

commission du codex alimentarius



ORGANISATION DES NATIONS
UNIES POUR L'ALIMENTATION
ET L'AGRICULTURE

ORGANISATION
MONDIALE
DE LA SANTÉ



F

BUREAU CONJOINT: Viale delle Terme di Caracalla 00153 ROME Tél: +39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Point 13(b) de l'ordre du jour

CX/CF 08/2/15
Janvier 2008

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES COMITÉ DU CODEX SUR LES CONTAMINANTS DANS LES ALIMENTS

Deuxième session

La Haye, Pays-Bas, 31 mars –4 avril 2008

DOCUMENT DE TRAVAIL SUR L'OCHRATOXINE A DANS LE CACAO

HISTORIQUE

1. À sa 38^e session, le Comité du Codex sur les additifs alimentaires et les contaminants (CCFAC) est convenu de préparer un document de travail sur la contamination du cacao par l'ochratoxine A (OTA). Le document de travail devait servir de base à la décision à prendre concernant le besoin possible d'élaborer un code d'usages pour la réduction et la gestion de l'incidence de l'OTA dans le cacao et a été présenté lors de la première session du Comité du Codex sur les contaminants (CCCCF) tenu à Beijing, en Chine.
2. À sa première session, le Comité est convenu qu'il était prématuré d'entreprendre l'élaboration d'un code d'usages et qu'il conviendrait d'attendre que davantage de données soient disponibles avant de prendre une décision à cet égard. Après plusieurs échanges de vues, le Comité a décidé de créer un groupe de travail électronique, sous la présidence du Ghana, chargé de mettre à jour le document de travail à l'aide de données nouvelles et de tout autre information pertinente, et en tenant compte des observations formulées à la première session, pour examen à la deuxième session du Comité. La Belgique, le Brésil, la Côte d'Ivoire, les Pays-Bas, le Nigeria, la Thaïlande, le Togo, les États-Unis d'Amérique, la Commission européenne, ECA, ICA et IFT ont participé au groupe de travail électronique et préparé le présent document de travail. La liste des participants figure en annexe.

INTRODUCTION

3. L'ochratoxine A est une mycotoxine naturellement présente dans le monde entier dans les denrées alimentaires telles que les céréales et les produits céréaliers, les légumineuses, le café, la bière, le jus de raisin, les fruits de la vigne séchés et le vin ainsi que dans les produits cacaotés, les fruits à coque et les épices⁴⁹. Dans le cacao, l'OTA est principalement associée à la coque des fèves de cacao et au cacao sec et dégraissé (cacao en poudre)^{2, 30}. Les champignons et l'OTA sont présents à tous les stades de la chaîne de production : la récolte, la fermentation, le séchage, l'entreposage, la fabrication des aliments et le transport^{18, 26}.
4. Le nom « cocoa » en anglais est une déformation du mot « cacao »⁶³. Communément, le terme anglais « cocoa » concerne les fèves disponibles dans le commerce et les produits dérivés alors que l'anglais « cacao » concerne le cacaoyer et ses différentes parties, bien que ces deux termes soient dans certains cas interchangeables.
5. Le cacao est un produit à base de fruits secs fermentés. Les fèves de cacao ne sont pas consommées telles quelles. Elles subissent une transformation industrielle avant la consommation. Le cacao est un ingrédient très important dans les produits pharmaceutiques ainsi que dans différentes sortes d'aliments, tels que les tourteaux, les biscuits, les confiseries à base de chocolat, le chocolat à tartiner, les boissons au cacao, les aliments pour enfants, les glaces ainsi que les sucreries⁵⁸.

6. Dans le procédé industriel du cacao, les premières étapes consistent à torréfier et à éliminer la coque. Pour des raisons techniques, il n'est pas possible d'éliminer totalement la coque. Il en est tenu compte dans la norme Codex (CODEX STAN 141-1983, rev. 1-2001) qui établit le niveau maximal pour la coque et les germes contenus dans le cacao en pâte et le tourteau de cacao. Le niveau maximal fixé par la norme correspond à environ 2% de coques dans les nibs (éclats de fève)³³.
7. Environ 71% de l'approvisionnement mondial de fèves de cacao provient de l'Afrique occidentale, notamment de la Côte d'Ivoire, du Ghana et du Nigeria. Le cacao est également produit en Asie et en Amérique latine (Tableau 1)³⁵. En tant que récolte produite par de petits exploitants, le cacao constitue une culture marchande non-périssable précieuse pour des milliers de paysans dans les pays producteurs de cacao, et son importance est capitale pour les économies de ces pays. Les fèves de cacao sont, en grande partie, exportées vers l'Europe et l'Amérique du Nord pour être transformées en liqueur de cacao, en beurre de cacao et en cacao en poudre.³⁵

Tableau 1. Production mondiale de fèves de cacao (2004 – 2007) (milliers de tonnes)

| Pays | 2004/05 | | 2005/06 | | 2006/07 (prévisions) | |
|---------------------------|-------------|---------------|-------------|---------------|-------------------------|---------------|
| Afrique | 2381 | 70.4% | 2644 | 71.2% | 2427 | 70.7% |
| Cameroun | 184 | | 167 | | 180 | |
| Côte d'Ivoire | 1286 | | 1408 | | 1280 | |
| Ghana | 599 | | 740 | | 660 | |
| Nigeria | 200 | | 200 | | 180 | |
| Autres | 112 | | 129 | | 127 | |
| Amérique | 443 | 13.1% | 445 | 12.0% | 429 | 12.5% |
| Brésil | 171 | | 162 | | 140 | |
| Équateur | 116 | | 114 | | 114 | |
| Autres | 156 | | 169 | | 175 | |
| Asie & Océanie | 560 | 16.5% | 627 | 16.9% | 580 | 16.9% |
| Indonésie | 460 | | 520 | | 470 | |
| Autres | 100 | | 107 | | 110 | |
| Total mondial | 3384 | 100.0% | 3716 | 100.0% | 3435 | 100.0% |

Source: ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XXXIII, No.3, Cocoa Year 2006/07.
Publié le 22 octobre 2007

Tableau 2. Consommation mondiale/mouture des fèves de cacao (milliers de tonnes)

| | 2003/04 | | 2004/05 | | 2005/06 | |
|---------------------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| Europe | 1346 | 41.6% | 1375 | 41.1% | 1462 | 42.1% |
| Allemagne | 225 | | 235 | | 302 | |
| Pays-Bas | 445 | | 460 | | 470 | |
| Autres | 676 | | 680 | | 690 | |
| Afrique | 446 | 14.4% | 493 | 14.8% | 507 | 14.6% |
| Côte d'Ivoire | 335 | | 364 | | 360 | |
| Autres | 131 | | 130 | | 147 | |
| Amérique | 852 | 26.3% | 853 | 25.5% | 856 | 24.6% |
| Brésil | 207 | | 209 | | 223 | |
| États-Unis | 410 | | 419 | | 426 | |
| Autres | 235 | | 225 | | 207 | |
| Asie & Océanie | 575 | 17.7% | 622 | 18.6% | 651 | 18.7% |
| Indonésie | 120 | | 115 | | 120 | |
| Malaisie | 203 | | 250 | | 250 | |
| Autres | 252 | | 257 | | 281 | |
| Total mondial | 3238 | | 3343 | | 3476 | |
| Origine | 1188 | 36.7% | 1254 | 37.5% | 1279 | 36.8% |

Source: ICCO Quarterly Bulletin Cocoa Statistics, Vol. XXXII, 2005/06.

8. Le cacao est cultivé le long d'une ceinture située à 20° au sud et au nord de l'équateur. La température minimale moyenne des pays producteurs de cacao est de 18°C, et la température maximale moyenne est de 32°C. Une pluviosité élevée, de l'ordre de 1000 à 4000 mm/an, est nécessaire. *Theobroma cacao* (le cacaoyer) pousse bien dans une grande variété de sols.

STRUCTURE CHIMIQUE

9. L'ochratoxine A (7-(L-b-phénylalanyle-carbonyl)-carboxyle-5-chloro-8-hydroxy-3,4-dihydro-3R-méthyl isocumarin) est un métabolite secondaire produit par plusieurs espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium*⁵⁰, qui peut être présent dans une denrée alimentaire même lorsque la moisissure visible n'est pas apparente. L'OTA est un composé cristallin sans couleur qui est soluble dans les solvants organiques polaires et une solution de bicarbonate de sodium dilué et modérément soluble dans l'eau⁵⁵.

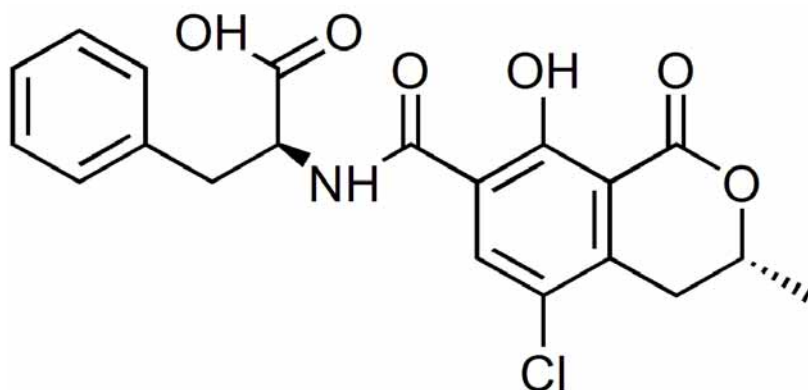


Fig.1. Structure de l'ochratoxine A

10. L'enzyme de mammifère carboxypeptidase A a la capacité de cliver l'OTA en produits non toxiques (l'ochratoxine alpha et la phénylalanine)⁵⁶.
11. L'OTA conserve sa stabilité durant la plupart des étapes de la transformation des aliments telles que la cuisson, le lavage, la fermentation à un degré notable pouvant être détecté dans les produits alimentaires manufacturés⁴. Boudra⁹ a montré que l'OTA est résistant à la chaleur et un maximum 20% de l'OTA dans le blé est décomposé par la chaleur sèche à 100°C pendant 160 minutes ou à 150°C pendant 32 minutes. Durant la torréfaction du cacao, la température finale de la fève atteint 100 à 120°C pour une durée de 15 à 70 minutes.⁴³ Par conséquent, on ne s'attend pas à ce que la torréfaction réduise de façon importante les niveaux d'OTA.

ÉVALUATION TOXICOLOGIQUE

12. L'OTA est catégorisée comme cancérigène possible pour l'homme (groupe 2B)^{19,36}. L'OTA a été signalée comme étant néphrotoxique, immunosuppresseur, cancérigène et tératogène dans les études sur les animaux^{38, 39, 48, 54, 59}. L'OTA est considérée comme étant la cause de deux maladies chroniques, la néphropathie endémique balkanique et la néphropathie intestinale chronique (en Afrique du Nord), et des tumeurs urothéliales chez les humains⁴⁸. Un lien entre l'exposition à l'OTA à un stade précoce de la vie et le cancer des testicules a été posé en hypothèse sur la base d'associations épidémiologiques⁵⁷. Des études préalables dans le cadre du programme de toxicologie nationale (NTP) aux États-Unis ont montré que l'OTA en doses élevées peut provoquer des tumeurs rénales chez les rongeurs⁸.
13. Les études préliminaires portant sur l'OTA contenue dans le sang menée en Côte d'Ivoire entre 1998 et 2004 ont montré que la contamination des denrées alimentaires par l'OTA est bien réelle⁶⁹. Les résultats ont révélé que 22 des 63 participants en bonne santé avaient des niveaux d'OTA allant de 0,01 à 5,81µg/L pour une teneur moyenne de 0,83µg/L par rapport aux 8 des 39 patients atteints de néphropathie traités par dialyse dont les niveaux étaient de 0,167 à 2,42 µg/L pour une moyenne de 1,05µg/L. La concentration de l'OTA dans le sang est en grande partie liée aux habitudes et aux régimes alimentaires de la population, qui, pour ce qui est de la Côte d'Ivoire, sont dominés par les céréales et les arachides plutôt que par les produits cacaotés.

14. Le groupe scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA) a adopté un avis scientifique sur l'ochratoxine A dans les aliments le 4 avril 2006⁴⁹. Cet avis tient compte des résultats de l'étude récente sur la toxicologie de l'ochratoxine A⁴⁴. Cet avis indique que la toxicité localisée rénale ainsi que la détérioration de l'ADN et les effets génotoxiques de l'OTA, mesurés au cours de diverses études in vivo et in vitro, sont très probablement imputables à la détérioration oxydative cellulaire. Par conséquent, sur la base des plus petites doses induisant un effet néfaste (LOAEL) de 8 µg/kg poids corporel/jour pour les marqueurs précoces de toxicité rénale chez les porcs, et en appliquant un facteur d'incertitude composite de 450 afin de tenir compte à la fois des incertitudes d'extrapolation des résultats expérimentaux de l'animal à l'homme et la variabilité inter-espèces, on obtient une dose journalière tolérable de 120 ng/kg de poids corporel pour l'OTA. Les limites actuelles d'exposition à l'OTA dans les États membres de l'Union européenne varient entre 15 et 60 ng/kg de poids corporel/semaine⁴⁴. Le groupe de l'AESA a également recommandé que des données plus spécifiques sur l'exposition soient recueillies pour certains groupes vulnérables, dont les nourrissons et les enfants et ceux qui consomment de grandes quantités de certaines spécialités régionales contenant l'OTA.⁴⁹
15. À sa 68^e réunion en juin 2007, le JECFA a examiné la dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP) en vigueur de 100 ng/kg de poids corporel à la lumière des nouvelles données et a conclu qu'il n'y avait aucune raison de modifier cette dose.⁶⁸

ÉCHANTILLONNAGE

16. La variabilité dans la production d'OTA, associée à la grande taille des particules de certains des aliments contaminés, compliquent les stratégies d'échantillonnage pour la détection des ochratoxines¹⁵. Un petit nombre de fèves hautement contaminées peut porter la teneur de toute une cargaison au-dessus de la limite autorisée, si cette limite est basse. Par ailleurs, les nombreux plans d'échantillonnages ne sont pas conçus pour déceler ces quelques fèves hautement contaminées¹⁵. Par conséquent, le développement de méthodes peu coûteuses faisant appel à des technologies rudimentaires axées sur la surveillance des myxocotines est un impératif sanitaire d'ordre mondial⁴⁷.
17. Les données récentes publiées par Spanjer et ses collègues⁷⁰ ont montré que le processus d'homogénéisation des échantillons est un facteur important de la détermination de l'OTA dans les diverses matrices alimentaires. Les données indiquent que selon le type de procédé de mouture utilisé, qui affecte en définitive la répartition de la taille des particules, les quantités d'OTA décelées varient. L'importance de cette conclusion réside dans le fait que le résultat erroné de l'analyse d'un sous-échantillon peut entraîner à tort le rejet ou l'acceptation des lots.
18. Les méthodes d'échantillonnage et les critères de performance des méthodes d'analyse devant être utilisées au sein de la Communauté européenne pour le contrôle officiel des niveaux d'OTA contenu dans les denrées alimentaires ont été établis par le règlement de la Commission 401/2006²⁰. Comme il n'existe pas de niveau maximal de l'Union européenne pour l'OTA contenue dans le cacao, aucune procédure d'échantillonnage pour le contrôle de l'OTA dans le cacao n'a été établie dans le cadre de l'Union européenne.

MÉTHODES ANALYTIQUES

19. Afin de détecter l'occurrence de l'OTA dans les produits cacaotés, une méthode analytique rapide, efficace et sensible est nécessaire. Les produits cacaotés sont des matrices alimentaires assez différentes des fruits frais, des céréales, du café ou du vin et l'optimisation de l'étape d'extraction demande une étude spécifique¹⁷. Récemment, un test rapide sur la base d'anticorps utilisant le nettoyage séquentiel et la détection visuelle de l'OTA dans la poudre de cacao a été présenté⁷¹. Le dépistage correspond au niveau critique de 2 µg/kg et peut être pratiqué en plein champ.

20. La méthode validée de quantification de l'OTA est le protocole de chromatographie liquide à haute performance (CLHP) en phase inversée avec nettoyage en colonne d'immunoaffinité contenant des anticorps spécifiques à l'OTA et quantifiés par la détection par fluorescence¹¹. Une étude interlaboratoire visant à évaluer la performance de 18 laboratoires en matière de détermination de l'OTA dans les échantillons de poudre de cacao a été présentée. L'étude a conclu que les résultats étaient satisfaisants: par exemple, pour la détection du niveau faible (0,19µg/kg), du niveau moyen (0,45µg/kg), et du niveau élevé de contamination (1,45µg/kg), les résultats ont été respectivement satisfaisants dans 10, 11 et 12 des 18 laboratoires participants.
21. Afin de détecter la présence de l'OTA dans un grand nombre d'échantillons, des méthodes rapides, peu coûteuses et faciles à exécuter sont souhaitables, en particulier dans les pays à faible revenu dans lesquels la surveillance est moins accessible en raison des contraintes économiques et technologiques⁴⁷.

OCCURRENCE DE L'OTA ET DES MOISSURES PRODUCTRICES DE L'OTA DANS LES FÈVES DE CACAO

22. Dans le cadre d'un projet continu⁶⁴ en Côte d'Ivoire, on a évalué la contamination par l'OTA du cacao acheminé aux ports d'Abidjan et de San Pedro. Sur les 147 échantillons analysés à Abidjan, 23 contenaient des teneurs en OTA >2,0 µg/kg, et à San Pedro, 10 des 151 échantillons avaient des teneurs en OTA >2,0µg/kg. Sur la base de ces observations dans les deux ports, on a estimé que le cacao de qualité commerciale dont la teneur en OTA est > 2.0 µg/kg constitue 11% de la production totale de cacao en Côte d'Ivoire.
23. En 2006, l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire belge a analysé 13 échantillons de fèves de cacao. 8 d'entre eux avaient des teneurs en OTA inférieures à la limite de quantification de 0,3µg/kg, et 5 contenaient des teneurs en OTA de 0,4, 0,72, 0,99, 1,7 et 7.7µg/kg.⁶⁵
24. Amezqueta² a détecté de l'OTA dans 46 échantillons de fèves de cacao d'origines et de lots différents. Un total de 63% des échantillons de fèves de cacao avaient une contamination de teneur supérieure à la limite de détection (LOD) (0,04 ug/kg). La moyenne et la médiane obtenues pour les fèves de cacao étaient respectivement de 1,71 et 1,12 ug/kg dans une fourchette allant de 0,04 à 14,8 ug/kg.
25. Le dépistage dans les fèves de cacao nigérian prêt à la vente indique que sur les 59 échantillons analysés, 54 étaient positifs à l'OTA, dans des concentrations allant de 1,0 à 277,5µg/kg⁷². La détection avait été effectuée à l'aide de la méthode ELISA de détection compétitive indirecte, bien moins sensible que la CLHP.
26. Depuis 1999, l'industrie européenne a analysé des échantillons de fèves de cacao importé d'origines différentes. Les résultats ont montré qu'il y a des fèves de cacao contaminées par l'OTA dans toutes les régions productrices de cacao. Par ailleurs, on a trouvé que les teneurs variaient entre les régions, au sein même des régions et selon les années²⁹.
27. Plusieurs tentatives ont été faites d'isoler et identifier les moisissures productrices de l'ochratoxine A dans les fèves de cacao. Parmi les 66 souches d'*Aspergillus* isolées pendant la fermentation et le séchage des fèves de cacao au Ghana, aucune d'entre elles n'a produit de l'OTA. On a procédé au dépistage de la production de l'OTA dans un total de 13 souches d'*Aspergillus* provenant de Côte d'Ivoire, 16 du Nigeria et 86 du Ghana et on a seulement trouvé deux *Aspergilli* ochratoxigéniques¹⁸.
28. Dans une étude brésilienne, on a recherché la présence des moisissures ayant la capacité de produire l'OTA dans 21 échantillons de produits du cacao (fèves de cacao, nibs, coques et cacao en poudre). Sur les 123 isolats toxigéniques *Aspergillus* obtenus à partir de 42,9% des échantillons de cacao, 18,2% des *A. niger*, 100% des *A. carbonarius* et 100% des *A. ochraceus* étaient producteurs de l'OTA²³.
29. L'incidence de l'OTA dans le cacao et les produits cacaotés provenant de diverses régions productrices est présentée au tableau 3.

Tableau 3. Incidence de l'OTA dans les fèves de cacao dans le monde.

| Origine | Année | Ref | Nombre d'échantillons | | | % >2 µg/kg |
|------------------------------|-----------|-----|-----------------------|------|----------|---------------|
| | | | Total | >LOQ | >2 µg/kg | |
| Abidjan | 2005 | 64 | 147 | | 23 | 16 |
| San Pedro | 2005 | 64 | 151 | | 10 | 7 |
| Fèves de cacao | | 65 | 13 | 5 | 1 | 8 |
| Côte d'Ivoire | | 2 | 33 | 24 | 5 | 15 |
| Cameroun | | 2 | 7 | 3 | 1 | 14 |
| Guinée équatoriale | | 2 | 6 | 2 | 0 | 0 |
| Côte d'Ivoire | 1999-2005 | 29 | 1014 | | 193 | 19 |
| Afrique de l'Ouest ex CdI | 1999-2005 | 29 | 347 | | 10 | 3 |
| Asie | 1999-2005 | 29 | 136 | | 2 | 1 |
| Amérique | 1999-2005 | 29 | 210 | | 1 | 0 |
| Afrique | | 7 | 21 | 16 | 1 | 5 |

EFFET DE LA TRANSFORMATION SUR LA TENEUR EN OTA CONTENUE DANS LES PRODUITS

30. On a analysé l'OTA dans 15 paires d'échantillons de coques de cacao et de nibs²⁹. Les échantillons ont subi une transformation industrielle. Les résultats ont montré qu'une moyenne de 48% (dans une fourchette de 25 à 72%) de l'OTA présente dans les fèves était éliminée avec la coque. La concentration de l'OTA dans les fèves a été évaluée à 0,3-3,0µg/kg
31. Dans une étude où les coques de cacao ont été éliminées manuellement, Amezcqueta¹ a observé une réduction de la teneur en OTA >95% dans 14 des 22 échantillons, de 65 à 95% dans 6 des 22 échantillons et de moins de 50% dans un seul des échantillons.
32. Au cours de l'analyse de 170 échantillons de produits cacaotés de provenance géographique différente, on a détecté les plus fortes teneurs en OTA dans les coques de cacao et le tourteau de cacao (0,1 à 23,1µg/kg) et seulement une faible teneur dans les autres produits cacaotés⁷.
33. Seize échantillons importants de fèves de cacao séchées, entreposées dans des conditions qui favorisent spécialement la croissance des moisissures pendant 4 mois, ont été transformés en beurre de cacao et en chocolat afin de déterminer l'effet de la transformation sur la teneur en OTA des fèves contaminées. Les coques ont été éliminées manuellement. Dans les 16 échantillons transformés, les teneurs en OTA variaient de 3,37 à 46,15µg/kg pour une moyenne de 24,0µg/kg. Les coques des fèves non torréfiées étaient les plus contaminées, pour une valeur moyenne de 91,0µg/kg. Les chocolats contenaient en moyenne 1,86µg/kg, et le beurre de cacao ne contenait pas d'OTA (voir figure 2). En moyenne, près de 70% de l'OTA a été éliminée avec la coque.

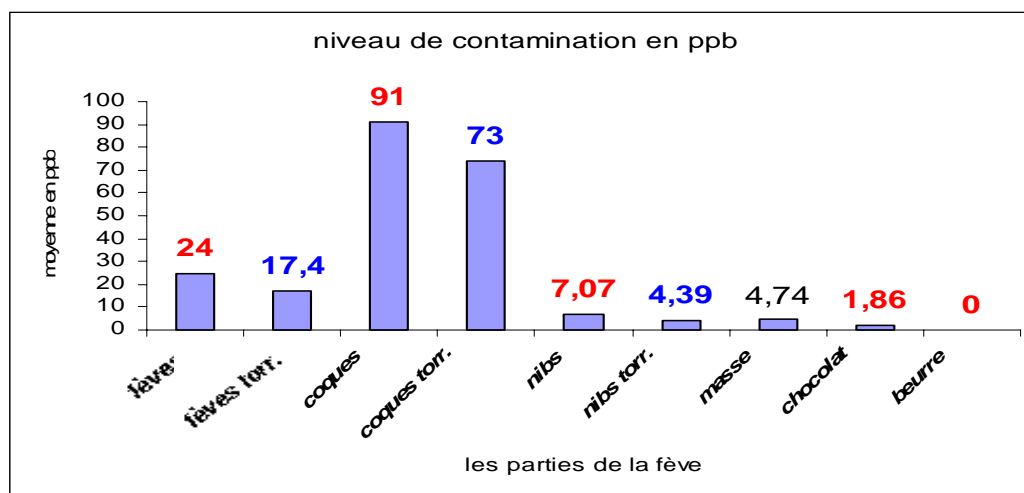


Fig. 2. Niveau moyen de contamination des différentes parties de la fève de cacao durant la transformation des fèves contaminées [Légende: *niveau de contamination en ppb* = level of contamination in ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$); *moyennes en ppb* = means in ppb; *les parties de la fève* = parts of the bean; *fèves* = beans; *fèves torr.* = roasted beans; *coques* = shells; *coques torr.* = roasted shells; *nibs* = nibs; *nibs torr.* = roasted nibs; *masse* = mass; *chocolat* = chocolate; *beurre* = butter. Données de la Côte d'Ivoire⁶⁴].

OCCURRENCE DE L'OTA DANS LES PRODUITS CACAOTÉS

34. L'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire belge a analysé en 2005 10 échantillons de cacao en poudre et 9 échantillons de chocolat pris sur le marché libre en Belgique. Les résultats ont montré que dans 5 échantillons de cacao en poudre, la teneur était inférieure à la limite de quantification (LOQ) ($0,3\mu\text{g}/\text{kg}$) et que les 5 autres échantillons contenaient les teneurs en OTA suivantes 0,60, 0,72, 0,76, 0,78, et $0,81\mu\text{g}/\text{kg}$. L'ensemble des 9 échantillons de chocolat contenaient des teneurs en OTA inférieures à la LOQ.⁶⁵
35. Dans une étude menée au Japon en 2005⁴² portant sur 41 chocolats au détail, tous les échantillons ont montré un certain niveau de contamination à l'OTA. Les teneurs dans 14 des 41 échantillons étaient inférieures à la limite de quantification ($0,10\text{ ug}/\text{kg}$), dans 7 des 41 échantillons, elles étaient inférieures à $0,20\text{ ug}/\text{kg}$ et les autres (25 sur 41) contenaient des teneurs supérieures à $0,20\text{ ug}/\text{kg}$, tous étant situés dans une fourchette $<0,10$ à $0,94\text{ ug}/\text{kg}$.
36. Dans une étude⁷ portant sur 170 échantillons de cacao et de produits cacaotés de provenance géographique différente, parmi les 136 échantillons de produits cacaotés ou de chocolat, 21 d'entre eux ne contenaient pas d'OTA, alors que les autres échantillons contenaient des teneurs en OTA allant de $0,1\mu\text{g}/\text{kg}$ à $9,0\mu\text{g}/\text{kg}$.
37. Le rapport sur les travaux de la coopération scientifique 3.2.7⁴⁴ a montré que 81,3% des produits cacaotés analysés étaient contaminés par l'OTA. Cela revient à dire que parmi les 547 échantillons de produits cacaotés analysés, 445 étaient positifs. La teneur de la contamination variait dans une fourchette allant de $0,01$ à $3,8\mu\text{g}/\text{kg}$, pour une moyenne de $0,23\mu\text{g}/\text{kg}$ ⁴⁴.
38. Tafuri⁵⁸ a analysé la présence de l'OTA dans 18 échantillons de cacao en poudre (vendu en Italie). Neuf échantillons avaient des teneurs inférieures à la limite de détection de $0,01\mu\text{g}/\text{kg}$; les neuf autres contenaient des teneurs en ochratoxine allant de $0,22$ à $0,77\mu\text{g}/\text{kg}$, avec une moyenne de $0,43\mu\text{g}/\text{kg}$. Dans la méthode analytique utilisée ici, la récupération n'est que d'environ 20%.
39. MAFF⁴¹ a présenté des données en 1997 et 1998 sur des échantillons de cacao en poudre qui indiquaient que 19 sur 20 des échantillons analysés en 1997 contenaient de l'OTA à une teneur maximale de $2,4\text{ ug}/\text{kg}$ avec une moyenne de $0,68\text{ ug}/\text{kg}$ et 20 sur 20 des échantillons analysés en 1998 faisaient ressortir une moyenne de $1,67\text{ ug}/\text{kg}$. Sur les 40 échantillons de chocolat, 30 contenaient moins de $0,6\text{ ug}/\text{kg}$.

40. CAOBISCO/ECA/FCC29 a lancé un projet de recherche en 1999 « pour indiquer de façon aussi précise que possible l'occurrence de l'OTA et les conditions favorisant la formation de l'OTA dans le cacao et les actions dont on pensait qu'elles pouvaient atténuer la formation ». L'analyse des produits cacaotés sur le marché européen, dans ce projet, confirme que seules des faibles teneurs d'OTA sont présentes dans les produits contenant du cacao tels qu'on les consomme. Les moyennes des teneurs en OTA trouvées dans les différents produits étaient les suivantes (les échantillons ont été analysés par différents laboratoires sur la base de la limite de détection (LOD) de 0,1, 0,2, ou 0,5 µg/kg): chocolat au lait (228 échantillons), 0,16µg/kg; chocolat noir (536 échantillons), 0,26µg/kg; poudre de cacao pour boisson (247 échantillons), 0,20µg/kg; cacao en poudre (1189 échantillons), 1,0µg/kg. Les moyennes ont été calculées sur la base de la limite de détection divisée par 2 pour les échantillons dont les teneurs en OTA étaient inférieures à la limite de détection.
41. Dans une étude¹⁴ similaire conduite en Espagne, 296 échantillons de différents types de chocolat et de cacao en poudre provenant de treize pays européens, d'Argentine et du Japon ont été analysés. Les résultats ont indiqué que, bien que 99,7% des échantillons aient été contaminés par l'OTA, la consommation de chocolat et de produits cacaotés dans des conditions normales n'apportait qu'une contribution mineure à la dose journalière tolérable ingérée de l'OTA.
42. Un résumé des niveaux d'OTA détectée dans les divers produits cacaotés est présentée dans le tableau 4.

Tableau 4. Teneur en OTA des divers produits cacaotés

| | Ref | Nombre d'échantillons | | | µg/kg | | | Observations |
|------------------------------------|-----|-----------------------|------|---------|-----------|---------|---------|----------------------------------|
| | | Total | >LOQ | >2µg/kg | Max | Médiane | Moyenne | |
| Cacao en pâte | 7 | 8 | 4 | 2 | 3.5 | | 1.07 | |
| Cacao en pâte, Pays-Bas | 44 | 1 | 0 | | <0.2 5 | | | |
| Nibs torréfiées | 7 | 2 | 0 | 0 | <0.1 | | | |
| Beurre de cacao | 7 | 4 | 0 | | <0.1 | | | |
| Beurre de cacao, Pays-Bas | 44 | 6 | 0 | | <0.2 5 | | | |
| Tourteau au cacao | 7 | 80 | 74 | 41 | 9 | | 2.79 | |
| Poudre de cacao | 7 | 31 | 29 | 17 | 4.4 | | 2.41 | |
| Poudre de cacao, Espagne | 14 | 21 | | | | 0.24 | | |
| Poudre de cacao, Espagne exceptée | 14 | 5 | | | | 0.17 | | |
| Poudre de cacao | 29 | 1189 | 1094 | 143 | | | 1 | |
| Poudre de cacao | 65 | 10 | 5 | | | | 0.4 | |
| Cacao en poudre | 58 | 18 | 9 | | 0.77 | | 0.43 | Faible récupération, 20% environ |
| Cacao en poudre | 41 | 20 | 19 | | 2.4 | | 0.68 | |
| Cacao en poudre | 41 | 20 | 20 | | | | 1.67 | |
| Cacao en poudre, Allemagne | 44 | 96 | 91 | | 1.8 | | 0.38 | |
| Cacao en poudre, Royaume-Uni | 44 | 40 | 39 | | 2.4 | | 1.2 | |
| Cacao en poudre, Pays-Bas | 44 | 6 | 0 | | <0.2 5 | | | |
| Boisson cacaotée en poudre | 29 | 247 | 101 | 0 | | | 0.2 | |
| Chocolat blanc, Espagne | 14 | 5 | | | | 0.03 | | |
| Chocolat blanc, Espagne exceptée | 14 | 9 | | | | 0.03 | | |
| Chocolat au lait, Espagne | 14 | 47 | | | | 0.12 | | |
| Chocolat au lait, Espagne exceptée | 14 | 122 | | | | 0.1 | | |
| Chocolat au lait | 29 | 228 | 52 | | | | 0.16 | |
| Chocolat noir, Espagne | 14 | 35 | | | | 0.25 | | |
| Chocolat noir, Espagne | 14 | 52 | | | | 0.27 | | |

| | | | | | | | | |
|------------------------------|----|-----|-----|--|-----------|--|------|-------------------------------|
| exceptée | | | | | | | | |
| Chocolat noir | 29 | 536 | 300 | | | | 0.26 | |
| Chocolat | 65 | 9 | 0 | | | | <0.3 | |
| Chocolat | 42 | 41 | 27 | | 0.94 | | | |
| Chocolat | 41 | 40 | | | | | | 30 échantillons <0.6 µg/kg |
| Chocolat, Allemagne | 44 | 352 | 297 | | 3.6 | | 0.12 | |
| Chocolat, Royaume-Uni | 44 | 40 | 18 | | 0.6 | | 0.38 | |
| Chocolat, Pays-Bas | 44 | 8 | 0 | | <0.2 5 | | | |
| Chocolat / crème au chocolat | 14 | 11 | 9 | | 1.59 | | 0.63 | |

FACTEURS AFFECTANT LA PRÉSENCE DE L'OTA DANS LE CACAO

43. Dans le cadre d'un programme continu portant sur l'OTA⁶⁴ en Côte d'Ivoire, des études ont été menées afin de déterminer les points critiques de contamination au niveau de l'exploitation. Les résultats ont montré que les fèves provenant de cabosses endommagées étaient les plus contaminées, avec des teneurs allant de 2,49 à 2,8µg/kg; par ailleurs, les cabosses à demi pourries donnaient un niveau de contamination entre 0,3 et 0,74µg/kg alors que les fèves provenant de cabosses intactes avaient une teneur en OTA allant de 0,22 à 0,37µg/kg.
44. Une seule étude importante⁶ a permis d'identifier les points de contrôle critiques de la chaîne de production du cacao qui fourniront la base de la formulation des stratégies de prévention à instituer dans le cadre de l'analyse des dangers et contrôle des points critiques (HACCP) pour minimiser l'exposition des consommateurs. L'étude a été menée par les secteurs européens de l'industrie et du commerce du chocolat et du cacao comme Caobisco, ECA et FCC entre 1999 et 2004 en Afrique de l'Ouest.
45. Des expériences menées dans les grandes exploitations agricoles de Côte d'Ivoire ont indiqué que des quantités très faibles d'OTA sont produites durant la fermentation en milieu contrôlé dans de grands contenants suivie du séchage au soleil.⁶
46. Les données provenant des petites exploitations en Côte d'Ivoire ont indiqué des niveaux élevés de l'incidence de l'OTA. Par exemple, sur 62 échantillons de fèves, 24 avaient des teneurs inférieures à 0,5µg/kg et 11 avaient des teneurs supérieures à 2µg/kg; dans un total de 168 échantillons prélevés pendant la saison cacaoyère suivante, 63 avaient des teneurs en OTA supérieures à 0,5µg/kg, 28 avaient des teneurs supérieures à 2µg/kg, 7 avaient des teneurs supérieures à 10µg/kg et 48 échantillons étaient exempts de contamination par l'OTA.⁶
47. Les données engendrées par ces études⁶ montrent aussi que les teneurs en OTA varient selon la saison cacaoyère (Fig.3) et que les teneurs dépendent aussi du type de dommage subi par les cabosses (Fig.4). Par exemple, la teneur moyenne en OTA par rapport à la condition phytosanitaire des cabosses est répartie comme suit: saines (2,3µg/kg), endommagées par les insectes (4,2µg/kg), mutilées (19,8µg/kg), pourries (7,2µg/kg) et momifiées (3,4µg/kg).

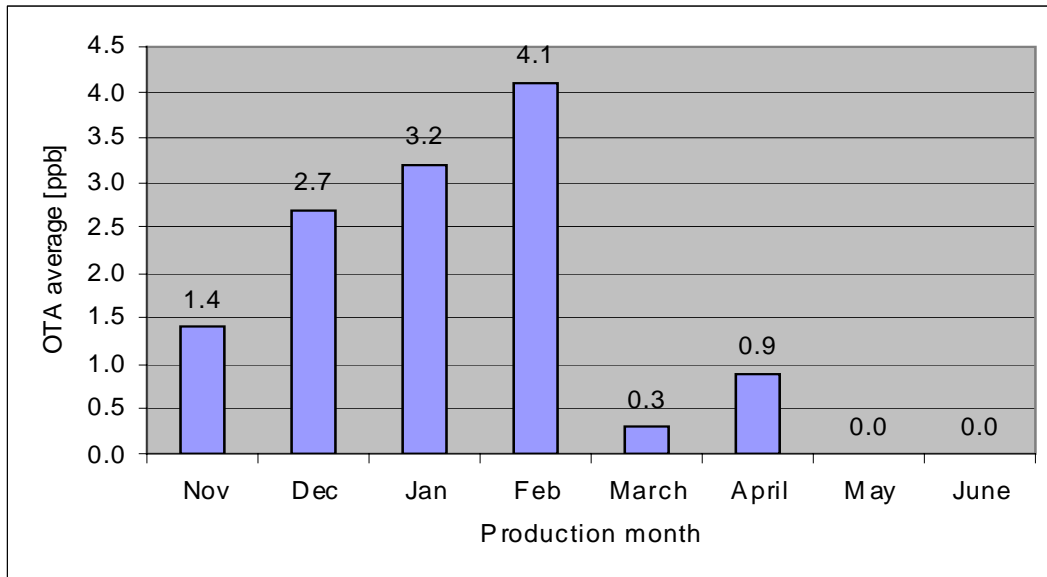


Fig. 3. Variation des teneurs en OTA en fonction du mois de récolte

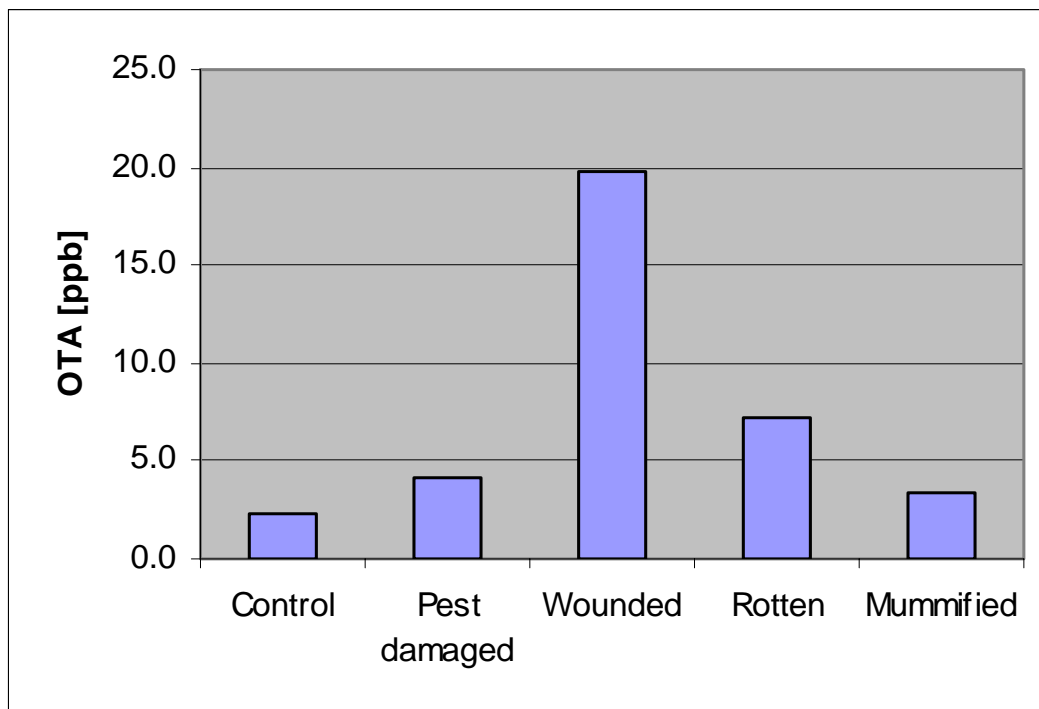


Fig. 4. Effet de la condition phytosanitaire des cabosses de cacao sur les teneurs en OTA détectées dans les fèves de cacao séchées. (Légende : control = *contrôle*; pest damaged = *endommagées par les insectes*; wounded = *mutilées*; rotten = *pourries*; mummified = *momifiées*.)

48. L'OTA est présente dans les fèves juste fermentées et les teneurs augmentent pendant le séchage.
49. À elles seules, les conditions de séchage ne sont pas responsables des teneurs en OTA, mais des interactions se produisent entre les conditions de récolte, de fermentation et de séchage.
50. Sur les 37 échantillons prélevés dans les piles de fermentation, les fèves en cours de séchage, les tapis de séchage, les feuilles de plantain et l'air, une seule productrice d'OTA *A. Niger* a été détectée. Par ailleurs, dans les échantillons de fèves de cacao testées positives à l'OTA prélevés pendant le séchage et l'entreposage, une seule productrice d'OTA, *A. carbonarius* a été détectée. Ces travaux sommaires sur la mycoflore des fèves de cacao et le milieu de l'exploitation a montré que les champignons capables de produire l'OTA étaient présents dans les échantillons de fèves et dans le milieu et le matériel agricole.¹⁸
51. Les études basées sur les publications concernant le cacao ont montré que *A. ochraceus* et les autres moisissures pouvant être extraites du cacao, par ex., *A. carbonarius*, *A. niger*, *A. tubingensis*, ont le potentiel de développer et de produire l'OTA. La production d'OTA dépend fortement des facteurs environnementaux comme la température, le pH et l'activité de l'eau du substrat. Par exemple, pour une activité de l'eau à 0,97, la biosynthèse de l'OTA est optimale. La production de l'OTA est également spécifique d'espèce. Par exemple, les producteurs modèles d'OTA, *A. niger* BFE 632 enregistrent la production la plus élevée à 30°C sur du malt-agar gélosé alors que *A. carbonarius* BFE 640 produit davantage d'OTA sur le cacao gélosé à 25°C.¹⁸ [BFE = Bundesforschungsanstalt für Ernährung, i.e. Institute for Hygiene and Toxicology – Federal Research Centre for Nutrition, Karlsruhe, Allemagne].
52. 65 isolats de bactéries d'acide lactique extraites du cacao ont été analysés à l'aide d'une méthode sélective pour évaluer leur capacité à inhiber la croissance de 12 moisissures productrices d'ochratoxine A. Les souches de *L. fermentum* et *L. plantarium* les plus analysées ont montré qu'elles inhibaient la croissance des moisissures¹⁸.

INGESTION ALIMENTAIRE

53. Le groupe scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire de l'AESA a adopté un avis scientifique concernant l'exposition alimentaire des consommateurs européens adultes à l'OTA le 4 avril 2006⁴⁹. Cet avis indique qu'à ce jour l'exposition hebdomadaire est de 15 à 60 ng d'OTA par kg de poids corporel par semaine, y compris les gros consommateurs d'aliments contenant de l'OTA. Ce taux d'exposition est inférieur à la dose hebdomadaire tolérable de 120ng/kg de poids corporel, calculée par le groupe scientifique. Cependant, comme les bases de données actuelles de l'AESA n'incluent pas les nourrissons ni les enfants, le groupe scientifique a conclu que davantage de données seraient nécessaires pour évaluer les taux d'exposition de ce segment de consommateurs, en tenant compte de leurs préférences alimentaires..
54. Le rapport de la coopération scientifique SCOOP Task 3.2.2 a présenté des données indiquant qu'une ingestion quotidienne de cacao de 31g/jour/personne correspond à une ingestion d'OTA de 21 ng/kg/semaine/personne. Ce rapport a aussi signalé que cette quantité de cacao contribue à 5% de l'ingestion totale d'OTA en comparaison avec les céréales qui contribuent à un total de 55%. Dans l'étude complémentaire effectuée par SCOOP Task 3.2.7⁴⁴, les céréales sont toujours la source principale de la contribution de l'OTA à l'ingestion totale, avec 50% contre 4% pour le cacao.
55. Pour estimer l'exposition alimentaire à l'OTA, le Département de l'alimentation et de l'hygiène environnementale (FEHD)²⁷ de Hong Kong a effectué une étude en février 2006 qui couvrait 8 groupes alimentaires majeurs y compris le chocolat et les produits cacaotés. Dans les 287 échantillons alimentaires testés positifs à l'OTA, l'exposition alimentaire à l'OTA était respectivement de 4 et de 9ng/kg de poids corporel/semaine pour le lycéen moyen et la personne dont la consommation est supérieure à la moyenne. La source alimentaire principale de l'OTA était les céréales et les produits céréaliers (61% de l'exposition totale), les chocolats contribuant pour 6% à l'exposition alimentaire totale.

SITUATION RÉGLEMENTAIRE

56. Dans l'Union européenne, le règlement de la Commission CE No. 1881/2006 du 19 décembre 2006 fixant les niveaux maximaux de certains contaminants dans les denrées alimentaires²¹, établit les niveaux maximaux pour l'ochratoxine A dans les céréales brutes, tous les produits dérivés des céréales et des fruits de la vigne séchés (raisins secs et sultanas), le café torréfié, le café soluble, le vin, le jus de raisin, les aliments de l'enfance, les aliments transformés à base de céréales pour les nourrissons et les enfants en bas âge et les aliments diététiques ou à des fins médicales spéciales destinées spécifiquement aux nourrissons. Certains des niveaux maximaux sont déjà en vigueur depuis avril 2002 et d'autres depuis avril 2005.
57. Le règlement sus-mentionné prévoit que *« l'opportunité de fixer une teneur maximale en OTA pour des denrées alimentaires telles que les fruits séchés autres que les raisins secs, pour le cacao et les produits à base de cacao, les épices, les produits à base de viande, le café vert, la bière et la réglisse sera étudiée et un réexamen des teneurs maximales en OTA existantes sera envisagé, notamment pour les raisins secs et le jus de raisin, à la lumière des récents avis scientifiques de l'AESA »*.
58. L'avis du groupe scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire de l'AESA concernant l'ochratoxine A contenue dans les aliments a été adopté le 4 avril⁴⁹. La communauté européenne examine actuellement l'opportunité de fixer un niveau maximal pour l'OTA dans les denrées alimentaires autres que celles pour lesquelles il existe déjà un niveau maximal dans l'Union européenne.
59. Le secrétariat américain aux produits alimentaires et pharmaceutiques (FDA) des États-Unis n'a pas fixé de limite consultative ni de seuil d'intervention concernant l'ochratoxine A dans aucune denrée.

PRÉVENTION ET RÉDUCTION DE L'OTA DANS LE CACAO

60. L'industrie européenne du chocolat et du cacao ainsi que les pays producteurs ont entrepris des études visant à cerner les sources de contamination et à adapter des mesures correctives.
61. Les études récentes menées par l'industrie européenne du chocolat et du cacao dans certains pays producteurs ont montré que l'OTA est présente dans les fèves de la plupart des pays producteurs et que les pratiques utilisées pendant les premières étapes de la transformation dans l'exploitation cacaoyère sont critiques. Par conséquent, les interventions devront agir au niveau de l'exploitation pour que la réduction de la contamination par l'OTA soit significative.²⁹
62. Dans une étude similaire⁶ portant sur les origines de la contamination et le développement de l'ochratoxine A dans les fèves de cacao, les résultats obtenus dans les petites exploitations en Côte d'Ivoire et au Togo laissent entendre que l'OTA est liée aux pratiques de transformation après récolte comme les cabosses défectueuses et aux conditions climatiques liées au mois de récolte. Par conséquent, il devrait être possible de réduire les teneurs en OTA en appliquant des pratiques après récolte mises en œuvre par les petits exploitants de cacao.
63. La majeure partie de l'OTA originellement présente dans les fèves de cacao se trouve dans la fraction de la coque qui est éliminée durant la transformation. Les autres étapes de la transformation, depuis les fèves de cacao jusqu'aux produits finis, n'entraînent pas l'élimination ni la destruction ou la dégradation de l'OTA. Par conséquent, le contrôle rigoureux du procédé de décorticage permettrait de réduire de façon significative les teneurs en OTA dans les produits dérivés du cacao¹. La norme Codex pour le cacao en pâte (liqueur de cacao/chocolat) et le tourteau de cacao (CODEX STAN 141-1983, rev. 1-2001)³³ fixe les niveaux maximaux pour la coque et les germes de cacao et il serait souhaitable que ces niveaux maximaux soient au moins être respectés.
64. Aucun système de gestion de la qualité n'a été mis en œuvre auparavant concernant la transformation primaire du cacao. Dahl²⁴, dans le cadre du projet Coccoqual financé par l'Union européenne, a développé un système de gestion de la qualité basé sur ISO 22000 pour la transformation primaire du cacao dans le but d'assurer une bonne qualité y compris la prévention de la formation de l'OTA.

65. La découverte d'une bactérie de l'acide lactique qui inhibe la croissance des moisissures ochratoxigéniques a des conséquences profondes sur la sécurité sanitaire des aliments en permettant de prévenir l'OTA dans le cacao. Cette découverte peut éventuellement être exploitée dans le développement futur des cultures nécessaires à la fermentation du cacao.
66. Une proposition de méthodologie visant à réduire la contamination du cacao par l'OTA en travaillant avec les exploitants de cacao a été examinée.²⁹
67. Des données récentes⁶⁶ indiquent que les composés phénoliques antioxydants, l'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide 4-hydroxybenzoïque, la catéchine, l'acide cafféique (certains d'entre eux étant présents dans les fèves de cacao), inhibent généralement la production et la prolifération de l'OTA chez plusieurs espèces *Aspergillus* ochratoxigéniques. L'effet de chacun de ces composés sur la production et la prolifération de l'OTA diffère selon les souches et est généralement variable, ce qui donne à penser que la production et la réponse aux composés phénoliques de l'OTA spécifique d'espèce subissent l'influence de différents facteurs écologiques et environnementaux. L'information concernant les réponses génétiques et physiologiques aux composés antioxydants pourrait permettre d'élaborer des stratégies d'intervention ciblée sur la réduction des pertes économiques due à la contamination par l'OTA.
68. Un insecte parasitoïde, *Prorops nasuta*, rencontré dans de nombreux pays producteurs de café a été découvert infecté par *Aspergillus westerdijkiae* productrice d'OTA, au cours d'une récente étude⁶⁷. Cette découverte ouvre la possibilité qu'un insecte parasitoïde puisse disséminer les champignons producteurs d'ochratoxine dans les plantations de café. Cette observation renforce la nécessité de mieux comprendre les interactions entre les insectes, les moisissures et les plantes ciblées. Cette découverte pourrait avoir une portée similaire pour le cacao.

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

69. Le présent document de travail sur l'OTA dans le cacao mène aux conclusions et recommandations générales suivantes pour examen à la deuxième session du CCFC:
 - (a) Les données nouvelles fournies par la Côte d'Ivoire indiquent que si les fèves de cacao ne sont pas manipulées de sorte à minimiser la colonisation des fèves de cacao par les champignons ochratoxigéniques, l'OTA se développe dans le cacao à des teneurs extrêmement élevées.
 - (b) La production de cacao représente une activité économique importante pour tous les pays producteurs de cacao en Afrique, en Asie et en Amérique latine.
 - (c) Le cacao constitue un composant mineur du régime alimentaire de l'homme et apporte une petite contribution à l'ingestion alimentaire totale d'OTA (5 % de l'ingestion totale).
 - (d) La majeure partie de l'OTA originellement présente dans les fèves de cacao se trouve dans la fraction de la coque qui n'est pas consommée. Le Codex Alimentarius a déjà fixé un niveau maximal pour la coque et les germes de cacao contenus dans le cacao en pâte et le tourteau de cacao.
 - (e) Recommandations:
 - (i) Il est nécessaire d'encourager les États membres du Codex ainsi que l'industrie de la transformation du cacao à contrôler les niveaux d'OTA contenue dans le cacao et les produits cacaotés sur une période de plusieurs années.
 - (ii) Il est nécessaire d'encourager et de poursuivre la recherche sur les méthodes de prévention et/ou de réduction de la contamination du cacao en plein champ, pendant la transformation primaire et l'entreposage du cacao. On a besoin de mieux comprendre l'interaction entre les insectes, les moisissures et le cacao dans les infections symptomatiques et asymptomatiques en plein champ. Cela comprend également des études permettant d'identifier les étapes dans la chaîne de production du cacao qui sont critiques en matière de contamination par les champignons et de production possible d'OTA ainsi que les espèces de champignons producteurs d'OTA présents là où le cacao est cultivé.

REFERENCES

1. Amezqueta, S., Gonzalez-Penas, E., Murillo, M., & Lopez de Cerfin, A (2005) Occurrence of ochratoxin A in cocoa beans: effect of shelling. *Food Additives and Contam.* 22: 590 - 595
2. Amezqueta, S., Gonzalez-Penas, E., Murillo, M., & Lopez de Cerfin, A (2004) Validation of a high performance liquid chromatography analytical method for ochratoxin A quantification in cocoa beans. *Food Additives and Contam.* 21: 1096 -1106
3. Aydin, G., Ozcelik, N., Cicek, E., Soyoz, M (2003) Histopathologic changes in liver and renal tissues by ochratoxin A and melatonin in rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 22: 383 - 391
4. Bakker, M., Pieters, M. N. (2002) Risk assessment of ochratoxin A in the Netherlands. RIVM report 388802025/2002
5. Bankole, S. A. and Adebajo, A (2003) Mycotoxins in food in West Africa: current situation and possibilities of controlling it. *African J. Biotechnol.* 2: 254 – 263
6. Bastide, P., Fourny, G., Durand, N., Petithuguenin, P., Guyot, B., Gilmour, M and Lindblom, M (2006) Identification of Ochratoxin A sources during cocoa post-harvest processing: influence of harvest quality and climatic factors. 15th Intl Cocoa Res. Conf., San Jose, Costa Rica, 9-17 October 2006
7. Bonvehi, S. J. (2004) Occurrence of ochratoxin A in cocoa products and chocolate. *J. Agric. Food Chem.* 52: 6347 - 6352
8. Boorman, G. A. (1989) Toxicology and carcinogenesis studies of ochratoxin A in F344/N rats. NTP Technical Report NTP TR 358
9. Boudra, H., Le Bars, P, and Le Bars, J. (1995) Thermostability of Ochratoxin A in wheat under two moisture conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:1156-1159
10. Brera, C., Grossi, S., De Santis, B., Miraglia, M (2003) High performance liquid chromatographic method for the determination of ochratoxin A in cocoa powder. *J. Liq. Chromatog. Related Technologies* 26: 585 - 598
11. Brera, C., Grossi, S., Miraglia, M (2005) Interlaboratory study for ochratoxin A determination in cocoa powder samples. *J. Liq. Chromatog. Related Technologies* 28: 35 - 61
12. Brera, C., Grossi, S., Debegnach, F., De Santis, B., Minardi, V., Miraglia, M (2006) Proficiency testing as a tool for implementing internal quality control: the case of ochratoxin A in cocoa powder. *Accred. Qual. Assur.* 11: 349 - 355
13. Britannia Food Ingredients Ltd (1999) Ochratoxin A in cocoa and chocolate products. Technical Communication 5 (September 1999) <http://www.britanniafood.com/english/tc05.htm>
14. Burdaspal, P. A., and Legarda, T. M. (2003). Ochratoxin A in samples of different types of chocolate and cacao powder, marketed in Spain and fifteen foreign countries. *Alimentaria* 347: 143-153
15. Campbell, B. C., Molyneux, R. J., Schatzki, T. F.(2003) Current research on reducing pre- and post-harvest aflatoxin contamination of US tree nuts. *J. Toxicol. Toxin Rev.* 22: 225 - 266
16. CAOBISCO/ECA/FCC (2003) Joint CAOBISCO/ECA/FCC updated position on ochratoxin A in cocoa and chocolate products. CAOBISCO/ECA/FCC 725: 1 -752: 1 - 6
17. CEN Standard 13505 (1999) Food analysis – biotoxins – criteria of analytical methods of mycotoxins
18. COCOQUAL (2007). Developing biochemical and molecular markers as indices for improving quality assurance in the primary processing of cocoa in West Africa. Final Report. Analysis of the mycological status of cocoa beans with emphasis on ochratoxigenic fungi. Project No.ICA4-CT-2002-10040 (EU 5th FP INCO-DEV Project) http://cordis.europa.eu/data/PROJ_FP5
19. Codex Alimentarius Commission (1998) Position paper on ochratoxin A. FAO/WHO, Rome, Italy. http://www.who.int/fsf/chemicalcontaminants/ochratoxinpp99_14.pdf
20. Commission Regulation (EC) No. 401/2006 (23 February 2006) Laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. Official Journal of the European Union L70/12
21. Commission Regulation No. 1881/2006 (19 December 2006) Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union, L 364/4-364/24.

22. CONTAM (June 2006) Mechanism of ochratoxin A induced carcinogenicity as a basis for an improved risk assessment. Ochratoxin A – Risk assessment Project No. QLK-2001-01614.
<http://www.uni.wuerzburg.de/toxikologie/EU-OTA/ochratoxinA.html>
23. Copetti, M. V., Iamanaka, B. T. and Taniwaki, M. H. (2006) Toxigenic fungi in cocoa and cocoa products. A Joint Symposium of ICFM and ICIF at the 8th International Mycological Congress, Cairns, August 19-20, 2006.
24. Dahl, M. W. (2006) Development of a management system for the primary processing of cocoa – based on quality and food safety. MSc. Thesis, The Royal Veterinary and Agricultural University, Dept of Dairy and Food Science, Frederiksberg, Denmark.
25. Engel, G. (2000) Ochratoxin A in sweets, oil seeds and dairy products. Arch. Lebensmittelhygiene 51: 98-101
26. FAO/WHO/UNEP (1999) Mycotoxin prevention and decontamination. Corn: a case study. Third Joint FAO/WHO/UNEP Intl. Conf. Mycotoxins 6b: 2 - 11
27. FEHD Report (2006) LegCo Panel (9 May 2006) LegCo Panel on Food Safety and Environmental Hygiene (Hong Kong). <http://www.legco.gov.hk/yr05-06/english/panels/fseh/paper/fe0509cb2-1905-04-e.pdf>
28. FSA Update (26 October 2006) CONTAMINANTS – October 2006 update on chemical contaminants legislation: mycotoxins. <http://www.foodlaw.rdg.ac.uk/news/eu-06107.htm>
29. Gilmour, M and Lindblom, M (2005) Management of ochratoxin A in the cocoa supply chain. MYCO-GLOBE Conference: Reducing Impact of Mycotoxins in Tropical Agriculture with Emphasis on Health and Trade in Africa. Accra, Ghana, 13 – 16 September 2005
<http://www.iita.org/mycotoxinconf/index.htm>
30. Gilmour, M and Lindblom, M (2006) Management of ochratoxin A in the cocoa supply chain. Summary of work by CAOBISCO/ECA/FCC Working Group on OTA. 15th International Cocoa Research Conference, San Jose, Costa Rica, 9-17 October 2006
31. Honholt, S (2003) Cocoa Processing – control of ochratoxin A as a potential risk factor, MSc Thesis. The Royal Veterinary and Agricultural University, Department of Food Science, section for Quality and Technology, Denmark.
32. Hurst, W. J., Martin, R. A. (1998) High performance liquid chromatographic determination of ochratoxin A in artificially spiked cocoa beans using automated sample clean-up. J. Chromatog. A 810: 89 – 94
33. CODEX STAN 141-1883, Rev. 1-2001
34. Iavicoli, I., Brera, C., Carelli, G, Caputi, R., Marinaccio, A., Miraglia, M. (2002) External and internal dose in subjects occupationally exposed to ochratoxin A. Intl. Archive Occupationally Environment Health 75: 381 -386
35. ICCO (2007) Production of Cocoa Beans. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics.
<http://www.icco.org/statistics/production.aspx> (posted 22 October 2007)
36. International Agency for Research on Cancer (IARC) (1993). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; IARC Working Group, WHO: Lyon, France, vol. 56
37. JECFA (1991) Evaluation of certain food additives and contaminants. Thirty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series, No. 806, 1991 and corrigenda
38. JECFA (1995) Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-fourth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series No. 859, 1995
39. JECFA (2001) Safety evaluation of certain mycotoxins in Food. Fifty-sixth Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series 47 – FAO Food and Nutrition Paper –IPCS- International Programme on Chemical Safety, WHO, Geneva, 2001
40. Krogh, P. (1987): Ochratoxins in food. In: P. Krogh: Mycotoxins in food. Academic Press. pp. 97-121.
41. MAFF (1999) Ministry of Agriculture and Fisheries and Food. Survey of Aflatoxins and ochratoxin A in cereals and retail product. Food Surveillance information Sheet No.130.
<http://www.archive.food.gov.uk/maff/food/infsheet/1999/no185/185ochra.htm>

42. Matsuoka, T (2006) OTA contamination in retail chocolate in Japan in 2005. Standards and Evaluation Division, Department of Food Safety, Ministry of Health, Labour & Welfare, Tokyo, Japan. (Personal Communication).
43. Minifie, B. W. (1982) In B. W. Minifie (ed), *Chocolate, cocoa and confectionery: Science and Technology*, 2nd ed. AVI Publishing Company, Westport, Connecticut.
44. Miraglia, M., Brera, C. (2002) Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU member states, Reports on tasks for scientific cooperation, task 3.2.7., 69-86. Publisher: SCOOP Directorate-General Health and Consumer Protection. http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/3.2.7_en.pdf
45. Miraglia, M., De Santis, B., Minardi, V., Debegnach, F., and Brera C. (2005) An update on sampling methods for mycotoxin evaluation. MYCO-GLOBE Conference: Reducing Impact of Mycotoxins in Tropical Agriculture with Emphasis on Health and Trade in Africa. Accra, Ghana, 13 – 16 September 2005 <http://www.iita.org/mycotoxinconf/index.htm>
46. Moss, M.O. (1996): Mode of formation of ochratoxin A. *Food Additives and Contaminants*. 13 (suppl.), 5 - 9
47. Murphy P. A., Hendrich, S., Landgren, C., Bryant, C. M.(2006) Food Mycotoxins: An Update. *J. Food Sci.* 71: R51 – R65
48. O'Brien, E., Dietrich, D. R. (2005) Ochratoxin A: The continuing enigma. *Crit. Rev. Toxicol.* 35: 33 - 60
49. Opinion of the Scientific Panel on contaminants in the Food Chain of the EFSA on a request from the Commission related to ochratoxin A in food.(4 April 2006) http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/contam/contam_opinions/1521.Par.0001.File.dat/contam_op_ej365_ochratoxin_a_food_en1.pdf
50. Pittet, A., Royer, D. (2002) Rapid, low cost thin-layer chromatographic screening method for the detection of ochratoxin A in green coffee at a control level of 10 µg/kg. *J. Agric. Food Chem.* 50: 243 - 247
51. Pohland, A. E., Nesheim, S and Friedman, L (1992) Ochratoxin A: A Review. *Pure & Appl. Chem.*, 64: 1029 -1046
52. Ratters, M and Matissek, R (2000) Ochratoxin A in cocoa and human health aspects. 13th Intl. Cocoa Research Conf., Kota Kinabalu, Sarba, Malaysia, p1429 – 1438, 9 -14 October 2000.
53. Russo, A., La Fauci, L., Acquaviva, R., Campisi, A., Racita, G., Scifo, C., Renis, M., Galvano, G., Vanilla, A., and Galvano, F (2005) Ochratoxin A-induced DNA damage in human fibroblast: protective effect of cyanidin 3-O-b-D-glucoside. *J. Nutrit. Biochem* 16: 31- 37
54. SCF (1998) Opinion of the Scientific Committee for Food on OTA expressed on 17 Sep 1998. http://www.europe.eu.int/contam/food/fs/sc/scf/out14_en.html
55. Scott, P.M. (1996): Effects of processing and detoxification treatments on ochratoxin A. In: C.P.Kurtzman & J.W. Fell: *Food Additives and Contaminants*. Fourth edition. Elsevier, Amstersam. pp.214-220.
56. Stander, M.A., Steyn, P.S., van der Westhuizen, F.H. and Payne, B.E. (2001). A kinetic study into the hydrolysis of the ochratoxins and analogues by carboxypeptidase A. *Chemical research in Toxicology*, 14: 302-304.
57. Schwartz, G. G. (2002) Hypothesis: Does ochratoxin A cause testicular cancer? *Cancer Causes Control* 13: 91 - 100
58. Tafuri, A., Ferracane, R., Ritieni, A (2004) Ochratoxin A in Italian marketed cocoa products. *Food Chem.* 88 487 - 494
59. Tsubouchi, H., Terada, H., Yamamoto, K., Hisada, K., Sakabe, Y. (1995) Caffeine degradation and increased ochratoxin production by toxigenic strains of *Aspergillus ochraceus* isolated from green coffee beans. *Mycopathologia* 90: 181 – 186
60. Van Egmond, H. P. (1999) Worldwide regulation of ochratoxin A. *IARC Sci. Publ. No. 115*, 331 – 336
61. WHO (1996) Evaluation of certain food additives and contaminants. 44th Report of JECFA; WHO Technical Report series 859; WHO: Geneva, Switzerland.

62. Working Document of the Expert Committee “Agricultural Contaminants” of the European Commission Scientific Committee for Food. Council Meeting of 18 November 2003
63. ADM Cocoa, 1999. The De Zaan Cocoa Products Manual: an ADM Publication on Cocoa Liquor, Cocoa Butter, Cocoa Powder, Koog an de Zaan, Netherlands: ADM Cocoa B.V.
64. Dembele, A., Gerard, F., Manda, P and Nemlin, J. G (2007) Resultats des etudes de recherché du devis programme OTA No. DP/IVC/2005/16 : Contamination du cafe et du cacao par l’ochratoxine A (OTA) en Cote d’Ivoire. Rapport de synthese 2007. Ministere de l’Agriculture, Direction Generale des Productions et de la Diversification Agricoles, Republique de Cote d’Ivoire.
65. Christine Vinkx (2007) Personal communication (Codex electronic Working Group on OTA in Cocoa).
66. Palumbo, J. D., O’Keeffe and Mahoney, N. E. (2007) Inhibition of ochratoxin A production and growth of *Aspergillus* species by phenolic antioxidant compounds. *Mycopathologia* 164: 241 – 248
67. Vega, F. E., Posasa, F., Gianfagna, T. J., Chaves, F. C. and Peterson, S. W (2006) An insect parasitoid carrying an ochratoxin producing fungus. *Naturwissenschaften* 93: 297 – 299.
68. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) 2007. JECFA/68/SC. Summary and Conclusions. Geneva, 19-28 June 2007, 18p.
69. Sangare-Tigori, B., Moukha, S., Kouadio, J. H., Dano, D. S., Betbeder, A. M., Achour, A. And Creppy, E. E. (2006) Ochratoxin A in human blood in Abidjan, Cote d’Ivoire. *Toxicon*. 47: 894 – 900.
70. Spanjer, M. C., Scholten, J. M., Kastrup, S., Jorissen, U., Schatzki, T. F. and Toyofuku, N. (2006) Sample comminution for mycotoxin analysis: Dry milling or slurry mixing? *Food Additives and Contaminants* 23: 73 – 83.
71. Lobeau, M., De Saeger, S., Sibanda, L., Barna-Vetro, I. And Van Peterghem, C. (2007) Application and validation of a clean-up tandem assay column for screening ochratoxin A in cocoa powder. *Food Additives and Contaminants* 24: 398 – 405.
72. Dongo, L., Bandyopadhyay, R., Kumar, M. and Ojiambo, P. S. (2008) Occurrence of ochratoxin A in Nigerian ready for sale cocoa beans. *Agricultural J.* 3: 4 – 9.

**LIST OF PARTICIPANTS
LISTE DES PARTICIPANTS
LISTA DE PARTICIPANTES
CHAIRPERSON/PRESIDENT/PRESIDENTE**

Dr. Jemmy Takrama
Senior Biochemist,
Cocoa Research Institute of Ghana
P. O. Box 8
Tafo-Akim, GHANA
West Africa
Tel.: +233 243 847 913
Fax.: +233 277 900029
E-mail: jtakrama@yahoo.com

Mr. Kwamina Van-Ess
Deputy Chief Executive
Food and Drugs Board
Accra, GHANA
West Africa
Tel.: + Tel.: +233 219 107 61
Fax.: +233 216 603 89
E-mail: kwaminav@yahoo.com

MEMBER COUNTRIES**BELGIUM – Belgique - BÉLGICA**

Ms Christine VINKX
Expert additives and contaminants
Federal Public Service of Health,
Food Chain Safety and Environment
Place Victor Horta 40, Box 10
1060 Brussels
BELGIUM
Tel.: +32 2 524 7359
Fax.: +32 2 524 7399
E-mail: Christine.vinkx@health.fgov.be

BRAZIL - BRESIL - BRASIL

Ms. Ligia SCHREINER
Expert on Regulation
National Health Surveillance Agency
SEPN 511, BLOCO A, Edifício Bittar II
70750-541 Brasilia
BRAZIL
Tel.: +55 61 3448 6292
Fax.: +55 61 3448 6274
E-mail: ligia.schreiner@anvisa.gov.br

CÔTE D'IVOIRE

Dr. Ardjouma DEMBELE
Scientific Coordinator
Ministry of Agriculture
04 BP 612 Abidjan 04
Abidjan
COTE D'IVOIRE
Tel.: +225 212 439 95
Fax.: +225 202 271 17
E-mail: ardjouma@yahoo.fr

NETHERLANDS - PAYS-BAS - PAÍSES BAJOS

Dr. Martien C. SPANJER
VWA - Food and Consumer Product Safety Authority
NRL for mycotoxins and pesticides in food
Hoogte Kadijk 401, 1018 BK Amsterdam
The Netherlands
E-mail: Martien.spanjer@vwa.nl

Mr. Harrie Storms
Ministry of Health, Welfare and Sport
The Netherlands
E-mail: Hf.storms@minvws.nl

NIGERIA - NIGÉRIA

Ms. Talatu Kudi ETHAN
Assistant Chief Standards Officer
Standards Organisation of Nigeria
13/14 Victoria Arobieke Street. Lekki Phase 1
Lagos
NIGERIA
Tel.: +234 803 337 8217
Fax.: +234 127 082 46
E-mail: talatuethan@yahoo.com

THAILAND – THAÏLANDE - TAILANDIA

Mrs. Voranuch KITSUKCHIT,
Standards officer,
Office of Commodity and System Standards
National Bureau of Agricultural Commodity and Food
Standards,
Thailand
E-mail: kvoranuch@yahoo.com

TOGO

Dr. Egue KOKOU
 Directeur des Laboratoires
 Institut Togolais de Recherche Agronomique
 P.O. Box 1163
 Lomé
 TOGO
 Tel.: +228 225 2148
 Fax.: +228 225 1559
 E-mail: eguekokou@yahoo.fr

**UNITED STATES OF AMERICA - ÉTATS-UNIS
 D'AMÉRIQUE - ESTADOS UNIDOS DE
 AMÉRICA**

Dr. Nega BERU
 Director, Office of Food Safety
 Center for Food Safety and Applied Nutrition
 Food and Drug Administration
 5100 Paint Branch Parkway, College Park
 MD 20740
 UNITED STATES OF AMERICA
 Tel.: +1 301 436 1700
 Fax.: +1 301 436 2651
 E-mail: nega.beru@fda.hhs.gov

MEMBER ORGANIZATION**EUROPEAN COMMISSION**

Mr Frans VERSTRAETE
 Administrator
 European Commission, Health and Consumer
 Protection DG
 Rue Froissart 101
 1049 Brussels
 BELGIUM
 Tel.: +32 2 295.6359
 Fax.: +32 2 299 1856
 E-mail: Frans.verstraete@ec.europa.eu

**INTERNATIONAL NON-GOVERNMENTAL
 ORGANIZATIONS NON-
 GOUVERNEMENTALES INTERNATIONALES
 ORGANIZACIONES INTERNACIONALES NO
 GUBERNAMENTALES**

EUROPEAN COCOA ASSOCIATION (ECA)

Ms. Isabelle ADAM
 European Cocoa Association
 Blvd du Souverain 207 box 9
 B-1160 Brussels
 Belgium
 E-mail: Isabelle.adam@eurococoa.com

Ms. Sophie KOETTLITZ
 Assistant Secretary General
 European Cocoa Association
 Blvd du Souverain 207 box 9
 B-1160 Brussels
 Belgium
 E-mail: sophie@eurococoa.com

**INTERNATIONAL CONFECTIONERY
ASSOCIATION (ICA)**

Ms. Penelope ALEXANDRE
 Director Regulatory and Scientific Affairs
 CAOBISCO
 1, rue Defacqz
 1000 Brussels
 Belgium
 E-mail: Penelope.Alexandre@caobisco.be

Ms. Marianne LINDBLOM
 International Cocoa Association
 1, rue Defacqz
 1000 Brussels
 Belgium
 E-mail: MLindblom2@krafteurope.com

IFT

Dr. Cory BRYANT
 Senior Research Scientist
 Institute of Food Technologists
 1025 Connecticut Avenue, NW, Suite 503
 20036 Washington DC
 UNITED STATES OF AMERICA
 Tel.: +1 202 330 4978
 Fax.: +1 202 315 5168
 E-mail: cmbryant@ift.org