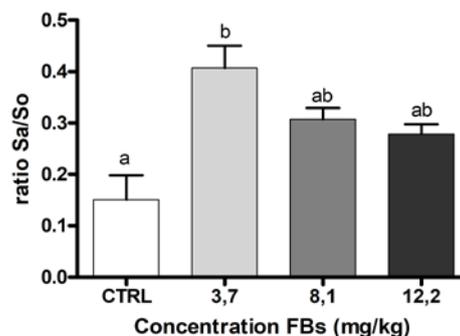
### 2.1. Effets des FBs sur les performances des animaux

La présence de FBs à des doses croissantes dans l'alimentation n'a eu aucun effet sur la croissance des animaux avec une prise de poids progressive au cours du temps et indépendamment de l'exposition aux différentes concentrations de FBs dans l'aliment ni sur le poids des organes à l'abattage.

### 2.2. Effets des FBs sur les paramètres biochimiques sanguins

L'analyse biochimique du plasma a révélé que l'exposition à la plus faible dose de FBs entraînait une augmentation du ratio

Sa/So ( $P < 0,01$ ) alors que l'exposition à de plus fortes doses de FBs n'augmentait pas ce ratio (Figure 1).



**Figure 1** – Effet des FBs sur le ratio plasmatique des bases sphingolipidiques sphinganine (Sa) et sphingosine (So)

L'exposition à la plus forte dose de FBs a augmenté la concentration plasmatique de triglycérides au 14<sup>ème</sup> jour d'expérimentation (Tableau 3,  $P < 0,05$ ) et la concentration plasmatique d'urée au 28<sup>ème</sup> jour (Tableau 3,  $P < 0,05$ ). Une légère augmentation non significative de la créatininémie a été également observée chez les animaux exposés à 12,2 mg de FBs/kg d'aliment (Tableau 3,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 3** – Effet des FBs sur les paramètres biochimiques

	Jour	Régime alimentaire (FBs, mg/kg aliment)				P-value <sup>1</sup>
		0	3,7	8,1	12,2	
Triglycérides (mmol/L)	0	0,4	0,33	0,42	0,43	NS
	14	0,4	0,39	0,41	0,62	*
	28	0,45	0,33	0,4	0,48	NS
Créatinine (μmol/L)	0	82,3	73,4	78,2	81,1	NS
	14	79,4	78,1	82,2	86,3	NS
	28	82,7	71,7	84,4	100,5	NS
Urée (mmol/L)	0	1,55	1,33	1,41	1,73	NS
	14	3,19	3,03	2,4	2,85	NS
	28	2,64	2,39	2,49	3,95	*

<sup>1</sup>NS :  $P > 0,05$  ; \*  $P < 0,05$

### 2.3. Effets de FBs sur la morphologie tissulaire

#### 2.3.1. Cœur

Des lésions cardiaques ont été décrites chez les animaux exposés à 3,7 mg FBs/kg d'aliment : hémorragie, infiltrat inflammatoire lymphocytaire (Figure 2). Une augmentation du score lésionnel de cet organe a également été observée dès l'exposition à la plus faible dose de FBs (Figure 3,  $P < 0,05$ ).

#### 2.3.2. Intestin

Trois segments de l'intestin ont été analysés : le jéjunum avec et sans plaques de Peyer et le côlon. Dans les deux segments de jéjunum, une augmentation dose-dépendante ( $P < 0,05$ ) du score lésionnel a été observée (Figure 3). Ceci était associé à un aplatissement des entérocytes et une nécrose apicale des villosités (Figure 2). Dans le côlon, seule la plus forte dose de FBs a provoqué ces changements morphologiques (Figure 3,  $P < 0,05$ ).

#### 2.3.3. Rein

Des effets délétères ont été observés dans le rein lors de l'exposition à FBs, notamment des altérations des cellules épithéliales tubulaires telles qu'une inflammation, une vacuolisation nucléaire et cytoplasmique des cellules

épithéliales (Figure 2). Une augmentation du score lésionnel du rein en fonction de la concentration de FBs a également été observée (Figure 3,  $P < 0,05$ ).

#### 2.3.4. Foie

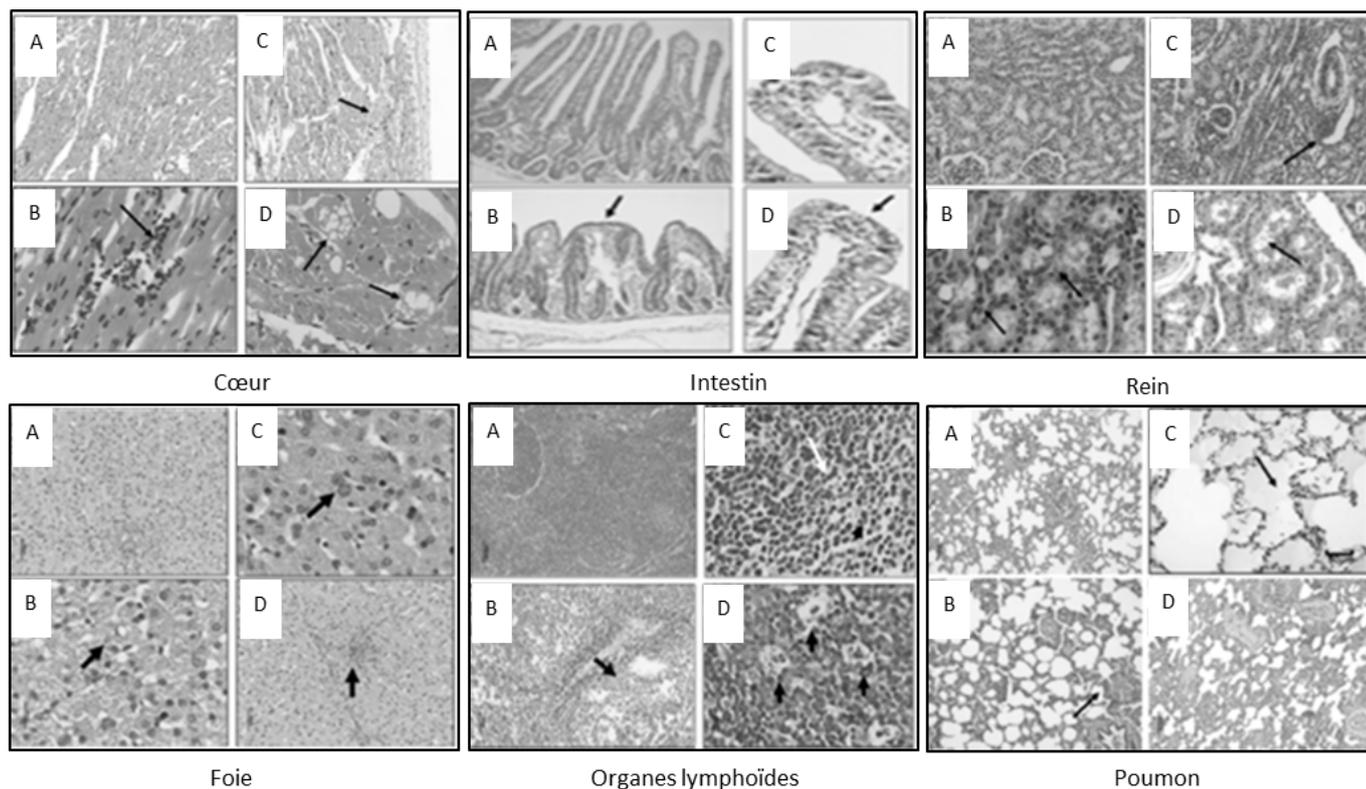
Les principales modifications histologiques observées dans le foie chez les animaux recevant la plus forte dose de FBs étaient une mégalocytose et une vacuolisation nucléaire et cytoplasmique des hépatocytes (Figure 2). Ces modifications morphologiques s'accompagnaient d'une augmentation du score lésionnel (Figure 3,  $P < 0,05$ ).

#### 2.3.5. Organes lymphoïdes

Une exposition à 12 mg FBs/kg d'aliment a entraîné une augmentation du score lésionnel (Figure 3,  $P < 0,05$ ) dans les organes lymphoïdes (rate et ganglions mésentériques) avec la présence de corps apoptotiques lymphocytaires et une déplétion folliculaire (Figure 2).

#### 2.3.6. Poumon

Dans le poumon, la présence d'un œdème pulmonaire et de lésions hémorragiques (Figure 2) ont été décrites chez les animaux exposés à la plus forte dose de FBs (Figure 3,  $P < 0,05$ ).



**Figure 2 – Aspects histologiques des organes**

Condition contrôle (A), après exposition à 3,7 mg/kg d'aliment (B), 8,1 mg/kg d'aliment (C) et 12,2 mg/kg d'aliment (D).

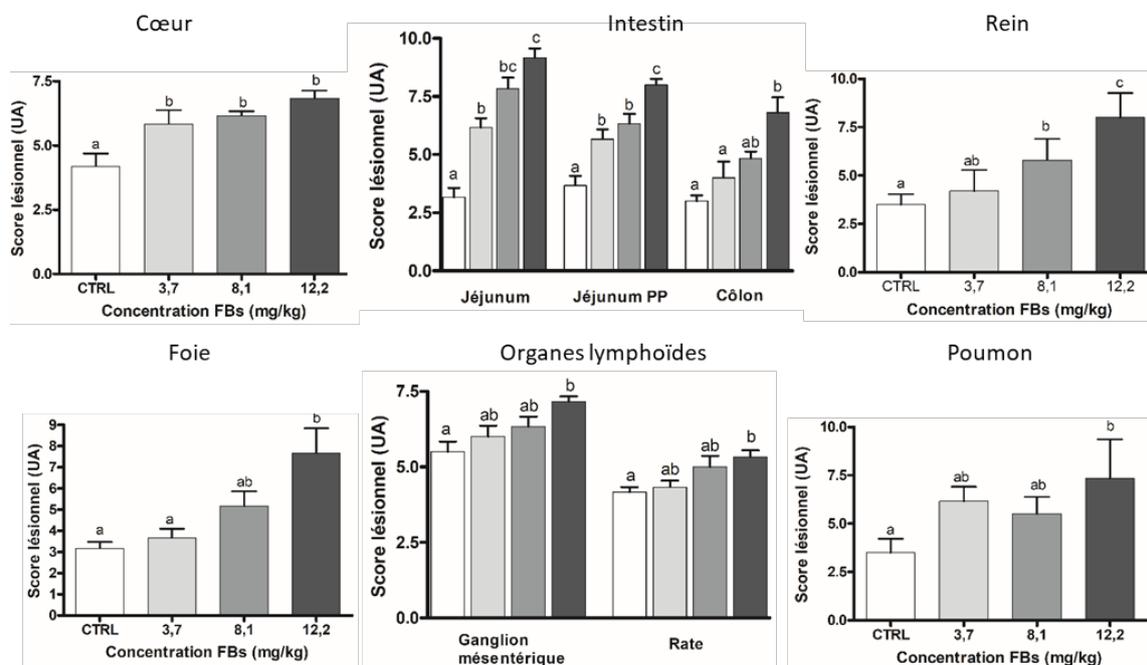


Figure 3 – Score lésionnel après exposition des animaux aux FBs

### 3. DISCUSSION

Le but de notre étude était d'exposer des porcelets pendant 28 jours à des doses de FBs (3,7, 8,1 et 12,2 mg/kg d'aliment) proches des recommandations (5 mg/kg d'aliment). L'exposition quotidienne des animaux à ces doses de FBs n'a engendré aucun effet sur la consommation et la prise de poids. Nos résultats sont concordants avec la littérature qui décrit une altération des performances pour une exposition à des doses supérieures à 100 mg de FB1/kg d'aliment pendant 4 à 8 semaines (Knutsen *et al.*, 2018). En revanche, nos résultats montrent une augmentation du ratio Sa/So à la plus faible dose d'exposition. Le dosage des bases sphingoides est un marqueur sensible à la toxicité aux FBs (Riley *et al.*, 1993). L'inhibition des céramides diminue la concentration plasmatique de triglycérides et la lipogenèse hépatique (Park *et al.*, 2014 ; Raichur *et al.*, 2014) et déstabilise la conformation des vésicules lipidiques. De plus, une exposition à une plus forte dose de FB1 est connue pour inhiber l'expression de gènes impliqués dans la lipogenèse *de novo* dans le foie (Burger *et al.*, 2018). Nos résultats sur l'élévation du ratio plasmatique Sa/So à la plus faible dose pourraient s'expliquer par le fait qu'à plus forte dose de FBs la composition lipidique des lipoprotéines plasmatiques est d'avantage perturbée. En effet, les bases sphingoides participent à la stabilité sphérique des vésicules lipidiques (Loiseau *et al.*, 2013). Nous pouvons donc supposer que la lipogenèse *de novo* est fortement perturbée après une exposition à une forte dose de FBs et qu'en revanche les lipoprotéines sont plus riches en sphinganine après une exposition à faible dose de FBs quand la lipogenèse *de novo* n'est pas encore perturbée. De plus, l'augmentation transitoire des triglycérides plasmatiques à forte concentration de FBs après 14 jours d'exposition peut s'expliquer par l'induction de lipolyse durant les étapes précoces de l'inhibition de la lipogenèse hépatique.

La toxicité des FBs chez le porc se traduit également par des altérations tissulaires, notamment du poumon et du cœur (Voss et Riley, 2013). Dans notre étude, seuls les animaux exposés à 12,2 mg FBs/kg d'aliment présentent un œdème

pulmonaire avec une augmentation du score lésionnel. Cela provient en partie d'une accumulation de sphingosine dans le cœur entraînant une réduction du relargage de calcium et une réduction de la contractilité cardiaque et par conséquent une insuffisance cardiaque et une chute de la pression artérielle, pour une exposition à des doses plus élevées de FB1 telles que 100-200 mg de FB1/kg d'aliment durant 93 jours (Casteel *et al.*, 1993 ; Prelusky *et al.*, 1996). En revanche, des altérations morphologiques sont observées au niveau cardiaque telles que la présence d'hémorragie et d'infiltrat lymphocytaire dès la plus faible dose. Les niveaux des marqueurs fonctionnels pour le foie et le rein sont également des bons indicateurs de la toxicité des FBs chez les animaux (Haschek *et al.*, 2001). Dans notre étude, nous avons combiné les dosages plasmatiques et l'histologie. Nous avons observé chez les animaux exposés à 12,2 mg FBs/kg d'aliment une augmentation de la concentration plasmatique de triglycérides et une augmentation du score dans le foie. En revanche pour le rein, l'augmentation de la concentration plasmatique de l'urée apparaît à 12,2 mg FBs/kg d'aliment alors que les altérations tissulaires apparaissent à une dose plus faible (8,1 mg/kg d'aliment). L'augmentation de l'urée plasmatique est corrélée avec une augmentation de la production de sphingosine-1-phosphate après une exposition à la FB1 (Schertz *et al.*, 2018). Cependant, très peu de données sont disponibles sur les biomarqueurs rénaux en rapport avec l'exposition à la FB1. En revanche, une augmentation de la concentration plasmatique de créatinine a été mise en évidence dans deux études sur des porcelets âgés de 5 semaines exposés à 6 mg FBs/kg d'aliment (Grenier *et al.*, 2011) et sur des porcelets âgés de 4 semaines et exposés à 8 mg FBs/kg d'aliment (Marin *et al.*, 2006). L'étude de l'intestin est également importante car cet organe est exposé aux plus fortes doses après ingestion (Bracarense *et al.*, 2012 ; Grenier *et al.*, 2011). L'analyse histologique de l'intestin grêle révèle des altérations tissulaires telles que la présence de cellules nécrosées et un aplatissement des villosités à de faibles doses alors que ces altérations apparaissent à de plus fortes doses chez le colon, probablement due à sa localisation distale. Des modifications morphologiques de l'intestin grêle ont déjà été rapportées chez des animaux exposés à différentes doses de

FBs. Par exemple, une étude a mis en évidence la présence de lésions intestinales légères à modérées associées à une augmentation du score lésionnel chez des animaux nourris avec un aliment contaminé à 5,9 mg FBs/kg d'aliment (Pinton *et al.*, 2012). Des résultats similaires ont été obtenus chez des animaux recevant par gavage 2 mg de FBs/kg de poids corporel/jour (Grenier *et al.*, 2012).

## CONCLUSION

Notre étude montre qu'une contamination à des doses inférieures aux recommandations (5 mg de FBs/kg d'aliment)

engendre des effets délétères sur le cœur et l'intestin grêle des porcs. Cela suggère que la réglementation en vigueur ne protège pas suffisamment les animaux. Récemment, une dose maximale sans effet néfaste observable de 1 mg de FB1/kg d'aliment a été identifiée par l'EFSA pour le porc (Knutsen *et al.*, 2018).

Il serait donc intéressant de répéter notre expérimentation avec des doses plus faibles pour déterminer sur la base des critères histologiques une dose maximale sans effet néfaste observable ; et de vérifier ainsi si les nouvelles limites proposées par l'EFSA sont assez protectrices pour les porcs.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- IARC, 1993. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans No. 56.
- Bouhet S., Hourcade E., Loiseau N., Fikry A., Martinez S., Roselli M., Galtier P., Mengheri E., Oswald I.P., 2004. The mycotoxin fumonisin B1 alters the proliferation and the barrier function of porcine intestinal epithelial cells. *Toxicol. Sci.*, 77, 165-171.
- Bracarense A.-P.F.L., Lucio J., Grenier B., Pacheco G.D., Moll W.-D., Schatzmayer G., Oswald I.P., 2012. Chronic ingestion of deoxynivalenol and fumonisin, alone or in interaction, induces morphological and immunological changes in the intestine of piglets. *Br. J. Nutr.*, 107, 1776-1786.
- Burel C., Tanguy M., Guerre P., Boilletot E., Cariolet R., Queguiner M., Postollec G., Pinton P., Salvat G., Oswald I.P., Fravallo P., 2013. Effect of low dose of fumonisins on pig health: immune status, intestinal microbiota and sensitivity to *Salmonella*. *Toxins (Basel)*, 5, 841-864.
- Burger H.-M., Abel S., Gelderblom W.C.A., 2018. Modulation of key lipid raft constituents in primary rat hepatocytes by fumonisin B1 - Implications for cancer promotion in the liver. *Food Chem. Toxicol.*, 115, 34-41.
- Casteel S.W., Turk J.R., Cowart R.P., Rottinghaus G.E., 1993. Chronic toxicity of fumonisin in weanling pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5, 413-417.
- EFSA, 2018. Risks for animal health related to the presence of fumonisins, their modified forms and hidden forms in feed. *EFSA J.*, 16, 5242.
- Grenier B., Bracarense A.-P.F.L., Lucio J., Cossalter A., Moll W., Schatzmayr G., Oswald I.P., 2011. Individual and combined effects of subclinical doses of deoxynivalenol and fumonisins in piglets. *Mol. Nutr. Food Res.*, 55, 761-771.
- Grenier B., Bracarense A.-P.F.L., Schwartz H., Trumel C., Cossalter A., Schatzmayr G., Kolf-Clauw M., Moll W., Oswald I.P., 2012. The low intestinal and hepatic toxicity of hydrolyzed fumonisin B<sub>1</sub> correlates with its inability to alter the metabolism of sphingolipids. *Biochem. Pharmacol.*, 83, 1465-1473.
- Haschek W.M., Gumprecht L.A., Smith G., Tumbleson M.E., Constable P.D., 2001. Fumonisin toxicosis in swine: an overview of porcine pulmonary edema and current perspectives. *Environ. Health Perspect.*, 109 Suppl 2, 251-257.
- Loiseau N., Debrauwer L., Bouhet S., Miller J., Martin P., Viadere J., Pinton P., Puel O., Pineau T., Tulliez J., Galtier P., Oswald I.P., 2007. Fumonisin B1 exposure and its selective effect on porcine jejunal segment: sphingolipids, glycolipids and trans-epithelial passage disturbance. *Biochem Pharmacol.*, 74, 144-152.
- Loiseau N., Obata Y., Moradian S., Sano H., Yoshino S., Aburai K., Takayama K., Sakamoto K., Holleran W.M., Elias P.M., Uchida Y., 2013. Altered sphingoid base profiles predict compromised membrane structure and permeability in atopic dermatitis. *J. Dermatol. Sci.*, 72, 296-303.
- Loiseau N., Polizzi A., Dupuy A., Therville N., Rakotonirainy M., Loy J., Viadere J., Cossalter A., Bailly J., Puel O., Kolf-Clauw M., Bertrand-Michel J., Levade T., Guillou H., Oswald I.P., 2015. New insights into the organ-specific adverse effects of fumonisin B1: comparison between lung and liver. *Arch Toxicol.*, 89, 1619-1629.
- Marin D.E., Taranu I., Pascale F., Lionide A., Burlacu R., Bailly J., 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.
- Masching S., Naehrer K., Schwartz-Zimmermann H.-E., Sarandans M., Schaumberger S., Dohnal I., Nagl V., Schatzmayr D., 2016. Gastrointestinal degradation of fumonisin B(1) by carboxylesterase FumD prevents fumonisin induced alteration of sphingolipid metabolism in turkey and swine. *Toxins (Basel)*, 8, pii: E84.
- Park W.-J., Park J.-W., Merrill A.H., Storch J., Pewzner-Jung Y., Futerman A.H., 2014. Hepatic fatty acid uptake is regulated by the sphingolipid acyl chain length. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids*, 1841, 1754-1766.
- Pinton P., Tsybulky D., Lucio J., Laffitte J., Lyazhri F., Grosjean F., Bracarense A., 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.
- Prelusky D.B., Trenholm H.L., Rotter B.A., Miller J.D., Savard M.E., Yeung J.M., Scott P.M., 1996. Biological fate of fumonisin B1 in food-producing animals. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 392, 265-278.
- Raichur S., Wang S.T., Chan P.W., Li Y., Ching J., Chaurasia B., Dogra S., Ohman M.K., Takeda K., Sugii S., Pewzner-Jung Y., Futerman A.H., Summers S.A., 2014. CerS2 haploinsufficiency inhibits  $\beta$ -oxidation and confers susceptibility to diet-induced steatohepatitis and insulin resistance. *Cell Metab.*, 20, 687-695.
- Riley R.T., An N.H., Showker J.L., Yoo H.S., Norred W.P., Chamberlain W.J., Wang E., Merrill, A.H., Motelin G., Beasley V.R., 1993. Alteration of tissue and serum Sphinganine to Sphingosine ratio: an early biomarker of exposure to fumonisin-containing feeds in pigs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 118, 105-112.
- Schertz H., Dänicke S., Frahm J., Schatzmayr D., Dohnal I., Bichl G., Schwartz-Zimmermann H.E., Colicchia S., Breves G., Teifke J.P., Klues J., 2018. Biomarker evaluation and toxic effects of an acute oral and systemic fumonisin exposure of pigs with a special focus on dietary fumonisin esterase supplementation. *Toxins (Basel)*, 10, pii: E296.
- Souto P.C.M., Jager A.V., Tonin F.G., Petta T., Di Gregorio M.C., Cossalter A.M., Pinton P., Oswald I.P., Rottinghaus G.E., Oliveira C.A.F., 2017. Determination of fumonisin B1 levels in body fluids and hair from piglets fed fumonisin B1-contaminated diets. *Food Chem. Toxicol.*, 108, 1-9.
- Voss K.A., Riley R.T., 2013. Fumonisin toxicity and mechanism of action: overview and current perspectives. *Food Safety*, 1, 49-69.
- Wang E., Norred W.P., Bacon C.W., Riley R.T., Merrill Jr. A.H., 1991. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins. Implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. *J. Biol. Chem.*, 266, 14486-14490.