



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

5^{ème} session

La Haye, Pays-Bas, 21 – 25 mars 2011

DOCUMENT DE TRAVAIL SUR LES ALCALOÏDES DE PYRROLIZIDINE
(Préparé par le groupe de travail électronique dirigé par les Pays-Bas)

GÉNÉRALITÉS

1. À sa 4^{ème} session, le CCCF est convenu d'établir un groupe de travail électronique dirigé par les Pays-Bas chargé d'élaborer un document de travail sur les alcaloïdes de pyrrolizidine (AP) dans les aliments de consommation humaine et animale et les conséquences sur la santé humaine, dans le but de recueillir des informations sur la chimie des AP, leur toxicité, quelles méthodes d'analyse sont disponibles, l'occurrence dans les végétaux, les aliments de consommation humaine et animale et le transfert à partir des aliments pour animaux dans les aliments pour l'homme.

2. Le groupe de travail électronique a été établi avec les membres suivants: Apimondia, l'Australie, le Brésil, l'Union européenne, la FAO, la France, l'Allemagne, la Hongrie, l'Indonésie, le Japon, la Jordanie, la Nouvelle-Zélande, la Suède, la Suisse et le Togo (voir annexe VII). Les observations ont été soumises par Apimondia, l'Australie, le Brésil, la FAO, la France, l'Allemagne, le Japon, la Nouvelle-Zélande, et la Suisse. Le document de travail a été préparé conformément aux consignes du CCCF relatives au contenu. Par ailleurs, l'information sur les pratiques de gestion a été ajoutée au présent document.

INTRODUCTION

3. Les alcaloïdes de pyrrolizidine (AP) sont des toxines naturellement présentes dans une grande variété d'espèces végétales. Les AP sont probablement les toxines naturelles les plus largement répandues et affectent la faune sauvage, les animaux d'élevage et les humains. Les intoxications endémiques chez les animaux d'élevage peuvent entraîner des pertes économiques graves pour les exploitants et les communautés rurales et il existe une possibilité de risque pour les humains à partir de l'ingestion d'aliments d'origine animale ou végétale contaminés par les AP. Les cas humains directs d'intoxication sont bien documentés, telle l'utilisation directe et intentionnelle d'espèces végétales toxiques en tant que tisanes ou remèdes traditionnels qui, dans certains cas, ont entraîné la mort. Par ailleurs, la contamination des céréales ou des produits à base de céréales (la farine ou le pain) contaminés par des graines contenant des AP a contribué aux intoxications endémiques qui affectent les populations rurales en Afghanistan, en Inde, en Afrique du Sud et l'ancienne URSS. Aucun cas d'intoxication liée à des produits animaux contenant des AP n'a été signalé. (OMS, 1988; FAO, 2010).

4. La FAO (2010) a indiqué que les principales familles végétales qui contiennent des AP sont les *Asteraceae* (*Compositae*), les *Boraginaceae* et les *Fabaceae* (*Leguminosae*). Chez les *Asteraceae*, les genres *Senecio* et *Eupatorium* sont de loin les plus connus pour leur teneur en AP, par contre, chez les *Boraginaceae*, la plupart des genres, par ex. les espèces *Heliotropium* ou *Echium*, sont connus pour leur teneur en AP. Chez les *Fabaceae*, le genre *Crotalaria* héberge la majorité des espèces contenant des AP. Plus de 6 000 espèces végétales contiennent probablement des AP, même si l'intoxication directe chez l'homme et chez les animaux ne semble être liée qu'à quelques espèces seulement. L'intoxication engendrée par ces toxines est associée à des lésions aiguës et chroniques du foie, auxquelles s'ajoute pour certains AP, une hypertension artérielle pulmonaire (chez les animaux), et peut entraîner la mort. Dans le présent document de travail, la liste des végétaux contenant des AP, y compris leurs noms courants, sur la base des références trouvées, figure dans l'ANNEXE I.

CHIMIE DES AP

5. Les AP sont des composés hétérocycliques et la plupart d'entre eux sont dérivés de quatre bases de nécine: la rétronécine, l'héliotridine, l'otonécine et la platynécine; les AP du type platynécine sont considérés non-toxiques (Hartmann et Witte, 1995, voir aussi la figure 1). La rétronécine et l'héliotridine sont des diastéréomères en position C7. Plus de 350 structures d'amines tertiaires d'AP différentes sont connues (Hartmann et Witte, 1995). La plupart des AP naturellement présents dans les végétaux sont des nécines estérifiées ou des alcaloïdes N-oxydes (à l'exception des alcaloïdes du type otonécine), alors que les AP non estérifiés sont moins fréquemment présents dans les végétaux (comme dans *Crotalaria medicaginea* et *Crotalaria aridicola* australiens, dont le nom courant est inconnu.). Les esters peuvent se répartir en monoesters, diesters non-macrocycliques et diesters macrocycliques d'une base de nécine. Les diesters macrocycliques sont la plupart du temps présents dans les espèces *Senecio* (qui comprend le séneçon) et *Crotalaria* (qui comprend la sonnette). Les AP présents dans les espèces *Eupatorium* et *Boraginaceae* sont généralement de type mono et diester (Hartmann et Witte, 1995).

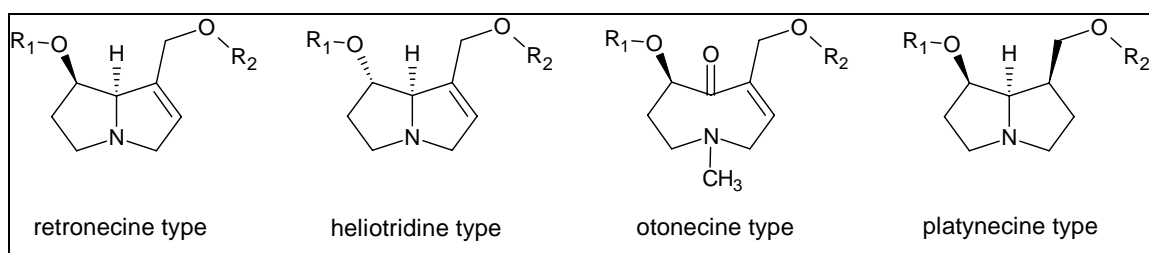


Figure 1: Structure de base des quatre types à base de nécine qui sont présents dans la grande majorité des alcaloïdes de pyrrolizidine. Les AP de type rétronécine, héliotridine et otonécine sont toxiques, les AP de type platynécine sont considérés non toxiques (Hartmann et Witte, 1995)

6. Les critères structuraux minimaux de toxicité sont:

1. un anneau Δ^3 -pyrroline (3,4-didéhydropyrrolidine);
2. un ou, de préférence, deux groupes hydroxyle, chacun attaché à l'anneau de pyrroline via un atome de carbone;
3. au moins un des hydroxyles est estérifié;
4. la fraction acide a une chaîne ramifiée (Autorité australienne et néo-zélandaise pour les aliments, 2001)¹.

7. On peut généraliser que les AP macrocycliques sont plus toxiques que les AP de diesters, qui sont plus toxiques que les monoesters d'AP. Les enzymes hépatiques peuvent convertir l'anneau d'otonécine des AP de type otonécine en anneau de rétronécine par voie de N-déméthylation oxydative.

RÉGLEMENTATION DES AP DANS LES ALIMENTS DE CONSOMMATION HUMAINE ET ANIMALE

8. Les normes relatives au contrôle des AP visent le contrôle des végétaux et des parties de végétaux toxiques. La situation réglementaire concernant les AP dans les aliments de consommation humaine et animale a été résumée par la FAO (2010) et Kempf et al. (2010). Les détails relatifs aux réglementations et aux recommandations existantes sont présentés ci-dessous.

CODEX ALIMENTARIUS

9. Pour les céréales et les légumineuses, le Codex Alimentarius indique que les graines de blé toxiques ne devraient pas être présentes en quantité qui présente un risque pour la santé et cite spécifiquement la présence de *Crotalaria*. Ces normes sont (FAO, 2010):

¹ L'Autorité australienne et néo-zélandaise pour les aliments (ANZFA) est devenue Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) le 1er juillet 2002.

- pour le maïs CODEX STAN 153-1985
- pour certains légumes secs CODEX STAN 171-1989
- pour le sorgho en grains CODEX STAN 172-1989
- pour le blé et blé dur CODEX STAN 199-1995
- pour l'avoine CODEX STAN 201-1995

Australie

10. En Australie, la consoude (*Symphytum* spp.) est incluse dans l'appendice C (Substances autres que celles du tableau 9, présentant un risque pour la santé tel qu'il justifie l'interdiction de les vendre, de les commercialiser et de les utiliser) de la norme pour les poisons 2010, pour emploi thérapeutique ou cosmétique à l'exception de l'emploi dermatologique, pour lequel elle est incluse dans le tableau 5 des normes pour les poisons (DOHA, 2010).

11. Le *Code conjoint des normes alimentaires (ANZJFSC)*, qui est applicable à la fois en Australie et en Nouvelle-Zélande, répertorie les espèces végétales contenant des AP dans le *tableau 1: « Végétaux et champignons interdits » de la norme 1.4.4*. Les plus importants végétaux sont les suivants: *Borago officinalis*; *Crotalaria* spp; *Echium plantagineum*; *Echium vulgare*; *Heliotropium* spp; *Senecio* spp; *Symphytum asperum*; *Symphytum officinale*; et *Symphytum x uplandicum*'. Un végétal ou un champignon, ou une partie ou un dérivé d'un végétal ou d'un champignon cité dans le tableau 1, ou toute substance qui en soit dérivée, ne doit pas être ajoutée intentionnellement aux aliments ou présentée à la vente en tant qu'aliment.

12. Il y a aussi plusieurs règlements nationaux australiens qui définissent les limites pour les graines contenues dans les aliments pour le bétail à base de: *Heliotropium* spp; *Echium* spp; *Amsinckia* spp; et *Crotalaria* spp.

13. En 2001, le code des normes alimentaires pour l'Australie et la Nouvelle-Zélande (Food Standards Australia New Zealand (FSANZ)) a établi une dose journalière tolérable provisoire (DJTP) pour les AP à 1 µg/kg de p.c. /jour. En 2004, FSANZ a conseillé aux producteurs de miel d'Australie/Nouvelle Zélande de poursuivre leur pratique de mélanger les miels qui sont principalement dérivés de la vipérine faux-plantain ou vipérine pourpre (*Echium plantagineum*) à d'autres miels afin de réduire la teneur en AP à un niveau sans risque (FSANZ, 2004).

Autriche

14. En Autriche, seuls quelques végétaux contenant des AP sont autorisés dans les remèdes à base de plantes. Ces plantes ou leurs préparations dérivées ne peuvent être commercialisées que si elles sont analysées à l'aide d'une « méthode de détection sophistiquée » qui prouve que « ... le produit final ne contient pas d'alcaloïdes de pyrrolizidine ». (Bundesgesetzblatt, 1989, tel que cité par Kempf et al., 2010).

Belgique

15. En Belgique, la bourrache (*Borago oSfficialis*) est interdite dans les aliments. L'huile de bourrache peut être utilisée dans les compléments alimentaires si on peut démontrer qu'elle est exempte d' AP à l'aide d'une méthode de détection appropriée ayant une LOD (limite de détection) suffisante (Koninklijk besluit, 1997). Récemment, le niveau maximal de 1 µg/kg conforme à la réglementation néerlandaise a été adopté, mais là encore, la méthode de détection et la LOD devraient être signalées.

Canada

16. Santé Canada a informé les consommateurs canadiens de ne pas utiliser ni d'ingérer de consoude (*Symphytum officinale*) ou tout autre produit de santé contenant de la consoude. Par précaution, les consommateurs ont été informés de ne pas appliquer localement les produits contenant de la consoude sur des écorchures. Ce conseil concerne à la fois les produits approuvés et non approuvés par Santé Canada. (Santé Canada, 2003).

Union européenne

17. L'Union européenne a réglementé les alcaloïdes dans les aliments pour animaux en établissant une teneur maximale de 3000 mg pour les graines de mauvaises herbes et les fruits non moulus ni broyés

contenant des alcaloïdes, des glucosides ou autres substances toxiques et les fruits/kg d'alimentation animale totale (relative à un produit d'alimentation animale dont la teneur en humidité est de 12 pour cent). La teneur maximale pour *Crotolaria* spp. est 100 mg de graines/kg d'alimentation animale totale (Union européenne, 2010).

Allemagne

18. Depuis 1992, les produits phytopharmaceutiques contenant des AP sont réglementés par l'Ordonnance pharmaceutique fédérale. Conformément à ces règlements, seuls quelques rares végétaux et leurs préparations dérivées contenant des AP, qui sont répertoriées par leur nom, peuvent être commercialisées. Pour ce qui est de la teneur en AP, les limites suivantes ont été établies: pour une ingestion orale ordinaire, la quantité totale de 1,2 AP insaturés (y compris les AP-N-oxydes (PANO)) ne doit pas dépasser 1 µg par jour. Si l'ingestion se prolonge au-delà de six semaines, la limite est réduite encore davantage à 0,1 µg par jour. Par ailleurs, l'emballage des produits d'utilisation orale doit comporter l'avertissement « À ne pas utiliser pendant la grossesse ou l'allaitement » (Bundesgesundheitsamt, 1992, cité par Kempf et al., 2010).

Japon

19. Au Japon, la consoude (*Symphytum* spp.) et ses produits dérivés ne peuvent pas être commercialisés, en vertu de l'article 6.2 de la loi sur la sécurité des aliments. Par précaution, le ministère de la santé, du travail et du bien-être social a pris la décision en juin 2004, en réponse aux incidents liés aux effets indésirables signalés à l'étranger, d'interdire toute consoude ou tout aliment contenant de la consoude à la consommation.

Nouvelle-Zélande

20. Pour les contaminants dans les aliments, le *Code des normes alimentaires pour l'Australie et la Nouvelle-Zélande (ANZFSC)*, cité au paragraphe sur l'Australie, couvre à la fois l'Australie et la Nouvelle-Zélande.

Pays-Bas

21. Les AP sont réglementés aux Pays-Bas dans les préparations à base d'herbes médicinales ou dans les extraits d'herbes médicinales. La teneur totale en AP (PANO compris) dans ces produits ne doit pas dépasser 1 µg/kg ou 1 µg/L, respectivement (Warenwetbesluit Kruidenpreparaten, 2001). L'annexe de Warenwetbesluit Kruidenpreparaten contient une vue d'ensemble de tous les végétaux et champignons susceptibles de contenir des AP.

Afrique du Sud

22. Le ministère de l'agriculture, des forêts et des pêches sud-africain a rappelé en 2008 que la vente de consoude (*Symphytum* spp.) en tant que denrée alimentaire est interdite par les règlements fixant l'interdiction de vente de la consoude, des denrées alimentaires contenant de la consoude et des confiseries en gelée contenant du Konjac, qui ont été publiés dans la Gazette gouvernementale du 10 octobre 2003, pour interdire l'utilisation de la consoude en tant que denrée alimentaire (DAFF, 2008). Les règlements concernant les produits contenant de la consoude aux fins médicinales étaient alors en cours d'élaboration.

Suisse

23. En Suisse, les mêmes règlements pour les produits phytopharmaceutiques qu'en Allemagne sont en vigueur. (Ordonnance pour les produits complémentaires et à base d'herbes médicinales (SR 812.212.24), annexe 6; http://www.swissmedic.ch/produktbereiche/00445/00454/index.html?lang=en&download=NHZLpZeg7t.lnp6I0NTU042I2Z6ln1ad1IZn4Z2qZpnO2YUq2Z6gpJCDdIR3gGym162epYbg2c_JjKbNoKSn6A--).

Royaume-Uni

24. Dans le passé, comme pour la réglementation allemande sur les remèdes à base de plantes, la consoude (*Symphytum* spp.) et ses préparations dérivées étaient interdites au Royaume-Uni (Kempf et al., 2010, aucune référence originale disponible).

États-Unis d'Amérique

25. L'administration américaine pour les produits alimentaires et pharmaceutiques (FDA) a adressé une lettre au secteur industriel en 2001 exprimant son inquiétude concernant la sécurité des compléments alimentaires contenant de la consoude (*Symphytum* spp.) en raison de la présence d'AP. La FDA a par ailleurs recommandé aux entreprises l'arrêt immédiat de la commercialisation des compléments contenant de la consoude et a alerté les consommateurs d'arrêter d'utiliser ces produits. Finalement, la FDA a par ailleurs recommandé aux fabricants d'identifier et de signaler tout événement indésirable, y compris les troubles hépatiques, qui ont été associés à la consoude et autres ingrédients contenant des AP (FDA, 2001).

26. Aux États-Unis, les animaux présentés à l'abattoir qui donnent des signes de maladies liées aux AP sont saisis et interdits d'entrée dans la filière alimentaire (USDA, 2007).

ISO

27. Outre ces réglementations/recommandations, ISO applique une condition pour les AP: la spécification ISO pour le blé autorise un maximum de 0,05 pour cent de graines contenant des AP et prévoit une méthode d'essai pour les graines toxiques contenues dans les échantillons de blé destiné à la consommation humaine (ISO, 2000, cité par la FAO, 2010). Cette tolérance semble être proche de la limite de détermination de la méthode.

TOXICITÉ

28. Dans ce chapitre, les évaluations de l'IPCS (programme international de l'OMS sur la sécurité des substances chimiques) et autres organismes d'évaluation des risques ont été résumées par sujet. Par ailleurs, les études disponibles récentes ont été récapitulées pour fournir une vue d'ensemble de l'information supplémentaire de celle des évaluations des risques citées ci-dessus. La validité de ces études devrait cependant être évaluée séparément; cela constitue un exercice d'évaluation des risques qui dépasse par conséquent le champ d'action du présent document de travail.

Toxicité aiguë

29. L'IPCS (OMS, 1988) a conclu que « chez l'homme, l'intoxication aux AP se manifeste généralement par une maladie veino-occlusive aiguë (VOD) caractérisée par une douleur sourde prolongée dans la partie supérieure droite de l'abdomen, et l'épanchement rapide d'ascites, produisant la distension marquée de l'abdomen, et parfois accompagnée d'oligurie, et d'une effusion pleurale massive. Elle peut aussi se manifester comme maladie subaiguë avec des symptômes vagues et persistants d'hépatomégalie. Les enfants sont particulièrement vulnérables. Un grand nombre de cas évolue en cirrhose et il a été démontré que parfois, un épisode unique de maladie aiguë a évolué en cirrhose, malgré le fait que le patient ait été éloigné de la source de l'exposition toxique et ait reçu le traitement symptomatique. La mortalité peut être élevée, la mort étant due à une défaillance hépatique dans la phase aiguë ou à une hématomérose résultant de la rupture des varices œsophagiennes causées par la cirrhose. »

30. L'IPCS (OMS, 1988) et COT (2008) ont répertorié les valeurs des DL50 (doses létales) disponibles pour plusieurs AP chez le rat après injection intrapéritonéale (ip). Les valeurs de DL50 orales ne sont pas disponibles. Même si la pertinence des injections ip par rapport à l'exposition orale est faible, ces valeurs de DL50 relatives à l'injection ip sont présentées dans le tableau 1 ci-dessous. Les DL50 pour l'injection ip indiquent qu'il y a une différence considérable dans la toxicité aiguë entre les AP administrés par injection ip, cependant il y a lieu de signaler que des différences substantielles dans la susceptibilité aux AP ont été notées entre les différentes souches de rats.

Tableau 1 Valeurs des DL50 de plusieurs AP chez le rat après une injection intrapéritonéale (OMS, 1988; COT, 2008)

AP	DL50 (mg/kg)
Echimidine	200
Echinatine	350
Europine	>1000
Héleurine	140
Héliosupine	60
Héliotrine	300
Héliotridine	1200
Intermédiaire	1500
Jacobine	77 (souris)
Jaconine	168 (rat femelle)
Lasiocarpine	77
Lasiocarpine N-oxyde	547
Lycopsamine	1500
Monocrotaline	175
Rétrorsine	34
Rétrorsine N-oxyde	250
Riddelliine	105 (souris)
Sénécionine	50 (aussi cité à 85)
Sénéciphylline	77
Senkirkine	220
Spectabiline	220
Supinine	450
Symphytine	130 (aussi cité à 300)

31. Pour déterminer si une dose élevée unique ou des doses faibles répétées entraîneraient une intoxication et pour évaluer si la résistance pourrait être induite par des doses inférieures répétées dans le temps, Anjos et al. (2010) ont analysé les effets toxiques des graines de sonnette (*Crotalaria retusa*, contenant 6,84 pour cent de monocrotaline) chez le mouton. Ils ont découvert que le mouton est très susceptible à l'intoxication aiguë (et chronique) après une dose unique d'approximativement 205 mg de monocrotaline/kg. Par ailleurs, les moutons qui ont ingéré des doses non-toxiques de 136,8 mg/kg par jour sont devenus résistants aux doses toxiques de 273 mg/kg et de 342 mg/kg. Comme explication possible de cette résistance, les auteurs ont laissé entendre sur la base d'autres études que la production du métabolite déhydromonocrotaline par des enzymes microsomaux pourrait être diminuée, ou que la détoxification des AP par la flore ruminale pourrait être accrue. Les auteurs ont par ailleurs indiqué que le mouton peut acquérir une résistance par adaptation rapide de la flore ruminale pour métaboliser la monocrotaline.

Toxicité chronique

Déclarations sur la toxicité chronique

32. Pour ce qui est de la toxicité chronique, l'IPCS (OMS, 1988) a conclu que « la mégaloctose, présence d'hépatocytes gonflés contenant de gros noyaux hyperchromatiques, est un trait caractéristique d'hépatotoxicité chronique induite par les alcaloïdes de pyrrolizidine chez les animaux de laboratoire ». Les hépatocytes gonflés sont produits sous l'action antimototique puissante des métabolites pyrrole des alcaloïdes de pyrrolizidine. Ce changement n'a pas été observé sur le foie humain, bien que les cellules hépatiques du fœtus humains sous culture *in vitro* grossissent quand elles sont exposées aux AP, indiquant une susceptibilité à l'effet antimototique des alcaloïdes.

33. L'IPCS a conclu qu'une dose journalière d'AP aussi faible que l'équivalent de 0,01 mg/kg d'héliotrine peut provoquer la maladie chez les humains. Il s'est appuyé sur les données de Ridker et al. (1985), qui a signalé que 0,015 mg/kg d'échimidine et alcaloïdes apparentés (équivalent à 0,009 mg/kg de p.c./jour d'héliotrine sur la base des données de DL50) a entraîné l'intoxication à la consoude. Par ailleurs, exprimées en termes de doses équivalentes d'héliotrine, les doses totales estimées dans les épidémies ou les rapports de cas connus variaient de 1 à 167 mg/kg de p.c. Lorsque ces chiffres sont comparés à la dose létale totale de plusieurs AP chez les rats, l'IPCS a indiqué qu'ils pourraient montrer que l'homme est nettement plus sensible à l'intoxication aux AP que le rat. Cependant, il a indiqué qu'« il convient de noter que ces estimations sont fondées sur des données limitées et brutes et sur un certain nombre d'hypothèses, et qu'elles sont donc d'une fiabilité incertaine ». Toutefois, il a été recommandé de minimiser si possible l'exposition (OMS, 1988).

34. ANZFA (2001) a conclu que l'organe cible dans la toxicité des AP à la fois chez les animaux de laboratoire et chez les humains est le foie. Chez les animaux, la toxicité se manifeste en tant qu'activité antimototique entraînant une fibrose importante, la régénération nodulaire, le parenchyme et le cancer, alors que chez les humains les principaux effets sont les lésions hépatocellulaires, la cirrhose et la maladie veino-occlusive. Il a été proposé une dose journalière tolérable provisoire de 1 µg/kg/jour sur la base de la maladie veino-occlusive du foie en tant que principal effet toxicologique de l'exposition chronique. D'après ANZFA, « les données disponibles sur les cas de maladie veino-occlusive chez les humains indiquent qu'un niveau sans effet nocif observé (NOEL) provisoire de 10 µg/kg p.c./jour peut être établi. Quand un facteur d'incertitude de 10 est appliqué à ce NOEL pour tenir compte de la variabilité humaine, la dose journalière tolérable provisoire (DJTP) pour les AP chez les humains est de 1 µg/kg p.c./jour ». Une caractérisation plus poussée du risque sanitaire potentiel pour les humains lié à l'exposition aux AP contenus dans les aliments a été considérée impossible en raison des informations inadéquates sur l'exposition alimentaire.

35. L'Agence européenne pour la sécurité des aliments (AESA) a conclu en 2007 que les principaux signes de toxicité observés chez les animaux comprennent différents degrés de détérioration progressive du foie, et les maladies veino-occlusives associées à l'effet direct des métabolites toxiques sur les cellules endothéliales. De surcroît, la prolifération du canal cholédoque, la mégaloctose hépatique et la fibrose hépatique, les lésions rénales, l'hypertension pulmonaire et l'hypertrophie cardiaque ventriculaire droite secondaire (seulement pour un petit nombre d'AP), ainsi que la perte de poids, l'anorexie et la dépression ont été régulièrement signalées. Chez les humains, le critère de toxicité aux AP le plus sensible a été identifié comme étant la maladie veino-occlusive. L'AESA a par ailleurs signalé que des différences significatives ont été remarquées concernant la sensibilité aux AP. C'est-à-dire qu'il est généralement reconnu que les rongeurs, ainsi que les porcs, la volaille, le bétail et les chevaux sont très sensibles à l'intoxication aux AP alors que les moutons, les chèvres et les lapins ne le sont pas (AESA, 2007).

36. L'institut fédéral d'évaluation des risques (Bundesinstitut für Risikobewertung, BfR, Allemagne) a réalisé l'évaluation des risques liés au séneçon vulgaire (*Senecio vulgaris*) en tant que contaminant des mélanges de salades en 2007. Il a indiqué que des cas d'intoxication avaient montré que les AP peuvent entraîner des lésions hépatiques constituant un danger de mort chez les humains et les animaux. Sur la base d'une évaluation de l'exposition, il a été conclu que des lésions hépatiques à moyen terme ou aiguës dues à l'ingestion de mélanges de salades contaminés au séneçon vulgaire ne pouvaient pas être exclues. Il a indiqué que la portion au-dessous de laquelle les AP génotoxiques 1,2-insaturés ne constituent pas de risque sanitaire ne pouvait pas être déterminée sur la base des données disponibles et que par conséquent la dose tolérable ne peut pas non plus être déduite. A titre préventif, l'ingestion d'AP devrait être autant que possible évitée. Pour un adulte pesant 60 kg, l'ingestion à long terme correspondrait à environ 220 à 349 µg d'AP

insaturés par jour et par conséquent dépasserait de loin la dose journalière tolérable de 0,1 µg d'AP 1,2-insaturés établies pour les produits médicaux sans indications thérapeutiques ou sans restriction d'ingestion limitée à six semaines. L'ingestion possible d'AP insaturés par le biais d'autres denrées alimentaires n'a pas été pris en compte en raison du manque de données, mais l'institut a préconisé l'examen de l'exposition accrue possible des consommateurs aux AP insaturés qui pourraient entrer dans les aliments comme le miel; et le lait, la viande et les œufs par le biais des aliments pour animaux (BfR, 2007a).

37. Le Comité du Royaume-Uni sur la toxicité (COT, 2008) a conclu que les AP étaient connus comme étant la cause de la maladie veino-occlusive chez les humains. Il a conclu qu'il était peu probable que 0,1 µg de riddelliine/kg p.c./jour ne produise pas d'effets non cancéreux. Comme il n'existe aucune étude fiable sur l'homme, le Comité a calculé cette valeur à partir du NOAEL (niveau sans effet nocif observé) de 0,01 mg/kg de p.c./jour pour la cytomégalie hépatocyte chez les rats suite à une exposition orale à la riddelliine (NTP, 2003), et en appliquant les facteurs d'incertitude de 10 pour la variabilité inter-espèces et de 10 pour la variabilité intra-espèces. Il a indiqué que l'indice des valeurs de DL50 pourrait être utilisé pour convertir les autres AP en équivalents de riddelliine aux fins de comparaison avec cette dose. Il a par ailleurs conclu qu'il était peu probable que les AP dans le lait constituent une préoccupation sanitaire chez l'homme, tout en indiquant que davantage d'information était nécessaire sur les niveaux d'AP dans les céréales et dans le miel. Aucune donnée n'existe sur les concentrations d'AP dans les céréales, les œufs ou la viande sur le marché du Royaume-Uni et, par conséquent, l'évaluation de l'exposition à ces denrées pour les consommateurs du Royaume-Uni n'a pas pu être réalisée (déclaration du COT, 2008).

38. En 2005, l'institut national hollandais de la santé publique et de l'environnement (RIVM) a conclu que les effets toxiques des AP se manifestent principalement dans le foie, mais aussi dans les poumons et les reins, et qu'ils sont les résultats des propriétés réactives des métabolites de pyrrole. L'institut a calculé pour les effets non cancéreux une dose journalière tolérable (DJT) pour la riddelliine de 0,1 µg/kg de p.c./jour, sur la base d'un NOAEL pour les lésions non-néoplasiques chez les rats de 0,01 mg/kg par jour (NTP, 2003), à l'aide d'un facteur d'incertitude de 100. L'autorité hollandaise pour la sécurité de l'alimentation et de la consommation (VWA) a conclu en 2007 que les gros consommateurs à ingestion prolongée de types de miel contenant des niveaux élevés d'AP présentent un risque élevé de développer le cancer et de possibles effets aigus. Elle a cependant indiqué qu'on ne savait pas dans quelle mesure ce scénario a effectivement lieu, et a aussi conclu que quand les consommateurs de miel varient leur consommation entre différents types de miel, il n'y avait pas de risques supplémentaires de cancer.

39. Une vue d'ensemble des valeurs de référence identifiées pour les critères non cancéreux est présentée dans le tableau 2 ci-dessous. D'une façon générale, les valeurs indicatives à visée sanitaire pour les alcaloïdes individuels n'ont pas pu être calculées en raison du manque de données adéquates sur la toxicité orale. Par ailleurs, la disponibilité de données pharmacocinétiques pour les AP et de données comparatives sur la toxicité animale fiables est limitée.

Tableau 2: Valeurs de référence identifiées pour les critères non cancéreux par les organismes d'évaluation des risques.

	Valeur indicative à visée sanitaire (HBGV)	Valeur indicative à visée sanitaire (HBGV) (µg/kg de p.c./jour)	Référence
AP totaux	DJTP	1	FSANZ/ANZFA, 2001
Riddelliine	DJT	0,1	RIVM, 2005
Riddelliine**	DJT	0,1	COT, 2008
AP 1,2-insaturés	DJT	0,1* (>6 wks) 1* (<6 wks)	BfR, 1992

* en µg/personne/jour

** COT a conclu que l'indice des valeurs des DL50 pourrait être utilisé pour convertir les autres AP en équivalents de riddelliine aux fins de comparaison avec cette dose.

Etudes récentes sur l'hépatotoxicité

40. Copple et al. (2006) ont démontré que l'hypoxie se produit dans le foie des rats traités à la monocrotaline (300 mg/kg). Puisque cette hypoxie se produit avant l'apparition des lésions importantes des cellules parenchymateuses hépatiques, cela pourrait indiquer que l'hypoxie contribue à endommager ces

cellules. L'hypoxie et les lésions des cellules parenchymateuses hépatiques se sont réduites d'environ 70 pour cent après administration de warfarine, laissant entendre que les dépôts de fibrine pourraient être un facteur causal du développement de l'hypoxie. Cependant, comme la warfarine n'a pas pu empêcher complètement l'hypoxie, d'autres facteurs interviennent. Un inhibiteur non spécifique de l'oxyde nitrique synthétase, par contre, a favorisé l'hypoxie induite par monocrotaline ainsi que les lésions des cellules parenchymateuses hépatiques. Les auteurs ont indiqué que ces résultats laissent entendre une relation entre l'hypoxie et les lésions des cellules parenchymateuses hépatiques.

41. Mingatto et al. (2008) ont découvert que chez des rats ayant mangé la monocrotaline augmente la glycogénolyse et la glycolyse, alors que dans le foie des rats à jeun, elle diminue la gluconéogenèse et la synthèse de l'urée. Ces altérations métaboliques ont été seulement observées après un pré-traitement au phénobarbital, un inducteur du métabolisme, ce qui indique que les effets sont dus aux métabolites de la monocrotaline. Comme la monocrotaline peut influencer le métabolisme hépatique énergétique et, de ce fait, plusieurs autres processus, les auteurs ont conclu que cela peut contribuer à l'hépatotoxicité de la monocrotaline.

42. Les effets de l'isoline, de la clivorine et de la monocrotaline sur le foie des souris ont été comparés, avec ou sans l'inhibiteur d'estérase ou l'inhibiteur de P450 par Tang et al. (2007). Même aux doses testées les plus élevées (164 mg/kg de p.c. pendant trois jours consécutifs), la monocrotaline n'a aucun effet sur le foie de la souris. La clivorine par contre est mortelle à cette dose, tout comme l'isoline qui est déjà mortelle après deux jours. Quand l'inhibiteur d'estérase est administré simultanément, l'isoline semble être déjà mortelle à demi-dose (100 mg/kg de p.c.) et montre des effets sur les enzymes hépatiques même aux doses les plus basses qui ont été testées (50 mg/kg de p.c.). Par ailleurs, la toxicité de la clivorine s'est accrue, alors que celle de la monocrotaline n'est pas affectée. En association avec l'inhibiteur de P450, l'augmentation des enzymes hépatiques induites par l'isoline est soit complètement abolie soit partiellement supprimée, selon la dose employée. Les auteurs ont conclu que ces résultats montrent que, chez la souris, l'isoline est plus hépatotoxique que la clivorine ou la monocrotaline, et que les effets toxiques de l'isoline dépendent de l'activation métabolique par les enzymes P450.

Toxicité pulmonaire

43. Les AP ont montré qu'ils produisent l'hypertension pulmonaire (HP) accompagnée de changements vasculaires associés dans la circulation pulmonaire chez plusieurs espèces animales ainsi que chez les primates non humains, à la fois directement et indirectement. Plusieurs études et un rapport de cas humain sont résumés dans le rapport de l'OMS de 1988 (OMS, 1988). L'hypertension pulmonaire peut aussi se produire sans effets significatifs sur le foie dans certaines circonstances. La monocrotaline est un des AP connu pour être la cause primaire de l'hypertension pulmonaire chez les rats.

44. Récemment, Shimzu et al. (2008) a examiné l'effet du traitement à l'hémine sur l'hypertension pulmonaire (HP) induite par la monocrotaline (60 mg/kg de p.c.) et a conclu que l'hémine améliore de façon significative l'hypertension pulmonaire ainsi que l'inflammation pulmonaire. Les auteurs ont indiqué que cela était probablement causé par l'induction de l'hème oxygénase-1 qui peut entraîner l'atténuation de l'inflammation pulmonaire.

Cardiotoxicité

45. La toxicité pulmonaire peut par la suite résulter de l'hypertrophie ventriculaire droite cardiaque telle que décrite, entre autres, par Burns (1972, cité par l'OMS, 1988) et Allen et Chesney (1972, 1973, cité par l'OMS, 1988) qui ont indiqué des signes d'hypertension pulmonaire et *cor pulmonale* chez les rats et les primates non humains.

46. Récemment, Akhavein et al. (2007) a signalé que l'administration de la monocrotaline (50 mg/kg) à des rats a résulté en un effet cardiotoxique direct, indépendant du degré d'hypertension, tel que montré par la baisse de la fonction ventriculaire gauche, la myocardite et l'épaississement de la média des artérioles coronaires.

Génotoxicité et cancérogénicité

47. Un grand nombre d'AP appartenant aux types rétronécine, héliotridine, ou otonécine d'AP montre des signes de génotoxicité. Les exemples comprennent la riddelliine, la rétrorsine, et la monocrotaline (type

rétrotréonécine), la clivorine et la senkirkine (type otonécine), et la lasiocarpine et l'héliotrine (type héliotridine) (Fu et al., 2007).

Déclarations sur la cancérogénicité des AP

48. En 1988, l'IPCS a publié son évaluation des AP (OMS, 1988). Concernant la cancérogénicité, il a conclu que, comme différents AP ont montré qu'ils sont mutagènes dans plusieurs systèmes de cultures cellulaires et cancérigènes chez les animaux de laboratoire, un risque de cancer potentiel chez les humains devrait être sérieusement envisagé. Cependant, il n'a trouvé aucune information disponible sur le suivi à long terme des humains exposés et atteint d'intoxication aux AP. Suite à ces lacunes, il n'a pas été possible d'effectuer l'évaluation des risques de cancer lié aux AP chez les humains.

49. Plusieurs AP ont été évalués par le centre international de recherche sur le cancer (CIRC). La lasiocarpine, la monocrotaline et la riddelliine ont été classées dans le groupe 2B (peut-être cancérigènes chez les humains) alors que l'hydroxysenkirkine, l'isatidine, la jacobine, la rétrotréonécine, la sénéciphylline, la senkirkine et la symphytine ont été classées dans le groupe 3 (inclassables quant à leur cancérogénicité chez les humains, CIRC 1976, 1983, 2002).

50. ANZFA (2001) a conclu qu'il n'y a aucune preuve convaincante de l'effet cancérigène de l'exposition chronique aux AP chez les rats et certaines autres espèces animales de laboratoire, mais a noté par ailleurs qu'aucun rapport connu n'existe sur le cancer chez les animaux domestiques dus à l'exposition aux AP d'origine alimentaire. Sur la base de l'analyse de Culvenor (1983) de l'ingestion alimentaire estimée des AP chez les humains pendant les épidémies comparée à la fourchette de la dose d'effet chez les rats liée à la cancérogénicité chez les rats, il a conclu qu'il n'existe aucune preuve dans les intoxications endémiques significatives que les AP causent le cancer du foie chez les humains.

51. En 2007, l'AESA a conclu que les données épidémiologiques ne fournissent aucune preuve du risque accru de cancer dans les populations humaines exposées aux AP. Les données expérimentales animales, dans lesquelles des concentrations très élevées ont été utilisées, ont signalé la capacité de certains AP à induire la formation d'adduits de l'ADN, de liaisons transversales ADN-ADN et de liaisons transversales protéines-ADN, ainsi que des effets mutagènes et génotoxiques. Elle a conclu que différents AP ont fait la preuve de leur cancérogénicité dans le cadre d'essais sur les rongeurs à doses expérimentales élevées.

52. Le BfR a réévalué en 2007 le principe de tolérance zéro de l'Union européenne pour certains composés et catégories de composés dans les denrées de consommation humaine et animale. Concernant l'occurrence de composés génotoxiques en tant qu'ingrédients naturels d'aliments traditionnels en général, le BfR a recommandé une évaluation des risques au cas par cas qui pourrait permettre de formuler une recommandation concernant l'ingestion réduite de certains produits alimentaires. Pour ce qui est de l'addition possible d'ingrédients botaniques génotoxiques isolés dans les aliments ou concernant les contaminants génotoxiques d'origine végétale, se référant principalement à la contamination des salades par les AP contenant explicitement *Senecio vulgaris*, il a d'une façon générale recommandé de leur appliquer une tolérance zéro. (BfR, 2007).

53. Sur la base d'une étude NTP portant sur la riddelliine administrée oralement à des rats, l'institut national hollandais de la santé publique et de l'environnement (RIVM) a calculé une dose virtuelle de sécurité (VSD) de 0,00043 µg/kg de p.c./jour, entraînant un risque accru pour, au plus, une personne sur un million de développer un cancer (RIVM, 2005). Cette VSD est fondée sur la dose la plus basse entraînant le développement de tumeur dans l'étude TNP, soit 1 mg/kg/jour (Chan et al., 2003).

54. Le comité du Royaume-Uni sur la cancérogénicité des produits chimiques dans les aliments, les produits de consommation et l'environnement (COC) a examiné en 2008 la mutagénicité et la cancérogénicité de 7 AP et de 2 métabolites proposés. Le COC a conclu que la riddelliine est génotoxique et cancérigène et qu'il serait prudent de supposer qu'au moins une partie de l'effet cancérigène est dû à un mécanisme génotoxique. De même, il a conclu que la lasiocarpine est peut-être un cancérigène génotoxique et qu'il y a suffisamment de données pour conclure que la monocrotaline est cancérigène. Les preuves de la cancérogénicité de la clivorine, la pétasiténine et la symphytine sont limitées alors que pour la senkirkine, les preuves de cancérogénicité sont insuffisantes. Un nombre limité d'études réalisées au travers des voies d'administration non orales a été fait sur les deux métabolites, la déhydrotréonécine et la déhydrohéliotridine. Tout bien considéré, elles n'ont pas montré d'activité cancérigène des métabolites (COC, 2008, cité par COT, 2008). Le comité est par ailleurs convenu que l'approche du « groupe

d'évaluation cumulative », telle que décrite dans l'avis du groupe scientifique de l'AESA sur les méthodologies d'évaluation des risques cumulés et synergétiques liés aux pesticides, serait appropriée pour les alcaloïdes de pyrrolizidine compte tenu de la preuve d'un schéma tumoral commun pour plusieurs de ces composés (COC, 2008).

55. Le comité du Royaume-Uni sur la toxicité (COT) a approuvé dans sa déclaration sur les alcaloïdes de pyrrolizidine dans les aliments en 2008 la recommandation du COC d'évaluer tous les AP en tant que groupe d'évaluation cumulative à l'aide d'une BMDL10 (limite inférieure de l'intervalle de confiance de la dose repère) avec une marge d'exposition adéquate, tout en reconnaissant la nature préventive de cette approche. Une BMDL10 de 0,073 mg/kg de p.c./jour a été calculée à partir d'une étude de deux ans sur la cancérogénicité de la lasiocarpine et devrait être utilisée pour évaluer l'exposition à tous les AP. L'application d'une marge d'exposition (ME) d'au moins 10,000 a permis d'indiquer que des doses d'AP allant jusqu'à 0,007 µg/kg de p.c./jour ne présenteront probablement pas de risque de cancer. Par ailleurs, ces doses n'entraîneraient vraisemblablement pas d'effets non cancéreux (COT, 2008).

56. Une vue d'ensemble des valeurs de référence identifiées comme critères du cancer est présentée au tableau 3 ci-dessous.

Tableau 3: Valeurs de référence identifiées comme critères du cancer par les organismes d'évaluation des risques.

	Limite indicative à visée sanitaire (HBGL)	Valeur de la limite indicative à visée sanitaire (µg/kg de p.c./jour)	Référence
Riddelliine	Dose virtuelle de sécurité - VSD	0,00043	RIVM, 2005
AP totaux	« ne présentent probablement pas de risque de cancer »	0,007	COT, 2008

Mécanisme de la cancérogénicité

57. Les AP sont connus depuis longtemps pour leur cancérogénicité chez les animaux (OMS, 1988). Les alcaloïdes parents sont chimiquement non réactifs, mais après ingestion, les AP subissent un métabolisme hépatique qui donne naissance à des métabolites (généto) toxiques. L'étape critique en matière de toxicité est la formation de dérivés pyrroliques bifonctionnels réactifs, 6,7-dihydro-7-hydroxy-1-hydroxyméthyl-5H-pyrrolizidine (DHP). Les DHP réagissent avec les protéines cellulaires et l'ADN pour former des adduits de l'ADN, des liaisons transversales ADN-ADN et des liaisons transversales protéines-ADN. Ce processus a été bien établi au cours des dernières décennies (OMS, 1988, ANZFA, 2001). Par ailleurs, Yang et al. (2001) ont confirmé que la riddelliine induit des tumeurs hépatiques par le biais de la formation d'adduits d'ADN issus des DHP. A savoir que la riddelliine est métabolisée par les microsomes du foie des rats mâles et femelles (davantage chez les mâles que chez les femelles, spécifiquement métabolisée par CYP3A4 présent à la fois chez les rats et chez les humains) pour former les DHP, qui, suite à leur forte capacité à se lier à l'ADN, entraînent la formation d'un groupe de huit adduits d'ADN issus des DHP, qui produisent l'altération de l'ADN. Ils ont par la suite obtenu une relation dose réponse claire entre la dose et le niveau des adduits d'ADN totaux. En 2005, Wang et al. (2005b) ont souligné que les PANO pourraient être génotoxiques suite à la formation d'adduits d'ADN issus des DHP par le biais de la conversion réductrice du composé parent.

Etudes récentes sur la génotoxicité ou la cancérogénicité

Pouvoir génotoxique relatif

58. Les mêmes adduits d'ADN issus des DHP tels qu'induits par la riddelliine ont été formés par activation métabolique de la lasiocarpine, de l'héliotrine, de la rétronécine, de la rétronécine N-oxyde, de la rétrorsine, de la rétrorsine N-oxyde, de la riddelliine N-oxyde, de la monocrotaline, et de la monocrotaline N-oxyde tels que découverts *in vitro* ainsi qu'*in vivo* par Xia et al. (2006), Xia et al. (2008), Yan et al. (2008) et Wang et al. (2005a, 2005b), mais dans une moindre mesure qu'avec la riddelliine. De ces quatre études, on peut déduire l'ordre d'activité suivant pour la formation d'adduits d'ADN: riddelliine ≈ lasiocarpine >

rétrorsine > monocrotaline \approx rétorsine N-oxyde \geq riddelliine N-oxyde > héliotrine \approx rétronécine > rétronécine N-oxyde. Les détails de ces études figurent en ANNEXE II.

Pouvoir génotoxique relatif des matières végétales

59. L'extrait de racine de consoude (commune) (*Symphytum officinale*) montre un pouvoir mutagène potentiel comparable à celui de la riddelliine dans le foie des rats *in vivo* tel que signalé par Mei et al. (2005), Mei et al. (2006), et Guo et al. (2007). Ils montrent tous les deux un spectre mutationnel similaire avec transversion G:C \rightarrow T:A comme mutation prédominante. Chou et Fu (2006) ont étudié *in vivo* la formation des adduits d'ADN issus des DHP pour la consoude (*Symphytum officinale*), le tussilage (*Tussilago farfara* L.) et le tussilage-fleur (*Flos farfara*) dans le foie en les ajoutant aux composés différents des AP qui pourraient être impliqués.

Cancérogénicité chez les humains

60. Comme l'indiquent les déclarations des organismes d'évaluation des risques, il n'a pas encore été catégoriquement démontré que les AP sont cancérigènes chez les humains. Cependant, l'IPCS a indiqué en 1988 que cela devrait faire l'objet de considérations très sérieuses. Les études récentes qui fournissent des indications sur la cancérogénicité possible chez les humains sont résumées ci-après.

61. En 2003, Xia et al. ont signalé que la riddelliine peut être métabolisée par les microsomes hépatiques humains pour former les DHP et la riddelliine N-oxyde. Cette étude a par ailleurs montré que, quand l'enzyme humaine CYP3A4 est inhibée par la troléandomycine (TAO) inhibitrice de CYP, la formation des DHP et de la riddelliine N-oxyde était fortement réduite. Par ailleurs, les paramètres cinétiques V_{\max} et K_m du métabolisme microsomal du foie humain étaient comparables à ceux du métabolisme microsomal du foie des rats. Les auteurs en ont conclu que chez les humains la même enzyme hépatique métabolique intervient dans la formation des DHP que chez les rats, ce qui pourrait indiquer qu'il se produit des processus cancérigènes similaires.

62. Une action enzymatique similaire a par ailleurs été observée dans les études menées par Wang et al. (2005b) et Xia et al. (2006) avec la rétorsine, la rétorsine N-oxyde, la riddelliine N-oxyde, la monocrotaline N-oxyde, et la lasiocarpine. Dans ces études, les inhibiteurs humains de CYP3A kétoconazole et TAO inhibent de façon significative la formation des DHP, alors que Xia et al. ont aussi montré que l'inducteur de CYP3A dexaméthasone entraîne l'augmentation de la formation des DHP.

Immunotoxicité

63. La déhydrohéliotridine (DHH), métabolite pyrrolique, a une activité immunosuppressante importante sur la réponse primaire chez les jeunes souris; quand l'injection ip est pratiquée peu de temps avant le stimulus antigénique (Percy & Pierce, 1971, cité par l'OMS, 1988). La réponse secondaire au stimulus antigènes; telle que mesurée par la réduction du nombre des cellules productrices d'anticorps spécifiques 7S et 19S de la rate, est supprimée quand DHH est administré en même temps que le stimulus secondaire, et non quand il est administré 24 ou 36 heures après le stimulus antigénique. Il a été suggéré que la déhydrohéliotridine détruit ou inactive sélectivement les cellules impliquées dans les étapes initiales de la reconnaissance et de la transformation des antigènes.

64. Récemment, la monocrotaline a été étudiée pour son immunotoxicité par Hueza et al. (2009). Les rats auxquels on a administré 3,0 mg/kg de p.c. de monocrotaline ont montré une cellularité réduite de la moelle osseuse mais aucun autre paramètre comme les indices splénique et thymique n'a été affecté. Par ailleurs, on a mesuré une réduction de la production de NO par les macrophages (après 1,0, 3,0 et 5,0 mg/kg de p.c. de monocrotaline) qui selon les auteurs, pourrait être un facteur critique sous-jacent du risque accru d'hypertension pulmonaire et des réponses inflammatoires anormales. Ils indiquent cependant que des études plus poussées sont nécessaires pour approfondir la question.

Toxicité sur la reproduction

65. L'IPCS a conclu en 1988 que la capacité des AP à traverser la barrière placentaire chez le rat et à induire l'accouchement prématuré ou la mort des portées avait été démontrée. Il a signalé que l'embryon *in utero* semblait plus résistant aux effets toxiques des alcaloïdes de pyrrolizidine que le nouveau-né et que les AP étaient connus pour leur transfert dans les portées nourries par la mère par le biais du lait maternel. L'IPCS n'a pas connaissance de données sur les effets tératogéniques/fœtotoxiques des AP sur les humains et n'a par conséquent pas pu évaluer le potentiel de ces effets pour l'exposition aux AP (OMS, 1988).

66. Le COT (2008) a indiqué, sur la base de l'information fournie au comité par deux centres de pédiatrie pour le foie, que la maladie veino-occlusive infantile est rare au Royaume-Uni, et que les cas sont presque toujours imputables à d'autres causes et par conséquent qu'ils ne sont vraisemblablement pas liés à l'exposition aux AP.

67. Un rapport de cas humain (Rasenack et al., 2003) indiquant les effets des AP sur le fœtus est décrit ci-dessous dans la section sur les « rapports de cas récents – chez les humains ».

Rapports de cas récents

68. Les rapports de cas qui n'ont pas été inclus dans les évaluations de risques antérieures sont résumés ci-après. Les rapports de cas sur les intoxications animales indiquent les sources possibles de contamination par les AP et les espèces possibles d'animaux d'élevage qui pourraient présenter de l'intérêt pour la consommation humaine de produits animaux contaminés.

Animaux – animaux d'élevage

69. L'intoxication d'autruches a été signalée dans 12 autrucheries du district agricole de Pomona, à 35 km au nord de Harare, au Zimbabwe (Cooper, 2007). Outre les autres plantes toxiques, l'intoxication a été partiellement causée par l'ingestion du séneçon rhodésien (*Senecio sceleratus*) qui a provoqué des hémorragies cutanées et des saignements des muqueuses trachéales, du péricarde, du diaphragme et de la membrane interpéritonéale. Par ailleurs, le foie était gonflé, mou et ictérique, et les poumons et les cavités thoracique et abdominale étaient remplis de fluide clair.

70. En Angleterre, quatre sur treize chevaux qui ont eu accès au même lot de foin ont montré des signes de diarrhée après avoir mangé ce foin pendant six mois en 2007. Les analyses sanguines ont montré que chez ces chevaux, l'activité enzymatique du foie s'était accrue. Comme les problèmes hépatiques sont associés à l'intoxication par les AP, des échantillons du lot de foin ont été analysés pour leur teneur en AP et comparés aux échantillons de foin d'une exploitation de contrôle. Alors que dans les échantillons de contrôle aucun AP n'a été détecté, la concentration approximative des AP mesurés dans les échantillons du foin concerné atteignait jusqu'à 10 mg/kg (Crews & Andersen, 2009).

71. Dans la Sierra Norte (Séville, Espagne), dix taureaux de combat âgés d'1 an appartenant à un troupeau de 700 têtes sont morts (Moyano et al., 2006). Tous les animaux ont brouté la même herbe contenant de grandes quantités de vipérine commune (*Echium vulgare* 80%) et de séneçon commun (*Senecio vulgaris* 15 pour cent) et ont reçu également un léger supplément de foin de luzerne. L'eau de boisson provenait des cours d'eau qui traversent l'exploitation. Les symptômes, les données biochimiques et les lésions observées étaient similaires à celles observées par les autres auteurs dans les cas d'intoxication aux AP chez les bovins, bien que peu d'information soit disponible sur l'intoxication bovine spontanée liée à *Echium* spp. ou à *Senecio* spp. en Espagne.

72. En juin 2006, un taureau rouge de race croisée âgé de 5 ans a été présenté au collège vétérinaire de l'Ontario pour cause de léthargie depuis quatre semaines (Walsh et Dingwell, 2007). Après examen physique, durant lequel a été noté, entre autres, un gonflement abdominal ventral, le diagnostic a conclu à une péritonite, une effusion péricardiale, un parasitisme gastrointestinal et une infection au *Bovine viral diarrhea virus*. Deux jours plus tard, une vache de race croisée à museau tacheté jaune a été trouvée morte dans la même exploitation. La vache n'avait aucun antécédent de maladie, mais son propriétaire a signalé que la vache semblait atteinte de la même léthargie et dépression que le taureau. Sur la base des résultats de l'autopsie, le diagnostic a conclu à une intoxication aux algues bleu-vert et des échantillons de plusieurs organes ont été envoyés pour examen histopathologique. Une deuxième vache est morte 4 jours plus tard et a été examinée mais aucun diagnostic n'a été possible. Pendant ce temps, les résultats de l'examen histopathologique ont révélé que la première vache était morte d'hépatotoxicité toxique conforme à une alcaloïdose de pyrrolizidine. Il semble que le pâturage où broutait le troupeau contenait de la tanaïsie en préfloraison ou le séneçon de Jacob (*Jacobaea vulgaris*, préalablement connu en tant que *Senecio jacobaea*). Cette plante était présente dans toutes les parties basses du pâturage à une densité estimée entre 3 à 5 plants/m². Le taureau a été euthanasié et l'autopsie a montré chez les deux animaux et chez un autre animal également mort, une hépatopathie grave et des lésions conformes à la toxicité des AP.

73. Au début de 2010, 35 chevaux morts ont été signalés dans le centre-ouest du Queensland, en Australie (Williamson, 2010). Dans chacun des cas, la nécrose hépatique était accompagnée d'une réponse inflammatoire à prédominance neutrophilique, d'une mégalocytose hépatique et d'une régénération nodulaire

dans certaines parties du foie. La présence additionnelle de bilirubine et d'enzymes hépatiques élevées était conforme à l'ingestion d'alcaloïdes de pyrrolizidine. Des recherches sont en cours pour identifier les végétaux concernés.

Humains

74. Depuis 1974, plusieurs épidémies de maladie veino-occlusive ont été signalées en Afghanistan, la plus récente datant de février 2008 dans le district de Gulran de la province d'Herat, dans l'Afghanistan occidental (Kakar et al., 2010). La consommation de pain fabriqué à partir de blé contaminé aux graines d'une mauvaise herbe locale appelée charmac (*Heliotropium popovii*) semble être fortement associée aux épidémies. Lors de l'épidémie de 2008, l'héliotrine, la lasiocarpine et l'héliotrine N-oxyde ont été détectées dans chacun des quatre échantillons, les niveaux d'héliotrine étant plus élevés dans les échantillons prélevés dans les ménages atteints que dans les ménages non atteints. Une autre source secondaire probable, bien que mineure, est le qurut (produit à base de lactosérum provenant du lait des chèvres qui ont ingéré des végétaux contenant des AP dans leur pâture). Dans le qurut, on a aussi trouvé de l'héliotrine, de la lasiocarpine et de l'héliotrine N-oxyde mais en rapport inversé. Par ailleurs, bien que non signalée dans les échantillons de charmac, la trichodesmine a été détectée dans le qurut. Des échantillons d'eau ont aussi été analysés, mais leur teneur en AP était nulle.

75. Deux personnes ont été hospitalisées en Chine après l'ingestion orale prolongée de décoctions à base de *Gynura segetum* (nom courant inconnu, 3 g/jour) comme remède traditionnel (Dai et al., 2006). Les examens physiques ont révélé dans les deux cas une ascite et une hépatomégalie. Suite à la biopsie hépatique qui a révélé un épaississement des parois vénulaires hépatiques, une dilatation des sinusoides et une nécrose des hépatocytes, le diagnostic de la maladie veino-occlusive a pu être prononcé.

76. En janvier 2006, une femme de 62 ans a été admise à l'hôpital de Hangzhou, en Chine (Dai et al. (2007). Elle présentait, outre une distension abdominale après avoir mangé, une hépatomégalie et une ascite. Sur la base des résultats cliniques et histologiques, la maladie veino-occlusive hépatique a été diagnostiquée. Il semblerait que la femme ait ingéré des racines de gynura pendant trois mois avant son admission pour des dosages approximatifs de 2 g/jour. Elle préparait trois tranches de racine de gynura fraîche par jour trempées dans du saké et cuites à la vapeur. Elle mangeait ensuite les racines et buvait le saké. La racine a été identifiée comme *Gynura segetum* (nom courant inconnu), et la sénéciphylline et des AP apparentés ont été détectés dans cette espèce (Qi et al., 2009a and 2009b).

77. Treize cas de maladie veino-occlusive hépatique liés à des remèdes chinois traditionnels ont été rétrospectivement analysés et l'analyse a révélé que 11 des 13 cas avaient été causés par la racine gynura, en dosages allant de 150 g à 1800 g pour plus de 10 jours et jusqu'à quatre mois (Wang et al., 2008, extrait du résumé). Parmi les 13 cas, un est lié au Qianliguang (*Senecio scandens*), une herbe chinoise, et un autre au « tea-thirsty » (dont l'espèce est mal définie). Les principaux symptômes comprennent la distension abdominale accompagnée de douleurs abdominales, l'ascite, l'hépatomégalie et la jaunisse. La fonction hépatique semblait anormale avec des niveaux de GGT et ALP accrus. De tous les cas concernés, deux patients se sont remis suite au traitement médical, deux ont reçu une greffe du foie et 5 sont décédés.

78. Une femme de 66 ans atteinte d'hypertension artérielle, de diabète non insulino-dépendant, avec une adiposité modérée et une légère insuffisance rénale a été admise dans un hôpital en Suisse en novembre 2006 pour dyspnée progressive (Györök et Stricker, 2009). L'examen a conclu à une tachydyspnée et la gazométrie sanguine a montré une insuffisance respiratoire partielle grave. L'échocardiographie a révélé qu'elle souffrait d'hypertension pulmonaire modérée. Malgré des examens approfondis, aucune explication n'a pu être donnée à l'hypertension pulmonaire. Plus tard, quand on a interrogé la femme spécifiquement sur l'emploi de remèdes issus de la médecine parallèle, elle a signalé avoir utilisé un mélange de plusieurs plantes pour préparer un thé dont elle buvait entre un litre et une litre et demi par jour au cours des mois précédant son hospitalisation. Ces plantes ont été analysées en tenant compte de la relation entre l'hypertension pulmonaire et la consoude (*Symphytum officinale*) et bien qu'on n'en ait pas la preuve, les auteurs sont d'avis que l'hypertension pulmonaire aurait peut-être pu être causée par l'emploi prolongé de grandes quantités de remèdes à base de plantes contenant de la consoude. La femme a cependant refusé d'arrêter d'utiliser les plantes comme ingrédients de son thé et a de nouveau été hospitalisée en mars 2008 pour déficience cardiaque droite grave. Après traitement, elle a pu être autorisée à sortir.

79. Cent kilomètres au sud-ouest de Johannesburg, un couple de jumeaux âgé d'un an a été admis à l'hôpital après avoir eu pendant trois semaines des selles claires, une urine foncée et l'abdomen

progressivement distendu (Conradie et al., 2005). Les deux jumeaux prenaient oralement des remèdes traditionnels. L'échographie a montré une ascite grave et des altérations lipidiques dans le foie. La biopsie hépatique a confirmé la maladie veino-occlusive. Les jumeaux ont suivi un traitement et ont été autorisés à sortir. Un autre couple de jumeaux âgé d'un an a été admis à l'hôpital de Johannesburg pour une jaunisse suite à l'administration d'un remède traditionnel 48 heures auparavant. Un des jumeaux est décédé dans les 24 heures pour cause de problèmes respiratoires. Au bout d'une semaine, le jumeau survivant a montré un abdomen distendu avec splénomégalie mais pas d'hépatomégalie. Cet enfant est par la suite décédé, l'autopsie a confirmé qu'il s'agissait d'un cas de maladie veino-occlusive avec nécrose secondaire.

80. Dans les deux cas, les parents ont fourni les échantillons des remèdes traditionnels administrés qui ont été analysés par couplage CG-SM (chromatographie phase gazeuse-spectrométrie de masse). L'analyse a révélé que la rétroisine était présente dans les deux remèdes à base de plantes, avec des niveaux nettement inférieurs dans l'échantillon du cas fatal que dans celui des survivants. Ces résultats, bien qu'apparaissant comme contradictoires, indiquent que le jumeau qui est décédé a pu recevoir une dose beaucoup plus élevée ou des doses plus fréquentes. Aucun fluide biologique ni organe n'ont été examinés faute de consentement.

81. Il y a un seul cas signalé de l'incidence de la maladie veino-occlusive sur un fœtus humain suite à l'ingestion d'AP par la mère. Un nouveau-né prématuré présentant des symptômes d'hépatomégalie et d'ascite est né par césarienne en raison de menaces d'asphyxie fœtale et est décédé peu de temps après. L'autopsie a révélé la maladie veino-occlusive typique de l'intoxication aux alcaloïdes de pyrrolizidine. La teneur en alcaloïdes de pyrrolizidine dans le foie a été confirmée. L'analyse d'un mélange d'herbes médicinales qui était utilisé dans l'alimentation préparée par la famille concernée a révélé des niveaux élevés pour les alcaloïdes respectifs qui confirment la source de la toxine et la relation de cause à effet. Les auteurs ont estimé la dose journalière moyenne à 20-30 µg AP (Rasenack et al., 2003).

82. Une femme de 55 ans souffrait d'essoufflement et de toux improductive (De et al., 2005). La biopsie du poumon a révélé une réaction pulmonaire granulomateuse conforme à l'inhalation de corps étrangers. Environ un an avant de présenter les symptômes, elle avait transporté des bottes de séneçon noir humide (*dont l'espèce est mal définie*) pour protéger ses chevaux et s'était exposée au pollen pourri et malodorant. En quelques jours, elle avait développé une toux sèche, qui a par la suite évolué en essoufflement à l'effort. D'après les auteurs, c'est le premier cas signalé mettant en cause le séneçon (*dont l'espèce est mal définie*) pour des effets sur le poumon humain. On ne sait pas si d'autres causes possibles ont été analysées.

MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE ET D'ANALYSE

Échantillonnage

83. La répartition de la concentration des AP dans les aliments de consommation humaine et animale est un facteur de considération important quand les échantillons sont prélevés aux fins d'analyse. Alors que dans l'Union européenne des limites officielles existent pour les impuretés botaniques dans les aliments pour animaux (allant de 0,01 à 0,3 pour cent pour les graines de mauvaises herbes et fruits non moulus ni broyés contenant des alcaloïdes, Directive 2002/32/CE), il n'y a aucune mention ni directive spécifique sur des procédures efficaces d'échantillonnage (UE, 2010). D'une façon générale, plus la taille de l'échantillon est grande, plus il est représentatif. Le prélèvement d'échantillons de fluides (voir ci-dessous) semble poser moins de problème concernant son hétérogénéité possible.

Analyse

84. Les méthodes d'analyse des AP dans les aliments de consommation humaine et animale et dans les fluides biologiques (lait, plasma sanguin, bile, urine) ont été examinées par Roeder (1999), par l'agence européenne de sécurité des aliments (AESA, 2007) et récemment par Crews et al. (2010). L'AESA (2007) note que diverses techniques analytiques, notamment les méthodes associées à la spectrométrie de masse peuvent être utilisées pour détecter les AP dans les végétaux et leurs produits dérivés. Aucune de ces méthodes, cependant, n'a été validée pour l'analyse d'échantillons d'aliments (mêlés) de consommation humaine et animale. L'AESA (2007) note aussi la recherche en cours sur l'emploi des techniques ELISA. Il n'existe aucune méthode officielle pour la détection ou la détermination des AP dans les graines qui entrent dans la filière alimentaire (Australia New Zealand Food Authority, 2001, cité par la FAO, 2010). Une méthode de détermination des graines toxiques dans les échantillons de blé destiné à la consommation humaine est fournie par la spécification ISO pour le blé (ISO, 2000, cité par la FAO, 2010). Une étude intéressante des méthodes de sélection et du développement d'essais de confirmation pour les toxines

végétales contenues dans les aliments pour animaux est fournie par Than et al. (K.A. Than, 2005, cité par la FAO, 2010).

85. Un point crucial de l'évaluation quantitative de la contamination aux AP est la disponibilité limitée de normes analytiques pour les AP et les PANO (Raezke et al., 2010, Kempf et al., 2011). Les résultats de la plupart des méthodes mentionnées ci-après correspondent à la somme des résultats obtenus pour un composé unique. Par suite du manque de normes, la teneur totale en AP pourrait être sous-estimée. Récemment la détermination des AP de type rétronécine en tant que paramètre global (réduits à leur structure fondamentale commune) a été présentée par Kempf et al. (2008). Une approche similaire a été décrite par Zhang et al. (2007). Ces méthodes ne tiennent cependant pas compte des bases d'otonécine.

Méthodes d'extraction des AP

86. Pour effectuer l'analyse des AP dans les (parties de) végétaux et dans les produits à base d'herbes médicinales, le matériau végétal est généralement séché à l'air ou lyophilisé, moulu et homogénéisé. Les AP sont des composés relativement polaires de nature basique. L'extraction Soxhlet a été fréquemment utilisée dans le passé, mais elle exige une durée d'extraction relativement longue et pourrait entraîner une décomposition partielle des PANO (Hartmann et Toppel, 1987; Hösch et al, 1996). Une bonne récupération d'extraction pour les amines tertiaires d'AP et les PANO est obtenue quand la matière est extraite à l'aide de solvant organique polaire comme le méthanol ou de solutions aqueuses acides ou de mélanges des deux (Crews et al., 2010). Une vue d'ensemble des méthodes d'extraction utilisées pour les AP dans différents végétaux et denrées alimentaires est présentée en ANNEXE III.

Méthodes de nettoyage de l'extrait

87. Avant de pouvoir analyser l'extrait d'échantillon pour sa teneur en AP, une étape de nettoyage et/ou de concentration est généralement nécessaire. L'extraction liquide-liquide (LLE) et l'extraction liquide-solide (SPE) sont les deux techniques les plus couramment appliquées (Crews et al, 2010). La SPE est généralement utilisée pour la préparation des échantillons de miel. Les colonnes d'échanges de cations forts sont généralement utilisées pour isoler les amines tertiaires d'AP et leurs N-oxydes. Une vue d'ensemble des méthodes de nettoyage utilisées est présentée en ANNEXE IV.

Méthodes pour la séparation et la détection

Chromatographie en couche mince

88. La chromatographie en couche mince (CCM) sur des sorbants de silice et d'aluminium a été utilisée pour l'analyse qualitative (Molyneux et Roitman, 1980; Roeder, 1999, Crews et al, 2010). Le réactif d'Erlich est généralement utilisé pour visualiser les AP (Mattocks, 1967). Des précisions sur les limites de détection (LOD) sont difficiles à trouver, mais celles-ci sont probablement supérieures à 1 µg/g.

Chromatographie gazeuse

89. La chromatographie gazeuse (CG) en association avec la détection à ionisation de flamme (DIF), la détection azote-phosphore (DAP) et la spectrométrie de masse (SM) sont les méthodes d'analyse généralement utilisées (Roeder, 1999; Crews et al, 2010). Les avantages de la séparation CG sont la haute résolution des colonnes CG et la disponibilité d'indices de rétention et d'un spectre de masse par impact électronique pour un grand nombre d'AP (Witte et al., 1993). Une restriction majeure est que les PANO sont des composés trop polaires et thermiquement instables pour être analysés par les techniques CG. Les PANO ne peuvent par conséquent être analysés qu'indirectement au moyen de la réduction des amines tertiaires correspondants. Les limites de détection sont de l'ordre de 10 à 100 ng/g. Une vue d'ensemble des méthodes CG utilisées figurent en ANNEXE V.

Chromatographie liquide

90. La chromatographie liquide (CL) en association avec la détection des UV est quelque peu entravée par l'absence de chromophores dans la plupart des AP. On a recours à la détection par longueurs d'onde faibles, non spécifiques (Crews et al, 2010). Zhang et al (2007) et Xiong et al (2009) ont réalisé la dérivation pré-colonne des AP pour améliorer les caractéristiques des UV et réduire les limites de détection. L'avantage de la méthode de Zhang et al. (2007) est qu'elle fournit une analyse quantitative des AP rétronécine totaux comme dérivé commun produit par tous les différents RET-AP. Cette méthode peut être utilisée en association à la fois avec CLHP-UV et CL-SM.

91. Un avantage important de CL par rapport à CG est que les bases tertiaires et les N-oxydes peuvent être analysés simultanément (Hösch et al, 1996; Brown et al, 1994). Parmi les nombreux AP mono et diesters, plusieurs énantiomères et diastéréoisomères ont été identifiés. La séparation des énantiomères lycopsamine et intermédiine par CLHP chirale a été signalée par Pawar et al. (2010). Les limites de détection (LOD) ont été signalées supérieures 100 ng/ml dans les extraits.

Chromatographie liquide-spectrométrie de masse

92. La chromatographie liquide CL en association avec la spectrométrie de masse offre un grand nombre de possibilités de séparation et de détection et est de nos jours la technique la plus utilisée. Les spectromètres de masse appliqués les plus couramment utilisés sont du type triple quadrupôle (CL-SM/SM) et piège à ions (Crews et al. 2010). Les applications de spectrométrie de masse à temps de vol sont toujours relativement rares (Crews et al. 2009, 2010). La plupart des analystes utilise l'ionisation par électronebulisation (ESI) positive pour générer des ions pour la détection par spectrométrie de masse (SM). La séparation des AP et des PANO s'obtient dans des conditions de chromatographie en phase inverse. Les LOD (limite de détection) varient selon la matrice et l'application. Les LOD se situent généralement entre les (sous) niveaux en ng/mL de la détection dans le lait et le miel jusqu'à plusieurs 100 ng/g dans les matériaux végétaux. Une vue d'ensemble des méthodes et des références CL-SM figure en ANNEXE V.

Méthodes rapides de sélection pour les AP

93. Plusieurs études ont été publiées qui décrivent le développement des essais d'immuno-absorption enzymatique (ELISA) pour la détection d'un ou plusieurs AP. Roseman et al. (1992) ont développé un ELISA concurrentiel contre la rétronécine (en tant qu'essai d'une classe spécifique d'AP). L'essai a été utilisé pour analyser les hydrolysats alcalins des végétaux contenant des AP. Roseman et al (1996) ont aussi développé un ELISA contre la rétrorsine, qui a donné une LOD d'un sous niveau en ng/well pour la rétrorsine et la rétrorsine N-oxyde. Un ELISA concurrentiel sensible contre la sénécionine a été développé par Langer et al. (1996). L'essai a montré une réactivité croisée contre l'intégerrimine et la sénéciphylline. La LOD pour la sénécionine était de 23 pg/well (équivalent à 0,45 ng/ml dans un extrait d'échantillon dilué). Deux essais ELISA différents contre la riddelliine ont été développés par Lee et al. (2001). Le premier a montré une réactivité croisée contre d'autres AP de type sénécionine comme la sénécionine, la rétrorsine, la sénéciphylline avec des LOD de l'ordre de 18 à 110 pg/well (0,36 à 2,2 ng/ml). Le deuxième essai a montré une bonne réactivité croisée contre la riddelliine N-oxyde, la sénéciphylline et la sénéciphylline N-oxyde, avec des LOD de l'ordre de 30 à 530 pg/well (0,6 à 10,6 ng/ml). L'essai a été utilisé pour analyser la riddelliine dans le sang des bovins et les matériaux végétaux. Dans le plasma, la LOD obtenue pour la riddelliine était de 25 ng/ml. Les anticorps monoclonaux testés contre la rétrorsine (Zündorf et al., 1998) ont aussi montré une bonne sensibilité contre un ensemble d'AP de type sénécionine structurellement apparentés. Cavallaro et al. (2004) a développé un ELISA concurrentiel contre l'héliotrine. L'ELISA a montré une bonne réactivité croisée contre la lasiocarpine, l'europine, l'héleurine et dans un moindre degré l'héliotrine N-oxyde et la lasiocarpine N-oxyde. Les LOD étaient de l'ordre de 8 à 300 pg/well. L'essai a été utilisé pour analyser la présence d'AP d'héliotropium dans les échantillons de blé.

94. Une des activités actuelles concernant le développement de méthodes liées aux AP est le projet financé par l'Union européenne CONFIDENCE. Ce grand projet collaboratif du 7^{ème} programme-cadre de la Communauté européenne en matière d'alimentation, d'agriculture, de pêches et de biotechnologie, s'étend de 2008 à 2012 sous la coordination de RIKILT, l'institut pour la sécurité des aliments de Wageningen, aux Pays-Bas. Le projet est axé sur le développement de la détection simple, rapide, multianalyte et multi-catégorie pour une variété d'analytes, y compris quelques AP. Dans le plan de travail 4a (alcaloïdes) du projet, les méthodes sur bandelettes réactives à base d'anticorps sont en cours de développement. Pour les AP, l'accent est actuellement mis sur la détection de la jacobine et de la lycopsamine dans le miel et dans les aliments pour animaux. Les anticorps ont aussi une réaction croisée avec plusieurs autres AP, qui peuvent par conséquent, en principe, être également détectés. Il est prévu que les prototypes des bandelettes réactives soient largement testés en 2011, suivi des validations inter-laboratoires en 2011 et en 2012. Le projet se terminera dans le courant de 2012. Les tests sur bandelettes réactives sont particulièrement utiles pour les essais en plein champ. La limite de détection ciblée est de 50 µg/kg.

OCCURRENCE DANS LES ALIMENTS DE CONSOMATION HUMAINE ET ANIMALE

95. On pense que les humains sont exposés aux AP par le biais des produits végétaux (principalement les produits à base d'herbes médicinales et les cultures contaminées), ou des produits dérivés des animaux

comme le miel, le lait, les œufs et les abats (ANZFA, 2001). Les niveaux des AP et autre information sur l'occurrence telle que recueillie dans les évaluations des risques sont résumés ci-après. Les détails sur les études récentes figurent en ANNEXE VI.

Végétaux en général

96. La teneur en AP des végétaux a été signalée comme variant généralement de 100 mg/kg de poids sec à 40,000 mg/kg de poids sec, bien que la teneur la plus élevée ait été signalée à 180,000 mg/kg de poids sec dans le séneçon sud-africain (*Senecio riddelli*). La quantité d'AP présents dans une plante dépend de la saison et de l'endroit. Par ailleurs, différentes parties de la plante contiennent des niveaux différents d'AP, dont la majorité qui est présente sont généralement les PANO (OMS, 1988, ANZFA, 2001). La liste des végétaux contenant des AP, y compris leur nom courant et les AP contenus, établie sur la base des références utilisées dans le présent document de travail, figure en ANNEXE I.

Aliments de consommation humaine

Céréales

97. Les produits végétaux contenant des AP, généralement les graines, peuvent contaminer les produits de base et peuvent être consommés de façon prolongée dans le temps (OMS, 1988). L'IPCS n'a pas fourni de données quantitatives.

98. La principale source d'intoxication aux AP dans les pays en voie de développement sont les céréales, en raison de la contamination des graines des végétaux producteurs d'AP, y compris, par ex.: les espèces de séneçon du Cap (*Senecio inaequidens*), *Senecio ilicifolius* (nom courant inconnu), de charmac (*Heliotropium popovii*), d'héliotrope européen (*Heliotropium europaeum*) et d'herbe aux punaises (*Crotalaria*) (AESA, 2007).

99. Une contamination substantielle des denrées céréalieres a été enregistrée dans différents pays en raison à la fois de la contamination par les graines de mauvaises herbes contenant des AP qui poussent dans les cultures ainsi que des fragments de poussière végétale provenant des mêmes plantes. Les niveaux d'AP contenus dans les différentes denrées céréalieres en Australie vont de <50 à >6000 µg/kg, mais aucune analyse systématique des niveaux contenus dans les céréales qui entrent dans la filière alimentaire n'a été faite. Il n'existe aucune donnée permettant d'indiquer si les AP sont présents dans les cultures oléagineuses (ANZFA, 2001).

Études récentes

100. Lors d'une épidémie de maladie veino-occlusive en Afghanistan occidental (2008), les échantillons de farine de blé prélevés dans les ménages des cas étudiés contenaient des niveaux d'héliotrine de 0,16 mg/kg, d'héliotrine N-oxyde de 5,4 mg/kg et de lasiocarpine de 0,045 mg/kg. Les niveaux d'AP dans les échantillons des ménages de contrôle étaient deux fois plus faibles que les ménages non affectés (Kakar et al., 2010).

101. Dans une étude iranienne, les AP ont été analysés qualitativement et quantitativement dans des échantillons de blé et de farine provenant d'exploitations agricoles de la province de Mazandaran. Le séneçon commun (*Senecio vulgaris*) y était abondant et a été identifié comme la source des AP détectés dans les échantillons de blé et de farine (Azadbakht & Talavaki, 2003).

Préparations à base d'herbes médicinales

102. Un aperçu de certains végétaux contenant (ou suspectés de contenir) des AP, qui ont été utilisés par l'homme en tant que remèdes à base de plantes ou en tant qu'aliments a été réalisé par l'IPCS, mais aucune information sur la teneur en AP n'est disponible (OMS, 1988).

103. L'exposition aux AP peut aussi résulter de la consommation intentionnelle de produits à base d'herbes médicinales, de compléments alimentaires, de tisanes ou de feuilles de végétaux contenant des AP qui sont utilisées dans les salades ou autres. Les exemples sont les espèces des genres *Cynoglossum* (langue de chien (*Cynoglossum officinale*)), *Heliotropium* (héliotrope européen (*Heliotropium europaeum*)), *Symphytum* (consoude commune (*Symphytum officinale*)), *Senecio* spp. (séneçon doronic (*Senecio doronicum*), séneçon de Jacob (*Jacobaea vulgaris*), séneçon commun (*Senecio vulgaris*)), *Adenostyles* spp. (*Adenostyles alliariae* (Grey *adinostyle*)), *Petasites* spp. (pétasite commun (*Petasites hybridus*), pétasite blanc (*Petasites albus*)) et *Crotalaria* spp. (sonnette (*Crotalaria retusa*)). La plante qui a été la plus utilisée

en tant qu'agent thérapeutique est la consoude. Cependant, compte tenu de son hépatotoxicité, l'emploi de la consoude dans les applications médicales a fait l'objet de restrictions dans la plupart des pays et son emploi n'est autorisé que dans les préparations à usage cutané local (AESAs, 2007).

Salade

104. En Allemagne, le séneçon commun (*Senecio vulgaris*) a été détecté en tant que contaminant dans un mélange de salades. Le BfR a réalisé l'évaluation des risques à partir de la quantité détectée de 1,7 pour cent de séneçon commun dans le mélange de salades et d'une étude dans laquelle les niveaux d'AP dans les capitules de séneçon commun ont été déterminés. Sur la base de la mesure des niveaux d'AP dans les capitules de l'ordre de 630 à 1000 µg AP/g de poids humide, on a calculé que la salade contenait de 10,7 à 17 µg d'AP/g de salade. L'incertitude provient des matériaux végétaux, autres que les capitules, présents dans la salade (BfR, 2007a).

Lait

105. Les concentrations d'AP dans le lait ne sont disponibles qu'à partir des expériences de transfert. Le lait de vache contient des niveaux d'AP situés entre 0,47 et 0,84 mg/L quand les vaches sont exposées au séneçon de Jacob séché (*Jacobaea vulgaris*) dont la teneur en AP est de 0,16 pour cent (poids sec) à un taux de dosage de 10 g/kg de poids corporel par jour pendant plus de 125 jours (Dickinson et al., 1976, cité par l'AESA, 2007). Le lait de chèvre soumis au même régime de dosage a montré des concentrations moyennes d'AP (AP totaux non spécifiés) de 381 µg/L (de 225 à 530 µg/L, Dickinson, 1980, cité par l'OMS, 1988). Dans une autre expérience, le lait de chèvre contenait une concentration moyenne de 7,5 ng d'AP/g de poids sec pendant l'exposition des chèvres à une alimentation contenant 25 pour cent (environ 123 g/jour par chèvre) de séneçon de Jacob séché. La teneur en matière sèche du lait était de 12 pour cent, qui se traduit par une teneur moyenne en AP de 62,5 µg/kg de lait (Goeger et al., 1982, cité par l'OMS, 1988). Cependant, cette étude ne mentionne aucune correction pour le taux de récupération généralement faible d'environ 20 pour cent d'AP dans le lait (AESAs, 2007).

Œufs

106. Dans les œufs australiens, les niveaux d'AP liés aux aliments pour animaux contaminés ont été détectés dans une fourchette de 5 à 168 µg/kg (Edgar & Smith, 2000; ANZFA, 2001).

Viande

107. Aucune donnée d'occurrence n'a été trouvée sur les AP dans la viande, seules les données provenant d'expériences de transfert sont disponibles (voir paragraphe 8.2).

108. Il est peu probable que des niveaux significatifs d'AP libres, non liés soient décelables dans la viande (tissu musculaire), mais il se pourrait que des adduits d'AP aux protéines soient présents. Comme le métabolisme des AP se produit essentiellement dans le foie, cet organe pourrait contenir des niveaux significatifs d'adduits d'AP aux protéines et à l'ADN. On ne sait pas si ces adduits présentent un risque toxicologique pour le consommateur et s'ils peuvent se libérer dans des conditions physiologiques ou dans le tractus intestinal. Une méthode analytique pour la détection des adduits d'AP dans le sang et le tissu hépatique a été décrite (Mattocks et Jukes, 1990, 1992; Stegelmeier et al, 1996), et appliquée dans un nombre limité d'études sur les animaux (voir section 8.2).

Miel

109. Aux États-Unis, Deinzer et al. (1977) ont cité tous les AP contenus dans le séneçon de Jacob (*Jacobaea vulgaris*) présents dans le miel secrété par les abeilles qui butinent cette plante. La teneur totale en alcaloïdes se situait entre 0,3 et 3,9 mg/kg. Il a été estimé qu'une ingestion humaine annuelle moyenne de miel (600 g) au niveau le plus élevé cité pour les alcaloïdes contiendrait moins de 3 mg d'AP (Mattocks, 1986). Culvenor et al. (1981) et Culvenor (1983, 1985) ont attiré l'attention sur le même risque potentiel lié au miel issu de la vipérine faux-plantain/vipérine pourpre (*Echium plantagenium*), une mauvaise herbe qui est très répandue dans le sud de l'Australie. L'échimidine est la composante principale des alcaloïdes de *Echium* spp., qui sont présents en concentrations allant jusqu'à 1 mg/kg. Culvenor (1983) a estimé que les individus pouvaient consommer jusqu'à 80 g miel/jour pour une ingestion d'alcaloïdes correspondante de 80 µg/jour, si seul le miel d'*Echium* est consommé. Aucun rapport de toxicité humaine aiguë due à cette source n'est disponible (OMS, 1988). Il est possible qu'il y ait un certain nombre de végétaux contenant des AP qui soient encore inconnus et qui contribuent à la contamination du miel par les AP.

110. Dans le miel australien, des niveaux d'alcaloïdes allant jusqu'à 1 mg/kg ont été enregistrés avec des ruches dont les abeilles butinent exclusivement sur *Echium* spp. (Culvenor, 1983, cité par ANZFA, 2001). En 2004, FSANZ a signalé que des échantillons de miel australien contenaient des niveaux allant jusqu'à 2 mg/kg d'AP bien qu'il ait été noté que les mélanges pourraient réduire substantiellement ce niveau. Les niveaux les plus élevés ont été détectés dans le miel issu de la vipérine faux-plantain/vipérine pourpre (*Echium plantagenium*) (ANZFA, 2001).

111. Dans une enquête menée au Royaume-Uni en 1994, des échantillons de miel ont été collectés dans des ruches placées près de séneçon (*dont l'espèce est mal définie*), ou obtenu auprès de producteurs directs et d'un petit détaillant indépendant. Huit échantillons sur 23 contenaient du pollen de séneçon et six d'entre eux contenaient des niveaux décelables d'AP. Les deux échantillons de miel dont les niveaux étaient les plus élevés étaient des échantillons foncés, cireux, et comme ils avaient mauvais goût, ils ne pourraient pas être mélangés à d'autres miels. A l'exception de ces deux échantillons, le niveau d'AP le plus élevé a été détecté à 0,06 mg/kg mais la méthode utilisée pour cette analyse n'a pas été signalée. Sur la base des données de consommation maximale de miel à un moment donné pour les adultes (93g), les enfants (60g) et les nourrissons (32g), les auteurs ont conclu que la consommation d'AP liée au miel de production locale n'était pas source de préoccupation (MAFF, 1995 cité par COT, 2008).

112. Une étude de 2002 sur les AP dans le miel a noté que le niveau le plus élevé identifié de 3,9 mg d'AP/kg était contenu dans le miel issu du séneçon de Jacob (*Jacobaea vulgaris*). (Edgar et al., 2002 cité par COT, 2008).

113. L'étude d'Edgar et al. (2002) a aussi été utilisée par l'AESA (2007) pour examiner les concentrations d'AP dans le miel. Dans le miel essentiellement issu du séneçon de Jacob (*Jacobaea vulgaris*) on a détecté jusqu'à 3,9 µg/g d'AP (non corrigé pour efficacité d'extraction, estimée à 50 – 70 pour cent). Le niveau enregistré le plus élevé (non corrigé) pour les AP dans le miel, issu de la vipérine faux-plantain/vipérine pourpre (*Echium plantagenium*) a été signalé à 0,95 µg/g. Par ailleurs, on a découvert que le genre qui contient les végétaux producteurs d'AP représente une part importante de toutes les plantes utilisées dans la production du miel. En Europe, le miel issu des genres végétaux suivants fait l'objet de considérations: *Borago*, *Cynoglossum*, *Echium*, *Myosotis*, *Petasites*, *Senecio* et *Tussilago*. Dans les pays autres que ceux de la Communauté européenne, les genres végétaux *Ageratum*, *Chromolaena*, *Crotalaria*, *Eupatorium* et *Heliotropium* sont aussi des sources potentielles de contamination du miel.

114. L'autorité hollandaise pour la sécurité de l'alimentation et de la consommation (VWA) a analysé des échantillons de miel pour leur teneur en AP. 171 d'entre eux étaient des échantillons de miel commercialisé d'origine hollandaise ou d'importation et huit provenaient de ruches placées intentionnellement dans des zones d'occurrence élevée de séneçon de Jacob (*Jacobaea vulgaris*). Parmi les échantillons commercialisés, 28 pour cent contenaient des AP à des niveaux situés entre 0,001 et 0,365 mg/kg. Quatre sur les huit échantillons non commercialisés contenaient des niveaux décelables d'AP dont le plus élevé était de 0,010 mg/kg. La densité pollinique a indiqué que les abeilles avaient butiné sur beaucoup d'autres plantes autres que le séneçon (VWA, 2007).

Études récentes

115. Très récemment, Kempf et al. (2010a,b) a examiné les données d'occurrence disponible pour les AP contenus dans le miel et les produits à base de miel. Dans les 17 produits à base de pollen commercialisés sur 55, qui ont été analysés par la méthode CGHR-ESI_SM paramètre global (limite de quantification - LOQ 10 µg/kg d'équivalents de rétronécine, soit approximativement 22 µg/kg d'AP), les AP ont été détectés. Les concentrations détectées se situaient entre 1,08 mg/kg et 16,35 mg/kg d'équivalents de rétronécine (soit approximativement entre 2,2 et 35 mg/kg d'AP) (Kempf et al. 2010a). Kempf et al (2008) a analysé 216 miels recueillis en Europe et dans des magasins en ligne par la méthode du paramètre global. Dans 19 échantillons les AP ont été détectés dans une fourchette de 19 à 120 µg/kg d'équivalents de rétronécine (soit approximativement entre 40 et 250 µg/kg d'AP). Un groupe de certains miels issus d'*Echium* et d'*Eupatorium* a été analysé par la méthode du paramètre global et la méthode CLHP-ESI-SM/SM dans laquelle les AP individuels ont été quantifiés (Kempf et al. 2011). Une bonne corrélation a été établie entre les deux méthodes.

116. Par ailleurs, les analyses commerciales en Allemagne de 8000 échantillons de miel brut importé (Raezke, 2010, voir ANNEXE VI), a révélé que l'échimidine, la lycopsamine et la lycopsamine N-oxyde sont les AP les plus fréquents dans le miel. La quantité moyenne d'AP dans les échantillons de miel brut était

de 36 µg/kg, alors que le maximum détecté était de 3,3 mg/kg. Dans quatre études différentes menées sur les miels vendus au détail en Allemagne, la quantité moyenne d'AP détecté était entre 9,1 et 22,9 µg/kg, alors que la quantité maximum détectée allait de 31 à 150 µg/kg.

Aliments de consommation animale

117. L'IPCS n'a présenté aucune information sur les niveaux d'AP dans les aliments de consommation animale dans son évaluation (OMS, 1988).

118. Dans l'évaluation de l'AESA, les données disponibles pour les espèces animales d'élevage n'ont pas permis d'établir des niveaux de tolérance par AP individuel dans les aliments pour animaux. Le niveau exact d'exposition pour les animaux d'élevage n'a pas pu être estimé en raison de la variabilité élevée dans la teneur en alcaloïdes dans les végétaux ainsi que la variabilité dans les régimes alimentaires des animaux (AESA, 2007).

Études récentes

119. Mulder et al., (2009) a mené une enquête sur l'occurrence des alcaloïdes de pyrrolizidine dans le fourrage animal produit aux Pays-Bas de 2006 à 2008. Les catégories de fourrage animal prélevé comprenaient l'ensilage, le foin, l'herbe séchée (artificiellement) et la luzerne. Au total, 147 échantillons ont été analysés pour leur teneur en AP par la méthode CL-SM-SM. La cible était les AP types du séneçon de Jacob (*Jacobaea vulgaris*), le séneçon du Cap (*Senecio inaequidens*) et le séneçon commun (*Senecio vulgaris*). Les quantités d'AP détectées se situaient entre une valeur inférieure à la limite de détection (10 µg/kg) et 5401 µg/kg pour la luzerne. Les concentrations moyennes se situaient entre une valeur inférieure à la limite de détection et 476 µg/kg. Des concentrations d'AP élevées ont été détectées dans la luzerne, avec une moyenne de 455 µg/kg, soit 30 fois ou plus la concentration moyenne obtenue pour l'ensilage, l'herbe séchée et le foin.

120. La comparaison avec les échantillons des végétaux de référence a révélé que dans la plupart des cas, les échantillons de fourrage étaient contaminés par le séneçon commun (*Senecio vulgaris*). A deux reprises seulement on a noté la présence d'autres espèces de séneçon (*Senecio* spp.) dans le fourrage. L'échantillon de foin contaminé contenait des AP qui n'ont pas pu être directement associés à une des trois espèces de séneçon mentionnées dans cette étude, mais il s'agissait vraisemblablement d'une espèce de séneçon apparentée. L'échantillon d'herbe séchée contaminé contenait un mélange composé principalement de séneçon commun associé à une petite quantité de séneçon de Jacob (*Jacobaea vulgaris*).

Analyse des données d'occurrence

121. Une première analyse a été faite des principaux végétaux et des AP cités dans les études qui décrivent la contamination par les AP de différentes catégories d'aliments de consommation humaine et animale dans des études principalement récentes. Les résultats sont résumés dans le tableau 4 ci-dessous. Il importe de noter que cette analyse est affectée par la disponibilité limitée, telle que mentionnée précédemment, de normes de référence analytique. Il se pourrait que d'autres AP pour lesquels aucune norme de référence n'était disponible (ou n'a été utilisée) soient concernés.

Tableau 4: Végétaux et leurs AP détectés dans différentes denrées de consommation humaine et animale

Aliments de consommation humaine/animale	Denrée	Genre/espèce végétale	Principaux AP	Références (sélection)
Aliment de consommation humaine (ou remèdes traditionnels)	Remèdes à base de plantes et tisanes	<i>Symphytum</i> <i>Tussilago</i> <i>Senecio</i> <i>Crotalaria</i> <i>Heliotropium</i>	(Acétyl)lycopsamine (Acétyl)intermedine Symphytine Echimidine Adonifoline Monocrotaline Fulvine Sénécionine Senkirkine Héliotrine	Roeder, 1995 Roeder, 2000 Coulombe, 2003 Fu et al, 2007 Wiedenfeld et Edgar, 2010
Aliments de consommation humaine	Blé, céréales	<i>Heliotropium</i> <i>Crotalaria</i> <i>Senecio</i>	Héliotrine Lasiocarpine Europine Monocrotaline Trichodesmine Sénécionine	Stewart et Steenkamp, 2001 Coulombe, 2003 Wiedenfeld et Edgar, 2010
Aliments de consommation humaine	Salades	<i>Senecio vulgaris</i>	Sénécionine Sénéciphylline Rétorsine	BfR, 2007
Aliments de consommation humaine	Lait	<i>Senecio jacobaea</i>	Jacoline	Dickinson et al, 1976 Hoogenboom et al, 2011
Aliments de consommation humaine	Œufs	<i>Senecio</i> <i>Heliotropium</i>	Sénécionine Héliotrine	Edgar et Smith, 2000
Aliments de consommation humaine	Miel Pollen à miel	<i>Echium</i> <i>Cynoglossum</i> <i>Borago</i> <i>Eupatorium</i> <i>Symphytum</i> <i>Senecio</i>	(Acétyl)lycopsamine (Acétyl)échimidine Sénécionine Sénéciphylline Rétorsine	Edgar et al, 2002 VWA, 2007 Kempf et al, 2008 Raezke et al, 2010a
Aliments de consommation animale	Foin, herbe, fourrage composé	<i>Senecio</i> <i>Echium</i> <i>Heliotropium</i> <i>Crotalaria</i> <i>Amsinckia</i>	Sénécionine Sénéciphylline Rétorsine Jacobine Erucifoline Lycopsamine Echimidine Héliotrine Monocrotaline Rétusamine	AESA, 2007 Mulder et al, 2009 Wiedenfeld et Edgar, 2010 Fletcher et al, 2011
Aliments de consommation animale	Luzerne	<i>Senecio vulgaris</i>	Sénécionine Sénéciphylline Rétorsine	Mulder et al, 2009

122. La compilation des données citées ci-dessus permet d'établir la liste de la plupart des AP détectés, qui est présentée ci-après². Il convient de noter que les AP importants varieront selon le pays/la région et la prévalence des végétaux contenant des AP. Une grande partie des données contenues dans le tableau ci-dessus provient de l'Europe et peuvent être d'une pertinence limitée dans d'autres régions. Par ailleurs, cette

² Bien que les remèdes à base de plantes soient inclus dans le présent document de travail à titre d'information, ceux-ci sont considérés comme des applications médicinales et par conséquent sortent du champ d'action du CODEX et les AP concernés ne sont pas inclus dans la liste des AP à évaluer.

liste peut être incomplète car il n'y a eu aucune contribution de la part des autres principales nations productrices de céréales et de viande. Par ailleurs, il convient de noter que cette liste ne s'appuie que sur l'occurrence, la toxicité n'a pas été prise en compte.

Dans les aliments de consommation humaine:	Dans les aliments de consommation animale:
(Acétyl)echimidine	Échimidine
(Acétyl)lycopsamine	Érucifoline
Europine	Héliotrine
Héliotrine	Jacobine
Jacoline	Lycopsamine
Lasiocarpine	Monocrotaline
Monocrotaline	Rétorsine
Rétorsine	Rétusamine
Sénécionine	Sénécionine
Sénéciphylline	Sénéciphylline
Trichodesmine	

CONTAMINATION DE L'ALIMENTATION HUMAINE PAR LES ANIMAUX

Lait

123. La plupart des études sur le transfert des AP de l'alimentation animale au lait ont été exécutées sur les vingt dernières années. Les organismes d'évaluation des risques font la plupart du temps référence aux études de Schoental, 1959, Dickinson et al., 1976, Eastman et al., 1982, Goeger et al., 1982, Panter et James, 1990, et Molyneux et James, 1990.

124. L'IPCS a conclu en 1988 que les AP sont transmis de l'alimentation animale dans le lait en s'appuyant sur des études sur les rats, les chèvres et les vaches, et qu'ils peuvent provoquer des dommages via cette route chez les nourrissons. Toutefois, ils ont affirmé « qu'aucun rapport de cas de toxicité aiguë causée par la consommation des produits lactés contaminés était disponible auprès du groupe de travail » (OMS, 1988).

125. Basés sur les études consacrées au transfert des AP de l'alimentation animale dans les tissus comestibles des animaux fermiers (vaches laitières et brebis en lactation), il est probable que pas plus d'environ 0,1 pour cent de la base alcaloïde ingérée ne sera excrétée dans le lait. Les AP et les PANO sont connus pour être excrétés dans le lait de vache, par conséquent le lait peut être une source pertinente d'AP lorsqu'il est obtenu d'un animal unique qui a ingéré des quantités considérables d'AP. Suite au groupage du lait il est improbable que des expositions importantes viennent de cette source. En relation avec le lait humain, des AP ont été trouvés dans le lait humain durant des épidémies d'empoisonnement par les AP et des cas de maladie veino-occlusive sont apparus à la fois chez les nouveaux-nés et les autres nourrissons par ce biais (ANZFA, 2001, AESA, 2007).

126. Dans une étude du Royaume-Uni, 21 échantillons en vrac de lait ont été analysés. Les échantillons de lait ont été prélevés dans une zone avec l'incidence reportée la plus élevée d'empoisonnement au séneçon dans le bétail dans les deux années antérieures à l'étude. Aucune sénécionine, sénéciphylline ou jacobine n'ont été détectées dans les échantillons et il a été conclu qu'il était improbable que des niveaux détectables soient présents autre part dans le Royaume-Uni. COT a affirmé que c'était une pratique commerciale commune au Royaume-Uni d'acheter en gros des échantillons de lait de toutes les vaches dans une ferme et également à la laiterie ce qui résulte en une dilution des AP s'ils sont présents (MAFF, 1988, cité par COT, 2008).

127. Dans une étude non incluse dans les évaluations de risques ci-dessus, le transfert d'AP radiomarqués dans le lait de vache a été examiné. Une vache laitière a reçu une dose orale unique de 1 mg/kg pc de sénéciphylline radiomarquée. Les taux de la sénéciphylline dans le sang ont atteint une valeur maximale de 120 ng / mL en 1 heure (calculés à partir des niveaux de radioactivité), sont restés dans cette gamme pour environ 20 heures et puis ont diminué rapidement à 11 ng/mL après 54 heures. Dans le lait, des niveaux de 11 ng/mL ont été détectés après deux heures et ont atteint un maximum de 102 ng/mL 14 heures plus tard. 64

heures après l'administration, 5 ng/mL était toujours détectable. La quantité totale calculée de sénéciphylline trouvée dans le lait était de 900 µg ou 0,16 pour cent de la dose donnée. Après 16 heures, 11,3 pour cent de la radioactivité était extractible en tant qu'alcaloïdes libres et 2,9 pour cent en tant que N-oxydes. Après 27 heures, ces valeurs étaient de 15,1 pour cent et 11,2 pour cent, respectivement (Candrian et al., 1991).

Étude récente

128. Hoogenboom et al. (2011) ont étudié le transfert possible des AP issus de l'alimentation animale contaminée dans le lait de vache. Pour examiner le transfert possible des AP issus de l'alimentation animale dans le lait, les vaches ont reçu pendant trois semaines une ration avec des quantités croissantes (50-200 g/jour) de séneçon séché. Le lait a été collecté et échantillonné deux fois par jour; les matières fécales et l'urine deux fois par jour. Pour le lait, une dose liée à l'occurrence des AP a été trouvée. La jacoline était le composant majeur dans le lait bien qu'étant un composant mineur dans le séneçon. Pratiquement aucun N-oxyde n'a été observé dans le lait, en dépit du fait qu'il constituait 80 pour cent des AP dans le séneçon. Le transfert global des AP a été estimé à environ 0,1 pour cent, mais pour la jacoline de 4 pour cent. Les auteurs ont affirmé que l'analyse des échantillons des matières fécales et de l'urine indiquait qu'un métabolisme substantiel des AP avait lieu.

Viande et organes

129. La présence possible des AP ou de leurs métabolites dans la viande des animaux nourris avec des aliments contenant des AP avant l'abattage a été évaluée antérieurement (OMS, 1988, ANZFA, 2001, AESA, 2007 et COT, 2008), et la possibilité de toxicité étant causée à travers ce médium a été évaluée comme basse.

130. Dans les foies et les reins pour la consommation humaine issus des animaux domestiqués, des niveaux d'AP (inconnus si adduit d'AP ou non lié) de <0,010 à 0,073 mg/kg ont été trouvés (ANZFA, 2001).

131. Dans l'étude de Candrian et al. (1991, décrite sous « lait »), la vache laitière était abattue 21 jours après l'administration de sénéciphylline et le foie était examiné. La radioactivité mesurée correspondait à la concentration en sénéciphylline de 40 ng/g dans le foie frais. Ceci était 0,06 pour cent de la dose (1 mg/kg pc) ou 340 µg d'AP. Aucune radioactivité n'était mesurée dans l'eau retirée (LOD = 0,5 ng/mL).

Étude récente

132. Fletcher et al. (2011) ont examiné les risques issus des végétaux contenant des AP pour le bétail et la qualité de la viande dans l'Australie du Nord. Ils ont observé différentes espèces de crotalaire (*Crotalaria* spp.), d'héliotrope bleu (*Heliotropium amplexicaule*) et d'épilobe à feuille étroite (*Senecio brigalowensis*). *C. novae-hollandiae* subsp. *novae-hollandiae* (nom commun inconnu) chémotype 2 était donné à pâture à des broutards (110-120 kg) pendant six semaines à 5,5 mg/kg pc/jour. Les AP totaux dans le sang généralement plafonnaient autour des journées 7-28 avec des niveaux allant jusqu'à 150 µg/kg. Les AP totaux du muscle et du foie ont établi un parallèle avec cette tendance avec des niveaux maximaux allant jusqu'à 250 µg/kg et 2500 µg/kg, respectivement. En outre, tous les AP présents dans la plante ont été détectés dans les tissus mais à des niveaux variables ne reflétant pas les niveaux d'alcaloïde relatifs dans les matériaux végétaux. Les adduits AP ont aussi été détectés dans tous les tissus dans l'ordre: foie > rein ≈ cœur > muscle.

133. L'héliotrope bleu (*Heliotropium amplexicaule*) a été donné en nourriture aux broutards pendant six semaines à 15 mg/kg pc/jour. Les AP dans les tissus étaient à LOQ (1 µg/kg) ou moins. Les adduits d'AP étaient toutefois détectables dans l'ordre suivant foie > rein ≈ cœur ≈ muscle. Également des échantillons de sang du bétail pâturant parmi l'héliotrope bleu (*Heliotropium amplexicaule*) sur les propriétés impliquées dans un programme de contrôle biologique ont été prélevés. L'indicine et l'héliospathine ont été détectées à des niveaux de trace (1-3 µg/kg) dans le sang entier de quatre des 10 animaux dans une de ces six propriétés. L'indicine N-oxyde (2 µg/kg) a été détectée dans le sang entier de seulement un animal sur une propriété différente et des adduits d'AP ont été détectés dans presque tous ces échantillons de sang. La dernière étude concernant l'héliotrope bleue, était une étude sur 50 bovins issus de 10 propriétés là où l'héliotrope bleu était considéré comme une maladie sévère. Des adduits d'AP ont été détectés à des niveaux de trace dans les échantillons de foie de neuf animaux sur 10 issus d'une propriété et d'un animal sur un dans une seconde propriété mais pas dans les foies des animaux des autres propriétés. Les auteurs pensent qu'il est très probable que dans les zones telles que celles-ci où les animaux sont continuellement exposés à l'héliotrope

bleu, il y aura une certaine adaptation par l'animal, c'est-à-dire une destruction accrue de la toxine dans la panse et le foie.

134. L'épilobe à feuille étroite (*Senecio bristolowensis*) a été donné en pâture à des broutards pendant six semaines à raison de 2,5 mg/kg pc/jour. Les alcaloïdes présents dans la plante ont été identifiés en tant que scélérotine (présente de façon prédominante en tant que N-oxyde), la senkirkine, l'otosénine, et la désacétyldorinine, florosénine et dorinine. Des AP libres ont été détectés dans le sang et dans le foie, tendant à un palier après deux à trois semaines avec des niveaux allant jusqu'à 90 µg/kg dans le sang et jusqu'à 400 µg/kg dans le foie, mais diminuant alors à la fin de l'essai à des niveaux de 30 et 40 µg/kg, respectivement. Les niveaux du muscle ont suivi une tendance similaire. Les AP identifiés étaient tous du type otosénine, aucune scélérotine ni son N-oxyde n'ont été détectés dans le tissu, même si celle-ci est l'AP principal dans la plante. Des adduits d'AP ont été trouvés dans tous les tissus dans l'ordre: foie > rein > cœur ≈ muscle. En outre une étude des résidus d'AP dans la viande du bétail provenant de zones où l'épilobe à feuille étroite était dominant a été effectuée. Des concentrations basses d'adduits d'AP ont été détectées dans les foies de 80 pour cent des animaux examinés à des niveaux approximativement de 1-10 pour cent de ceux mesurés dans les foies des veaux dans l'expérience d'alimentation.

Œufs

135. IPCS n'as pas rapporté d'informations sur le transfert possible des AP de l'alimentation animale aux œufs (OMS, 1988).

136. A la fois l'AESA (2007) et le COT (2008) ont révisé une étude turque sur le transfert possible des AP de l'alimentation animale aux œufs. Les AP libres n'ont pas été détectés dans les œufs de ponte des poules nourries jusqu'à 4 pour cent de sénéçon printanier (*Senecio vernalis*). Les auteurs originaux ont considéré que cela était peut être dû aux résidus dont la quantité était inférieure au niveau de détection, indiqué à 0,4 mg de résidu dissout/ml, ou des AP liés aux protéines d'œufs, mais ils ont noté que l'ingestion d'alimentation animale réduite et la production d'œufs apparaissait à des niveaux d'alimentation animale de 2 et 4 pour cent (Eröksüz et al. 2003, cité par l'AESA, 2007 et COT, 2008).

137. Une étude contrastée a été examinée par COT (2008), dans laquelle les œufs issus de poulets nourris au blé contaminé contenant 26 mg/kg d'AP (héliotrine, europine et lasiocarpine), jusqu'à 0,168 mg/kg d'AP étaient détectés (Edgar et Smith, 2000, cité par COT 2008). Comme l'étude originale ne pouvait pas être obtenue, on ne sait pas si les AP étaient présents en tant que PANO dans l'alimentation animale et/ou les tissus animaux.

Étude récente

138. Eröksüz et al. (2008) ont réalisé une étude de transfert des AP dans la caille des blés. En tout, 160 cailles de blés japonaises (80 mâles et 80 femelles) ont été divisées en quatre groupes (trois groupes d'essai et un groupe de contrôle). Les groupes d'essai ont reçu une alimentation contenant des parties aérielles (feuilles, tiges et fleurs) du sénéçon printanier (*Senecio vernalis*, groupe SV), *Heliotropium dolosum* (groupe HD, nom commun inconnu), ou *Heliotropium circinatum* (groupe HC, nom commun inconnu) à un niveau de 30 pour cent pour six semaines, et le groupe de contrôle a été nourri à 0 pour cent afin d'évaluer la toxicité parentérale et progéniale, en même temps que le transfert des résidus d'alcaloïdes à leurs œufs. La teneur en AP dans l'alimentation animale était de 390 mg/kg dans le groupe HD, 450 mg/kg dans le groupe HC, et 420 mg/kg dans le groupe SV. Aucun signe clinique ni mort n'a été observé dans les groupes d'essai; toutefois la production des œufs et l'éclosivité ont diminué de façon importante dans tous les groupes d'essai, par rapport au groupe de contrôle. Malgré l'occurrence de changements biochimiques et histopathologiques dans les cailles des blés parentérales, aucun changement remarquable n'a été observé dans leur progéniture sur les journées post-éclosion 0, 10, 20, 30, ou 40. La chromatographie gazeuse et la spectrométrie de masse (GC-MS) pour l'analyse des œufs ont indiqué la présence de 8,66 µg/g de l'AP europine dans le groupe HD, 19,05 µg/g d'europine et 1,46 µg/g d'héliotrine dans le groupe HC et 3,21 µg/g de la sénécionine dans le groupe SV à la fin de l'étude. Les auteurs ont conclu que les résultats de l'étude ont fourni les preuves expérimentales que les alcaloïdes ont été transférés dans les œufs des cailles des blés alimentées avec des doses élevées de matériaux végétaux contenant des AP.

Miel

139. Il y a beaucoup de données démontrant la présence des AP dans le miel (voir Section 7.3.7). IPCS (OMS, 1988) a conclu à partir d'un exemple de contamination à grande échelle que la source des AP dans le

miel était le nectar et le pollen issus d'une mauvaise herbe commune riche en AP sur laquelle les abeilles ont butiné (OMS, 1988).

140. Le nombre de sources végétales est un facteur considérable dans la teneur en AP des miels. Les niveaux d'AP dans le miel dérivé d'une espèce unique de végétal peut contenir jusqu'à plusieurs μg d'AP par gramme et en particulier les miels unifloraux sont à risque, car dans les miels multifloraux une certaine dilution réduit les concentrations d'AP dans le produit final (Edgar et al, 2002, cité par AESA, 2007). Ceci est soutenu par les résultats obtenus pour le miel australien, selon lesquels des niveaux d'alcaloïdes allant jusqu'à 1 mg/kg ont été enregistrés dans des ruches où les abeilles ont exclusivement butiné sur l'*Echium* spp. (ANZFA, 2001).

141. COT (2008) a révisé le projet T01037 fondé par l'Agence sur les normes alimentaires « Collection et analyse des échantillons de miel potentiellement contaminés par les alcaloïdes de pyrrolizidine du séneçon et de la bourrache ». Ce projet a enquêté sur la probabilité de contamination à l'AP du miel si les abeilles butinent sur les fleurs de la bourrache (*Borago officinalis*) et du séneçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*)³. Alors que les concentrations en AP dans le miel ne pouvaient pas être quantifiées suite au manque de normes analytiques, elles pouvaient être comparées d'un échantillon de miel à un autre et relativement à la quantité d'AP dans un poids fixé des matériaux végétaux. Six sites avec soit le séneçon jacobée ou la bourrache ont été échantillonnés plusieurs fois durant la saison 2005. Concernant le séneçon jacobée, il a été conclu que même dans des conditions défavorables cette plante ne présentait aucun risque étant donné que ni l'analyse du pollen ni les résultats analytiques n'avaient montré des quantités importantes d'AP. Les miels originaires des sites de *Borago* ont montré des comptes de pollen importants et ont pu être reliés à la détection d'AP (lycopsamine ou intermedine). Une quantification fiable des AP correspondants n'a pas été accomplie toutefois COT a indiqué que ceci « était un projet préliminaire afin de déterminer si une analyse quantitative ultérieure serait requise pour une évaluation des risques. Une norme pour la lycopsamine est maintenant disponible commercialement et l'Agence pour les normes alimentaires prévoit de subventionner plus avant des activités pour l'évaluation des niveaux d'AP dans le miel de bourrache » (LGC, 2007, cité par COT, 2008).

Étude récente

142. Dans des essais d'alimentation avec des abeilles (*Apis mellifera*), un mélange d'AP tertiaires et les N-oxydes correspondants du séneçon printanière (*Senecio vernalis*), la monocrotaline pure, et 1,2-déhydromonocrotaline ont été testés dans des concentrations de 0,02, 0,2 et 2,0 pour cent. Le métabolisme des AP par les abeilles, les effets dissuasifs et le transfert horizontal des AP entre abeilles ont été déterminés (Reinhard et al., 2009). Les abeilles n'ont pas été capables de désintoxiquer les AP à travers l'oxydation N. Les PANO ont été détectés à des concentrations de >0,2%, tandis que les AP 1,2-non saturés tertiaires étaient toxiques en concentrations élevées. La déhydromonocrotaline 1,2- n'a pas révélé d'effets toxiques. Les niveaux de moins de 50 μg d'AP 1,2 non saturés tertiaires étaient bien tolérés, tandis que des niveaux plus élevés ont entraîné la mort. Les auteurs ont affirmé que puisque dans cette étude aucun effet notoire sur la résistance ou la mortalité n'était observé dans les expériences avec le régime d'AP à 0,2 pour cent, les abeilles peuvent faire face de façon fiable aux concentrations d'AP présentes dans leur environnement (prévues à 0,2 pour cent dans les têtes de fleurs). Une expérience sur un transfert horizontal a montré que les abeilles sans contact direct avec les AP contenaient approximativement 4 pour cent (de régime d'AP à 2 pour cent) et 15 pour cent (régime à 0,2 pour cent) de la charge d'AP qui était trouvée dans les abeilles qui avaient un contact direct avec les AP. Les auteurs ont conclu que le transfert horizontal de l'alimentation contaminée à l'AP est donc possible.

PRATIQUES DE GESTION

143. Pour ce document de travail, une première étude a été effectuée des pratiques possibles de gestion pour la prévention et la réduction de la contamination de l'alimentation humaine et de l'alimentation animale par les AP. Celles-ci ont été résumées ci-dessous; les détails sont présentés dans l'ANNEXE VII. Il devrait être noté que les pratiques de gestion décrites dans cette section et dans l'ANNEXE VII sont beaucoup plus

³ Il devrait être noté que le miel produit à partir de la bourrache (*Borago officinalis*) est souvent appelé le miel de la bourrache. Ceci ne devrait pas être confondu avec le miel produit en Nouvelle-Zélande à partir de *Vipers bugloss* (aussi appelé Alpine borage, *Echium vulgare*), qui est appelé bourrache, bourrache bleue ou miel de la bourrache alpine. L'Australie ne se réfère à son miel *Echium plantagenium* en tant que miel de bourrache bleue mais en tant que Paterson's curse ou la Vipérine faux-plantain.

ciblées sur les espèces de séneçon. Cette information était facilement disponible et a pu être recueillie dans le bloc de temps limité de ce groupe de travail électronique. Celle-ci est fournie pour donner une indication des mesures de gestion. Toutefois, pour une révision complète des stratégies de gestion des risques possibles, des pratiques de gestion devraient être recueillies pour d'autres espèces de plantes et de pays/régions.

144. Pour le séneçon jacobée, le contrôle est obligatoire dans certains pays et est inscrit dans la législation. Au Royaume-Uni dans: « Weeds Act 1959 » et dans « Ragwort Control Act 2003 », en Irlande dans: « Noxious Weed Act 1936 », en Nouvelle-Zélande dans: « Biosecurity Act 1993 », et en Friesland, province des Pays-Bas dans « Verordening Jakobskruid 2007 » (Leiss, 2010). En Australie, différents états fédéraux et la législation territoriale ont été promulguées pour le contrôle des végétaux contenant des alcaloïdes de pyrrolizidine, y compris: le séneçon (*Senecio jacobaea*); la vipérine faux-plantain/vipérine pourpre (*Echium plantagineum*); la vipérine (*Echium vulgare*); l'héliotrope bleu et ordinaire (*Heliotropium amplexicaule*, *H. europaeum*), l'épilobe à feuille étroite (*Senecio madagascariensis*), African daisy (*Senecio pterophorus*), Crotalaire (*Crotalaria* spp.)et/ou Xanthium strumarium jaune (*Amsinckia* spp., DSEWPC, 2010).

145. Les pratiques de gestion peuvent être destinées à

- Des mesures de prévention de la propagation des végétaux contenant des AP, à un niveau régional (principalement trouvé pour le séneçon). La connaissance de l'écologie est importante ici, puisqu'il est connu que différentes espèces de plantes contenant des AP ont des écologies différentes même dans un genre. Par exemple, dans une gestion des risques des espèces de séneçon, il a été montré que le séneçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*) croît le plus probablement dans des pâturages endommagés. Le séneçon vulgaire (*Senecio vulgaris*) constitue une récolte typique de mauvaises herbes et a été détecté dans les récoltes de luzerne (VWA, 2010), et ainsi que cela a été indiqué antérieurement dans ce document de travail, il a également été détecté dans la salade (BfR, 2007a);
- Des mesures pour la prévention du contact des animaux produisant de la viande avec ces végétaux, puisque les AP sont transférés de l'alimentation animale à l'alimentation humaine. Ceci inclut le transport des AP contenant du pollen produit par les abeilles;
- Prévention de la contamination des produits alimentaires (comme les salades) par les AP;
- Pratiques pour la réduction des AP dans l'alimentation animale et dans l'alimentation humaine.

146. Il importe de noter que l'efficacité de ces mesures n'a pas été évaluée dans ce document de travail car cela va au-delà du champ d'action de ce groupe de travail électronique. Une analyse complète de toutes les pratiques de gestion disponibles (y compris pour les autres végétaux, les produits alimentaires et les régions) est nécessaire y compris l'évaluation de leur efficacité. Leur valeur en tant que composante d'une stratégie de gestion des risques possible pourrait alors être évaluée.

RECHERCHE ACTUELLEMENT EN COURS

Méthodes d'échantillonnage et analyse

147. Ainsi que cela est décrit dans le chapitre sur les méthodes d'échantillonnage et d'analyse, de nouvelles méthodes rapides de contrôle pour la détection des AP sont actuellement développées dans le programme financé par l'Union européenne *Confidence*.

148. En Allemagne, le BfR développe des méthodes pour la détermination quantitative d'AP dans l'alimentation humaine et dans l'alimentation animale visant la génération de données d'occurrence et l'évaluation de différentes approches pour la quantification. Il est prévu d'utiliser les méthodes validées pour la surveillance.

Données d'occurrence

149. Aux Pays-Bas, le contrôle des AP dans l'alimentation animale se poursuivra. Le contrôle concernera les AP similaires à la lycopsamine, l'échimidine et l'héliotrine.

150. Aux Pays-Bas, une étude est conduite sur les niveaux d'AP dans les études relatives aux régimes totaux. Les résultats sont attendus dans le courant de 2011.

Contamination de l'alimentation humaine par les animaux

151. Ainsi qu'indiqué dans le chapitre sur le transfert, l'Agence sur les normes alimentaires au Royaume-Uni a prévu de financer de nouveaux travaux pour évaluer les niveaux d'AP dans le miel de la bourrache.

152. Aux Pays-Bas, une deuxième étude sur le transfert des AP de l'alimentation animale au lait a été effectuée sur les vaches (fin 2010). Le transfert et le métabolisme des AP présents dans le séneçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*), le séneçon vulgaire (*Senecio vulgaris*) et la vipérine (*Echium vulgare*) sont examinés. Du fromage sera produit à partir du lait contenant des métabolites d'AP pour étudier leur transfert dans les produits dérivés du lait.

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Conclusions

Toxicité

153. Les AP ont un profil de toxicité commun; le foie constitue l'organe cible principal de la toxicité. Des signes majeurs de toxicité dans toutes les espèces animales comprennent des degrés divers de dommage progressif du foie (nécrose centrolobulaire hépatocellulaire), et maladie veino-occlusive. En outre la prolifération de la voie biliaire, la mégaloctose hépatique, et la fibrose du foie sont signalées. Par ailleurs, des effets sur d'autres organes comme les poumons (hypertension pulmonaire), le système cardiovasculaire (hypertrophie ventriculaire cardiaque droite) et des lésions dégénératives dans les reins sont constatés. Des intoxications aiguës ont été décrites chez le bétail et les humains, pour le bétail des cas fatals ont été constatés. Les AP peuvent varier en puissance, les puissances relatives ne sont pas connues actuellement faute de données sur la toxicité orale pour les AP individuels, ce qui entrave l'évaluation des risques liés aux AP.

154. Il y a encore des discussions sur la cancérogénicité possible des AP chez les humains, le CIRC a catégorisé trois AP, la lasiocarpine, la monocrotaline et la riddelliine, en tant que « peut-être cancérogènes chez les humains » (groupe 2B).

155. IPCS a conclu en 1988 que l'exposition alimentaire aux AP devrait être aussi basse que possible, et les autres organismes d'évaluation des risques ont tiré les mêmes conclusions dans les années suivantes. Seules quelques valeurs indicatives à visée sanitaire ont été identifiées, elles sont présentées dans le tableau ci-dessous. Plusieurs rapports de cas récents relatifs aux humains et aux animaux indiquent que les AP de nos jours présentent toujours un risque réel pour la santé.

	Valeur indicative à visée sanitaire (HBGV)	Valeur HBGV ($\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{jour}$)	Référence
AP 1,2-non saturée	TDI	0,1* (>6 semaines) 1* (<6 semaines)	BfR, 1992
AP totaux	PTDI	1	FSANZ/ANZFA, 2001
Riddelliine	TDI	0,1	RIVM, 2005
Riddelliine	TDI	0,1**	COT, 2008
Riddelliine	VSD	0,00043	RIVM, 2005
AP totaux	« ne présentent probablement pas de risque de cancer »	0,007	COT, 2008

* par $\mu\text{g}/\text{personne}/\text{jour}$

** COT a conclu que le taux de valeurs LD50 pouvait être utilisé pour convertir d'autres AP en équivalents de riddelliine pour comparaison avec cette dose

156. Les données sur la toxicité des AP individuels et leur potentiel relatif sont toujours très limitées. Ceci est également le cas pour les données pharmacocinétiques et la toxicité animale comparative (espèces).

Méthodes analytiques

157. Plusieurs méthodes analytiques sont disponibles mais LC-MS est la méthode prédominante employée actuellement. Les limites de détection pour LC-MS varient généralement des (sous) niveaux en ng/ml pour la détection dans le lait et le miel jusqu'à plusieurs 100 ng/g dans les matériaux végétaux.

158. L'indisponibilité de normes de référence restreint le développement et la validation des méthodes. En raison de cette absence de normes, plusieurs documents rapportent en équivalents d'une autre norme de référence mais la fiabilité est souvent imprécise.

159. Des méthodes nouvelles et rapides de sélection sont développées. De nouvelles données d'occurrence dans l'alimentation animale, le miel de bourrache et dans les études de régimes totaux sont actuellement générées.

Occurrence

160. Les végétaux contenant des AP, principalement la consoude officinale, ont été bannis de l'emploi par les humains soit dans l'alimentation ou dans les produits médicinaux. Des limites maximales régionales ou nationales ont été instaurées pour les AP dans les produits alimentaires, 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dans les herbes (Pays-Bas et Belgique).

161. Des données d'occurrence récentes sont disponibles pour différents aliments de consommation humaine et animale. Les aliments qui peuvent être directement contaminés par les AP sont les céréales, les salades (et vraisemblablement d'autres cultures) et les remèdes à base de plantes contaminés dans lesquels des végétaux contenant des AP ont été utilisés.

162. Les produits alimentaires destinés aux humains qui peuvent être indirectement contaminés sont le miel, le lait, les œufs et éventuellement la viande et les abats. Les animaux qui sont en contact avec les AP soit à travers la consommation de végétaux contenant des AP ou l'alimentation animale contaminée (bétail) ou le pollen (abeilles), transmettent les AP dans leurs produits. Dans l'alimentation animale, il y a des limites maximales régionales pour les semences contenant des AP dans l'alimentation animale, par ex. 3000 mg (100 mg pour *Crotalaria* spp.) par kg (UE, 2010).

163. Une première analyse de l'occurrence et des données expérimentales indique que les AP qui sont les plus souvent détectées dans l'alimentation humaine et animale sont⁴

⁴ Bien que les remèdes à base de plantes soient inclus dans le présent document de travail à titre d'information, ceux-ci sont considérés comme des applications médicinales et par conséquent sortent du champ d'action du CODEX et les AP concernés ne sont pas inclus dans la liste des AP à évaluer.

Dans l'alimentation humaine:

(Acétyl)échimidine
 (Acétyl)lycopsamine
 Europine
 Hélotrine
 Jacoline
 Lasiocarpine
 Monocrotaline
 Rétrorsine
 Sénecionine
 Sénéciphylline
 Trichodesmine

Dans l'alimentation animale:

Echimidine
 Erucifoline
 Hélotrine
 Jacobine
 Lycopsamine
 Monocrotaline
 Rétrorsine
 Rétusamine
 Sénecionine
 Sénéciphylline

164. Il importe de noter que cette liste est basée sur l'occurrence uniquement, la toxicité n'a pas été prise en compte. Par ailleurs, cette analyse est influencée par la disponibilité restreinte des normes de référence analytiques. Il est probable que d'autres AP pour lesquels il n'y avait pas de normes de référence disponibles (ou utilisées) soient aussi d'intérêt. En outre, on devrait noter que l'importance des AP variera selon le pays/région et la prévalence des végétaux contenant des AP. La liste ci-dessus est basée sur les données européennes qui peuvent avoir une pertinence limitée dans les autres régions, davantage de données issues d'autres régions sont nécessaires pour un aperçu plus précis.

Pratiques de gestion

165. Plusieurs pratiques de gestion ont été appliquées pour réduire une éventuelle exposition; comme le contrôle de la propagation du sénecion et la prévention de l'ingestion par le bétail de végétaux contenant des AP. Les pratiques de gestion rencontrées étaient très ciblées sur les espèces du sénecion et des pratiques additionnelles devraient être rassemblées pour les autres espèces de plantes, les produits alimentaires et les pays/régions pour une vue d'ensemble complète. Il devrait être noté que l'efficacité des pratiques citées dans ce document de travail n'a pas été évaluée puisque cela sortait du champ d'action de ce groupe de travail électronique. Une analyse complète de toutes les pratiques de gestion disponibles (y compris pour d'autres végétaux, produits alimentaires et régions) est nécessaire y compris une évaluation de leur efficacité. Leur valeur en tant que composantes d'une stratégie de gestion des risques possible pourrait alors être évaluée.

166. Les pratiques de gestion peuvent être destinées à

- Des mesures pour la prévention de la propagation des végétaux contenant des AP à un niveau régional (principalement trouvé pour le sénecion spp. (*Senecio* spp.). La connaissance de l'écologie est importante ici, puisqu'il est connu que différentes espèces de plantes contenant des AP ont différentes écologies, même dans un genre;
- Les mesures pour la prévention du contact des animaux producteurs d'aliments de consommation humaine avec ces végétaux, soit directement ou via l'alimentation animale sèche puisque les AP sont transférés de l'alimentation humaine à l'alimentation animale. Ceci inclut les abeilles;
- La prévention de la contamination des produits alimentaires (tels que les salades) avec des AP;
- Des pratiques pour la réduction des AP dans l'alimentation humaine et animale contaminées.

RecommandationsNormes de référence analytiques

167. Pour rassembler davantage d'idées sur l'occurrence des AP dans l'alimentation humaine et animale, le groupe de travail recommande que le CCCF encourage les membres et les observateurs du Codex à développer des normes de référence plus analytiques pour les AP et à générer plus de données d'occurrence dans l'alimentation humaine et animale.

Évaluation des risques

168. Puisqu'il y a eu beaucoup d'études effectuées sur les AP depuis l'évaluation de l'IPCS en 1988, dont certaines très récentes, il est recommandé que l'évaluation des AP soit mise à jour par le JECFA.

169. Par conséquent le groupe de travail recommande que le CCCF demande au JECFA d'évaluer quels AP dans l'alimentation humaine et animale (via le transfert sur les produits d'origine animale) sont d'un intérêt clé pour la santé humaine, en prenant en compte la liste des AP comme résumée dans les recommandations dans le paragraphe 163, et afin d'exécuter une évaluation complète des risques pour les AP résultants. Si une évaluation complète des risques n'était pas possible, le JECFA est requis d'identifier quelles lacunes dans données ont besoin d'être complétés.

Code d'usage

170. Bien qu'il y ait des lacunes dans les informations disponibles sur la toxicité et le potentiel relatif des AP individuels, IPCS a conclu en 1988 que l'exposition alimentaire aux AP devrait être aussi basse que possible. D'autres organismes d'évaluation des risques ont tiré la même conclusion dans les années ultérieures. Bien qu'il ait été reconnu que les résultats du JECFA donnerait des directives ultérieures sur l'efficacité des pratiques de gestion, le groupe de travail recommande que le CCCF commence déjà à travailler sur le développement d'un code d'usages recommandé pour la prévention et la réduction de la contamination des produits alimentaires avec des alcaloïdes de pyrrolizidine '. Pour ce travail, une révision plus avancée des pratiques de gestion existantes dans toutes les régions et sur les autres végétaux contenant des AP autres que les espèces de séneçon serait nécessaire. Le sujet exact du travail reste à débattre lors de la plénière du CCCF, ceci pourrait varier de la gestion des mauvaises herbes aux pratiques de gestion dans la production de miel.

Niveaux maximaux (NM)

171. Il a été suggéré par IPCS en 1988 que 'l'établissement de niveaux de tolérance de contrôle pour certains produits alimentaires sera requis dans certaines situations'. Toutefois, comme il n'y a pas d'évaluation récente du JECFA disponible et qu'il y a toujours des informations limitées sur les niveaux d'AP dans les produits alimentaires, le groupe de travail recommande de débiter le travail sur les NM pour les AP dans l'alimentation humaine et animale.

RÉFÉRENCES

- Akhavein, F., E. Jean St-Michel, et al. (2007). Decreased left ventricular function, myocarditis, and coronary arteriolar medial thickening following monocrotaline administration in adult rats. *J. Appl. Physiol.* 103(1): 287-295.
- Altamirano, J.C., S.R. Gratz, K.A. Wolnik. (2005). Investigation of pyrrolizidine alkaloids and their *N*-oxides in commercial Comfrey-containing products and botanical materials by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. *J. AOAC Int.* 88: 406-412.
- Anjos, B.L., V.M.T. Nobre, et al. (2010). Poisoning of sheep by seeds of *Crotalaria retusa*: acquired resistance by continuous administration of low doses. *Toxicon* 55(1): 28-32.
- Anonymous. (2001). Drought causes re-emergence of liver disease. *The Lancet*.358: 1070. Cited by FAO, 2010.
- ANZFA, Australia New Zealand Food Authority. (2001). Pyrrolizidine Alkaloids in Food – A Toxicological Review and Risk Assessment. Technical Report Series No.2. Canberra and Wellington : http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/TR2.pdf , November 2001.
- ANZJFSC, Australia and New Zealand Joint Food Standards Code. Prohibited and restricted plants and fungi. Standard 1.4.4: Issue 67. http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/Standard_1_4_4_Prohib_plants_v113.pdf
- Asres, K., F. Sporer, M. Wink. (2007). Identification and quantification of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in the Ethiopian medicinal plant *Solanecio gigas* (Asteraceae). *Pharmazie* 69: 709-713.

- Asres, K., F. Sporer, M. Wink. (2008). Occurrence of pyrrolizidine alkaloids in three Ethiopian *Solanecio* species. *Biochem. Sys. Ecol.* 36: 399-407.
- Azadbakht & Talavaki (2003). Qualitative and Quantitative Determination of Pyrrolizidine Alkaloids of Wheat and Flour Contaminated with Senecio in Mazandaran Province Farms. *Iran J. Pharmaceut. Res.* 2: 179-183.
- Beales, K.E., K. Betteridge, et al. (2004). Solid-phase extraction and LC-MS analysis of pyrrolizidine alkaloids in honey. *J. Agric. Food Chem.* 52: 6664-6672.
- Beales, K., Betteridge, K., et al. (2007). Hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids and their *N*-oxides in honey and pollen. In: Panter, K., Wierenga, T., Pfister, J. (Eds.). *Poisonous Plants: Global Research and Solutions*. Cab Intl, Wallingford, UK, pp 94–100. Cited by Kempf et al., 2010.
- Betteridge, K., Y. Cao, S.M. Colegate. (2005). Improved method for extraction and LC-MS analysis of pyrrolizidine alkaloids and their *N*-oxides in honey: application to *Echium vulgare* honeys. *J. Agric. Food Chem.* 53: 1894-1902.
- BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung. Nulltoleranzen in Lebens- und Futtermitteln. Positionspaper des BfR vom 12. März 2007, Berlin, Deutschland.
http://www.bfr.bund.de/cm/208/nulltoleranzen_in_lebens_und_futtermitteln.pdf
- BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung. (2007a). BfR, Salatmischung mit Pyrrolizidinalkaloid-haltigem Greiskraut verunreinigt, Stellungnahme Nr.028/2007 des BfR vom 10. Januar 2007, Berlin, Deutschland.
http://www.bfr.bund.de/cm/208/salatismischung_mit_pyrrolizidinalkaloid_haltigem_geiskraut_verunreinigt.pdf
- Boppré, M., S.M. Colegate, et al. (2008). Hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in pollen and drying-related implications for commercial processing of bee pollen. *J. Agric. Food Chem.* 56: 5662-5672.
- Boppré, M., S.M. Colegate, J.A. Edgar. (2005). Pyrrolizidine alkaloids of *Echium vulgare* honey found in pure pollen. *J. Agric. Food Chem.* 53: 594–600. Cited by Kempf et al. 2010.
- Briese, D.T., A. Walker. (2002). A new perspective on the selection of test plants for evaluating the host-specificity of weed biological control agents: the case of *deuterocampta quadrijuga*, a potential insect control agent of *Heliotropium amplexicaule*. *Biol. Control* 25: 273-287.
- Brown, M.S., R.J. Molyneux, J.N. Roitman. (1994). A general method for high performance liquid chromatography of pyrrolizidine alkaloid free bases and *N*-oxides. *Phytochem. Anal.* 5: 251-255.
- Budde, J., A. Reckert, et al. (2004). Contributions to the evolution of oligolecty in solitary bees of the genus *Andrena*. *Entomologie heute* 16: 191–200. Cited by Kempf et al. 2010.
- Bundesgesetzblatt, Verordnung des Bundesministers für Gesundheit und öffentlicher Dienst vom 5. Mai 1989 betreffend Arzneimittel, die nicht in Verkehr gebracht werden dürfen, 555/1994 Wien, Österreich. Cited by Kempf et al., 2010.
- Bundesgesundheitsamt, Bekanntmachung über die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln, Bundesanzeiger 1992. 111: 4805.
- Burns J. (1972). The heart and pulmonary arteries in rats fed on *Senecio jacobaea*. *J. Pathol.* 106:187–194.
- Candrian, U., U. Zweifel, C. Schlatter. (1991). Transfer of orally administered [3H]-seneciphylline into cow's milk. *J. Agric. Food Chem.* 39(5): 930-933.
- Cao Y., S.M. Colegate, J.A. Edgar. (2008). Safety assessment of food and herbal products containing hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids: interlaboratory consistency and the importance of *N*-oxide determination. *Phytochem. Anal.* 19: 526-533.
- Cavallaro, V., K.A. Than, et al. (2004). An indirect competitive ELISA for pyrrolizidine alkaloids of *Heliotropium europaeum*. In: *Poisonous Plants and related Toxins*, Acamovic, T., Stewart, C.S., Pennycott, T.W. (Eds). CAB International, Wallingford, UK p. 114-119.
- Chan, P.C., J.K. Haseman, et al. (2003). Toxicity and carcinogenicity of riddelliine in rats and mice. *Toxicol Lett* 144: 295-311.

- Chizzola, R., B. Ozelsberger, T. Langer. (2000). Variability in chemical constituents in *Petasites hybridus* from Austria. *Biochem. Syst. Ecol.* 28: 421-432. Cited by EFSA, 2007.
- Chou, M.W., P.P. Fu (2006). Formation of DHP-derived DNA adducts in vivo from dietary supplements and Chinese herbal plant extracts containing carcinogenic pyrrolizidine alkaloids. *Toxicol. Ind. Health* 22(8): 321-327.
- Chou, M.W., J. Yan, et al. (2003a). Correlation of DNA adduct formation and riddelliine-induced liver tumorigenesis in F344 rats and B6C3F(1) mice. *Cancer Lett* 193: 119-125. Cited by EFSA, 2007.
- Christov, V.S., B.P. Mikhova, L.N. Evstatieva. (2002). Alkaloids from *Senecio aquaticus*. *Fitoterapia* 73: 171-173. Cited by EFSA, 2007.
- COC, Committee on Carcinogenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. COC section in the 18th joint annual report of the COT, COM and COC, 2008.
- Colegate, S.M., J.A. Edgar, et al. (2005). Solid-phase extraction and HPLC-MS profiling of pyrrolizidine alkaloids and their *N*-oxides: a case study of *Echium plantagineum*. *Phytochem. Anal.* 16: 108-119.
- Conradie, J., M.J. Stewart, et al. (2005). GC/MS identification of toxic pyrrolizidine alkaloids in traditional remedies given to two sets of twins. *Ann. Clin. Biochem.* 42(Pt 2): 141-144.
- Cooper, R.G. (2007). Poisoning in ostriches following ingestion of toxic plants--field observations. *Trop. Anim. Health Prod.* 39(6): 439-442.
- Copple, B.L., R.A. Roth, et al. (2006). Anticoagulation and inhibition of nitric oxide synthase influence hepatic hypoxia after monocrotaline exposure. *Toxicology* 225(2-3): 128-137.
- COT, Committee on toxicity of chemicals in food, consumer, products and the environment, Statement on Pyrrolizidine Alkaloids in Food, 2008.
- Couet, C.E., C. Crews, A.B. Hanley. (1996). Analysis, separation, and bioassay of pyrrolizidine alkaloids from Comfrey (*Symphytum officinale*). *Nat. Toxins* 4: 163-167. Cited by EFSA, 2007.
- Coulombe, R.A. (2003). Pyrrolizidine alkaloids in foods. *Adv. Food Nutr. Res.* 45: 61-98.
- Crews C., F. Berthiller, R. Krska. (2010). Update on analytical methods for toxic pyrrolizidine alkaloids. *Anal. Bioanal. Chem.* 396: 327-338.
- Crews, C., W.A.C. Anderson (2009). Detection of ragwort alkaloids in toxic hay by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. *Vet. Rec.* 165(19): 568-569.
- Crews, C., M. Driffield, et al. (2009). Loss of pyrrolizidine alkaloids on decomposition of ragwort (*Senecio jacobaea*) as measured by LC-TOF-MS. *J. Agricult. Food Chem.* 57: 3669-3673.
- Crews, C., J.R. Startin, P.A. Clarke. (1997). Determination of pyrrolizidine alkaloids in honey from selected sites by solid phase extraction and HPLC-MS. *Food Addit. Contam* 14: 419-428.
- Culvenor, C.C.J. (1980). Alkaloids and Human Disease : In: *Toxicology in the Tropics* Eds. R.L. Smith and E.A. Bababunmi. Taylor & Francis Ltd. London, pp 124 -141. Cited by ANZFA, 2001.
- DAFF. (2008). Warning against sale and use of banned Comfrey. Department of Agriculture, Forestry and Fisheries, South Africa.
- <http://www.doh.gov.za/docs/pr/2008/pr0630.html>
- DOHA (2010). Australian Government, Department of Health and Ageing, Therapeutic Goods Administration. Poisons Standard 2010. Federal Register of Legislative Instruments F2010L02386.
- DSEWPC, Department of Sustainability, Environment, Water, Population and Communities. (2010). Commonwealth of Australia. Weeds in Australia.
- <http://www.weeds.gov.au/government/legislation.html>
- Dai, H.F., Y. Gao, et al. (2006). Hepatic veno-occlusive disease induced by *Gymnura segetum*: Report of two cases. *HBPD INT.* 5(3): 406-408.
- Dai, N., Y.-C. Yu, et al. (2007). *Gynura* root induces hepatic veno-occlusive disease: a case report and review of the literature. *World J. Gastroenterol.* 13(10): 1628-1631.

- De, P., C. Bloxham, et al. (2005). Ragwort weed and granulomatous lung disease. *Respiratory Medicine Extra* 1(3): 85-87.
- Deinzer, M.L., P.H. Thomson, et al. (1977). Pyrrolizidine alkaloids: their occurrence in honey from Tansy ragwort (*Senecio jacobaea* L). *Science* 195: 497-499. Cited by Kempf et al. 2010.
- Deinzer, M.L., B.L. Arbogast, et al. (1982). Gas Chromatographic determination of pyrrolizidine alkaloids in goat's milk. *Anal Chem.* 54: 1811-1814.
- Dickinson, J.O., M.P. Cooke, et al. (1976). Milk transfer of pyrrolizidine alkaloids in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 169: 1192 - 1196. Cited by WHO, 1988.
- Dickinson, J.O. (1980). Release of pyrrolizidine alkaloids into milk. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 23: 377-379. Cited by WHO, 1988.
- Eastman, D.F., G.P. Dimenna, H.J. Segall (1982). Covalent binding of two pyrrolizidine alkaloids, senecionine, and seneciphylline to hepatic macromolecules and their distribution, excretion and transfer into milk of lactating mice. *Drug Metab. Disp.* 10: 236-240.
- Edgar, J.A., L.W. Smith (2000). Transfer of Pyrrolizidine Alkaloids into Eggs: Food Safety Implications. Tu, A. T. and Gaffield, W. *Natural and Selected Synthetic Toxins. Biological Implications.* [8], 118-128. Washington D.C., American Chemical Society. ACS Symposium series 745. Cited by COT, 2008.
- Edgar, J.A., E. Röder, R.J. Molyneux (2002). Honey from plants containing pyrrolizidine alkaloids: A potential threat to health. *J. Agric. Food Chem.* 50: 2719-2730. Cited by EFSA, 2007.
- EFSA, European Food Safety Authority. (2007). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission related to Pyrrolizidine Alkaloids as undesirable substances in Animal Feeds. *The EFSA Journal* 447: 1-51. Parma, January 25, 2007.
http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178621166892.htm
- EFSA, European Food Safety Authority. (2009). EFSA Compendium of botanicals that have been reported to contain toxic, addictive, psychotropic or other substance of concern. *EFSA Journal* (2009). 7:281, 1-98.
- Eröksüz, H., Y. Eröksüz, et al. (2003). Toxicity of *Senecio vernalis* to laying hens and evaluation of residues in eggs. *Vet. Hum. Toxicol.* 45: 76-80. Cited by EFSA, 2007.
- Eröksüz, Y., A.O. Çeribaşı, et al. (2008). Toxicity of *Heliotropium dolosum*, *Heliotropium circinatum*, and *Senecio vernalis* in parental quail and their progeny, with residue evaluation of eggs. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 32(6): 475-482.
- EU. (2010). Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed, last revision 10.2.2010.
- FAO, Food and Agriculture Organization. (2007). Recommendations for Improved Weed Management. Rome : Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2007. Cited by FAO, 2010.
<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a0884e/a0884e00.pdf>
- FAO, Food and Agriculture Organization. (2010). Pyrrolizidine alkaloids in foods and animal feeds. *FAO Consumer Protection Fact Sheets No.2*: 1-6.
http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/FAO_Fact_Sheet_Pyrrolizidine_Alkaloids.pdf
- FDA, US Food and Drug Administration. (2001). 'FDA Advises Dietary Supplement Manufacturers to Remove Comfrey Products From the Market'. FDA Office of Nutritional Products, Labeling, and Dietary Supplements, July 6, 2001.
<http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/Alerts/ucm111219.htm> Visited: October 2010.
- Fletcher, M.T., R.A. McKenzie, et al. (2009). Pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria taxa* from northern Australia: risk to grazing livestock. *J. Agric. Food Chem.* 57(1): 311-319.
- Fletcher, M.T., R.A. McKenzie, et al. (2011). Risks from plants containing pyrrolizidine alkaloids for livestock and meat quality in northern Australia. In: *Poisonings by plants, mycotoxins and related toxins.* CAB International. In Press.

Frischknecht, P.M., K. Schuhmacher, et al. (2001). Phenotypic plasticity of *Senecio vulgaris* from contrasting habitat types: growth and pyrrolizidine alkaloid formation. *J. Chem. Ecol.* 27: 343-358. Cited by EFSA, 2007.

FSANZ, Food Standards Australia New Zealand, Consumers advised to limit consumption of Paterson's Curse/Salvation Jane honey, Fact Sheet, 9. February 2004, Canberra, Australia. <http://www.foodstandards.gov.au/newsroom/factsheets/factsheets2004/consumersadvisedtoli2347.cfm>

Fu, P.P., Q. Xia, et al. (2002). Genotoxic pyrrolizidine alkaloids –Mechanisms leading to DNA adduct formation and tumorigenicity. *Int J Mol Sci* 3: 948-964.

Fu, P.P., Q. Xia, et al. (2007). Detection, hepatotoxicity, and tumorigenicity of pyrrolizidine alkaloids in Chinese herbal plants and herbal dietary supplements. *J. Food Drug Anal.* 15(4): 400-415.

Furuya, T., Y. Asada, H. Mori. (1987). Pyrrolizidine Alkaloids. In: Naturally Occurring Carcinogens of Plant Origin, Toxicology, Pathology and Biochemistry. Ed. I. Hirono. Elsevier, Oxford, pp. 25-51. Cited by ANZFA, 2001.

Gardner, D.R., M.S. Thorne, et al. (2006). Pyrrolizidine alkaloids in *Senecio madagascariensis* from Australia and Hawaii and assessment of possible livestock poisoning. *Biochem. Sys.Ecol.* 34(10): 736-744.

Goeger, D.E., P.R. Cheeke, et al. (1982). Effect of feeding milk from goats fed Tansy ragwort (*Senecio jacobaea*) to rats and calves. *Am. J. Vet. Res.* 43: 1631-1633.

Gourlay, H. (2007a). Ragwort crown-boring moth. Landcare Research, New Zealand Information Note.

Gourlay, H. (2007b). Ragwort plume moth. Landcare Research, New Zealand Information Note.

Green, C.R., G.S. Christie. (1961). Malformations in foetal rats induced by the pyrrolizidine alkaloid, heliotrine. *Br. J. exp. Pathol.* 42: 369-378. Cited by WHO, 1988.

Guo, L., N. Mei, et al. (2007). Comparison of gene expression profiles altered by comfrey and riddelliine in rat liver. *BMC Bioinformatics* 8 (Suppl 7): S22.

Györika S, H. Stricker. (2009). Severe pulmonary hypertension possibly due to pyrrolizidine alkaloids in polyphytotherapy. *Swiss Med. Wkly.* 139: 210–211.

Hartmann T., G. Toppel. (1987). Senecionine *N*-oxide, the primary product of pyrrolizidine alkaloid biosynthesis in root cultures of *Senecio vulgaris*. *Phytochemistry* 26: 1639-1643.

Hartmann T., B. Dierich. (1998). Chemical diversity and variation of pyrrolizidine alkaloids of the senecionine type: biological need or coincidence? *Planta.* 206: 443-451.

Hartmann T., L. Witte. (1995). Chemistry, biology and chemoecology of the pyrrolizidine alkaloids. In: *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, S.W. Pelletier (ed). Vol 9. pp 155-233.

Health Canada. (2003). 'Health Canada advises consumers not to use or ingest the herb Comfrey or health products that contain Comfrey'. Advisory 2003-101 December 12, 2003. http://www.hc-sc.gc.ca/ahc-asc/media/advisories-avis/2003/2003_101-eng.php

Hirono, I., M. Haga. (1979). Induction of Hepatic Tumors in Rats by Senkirkine and Symphytine. *JNCI* 63: 469- 472. Cited by COT statement, 2008.

Hirono, I., H. Mori. (1977). Carcinogenic activity of petasitenine, a new pyrrolizidine alkaloid isolated from *Petasites japonicus* Maxim. *J. Natl. Cancer Inst.* 58: 1155-1157. Cited by COT statement, 2008.

Hoogenboom, L.A.P., P.P.J. Mulder, et al. (2011). Carry-over of pyrrolizidine alkaloids from feed to milk in dairy cows. *Food Add. Contam. Part A.* In press.

Hooper, P.T. W.A. Scanlan (1977). *Crotalaria retusa* poisoning of pigs and poultry. *Aust. Vet. J.* 53: 109-114. Cited by EFSA, 2007.

Hösch, G., H. Wiedenfeld, et al. (1996). A new high performance liquid chromatography method for the simultaneous quantitative analysis of pyrrolizidine alkaloids and their *N*-oxides in plant material. *Phytochem. Anal.* 7: 284-288.

- Hough, R.L., C. Crews, et al. (2010). Degradation of yew, ragwort and rhododendron toxins during composting. *Sci. Total Environ.* 408: 4128-4137.
- Hovermale, J.T., A.M. Craig. (1998). A routine method for the determination of retronecine. *Fres. J. Anal. Chem.* 361: 201-206.
- Hueza, I. M., J.C. Benassi, et al. (2009). Low doses of monocrotaline in rats cause diminished bone marrow cellularity and compromised nitric oxide production by peritoneal macrophages. *J. Immunot.* 6(1): 11-18.
- IARC. (1976). Some Naturally Occurring Substances. IARC Monographs on Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 10. Cited by COT statement, 2008.
- IARC. (1983). Some Food Additives, Feed Additives and Naturally Occurring Substances. IARC Monographs on Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 31. Cited by COT statement, 2008.
- IARC. (2002). Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. IARC Monographs on Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 82. Cited by COT statement, 2008.
- ISO, International Organization for Standardization. (2000). Wheat (*Triticum aestivum L.*) ISO 7970:2000. Geneva. Cited by FAO, 2010.
- Ji, X., I. Khan, et al. (2005). Variability for the presence of pyrrolizidine alkaloids in *Crotolaria juncea L.* *Pharmazie* 60(8): 620-622.
- Jiang, Z., F. Liu, et al. (2009). Determination of senkirkine and senecionine in *Tussilago farfara* using microwave-assisted extraction and pressurized hot water extraction with liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Talanta* 79: 539-546.
- Joosten, L., P.P.J. Mulder, et al. (2010). The analysis of pyrrolizidine alkaloids in *Jacobaea vulgaris*; a comparison of extraction and detection methods. *Phytochem. Anal.* 21: 197-204.
- Kakar, F., Z. Akbarian, et al. (2010). An outbreak of hepatic veno-occlusive disease in Western Afghanistan associated with exposure to wheat flour contaminated with pyrrolizidine alkaloids. *J. Toxicol.* 2010: 1-7.
- Kempf M., T. Beuerle, et al. (2008). Pyrrolizidine alkaloids in honey: risk analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Mol. Nutr. Res.* 52: 1193-1200.
- Kempf, M., S. Heil, et al. (2010a). Pyrrolizidine alkaloids in pollen and pollen products. *Mol. Nutr. Food Res.* 54(2): 292-300.
- Kempf, M., A. Reinhard, T. Beuerle. (2010b). Pyrrolizidine alkaloids (PAs) in honey and pollen-legal regulation of PA levels in food and animal feed required. *Mol. Nutr. Food Res.* 54(1): 158-168.
- Kempf, M., M. Wittig, et al. (2011). Pyrrolizidine alkaloids in honey: comparison of analytical methods. *Food Addit. Contam.: Part A* **in press**.
- Kirk, H., M. Macel. (2004). Natural hybridization between *Senecio jacobaea* and *Senecio aquaticus*: molecular and chemical evidence. *Mol. Ecol.* 13: 2267-2274. Cited by EFSA, 2007.
- Knight, A.P., C.V. Kimberling. (1984). *Cynoglossum officinale* (Hound's-tongue)- A cause of pyrrolizidine alkaloid poisoning in horses. *JAVMA* 185: 647-650. Cited by EFSA, 2007.
- Koninklijk besluit van 29 AUGUSTUS 1997 betreffende de fabricage van en de handel in voedingsmiddelen die uit planten of uit plantenbereidingen samengesteld zijn of deze bevatten (Stbl. 21.XI.1997).
- Kuhara, K., H. Takanashi, et al. (1980). Carcinogenic activity of clivorine, a pyrrolizidine alkaloid isolated from *Ligularia dentata*. *Cancer Lett.* 10: 117-122. Cited by COT statement, 2008.
- Langel, D., D. Ober, P.B. Pelsler. (2011). The evolution of pyrrolizidine alkaloid biosynthesis and diversity in the Senecioneae. *Phytochem. Rev.* In press. DOI 10.1007/s11101-010-9184-y.
- Langer, T., E. Möstl, R. Chizzola, R. Gutleb. (1996). A competitive enzyme immunoassay for the pyrrolizidine alkaloids of the senecionine type. *Planta Medica* 62: 267-271.
- Lebada, R., A. Schreier, et al. (2000). Quantitative analysis of the pyrrolizidine alkaloids senkirkine and senecionine in *Tussilago farfara L.* by capillary electrophoresis. *Phytochem. Anal.* 11: 366-369.

- Lee, S.T., T.K. Schoch, et al. (2001). Development of enzyme-linked immunosorbent assays for the hepatotoxic alkaloids riddelliine and riddelliine N-oxide. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4144-4151.
- Leiss, K. A. (2010). Management practices for control of ragwort species. *Phytochem. Rev.* in press.
- LGC. (2007). Collection and Analysis of Honey Samples Potentially Contaminated with Pyrrolizidine Alkaloids from Ragwort and Borage. Food Standards Agency Project T01037. Cited by COT, 2008.
- Li, S.L., G. Lin, et al. (2008). Identification of five hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in a commonly used traditional Chinese medicinal herb, *Herba Senecionis scandentis* (Qianliguang). *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 22: 591-602.
- Liu, F., S.Y. Wan, et al. (2009). Determination of pyrrolizidine alkaloids in Comfrey by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Talanta* 80: 916-923.
- Lodge-Ivey, S.L., M.S. Rappe, et al. (2005). Molecular analysis of a consortium of ruminal microbes that detoxify pyrrolizidine alkaloids. *Can. J. Microbiol.* 51: 455-465
- Lüthy, J , U. Zweifel, et al. (1981). Pyrrolizidine alkaloids of *Senecio alpinus* L. and their detection in feedingstuffs. *J. Agric. Food Chem.* 29(2):302-305.
- Macel, M., M. Bruinsma, et al. (2005). Differences in effects of pyrrolizidine alkaloids on five generalist insect herbivore species. *J. Chem. Ecol.* 31(7): 1493-1508.
- Macel, M., K. Vrieling, P.G.L. Klinkhamer. (2004). Variation in pyrrolizidine alkaloid patterns of *Senecio jacobaea*. *Phytochem.* 65: 865-873. Cited by EFSA, 2007.
- MAFF, U.K. (1994). Naturally occurring Toxicants in Food. MAFF Food Surveillance Paper 42, 18-29.
- MAFF, U.K. (1995). Surveillance for pyrrolizidine alkaloids in honey. Joint Food Safety and Standards Group Food Surveillance Information Sheet 52. Cited by Kempf et al. 2010.
- Mattocks, A.R. (1967). Detection of pyrrolizidine alkaloids on thin-layer chromatograms. *J. Chrom.* 27: 505-508.
- Mattocks, A.R. (1986). *Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids*, London, New York, Academic Press. Cited by WHO, 1988 and EFSA, 2007.
- Mattocks, A.R., R. Jukes. (1990). Recovery of the pyrrolic nucleus of pyrrolizidine alkaloid metabolites from sulphur conjugates in tissues and body fluids. *Chem. Biol. Interact.* 75: 225-239.
- Mattocks, A.R., R. Jukes. (1992). Detection of sulphur-conjugated pyrrolic metabolites in blood and fresh or fixed liver tissue from rats given a variety of toxic pyrrolizidine alkaloids. *Toxicol. Lett.* 63: 47-55.
- McLaren, D.A., J.E. Ireson, R.M. Kwong. (2000). Biological control of ragwort (*Senecio jacobaea* L.) in Australia. In: Spencer NR (ed) *Proceedings of the X International Symposium on Biological Control of Weeds 1999*, Montana, pp 67-79.
- McLaren, D., I. Faithfull. (2004). Ragwort-Management. Landcare Note LC0382. Department of Sustainability and Environment, State of Victoria.
- Mehrabani, M., A. Ghannadi, et al. (2006). Toxic pyrrolizidine alkaloids of *Echium amoenum* fisch. & Mey. *DARU* 14(3): 122-127.
- Mei, N., L. Guo, et al. (2005). Mutagenicity of Comfrey (*Symphytum Officinale*) in rat liver. *Br. J. Canc.* 92(5): 873-875.
- Mei, N., L. Guo, et al. (2006). Analysis of gene expression changes in relation to toxicity and tumorigenesis in the livers of Big Blue transgenic rats fed Comfrey (*Symphytum officinale*). *BMC Bioinformatics* 7(S2): S16.
- Mei, N., L. Guo, et al. (2007a). Gene expression changes induced by the tumorigenic pyrrolizidine alkaloid riddelliine in liver of Big Blue rats. *BMC Bioinformatics* 8(S7): S4.
- Mei, X., T. Chen. (2007b). The mutant frequencies and types of mutations induced by Comfrey in the lungs of transgenic big blue rats. *J. Food Drug Anal.* 15(4): 458-465.

- Mingatto, F. E., M. A. Maioli, et al. (2008). Effects of monocrotaline on energy metabolism in the rat liver. *Toxicol. Lett.* 182(1-3): 115-120.
- Molyneux, R.J., L.F. James. (1990). Pyrrolizidine alkaloids in milk: Thresholds of intoxication. *Vet. Hum. Toxicol.* 32(S): 94-103.
- Molyneux, R.J., J.N. Roitman. (1980). Specific detection of pyrrolizidine alkaloids on thin-layer chromatograms. *J. Chromatogr.* 195: 412-415.
- Moyano, M.R., A. Garcia, et al. (2006). *Echium vulgare* and *Senecio vulgaris* poisoning in fighting bulls. *Journal of Veterinary Medicine - Series A* 53(1): 24-25.
- Mroczek, T., K. Glowniak, A. Wlaszczyk. (2002). Simultaneous determination of *N*-oxides and free bases of pyrrolizidine alkaloids by cation-exchange solid-phase extraction and ion-pair high-performance liquid chromatography. *J. Chrom. A.* 949: 249-262.
- Mroczek, T., K. Ndjoko, et al. (2004). On-line structure characterization of pyrrolizidine alkaloids in *Onosma stellulatum* and *Emilia coccinea* by liquid chromatography-ion-trap mass spectrometry. *J. Chrom. A.* 1056: 91-97.
- Mulder, P.P.J., B. Beumer, et al. (2009). Dutch survey pyrrolizidine alkaloids in animal forage. RIKILT report 2009.018. <http://edepot.wur.nl/135952>.
- Narberhaus, I., V. Zintgraf, et al. (2005). Pyrrolizidine alkaloids on three trophic levels - Evidence for toxic and deterrent effects on phytophages and predators. *Chemoecology* 15(2): 121-125.
- Neumann, H., S. Lütt, et al. (2009). Umgang mit dem Jakobskreuzkraut Meiden-Dulden-Bekämpfen. Landesamt für Landwirtschaft, Umwelt und ländliche Räume des Landes Schleswig-Holstein (LLUR) und Deutscher Verband für Landschaftspflege e.V. (DVL).
- North West Weeds. (2007). Blue Heliotrope. North West Weeds. [Online] November 25, 2007. [Cited: April 15, 2008.] Government of New South Wales. Cited by FAO, 2010.
http://www.northwestweeds.nsw.gov.au/blue_heliotrope.htm.
- NTP. (1978). Bioassay of Lasiocarpine for possible carcinogenicity. NTP Technical Report 39: 1-66. Cited by COT statement, 2008.
- NTP. (2003). Toxicology and carcinogenesis studies of riddelliine. NTP Technical Report 508. Cited by COT statement, 2008.
- Oberlies, N.H., N.C. Kim, et al. (2004). Analysis of herbal teas made from the leave of Comfrey (*Symphytum officinale*): reduction of *N*-oxides results in order of magnitude increases in the measurable concentration of pyrrolizidine alkaloids. *Public Health Nutr.*, 7: 919-924.
- Panter, K.E., L.F. James. (1990). Natural plant toxicants in milk: A review. *J. Anim. Sci.* 68: 892-904.
- Pawar, R.S., E. Grundel, et al. (2010). Chiral stationary phases for separation of intermedine and lycopsamine enantiomers from *Symphytum uplandicum*. *J. Sep. Sci.* 33: 200-205.
- Pelser, P.B., H. de Vos. (2005). Frequent gain and loss of pyrrolizidine alkaloids in the evolution of Senecio section Jacobaea (Asteraceae). *Phytochem.* 66: 1285-1295. Cited by EFSA, 2007.
- Peterson, J.E., M.V. Jago. (1980). Comparison of the toxic effects of dehydroheliotridine and heliotrine in pregnant rats and their embryos. *J. Pathol.* 131: 339-355. Cited by WHO, 1988.
- Qi, X., S. Wang, et al. (2009a). Determination of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in *Gynura segetum* by MEKC. *Chromatographia* 70: 281-285.
- Qi, X., B. Wu, et al. (2009b). Simultaneous characterization of pyrrolizidine alkaloids and *N*-oxides in *Gynura segetum* by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 23: 291-302.
- Raezke, K.-P. (2010). Pyrrolizidine alkaloids in honey. FEEDM General Meeting, Brussels, 01.07.2010.
- Raezke, K.-P. (2010a). Pyrrolizidinalkaloide im Honig. *Deutsches Bienen-Journal* 18: 6-7.

- Rasenack, R., C. Müller, et al. (2003). Veno-Occlusive Disease in a Fetus Caused by Pyrrolizidine Alkaloids of Food Origin. *Fetal Diagnosis and Therapy* 18, 223-225.
- Reinhard, A., M. Janke, et al. (2009). Feeding deterrence and detrimental effects of pyrrolizidine alkaloids fed to honey bees (*Apis mellifera*). *J. Chem. Ecol.* 35(9): 1086-1095.
- Ridker, P.M., S. Ohkuma, et al. (1985). Hepatic veno-occlusive disease associated with consumption of pyrrolizidine alkaloid containing dietary supplements. *Gastroenterology* 88: 1050 - 1054. Cited by WHO (1988) and ANZFA (2001).
- RIVM, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, RIKILT Institute of Food Safety (2007). Risicobeoordeling inzake de Aanwezigheid van Pyrrolizidine Alkaloiden in Honing, Wageningen, The Netherlands.
- RIVM, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. (2005). Advisory report on pyrrolizidine alkaloids in herb preparations.
- Roberts, P.D., A.S. Pullin (2007). The effectiveness of management interventions used to control ragwort species. *Environ. Manage.* 39(5): 691-706.
- Röder, E. (1995). Medicinal plants in Europe containing pyrrolizidine alkaloids. *Pharmazie* 50: 83-96. Cited by EFSA, 2007.
- Roeder, E. (1999). Analysis of pyrrolizidine alkaloids. *Curr. Org. Chem.* 3: 557-576.
- Roeder, E. (2000). Medicinal plants in China containing pyrrolizidine alkaloids. *Pharmazie*, 55: 711-727.
- Roeder, E., H. Wiedenfeld. (2009). Pyrrolizidine alkaloids in medicinal plants of Mongolia, Nepal and Tibet. *Pharmazie* 64: 699-716.
- Roseman, D.M., X. Wu, et al. (1992). Development of a class-specific competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of pyrrolizidine alkaloids in vitro. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1008-1014.
- Roseman, D.M., X. Wu, M.J. Kurth. (1996). Enzyme-linked immunosorbent assay detection of pyrrolizidine alkaloids: immunogens based on quaternary pyrrolizidinium salts. *Bioconjugate Chem.* 7: 187-195.
- Roulet, M., R. Laurini, et al. (1988). Hepatic veno-occlusive diseases in newborn infant of a woman drinking herbal tea. *J. Pediatrics* 112: 433-436. Cited by COT, 2008.
- Schoental, R. (1959). Liver lesions in young rats suckled by mothers treated with the pyrrolizidine (Senecio) alkaloids, lasiocarpine, and retrorsine. *J. Pathol. Bacteriol.* 77: 485-504.
- Schoental, R., M.E. Fowler, A. Coady. (1970). Islet Cell Tumours of the Pancreas found in Rats given Pyrrolizidine Alkaloids from *Amsinckia intermedia* Fisch and Mey and from *Heliotropium supinum* L. *Cancer Res.* 30: 2127-2131. Cited by COT statement, 2008.
- Shimzu, K., T. Takahashi, et al. (2008). Hemin treatment abrogates monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Medicinal Chemistry* 4(6): 572-576.
- Skaanild, M.T., C. Friis, L. Brimer. (2001). Interplant alkaloid variation and *Senecio vernalis* toxicity in cattle. *Vet. Hum. Toxicol.* 43: 147-151. Cited by EFSA, 2007.
- Smith, L.W., C.C.J. Culvenor. (1981). Plant sources of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids. *J. Nat. Prods.* 44: 129-152.
- Stegelmeier, B.L., D.R. Gardner, et al. (1996). Pyrrole detection and the pathologic progression of *Cynoglossum officinale* (Houndstongue) poisoning in horses. *J. Vet. Diagn. Invest.* 8: 81-90.
- Stuart, K.L., G. Bras. (1957). Veno-occlusive disease of the liver. *Q. J. Med.* 26: 291-315. Cited by ANZFA, 2001.
- Suter, M., S. Siegrist-Maag, et al. (2007). Can the occurrence of *Senecio jacobaea* be influenced by management practice? *Weed Res.* 47(3): 262-269.

- Tang, J., T. Akao, et al. (2007). In vitro metabolism of isoline, a pyrrolizidine alkaloid from *Ligularia duciformis*, by rodent liver microsomal esterase and enhanced hepatotoxicity by esterase inhibitors. *Drug Metab. Dispos.* 35(10): 1832-1839.
- Than, K.A., V. Stevens, et al. (2005). Plant-associated toxins in animal feed: Screening and confirmation assay development. *Anim. Feed Sci. Technol.* 121: 5-21.
- USDA, United States Department of Agriculture, Food Safety Inspection Service. (2007). Multi-species Disposition Basics with a Public Health Focus.
s.l.: http://www.fsis.usda.gov/PDF/PHVt-Multi_Species_Disposition.pdf
- Vrieling, K., S. Derridj. (2003). Pyrrolizidine alkaloids in and on the leaf surface of *Senecio jacobaea* L. *Phytochem.* 64: 1223-1228. Cited by EFSA, 2007.
- VWA (2007). Advice on Pyrrolizidine Alkaloids in Honey. 5 November 2007 VWA: Dutch Food and Consumer Product Safety Authority.
- VWA. (2010). Advies van de directeur bureau Risicobeoordeling aan de minister van LNV en de minister van VWS over Jacobskruiskruid in diervoeder (Advice of the director of the Bureau of Risk Assessment to the minister of LNV and the minister of VWS on tansy ragwort in animal feed). 31 March 2010. VWA: Dutch Food and Consumer Product Safety Authority.
- Walsh, R.B., R.T. Dingwell. (2007). Beef herd poisoning due to ingestion of Tansy ragwort in southwestern Ontario. *Can. Vet. J.* 48(7): 737-740.
- Wang, Y.-P., P.P. Fu, et al. (2005a). Metabolic activation of the tumorigenic pyrrolizidine alkaloid, retrorsine, leading to DNA adduct formation in vivo. *Int. J. Environ. Res. Public Health* [Electronic Resource] 2(1): 74-79.
- Wang, Y.-P., J. Yan, et al. (2005b). Human liver microsomal reduction of pyrrolizidine alkaloid *N*-oxides to form the corresponding carcinogenic parent alkaloid. *Toxicol. Lett.* 155(3): 411-420.
- Wang, Q., C.-M. Lu, et al. (2008). Traditional Chinese medicine containing pyrrolizidine alkaloids and hepatic veno-occlusive disease. *Linchuang Xiaohuabing Zazhi* 20(1): 22-25
- Warenwetbesluit Kruidenpreparaten Besluit van 19 januari 2001 (WKB 2001), houdende vaststelling van het Warenwetbesluit Kruidenpreparaten. Staatsblad van het Koninkrijk der Nederlanden 2001, 56, 1–12.
<http://wetten.overheid.nl/BWBR0012174>
- WHO. (1988). Pyrrolizidine Alkaloids, IPCS, International Programme on Chemical Safety. 1988. Environmental Health Criteria No. 80 (EHC 80). WHO Geneva. pp 1-345.
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc080.htm>, 1988.
- WHO. (2001). Health Talks Afghanistan. Geneva: World Health Organization, September 2001.
- Wiedenfeld, H., J. Edgar. (2010). Toxicity of pyrrolizidine alkaloids to humans and ruminants. *Phytochem. Rev.* DOI 10.1007/s11101-010-9174-0.
- Williamson, G. (2010). Plant Poisonings. *Animal Health Surveillance Quarterly* (Newsletter of Australian National Animal Health Information System). 15(2):16.
- Witte, L., L. Ernst, et al. (1992). Chemotypes of two pyrrolizidine alkaloid containing *Senecio* species. *Phytochem.* 31: 559-565. Cited by EFSA, 2007.
- Witte, L., P. Rubiolo, et al. (1993). Comparative analysis of pyrrolizidine alkaloids from natural sources by gas chromatography-mass spectrometry. *Phytochem.* 32: 187-196.
- Wretensjö, I., B. Karlberg. (2003). Pyrrolizidine alkaloid content in crude and processed borage oil from different processing stages. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 80: 963-970.
- Wuilloud, J.C.A., S.R. Gratz, et al. (2004). Simultaneous analysis of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids and *N*-oxides in comfrey root by LC-ion trap mass spectrometry. *Analyst.* 129: 150-156.
- Xia, Q., M.W. Chou, et al. (2003). Human liver microsomal metabolism and DNA adduct formation of the tumorigenic pyrrolizidine alkaloid, riddelliine. *Chem. Res. Toxicol.* 16: 66-73.

- Xia, Q., M.W. Chou, et al. (2006). Formation of DHP-derived DNA adducts from metabolic activation of the prototype heliotridine-type pyrrolizidine alkaloid, lasiocarpine. *Cancer Lett.* 231(1): 138-145.
- Xia, Q., J. Yan, et al. (2008). Formation of DHP-derived DNA adducts from metabolic activation of the prototype heliotridine-type pyrrolizidine alkaloid, heliotrine. *Toxicol. Lett.* 178(2): 77-82.
- Xiong, A.Z., L. Yang, et al. (2009). Determination of total retronecine esters-type hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in plant materials by pre-column derivatization high-performance liquid chromatography. *Biomed. Chromatogr.* 23: 665-671.
- Xiong, A., Y. Li, et al. (2009a). Simultaneous determination of senecionine, adonifoline and their metabolites in rat serum by UPLC-ESIMS and its application in pharmacokinetic studies. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 50: 1070-1074.
- Xiong, A., L. Yang, et al. (2009b). Identification of metabolites of adonifoline, a hepatotoxic pyrrolizidine alkaloid, by liquid chromatography/tandem and high-resolution mass spectrometry. *Rapid comm. Mass Spectrom.* 23: 3907-3916.
- Yan, J., Q. Xia, et al. (2008). Metabolic activation of retronecine and retronecine N-oxide - formation of DHP-derived DNA adducts. *Toxicol. Ind. Health* 24(3): 181-188.
- Yang, Y.-C., J. Yan, et al. (2001). Metabolic activation of the tumorigenic pyrrolizidine alkaloid, riddelliine, leading to DNA adduct formation in vivo. *Chem. Res. Toxicol.* 14: 101-109.
- Yu, L., Y. Xu, et al. (2005). Separation and determination of toxic pyrrolizidine alkaloids in traditional Chinese herbal medicines by micellar electrokinetic chromatography with organic modifier. *Electrophoresis* 26: 3397-3404.
- Zhang, F., C.H. Wang, et al. (2007). Quantitative analysis of total retronecine esters-type pyrrolizidine alkaloids in plant by high performance liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta.* 605: 94-101.
- Zhang, F., C.H. Wang, et al. (2008). Quantitative analysis by HPLC-MS² of the pyrrolizidine alkaloid adonifoline in *Senecio scandens*. *Phytochem. Anal.* 19: 24-31.
- Zündorf, I., H. Wiedenfeld, et al. (1998). Generation and characterization of monoclonal antibodies against the pyrrolizidine alkaloid retrorsine. *Planta Medica* 64: 259-263.

ANNEXE I: Vue d'ensemble des plantes contenant des AP

Famille:	Genre:	Espèces:	Nom commun anglais:	Alcaloïdes pyrrolizidiniques :	Produits:	Référence:
<i>Asteraceae</i> (<i>Compositae</i>)	Adenostyles	<i>Adenostyles alliariae</i>	Grey adinostyl	sénécionine integerrimine (acetyl)seneciphylline spartioïdine	produits (médicinaux) ou thé à base de plantes compléments alimentaires	Langel et al, 2011 Röder, 1995 <i>cité par AESA,</i> 2007
	Ageratum				miel	Edgar et al., 2002 AESA, 2009
	Brachyglottis	<i>Brachyglottis repanda</i>	Rangiora Bushman's friend	sénécionine senkirkine	produits médicaux à base de plantes	WKB, 2001 Langel et al, 2011
	Chromolaena			(acetyl)rinderine	miel	Edgar et al., 2002
	Erechtites	<i>Erechtites hieracifolia</i>	Epilobe à feuille étroite	sénécionine seneciphylline		WKB, 2001 Langel et al, 2011
	Eupatorium	<i>Eupatorium aromaticum</i>	<i>Eupatorium aromaticum</i>			WKB, 2001
		<i>Eupatorium cannabinum</i>	Eupatoire à feuilles de chanvre Thoroughwort	intermedine lycopsamine amabiline supinine rinderine echinatine	miel pollen	Boppré et al., 2008 Kempf et al., 2010a, 2010b Röder, 1995 <i>cité par AESA,</i> 2007 WKB, 2001 AESA, 2009
		<i>Eupatorium purpureum</i> (<i>Eutrochium purpureum</i>)	Reine-des-prés Trumpet weed Sweet Joe-Pye weed			WKB, 2001 AESA, 2009
	Gynura	<i>Gynura segetum</i> <i>Syn. Gynura japonica</i>		sénécionine (acetyl)seneciphylline senecicannabine	alimentation humaine produit à base de plantes	Dai et al., 2006, 2007 Qi et al., 2009 WHO, 1988 Langel et al, 2011
	Pétasites	<i>Pétasites albus</i>	pétasite officinal blanc	sénécionine senkirkine	produits ou thé à base de plantes	Langel et al, 2011

					compléments alimentaires	
		<i>Pétasites hybridus</i> <i>syn. Pétasites vulgaris</i> <i>syn. Pétasites officinalis</i> <i>syn. Tussilage pétasites</i>	Pétasite commune Pétasite vulgaire	sénécionine integerrimine senkirkine	produits ou thé à base de plantes compléments alimentaires	Chizzola et al., 2000 <i>cité par</i> <i>AESA, 2007</i> Röder, 1995 <i>cité par AESA,</i> <i>2007</i> WKB, 2001 AESA, 2009 Langel et al, 2011
		<i>Pétasites spuriosus</i>	Pétasite vulgaire fallacieuse	senkirkine (et AP non toxiques)		Langel et al, 2011 Röder, 1995 <i>cité par AESA,</i> <i>2007</i>
	Senecio	<i>Senecio adonidifolius</i> <i>syn. Jacobaea adonidifolia</i>	<i>Senecio adonidifolius</i>	sénécionine seneciphylline adonifoline		WKB, 2001 Langel et al, 2011
		<i>Senecio alpinus</i> <i>syn. Jacobaea alpina</i>	Séneçon alpine	sénécionine integerrimine (acetyl)seneciphylline jacobine jacozine jaconine jacoline	alimentation animale	Langel et al, 2011
		<i>Senecio aquaticus</i> <i>syn. Jacobaea aquatica</i>	Séneçon aquatique	sénécionine sénécionine integerrimine seneciphylline (acetyl)erucifoline otosenine florosenine	alimentation animale	Christov et al., 2002 <i>cité par</i> <i>AESA, 2007</i> Kirk et al., 2004 <i>cité par</i> <i>AESA, 2007</i> WKB, 2001 Langel et al, 2011
		<i>Senecio aureus</i> <i>syn. Packera aurea</i>	Séneçon en or	sénécionine otosenine floridanine		WKB, 2001 Langel et al, 2011
		<i>Senecio bicolor</i> <i>syn. Senecio cineraria</i> <i>syn. Jacobaea maritima</i>	Absinthe des rivages Séneçon cinéraire Séneçon en argent	sénécionine integerrimine seneciphylline		Röder, 1995 <i>cité par AESA,</i> <i>2007</i> WKB, 2001

		<i>syn. Cineraria maritima</i>	Séneçon	retrorsine jacobine jacozine jaconine jacoline otosenine		AESA, 2009 Langel et al, 2011
		<i>Senecio bristolowensis</i>	Epilobe à feuille étroite	sceleratine senkirkine otosenine (deasacetyl)doronine florosenine	alimentation animale alimentation humaine (viande et organes)	Fletcher et al., 2011
		<i>Senecio doronicum</i>	Séneçon doronicum	doronine bulgarsenine	produit ou thé à base de plantes alimentation humaine	Röder, 1995 <i>cité par AESA,</i> 2007 WKB, 2001 Langel et al, 2011
		<i>Senecio erucifolius</i> <i>syn. Jacobaea erucifolia</i>	Séneçon rugueux	sénécionine integerrimine (acetyl)seneciphylline spartioidine retrorsine (acetyl)erucifoline senecivernine jacobine jaconine		Langel et al, 2011 Witte et al., 1992 <i>cité par</i> <i>AESA, 2007</i>
		<i>Senecio ilicifolius</i>		sénécionine integerrimine seneciphylline retrorsine	alimentation humaine (grain)	AESA, 2007 Langel et al, 2011 WHO, 1988
		<i>Senecio inaequidens</i> <i>syn. Senecio burchellii</i>	Senecio burchellii	sénécionine integerrimine seneciphylline spartioidine retrorsine senkirkine otosenine	alimentation animale	AESA, 2007 Mulder et al., 2009 WHO, 1988 Langel et al, 2011

				florosenine floridanine doronine		
		<i>Senecio incanus</i> <i>syn. Jacobaea incana</i>	Séneçon gris alpin	sénécionine integerrimine seneciphylline jacobine jacozine jaconine jacoline		Langel et al, 2011 WKB, 2001
		<i>Senecio jacobaea</i> <i>syn. Jacobaea vulgaris</i>	Séneçon jacobée Séneçon vulgaire	sénécionine integerrimine senecivernine (acetyl)seneciphylline spartioidine retrorsine usaramine riddelliine jacobine jacozine jacoline jaconine (acetyl)erucifoline	produit ou thé à base de plantes alimentation animale (urine de bovin, matières fécales) alimentation humaine (bovin, lait de chèvre) miel pollen	COT, 2008 Crews et al., 2009 Deinzer et al., 1977 Dickinson et al., 1976, 1980 (milk) Edgar et al., 2002 Kempf et al., 2010a, 2010b Kirk et al., 2004 <i>cité par</i> <i>AESA, 2007</i> Macel et al., 2004 <i>cité par</i> <i>AESA, 2007</i> Mulder et al., 2009 Pelser et al., 2005 <i>cité par</i> <i>AESA, 2007</i> Röder, 1995 <i>cité par AESA,</i> <i>2007</i> Vrieling et Derridj, 2003 <i>cité</i> <i>par AESA, 2007</i> Walsh et Dingwell, 2007 WKB, 2001 WHO, 1988 Witte et al., 1992 <i>cité par</i> <i>AESA, 2007</i> AESA, 2009 Langel et al, 2011
		<i>Senecio longilobus</i> <i>syn. Senecio flaccidus</i>	Senecio flaccidus	sénécionine integerrimine	alimentation humaine	Anonymous, 1988 <i>cité par</i> <i>ANZFA, 2001</i>

				seneciophylline spartioidine retrorsine usaramine riddelliine		Langel et al, 2011
		<i>Senecio madagascariensis</i>	Séneçon de Madagascar Séneçon de Madagascar Epilobe à feuille étroite	sénécionine integerrimine senecivernine retrorsine usaramine (acetyl)senkirkine otosenine florosenine doronine	alimentation animale	Gardner et al., 2006 Langel et al, 2011
		<i>Senecio nemorensis</i> <i>syn. Senecio ovatus</i>	Séneçon des Alpes	sénécionine fuchsisénécionine triangularine retroisosenine dororenine nemorensine	miel pollen	Boppré et al., 2008 Kempf et al. 2010b AESA, 2009 Langel et al, 2011
		<i>Senecio riddellii</i>	Senecio riddellii	retrorsine riddelliine	alimentation animale	ANZFA, 2001 COT, 2008 Langel et al, 2011
		<i>Senecio scandens</i>	Qian li guang	sénécionine seneciophylline usaramine senkirkine jacobine jacozine erucifoline adonifoline	produit ou thé à base de plantes miel	Li et al., 2008 Wang et al., 2008 Zhang et al., 2008 Langel et al, 2011
		<i>Senecio sceleratus</i> <i>syn. Senecio latifolius</i>	Sénerçon Rhodesia	seneciophylline retrorsine sceleratine	alimentation animale	Cooper, 2007 Langel et al, 2011
		<i>Senecio vernalis</i>	Séneçon printanière	sénécionine	alimentation humaine	Eröksuz et al., 2003 <i>cité par</i>

				integerrimine senecivernine seneciphylline riddelline retrorsine (hydroxy)senkirkine	(oeufs) miel pollen	AESA, 2007 Eröksüz et al., 2008 Kempf et al., 2010a Reinhard et al., 2009 Skaanild et al., 2001 <i>cité par</i> AESA, 2007 Langel et al, 2011
		<i>Senecio vulgaris</i>	Séneçon vulgaire	sénécionine integerrimine seneciphylline spartioidine retrorsine usamarine riddelline	produit ou thé à base de plantes alimentation animale alimentation humaine (salade)	BfR, 2007 Frischknecht et al., 2001 <i>cité</i> <i>par AESA, 2007</i> Moyano et al., 2006 Mulder et al., 2009 Röder, 1995 <i>cité par AESA,</i> <i>2007</i> WKB, 2001 AESA, 2009 Langel et al, 2011
	Solanecio	<i>Solanecio gigas</i>		sénécionine integerrimine seneciphylline spartioidine usaramine neosenkirkine bulgarsenine	produit (médicinal) à base de plantes miel	Asres et al., 2007
		<i>Solanecio angulatus</i> <i>Senecio subscandens</i>		sénécionine integerrimine retrorsine	miel (pollen)	Asres et al., 2008 Langel et al, 2011
		<i>Solanecio mannii</i> <i>syn. Senecio mannii</i>		Pas d'AP toxiques identifiés	produit à base de plantes	Asres et al., 2008
		<i>Solanecio tuberosus</i>		sénécionine integerrimine eruciflorine seneciphylline retrosine jacobine jaconine	produit à base de plantes	Asres et al., 2008 Langel et al, 2011

				bulgarsenine retroisosenine		
	Tussilage	<i>Tussilage farfara</i>	Tussilage farfara	senkirkine sénécionine		Jiang et al., 2009 Röder, 1995 <i> cité par AESA, 2007</i> WKB, 2001 AESA, 2009 Langel et al, 2011
<i>Boraginaceae</i>	Alkanna	<i>Alkanna tinctoria</i> <i>syn. Anchusa tinctoria</i>	Orcanette des teinturiers	triangularine		WKB, 2001 AESA, 2009
	Anchusa	<i>Anchusa arvensis</i>	Buglosse des champs	echinatine?		WKB, 2001
		<i>Anchusa italica</i>	Buglosse d'italie			WKB, 2001
		<i>Anchusa officinalis</i>	Bugloss officinale	(7-acetyl)lycopsamine intermedine		Röder, 1995 <i> cité par AESA, 2007</i> WKB, 2001 AESA, 2009
	Borago	<i>Borago officinalis</i>	Bourrache (Commune)	(7-acetyl)lycopsamine (7-acetyl)intermedine supinine	alimentation humaine miel (pollen)	ANZFSC Edgar et al., 2002 COT, 2008 Koninklijk besluit, 1997 Röder, 1995 <i> cité par AESA, 2007</i> WKB, 2001 Wretensjö et Karlberg, 2003 AESA, 2009
	Cynoglossum	<i>Cynoglossum officinale</i>	<i>Cynoglossum officinale</i>	(12-acetyl)héliosupine 7-angeloylheliotridine echinatine viridiflorine	produit ou thé à base de plantes miel	Edgar et al., 2002 Knight et al., 1984 <i> cité par AESA, 2007</i> Röder, 1995, 2000 <i> cité par AESA, 2007</i> WHO, 1988 WKB, 2001 AESA, 2009

	Echium	<i>Echium amoenum</i>		echimidine (isomer) 7-angeloyl retronecine 7-tigloylretronecine	produit à base de plantes	Mehrabani et al., 2006
		<i>Echium plantagineum</i>	Vipérine faux-plantain Paterson's curse	echimidine echiumine echiuplatine	miel pollen alimentation humaine (grain)	ANZFA, 2001 ANZFSC, FSANZ 2004 Beales et al., 2004 Betteridge et al., 2005 Boppré et al., 2008 Culvenor et al., 1981 Culvenor 1983, 1985 Edgar et al., 2002 Kempf et al., 2010b AESA, 2009
		<i>Echium vulgare</i>	Vipérine commune	echivulgarine (acetyl)vulgarine (acetyl)echimidine leptanthine echimiplatine uplandicine echiuplatine	miel pollen alimentation humaine	ANZFSC Beales et al., 2004, 2007 Betteridge et al., 2005 Boppré et al., 2008 Edgar et al., 2002 Edgar et Smith, 2005 Kempf et al., 2010a, 2010b Moyano et al., 2006 AESA, 2009
	Heliotropium	<i>Heliotropium amplexicaule</i>	héliotrope bleu	indicine heliospathine	miel alimentation animale alimentation humaine (viande et organes)	Beales et al., 2004 Fletcher et al., 2011 Kempf et al., 2010b
		<i>Heliotropium arborescens</i> <i>Heliotropium peruvianum</i>	Héliotrope commun	(12-acetyl)indicine		Röder, 1995 <i>cité par</i> AESA, 2007 WKB, 2001
		<i>Heliotropium circinatum</i>		europine heliotrine heulerine lasiocarpine	alimentation humaine (oeufs)	Eröksüz et al., 2008
		<i>Heliotropium dolosum</i>		europine	alimentation humaine	Eröksüz et al., 2008

					(oeufs)	
		<i>Heliotropium europaeum</i>	Héliotrope européen	lasiocarpine europine heliotrine supinine heleurine	alimentation humaine (grain) produit ou thé à base de plantes miel	Beales et al., 2004 Edgar et Smith, 2000 AESA, 2007 Kempf et al., 2010b WHO, 1988 WKB, 2001 AESA, 2009
		<i>Heliotropium indicum</i>	Héliotrope indien	indicine echinatine supinine heleurine lasiocarpine		WKB, 2001 AESA, 2009 Hartmann et Witte, 1995
		<i>Heliotropium popovii</i>	Charmac	heliotrine lasiocarpine	alimentation humaine (grain, blé) alimentation animale (lait de chèvre)	Kakar et al., 2010 WHO, 1988
	Lithospermum	<i>Lithospermum officinale</i>	Grémil officinal Herbe aux perles	(12-acetyl)lithosénine		Röder, 1995 <i>cité par AESA,</i> 2007 WKB, 2001 AESA, 2009
	Myosotis	<i>Myosotis palustris</i> <i>syn. Myosotis scorpioides</i>	Myosotis des marais	myoscorpine (7-acetyl)scorpioidine symphytine	miel	Edgar et al., 2002 Röder, 1995 <i>cité par AESA,</i> 2007
		<i>Myosotis sylvatica</i>	Myosotis des marais	(3-acétyl)héliosupine		Hartmann et Witte, 1995
	Pulmonaria	<i>Pulmonaria officinalis</i>	Pulmonaire			AESA, 2009
	Consoude	<i>Consoude asperum</i>	consoude officinale consoude âpre	asperumine echiumine symlandine symphytine myoscorpine echinatine echimidine	Produit ou thé à base de plantes alimentation humaine	Hartmann et Witte, 1995

		<i>Consoude officinale</i>	Consoude officinale commune	(7-acetyl)intermedine (7-acetyl)lycopsamine echimidine symlandine symviridine myoscorpine symphytine	produit ou thé à base de plantes alimentation humaine	ANZFSC Couet et al., 1996 <i>cité par AESA, 2007</i> Mei et al., 2005 Röder, 1995 <i>cité par AESA, 2007</i> Oberlies et al., 2004 <i>cité par AESA, 2007</i> WKB, 2001 AESA, 2009
		<i>Consoude tuberosum</i>	Consoude tubéreuse officinale	amadoline (7-acetyl)lycopsamine symphytine echimidine		AESA, 2009 Hartmann et Witte, 1995
		<i>Consoude x uplandicum</i> <i>syn. Consoude peregrinum</i>	Consoude russe officinale	echimidine (7-acetyl)intermedine (7-acetyl)lycopsamine uplandicine symlandine symviridine myoscorpine symphytine	produit ou thé à base de plantes alimentation humaine	Röder, 1995 <i>cité par AESA, 2007</i>
<i>Fabaceae</i> (<i>Leguminosae</i>)	Crotalaria	<i>Crotalaria alata</i>		monocrotaline fulvine	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria aridicola</i>		Pas d'AP toxiques identifiées	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria brevis</i>		monocrotaline fulvine	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria crispata</i>		monocrotaline fulvine crispatine	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria cunninghamii</i>		retusamine	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria dissitiflora</i>			pâturage spp.	Fletcher et al., 2009

		<i>Crotalaria goreensis</i>		Pas d'Ap toxiques identifiés	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria grahamiana</i>		monocrotaline grahamine	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria incana</i>		integerrimine usaramine	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria juncea.</i>		sénécionine integerrimine junceine trichodesmine	pâturage spp.	Ji et al., 2005
		<i>Crotalaria lanceolata</i>			pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria medicaginea</i>		Pas d'AP toxiques identifiés	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria mitchellii</i>		retusamine crosemperine de-ethylretusamine	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria montana</i>		fulvine	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria nana</i>		crotananine cronaburmine	alimentation humaine	Anonymous, 1988 <i>cité par ANZFA, 2001</i>
		<i>Crotalaria novae-hollandiae</i>		retusamine crosemperine croaegyptine monocrotaline crispatine trichodesmine	pâturage spp. alimentation humaine (viande et organes)	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria pallida</i>		usaramine integerrimine	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009

		<i>Crotalaria ramosissima</i>		fulvine monocrotaline crispatine	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria retusa</i>	<i>Crotalaria retusa</i>	monocrotaline spectabiline retusine	produit ou thé à base de plantes alimentation humaine (grain) pâturage spp.	Anjos et al., 2010 Fletcher et al., 2009 Hooper et Scanlann, 1977 <i>cité par AESA, 2007</i>
		<i>Crotalaria spectabilis</i>		monocrotaline spectabiline retusine	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009 Hooper et Scanlann, 1977 <i>cité par AESA, 2007</i> Ji et al., 2005 AESA, 2009
		<i>Crotalaria verrucosa</i>		(acetyl)crotaverrine fulvine pumiline A	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
		<i>Crotalaria zanzibarica</i>		usaramine integerrimine	pâturage spp.	Fletcher et al., 2009
	Trichodesma	<i>Trichodesma incanum</i>		trichodesmine		AESA, 2009

ANNEXE II: Détails des études de génotoxicité

Substance (pureté)	Test	Concentration	Résultat	Référence
Riddelliine (pureté confirmée)	³² P-post-étiquetage/HPLC analyse des adduits d'ADN issus des DHP dans les foies des rats femelles F344 (Pour confirmation, le métabolisme microsomal in vitro du foie du rat a été conduit mais pas décrit)	Riddelliine: 1 nmol	Riddelliine (pos contr):1350±127 add/10 ⁸ nucl	Chou et Fu, 2006
Consoude officinale (extrait de racine, huile composée, feuilles, consoude)		Consoude officinale extrait de racine: équivalent à 2,28 nmol riddelliine	Consoude officinale extrait de racine: 22,0±3.8 add/10 ⁸ nucl	
		Consoude officinale huile composée: équivalent à 13.1 nmol riddelliine	Consoude officinale huile composée: 31,9±5.1 add/10 ⁸ nucl	
		Consoude officinale feuille, tablet: no pas d'AP		
		consoude officinale feuille, pepsine: pas d'AP		
Tussilage farfara (extrait de racine, tussilage)		Tussilage-fleur extrait de racine: équivalent à 1,86 nmol riddelliine	Tussilage farfara extrait de racine: 12,9±7.3 add/10 ⁸ nucl	
Flos farfara		Tussilage-fleur : équivalent à 2,66 nmol riddelliine		
		Tussilage-fleur : équivalent à 6.66 nmol riddelliine	Flos farfara: 7.4±3.2 add/10 ⁸ nucl	
		(consoude officinale consoude non mentionnée)	No d'adduits d'ADN dérivés de DHP détectés dans la consoude officinale feuilles, consoude	

			officinale consoude, ou tussilage farfara tussilage (le métabolisme <i>in vitro</i> révélait des resultants similaires)	
Riddelliine Consoude officinale (pureté et composition précise inconnue)	Expression des gènes et procédés de fonctions biologiques dans le foie du rat ont été comparés à une analyse à puce à ADN et logiciel de voie d'analyse inventif respectivement	1 mg/kg riddelliine (5x/semaine) for 12 semaines 8% consoude officinale régime de racine pour 12 semaines	Spectre comparable de mutation entre la consoude officinale et la riddelliine Corrélations fortes entre les altérations d'expression de gène causées par la riddelliine et la consoude officinale, en particulier concernant les gènes pour la dégradation des médicaments et les gènes rattachés au cancer	Guo et al. 2007
Consoude officinale (symphytine, 7-acetyllycopsamine, 7-acetylintermedine) (composition précise inconnue)	Détermination des fréquences de mutants (MF) dans le foie du rat Type des mutations induites par la consoude officinale compare à la riddelliine (Mei et al. 2004)	2% consoude officinale régime de racine pour 12 semaines	$MF_{\text{consoude officinale}} = 146 \pm 15 \times 10^{-6}$ $MF_{\text{control}} = 30 \pm 16 \times 10^{-6}$ Pas de différence importante entre le spectre de la mutation (principalement G:C→T:A transversion) induit par la consoude officinale et la riddelliine Il est suggéré fortement que les mutations induites par la consoude officinale sont dues aux AP dans la consoude officinale	Mei et al. 2005
Consoude officinale (composition précise inconnue)	Détermination des fréquences de mutants (MF) et analyse de la séquence dans le foie du rat male rat (et compare à Mei et	8% consoude officinale régime de racine pour 12 semaines	$MF = 139 \pm 35 \times 10^{-6}$ (comparable à 2% du régime de la consoude officinale)	Mei et al. 2006

	al. 2005)			<p>Le spectre de la mutation de 8% du régime a différé de façon importante pour le contrôle, mais pas du spectre du mutation de 2% du régime</p> <p>L'exposition à la consoude officinale a altéré l'expression des gènes impliquée dans le métabolisme, les dégats des cellules endothéliales, et dégat du foie les anomalies y compris la fibrose du foie et le development du cancer</p>	
Riddelliine (>97%)	Analyse de puce à ADN pour l'étude des altérations de l'expression des gènes	1 mg/kg pc (5 jours/semaine) pour 12 semaines	Les gènes qui ont été modifiés par la riddelliine principalement impliqués dans le cancer, la mort des cellules, le développement du tissu, le mouvement cellulaire, la morphologie du tissu, le signal et l'interaction de cellule en cellule et croissance et prolifération cellulaire	Mei et al. 2007a	
Consoude officinale (symphytine, acetyllycopsamine, acetylintermedine) (composition précise inconnue)	Détermination des fréquences de mutants (MF)et poumon du rat male	8% consoude officinale régime de racine pour 12 semaines	$MF_{\text{consoude officinale}} = 47.7 \pm 8.9 \times 10^{-6}$ $MF_{\text{controle}} = 33.8 \pm 9.6 \times 10^{-6}$ <p>Le spectre de la mutation de la consoude officinale (principalement G:C→T:A transversion) diffèrait de façon importante de celle du contrôle, mais comparable au spectre de la mutation de la riddelliine et le spectre de la mutation de la consoude officinale trouvée dans le</p>	Mei et Chen 2007b	

			foie du rat	
			Toutefois, d'autres mutations ont été observées également d'autres composés dans la consoude officinale peuvent être impliqués dans la mutagénicité du poumon	
Rétrorsine (pureté inconnue)	<p>Métabolisme in vitro du rétrorsine dans le foie du rat femelle, poumon, rein et microsomes de la rate en présence ou l'absence de triacetylolandomycine (TAO, enzyme du foie CYP3A inhibiteur) et dexaméthasone (inducteur d'enzyme du foie)</p> <p>³²P-post-étiquetage/HPLC analyse des adduits à l'ADN dérivés DHP dans le foie du rat femelle (in vivo) et dans les microsomes du foie du rat (in vitro)</p>	<p><i>In vitro</i></p> <p>Retrorsine: 2 µmol</p>	<p><i>Microsomes du foie</i></p> <p>Le rapport de la formation de DHP issu du métabolisme de la rétrorsine en présence 1,7-fois plus élevé que dans l'absence de dexaméthasone</p> <p>La formation de DHP de 67% (avec la dexaméthasone) et 77% (no dexaméthasone) est réduite en présence du TAO</p> <p>La formation en rétrorsine N-oxyde de 29% (avec la dexaméthasone) et 30% (pas de dexaméthasone) est réduite en présence du TAO</p> <p>Les memes adduits d'ADN dérivés du DHP ont été trouvés avec le métabolisme microsomal de la rétrorsine comme pour la riddelliine (controle positif)</p> <p><i>microsomes extrahépatiques</i></p> <p>Les activités enzymatiques de métabolisation de la rétrorsine</p>	Wang et al. 2005a

			<p>issues à la fois de la dexaméthasone-induites comme le contrôle des microsomes de rat beaucoup plus basse que celles comparées avec les microsomes du foie</p> <p><i>In vivo</i></p> <p>Les mêmes adduits d'ADN dérivés du DHP ont été trouvés avec le métabolisme <i>in vivo</i> de la retrorsine comme pour la riddelliine (contrôle positif)</p>	
<p>Riddelliine (N-oxyde)</p> <p>Retrorsine (N-oxyde)</p> <p>Monocrotaline (N-oxyde)</p> <p>(puretés confirmées)</p>	<p>Métabolisme <i>in vitro</i> dans le rat femelle et les microsomes de foie humain sous conditions oxydatives et hypoxiques et avec ou sans troleandomycine (TAO, enzyme du foie CYP3A inhibiteur)</p> <p>³²P-post-étiquetage/HPLC des adduits d'ADN issus des DHP dans le foie de rat femelle (<i>in vivo</i>)</p>	<p><i>In vitro</i></p> <p>Monocrotaline N-oxyde: 1,5 µmol</p> <p>Riddelliine N-oxyde et retrorsine N-oxyde: 1,4 µmol</p>	<p><i>In vitro</i></p> <p>A la fois DHP et le parent coorespondant AP sont des métabolites majeurs du métabolisme microsomal des AP N-oxydes chez le rat et dans le foie humain</p> <p>Dans des conditions oxydantes, la réduction des AP-N-oxydes au composé parenté est inhibée, tandis que dans des conditions hypoxiques la formation de DHP a diminué</p> <p>TAO entravait la formation de DHP de >70%, tandis que la réduction de N-oxyde n'était pas affectée</p> <p>Le niveau de l'activité de l'enzyme des microsomes comparable entre le foie humain et le foie du rat</p>	Wang et al., 2005b

			<p>Le rapport du métabolisme in vitro poursuit l'ordre: riddelliine \geq retrorsine > monocrotaline</p> <p><i>In vivo</i></p> <p>Les niveaux d'adduits d'ADN dérivés du DHP (in vivo):</p> <p>Riddelliine: $118 \pm 17 \text{ add}/10^7 \text{ nucl}$</p> <p>Retrorsine: $110 \pm 18 \text{ add}/10^7 \text{ nucl}$</p> <p>Monocrotaline: $55.2 \pm 1 \text{ add}/10^7 \text{ nucl}$</p> <p>Riddelliine N-oxyde: $39.9 \pm 0.6 \text{ add}/10^7 \text{ nucl}$</p> <p>Retrorsine N-oxyde: $11,5 \pm 0.1 \text{ add}/10^7 \text{ nucl}$</p> <p>Monocrotaline N-oxyde: $9.2 \pm 0.1 \text{ add}/10^7 \text{ nucl}$</p>	
		<p><i>In vivo</i></p> <p>Riddelliine, retrorsine et monocrotaline N-oxyde: $2,9 \mu\text{mol}/\text{kg}/\text{jour}$ pour trois jours consécutifs</p> <p>Monocrotaline: $3,0 \mu\text{mol}/\text{kg}/\text{jour}$</p> <p>Riddelliine N-oxyde et retrorsine N-oxyde: $2,7 \mu\text{mol}/\text{kg}/\text{jour}$</p>		
Riddelliine (pureté inconnue)	Métabolisme de la riddelliine par les microsomes du foie humain et du rat en présence ou en absence de la triacétyloéandomycine (TAO, enzyme du foie CYP3A inhibiteur)	0,1 mM	Les métabolites de riddelliine étaient la riddelliine N-oxyde et DHP en tant que résultat du métabolisme par à la fois les microsomes de rat et humain	Xia et al. 2003

	<p>³²P-post-étiquetage/HPLC analyse des adduits à l'ADN dérivés DHP formés dans le rat et le métabolisme microsomal du foie humain</p>		<p>Les paramètres cinétiques, V_{max} et K_m, à partir du métabolisme microsomal du foie humain étaient comparables à ceux du métabolisme microsomal du foie du rat</p> <p>Le même jeu de huit d'adduits d'ADN dérivés du DHP ont été détectés après le métabolisme microsomal du foie humain</p> <p>En présence de TAO, la formation de DHP et riddelliine N-oxyde était réduite de 48 et 92%, respectivement</p>	
<p>Lasiocarpine (>99%)</p> <p>Riddelliine (pureté inconnue)</p>	<p>Métabolisme in vitro de la lasiocarpine dans les microsomes du foie du rat femelle et male en présence ou en absence de ketoconazole ou troleandomycine (TAO) (tous deux inhibiteurs CYP3A de l'enzyme du foie) et dexaméthasone (inducteur d'enzyme du foie)</p> <p>³²P-post-étiquetage/HPLC analyse des adduits à l'ADN dérivés DHP formés dans le métabolisme microsomal du foie du rat</p>	0,2 mM	<p>Les mêmes adduits d'ADN dérivés du DHP ont été formés par le métabolisme de lasiocarpine comme pour la riddelliine (Contrôle positif)</p> <p>Niveau d'adduits d'ADN dérivés des DHP:</p> <p>Riddelliine: $10.2 \pm 3.3 \text{ add}/10^6 \text{ nucl}$</p> <p>Lasiocarpine: $10.1 \pm 3.3 \text{ dd}/10^6 \text{ nucl}$</p> <p>La formation de DHP par les microsomes du foie après le traitement au dexaméthasone 1,6- et 3.47-fois plus élevée pour le rat male et femelle, respectivement</p> <p>A la fois le ketoconazole et le TAO réduisaient la formation en DHP dans</p>	Xia et al. 2006

			la gamme de 85-92%	
<p>Heliotrine</p> <p>Riddelliine (N-oxyde)</p> <p>Rétrorsine (N-oxyde)</p> <p>Monocrotaline</p> <p>(pureté inconnue)</p>	<p>³²P-post-étiquetage/HPLC analyse des adduits à l'ADN dérivés DHP formés dans le métabolisme microsomale du foie du rat</p>	<p>0.2 mM</p>	<p>Le meme jeu d'adduits de DNA dérivés du DHP a été formé à partir du métabolisme de l'héliotrine par rapport à la riddelliine</p> <p>Niveaux relatifs de DHP-DNA de formation d'adduits:</p> <p>Riddelliine: $38.5 \pm 23.2 \text{ add}/10^8 \text{ nucl} \approx$ Lasiocarpine > Retrorsine: $196 \pm 22,8 \text{ add}/10^8 \text{ nucl} >$ Monocrotaline: $88.7 \pm 2,7 \text{ add}/10^8 \text{ nucl} \approx$ Retrorsine N-oxyde: $76 \pm 8.5 \text{ add}/10^8 \text{ nucl} \geq$ Riddelliine N-oxyde: $66 \pm 10.8 \text{ add}/10^8 \text{ nucl} >$ Heliotrine $23.1 \pm 8.3 \text{ add}/10^8 \text{ nucl}$</p>	<p>Xia et al. 2008</p>
<p>Retronecine (N-oxyde)</p> <p>Riddelliine (N-oxyde)</p> <p>Déhydroretronecine (DHR/ (DHP))</p> <p>(pureté inconnue)</p>	<p>³²P-post-étiquetage/HPLC analyse des adduits à l'ADN dérivés DHP formés dans le métabolisme microsomale du foie du rat femelle (in vitro) et du métabolisme in vivo</p>	<p><i>In vitro</i></p> <p>Riddelliine, riddelliine N-oxyde, retronecine, retronecine N-oxyde: 0.31 mg dans 50 µL DMSO</p> <p><i>In vivo</i></p> <p>Riddelliine et riddelliine N-oxyde: 3 µmol/kg/jour pour trois jours consécutifs</p> <p>Retronecine et retronecine N-oxyde: 6 µmol/kg/jour pour trois jours consécutifs</p>	<p>Le métabolisme de la retronecine, retronecine N-oxyde, riddelliine, et riddelliine N-oxyde in vitro et in vivo a résulté en des profils comparables DHP-DNA</p> <p>Niveaux relatifs de DHP-DNA formation d'adduits: DHR > riddelliine > riddelliine N-oxyde >> retronecine > retronecine N-oxyde</p>	<p>Yan et al. 2008</p>
<p>Riddelliine (pureté inconnue)</p>	<p>Métabolisme in vitro dans les microsomes du foie du rat femelle en présence ou</p>	<p><i>In vitro</i></p> <p>2 µmol dans 50 µL DMSO</p>	<p><i>In vitro</i></p> <p>Le métabolisme de la riddelliine était amélioré après le traitement</p>	<p>Yang et al. 2001</p>

	<p>absence de Phenobarbital (activation métabolique)</p> <p>³²P-post-étiquetage/HPLC analyse des adduits à l'ADN dérivés DHP formés dans le métabolisme microsomal du foie du rat femelle (in vitro) et du métabolisme in vivo</p>	<p><i>In vivo</i></p> <p>0.01, 0.033, 0.1, 0.33, 1,0 mg/kg/day (5 jours/semaine) pour 3 ou 6 mois</p>	<p>phenobarbital</p> <p>Les mêmes huit adduits d'ADN étaient formés après le métabolisme de la riddelliine comme pour la réaction DHR avec l'ADN</p> <p><i>In vivo</i></p> <p>Un profil d'adduit d'ADN similaire a été trouvé aussi bien in vivo que in vitro</p> <p>Une relation dose-réponse a été obtenue entre la dose et le niveau des adduits d'ADN totaux</p>	
--	---	---	--	--

ANNEXE III: Méthodes d'extraction pour les médicaments AP dans l'alimentation humaine et l'alimentation animale

Produit	Méthode d'extraction	Remarques	Référence
Plante			
Séneçon jacobée	A une température ambiante pour 2% de solution d'acide formique dans un 1,2:100 rapport poids/volume pour 1 h et par 0.25 M d'acide sulphurique dans un 1,5:100 rapport poids/volume pour 1 h. Les productions d'extraction comparables ont été obtenues pour les deux solvants.	Utilisé en association à deux méthodes de détection (GC-NPD et LC-MS/MS). L'acide formique présente l'avantage d'être compatible avec une analyse LC-MS/MS	Joosten et al., 2010
Séneçon vulgaire	0.05M d'acide sulphurique dans 30 min à température ambiante		Hartmann et Toppel, 1987
Consoude officinale feuilles	Trempage dans de l'eau chaude (90°C) pour 5 min dans un rapport 1:100 poids/solvant.	Les AP-N-oxydes ont été extraits de façon efficace par cette méthode	Oberlies et al, 2004
Consoude officinale	Méthanol/eau 1:1 in a 1:60 rapport poids/volume à 65°C pour 1 heure.	L'extraction a également été effectuée avec un système d'extraction avec de l'eau chaude mais cela a résulté dans des rendements moins élevés.	Liu et al., (2009)
Consoude officinale poudre de racine	Méthanol/eau 30/70 v/v contenant 5% d'acide acétique utilisant un bain ultrasonique à 45°C pour 45 min. un rapport de A 1:50 poids/solvant a été utilisé.		Altamirano et al. 2005
Consoude, Tussilage, Pétasites, Emiila et Doronicum species	Le méthanol contenant 1% de solution d'acide tartarique pour 2 h à une température de reflux ou: décoction de feuilles dans de l'eau bouillante pendant 15 min dans un rapport de 1:40 poids/solvant.		Mroczek et al, 2002
Tussilage farfara	Champs d'extraction les plus élevés ont été obtenus avec un mélange de méthanol/eau 50/50 acidifié avec de l'acide citrique au pH 2-3. Le matériel végétal a été extrait pendant 15 min à une température de reflux dans 1:60 rapport poids/volume.	Différents solvants d'extraction (eau, méthanol, et en combinaison avec les modificateurs acidiqes et alcaliniques) ont été testés afin d'optimiser l'extraction des AP	Lebada et al., 2000
Tussilage farfara	Les meilleurs résultats ont été obtenus avec un mélange de méthanol/eau 1:1, acidifié avec de l'acide hydrochlorique à pH 2-3.	Comparison de l'extraction assistée au micro onde (15 min), avec extraction d'eau chaude pressurisée (50 min) et extraction sous reflux (60 min). Pour toutes les méthodes des rétablissements ont été obtenues.	Jiang et al ., 2009
Qianliguang (Phytothérapie chinoise)*	Extraction ultrasonique en utilisant 0,2% HCl pour 40 min dans un rapport de 1,2:100 poids/solvant.		Zhang et al., 2008
Phytothérapie chinoise*	Méthanol/eau 1:1, acidifié avec de l'acide citrique à un		Yu et al., 2005

	pH 2-3 pour 30 min à une température de reflux dans 1:60 rapport de poids/volume.		
<i>Gynura segetum</i> (médecine chinoise traditionnelle)*	Méthanol/eau 1:1, acidifiés avec de l'acide citrique (pH 2-3) à température ambiante pour 30 min avec un rapport de 1:50 poids/solvant		Qi et al., 2009a
Miel et pollen			
Miel	0,05 M d'acide sulphurique dans /mélange de méthanol dans un mélange de rapport de 1:1,5 poids/volume.	Addition d'un pourcentage élevé de méthanol a résulté dans un précipité.	Betteridge et al., 2005
Miel	Dilution avec de l'eau dans un rapport de 1:2 poids/volume.		Beales et al., 2004
Miel	0,05 M d'acide sulphurique dans un rapport de 1:1,5 poids/volume.		Kempf et al., 2008
Miel	Dilution avec 0,05 M d'acide sulphurique dans un rapport de 2:1 poids/volume pour 1 h à la température ambiante.		Crews et al, 1997
Pollen de miel <i>Echium</i>	0,05 d'acide sulphurique dans un rapport de 1:100 poids/volume pour 4 h à température ambiante.		Boppré et al., 2005
Pollen de miel	0,05 M d'acide sulphurique dans un rapport de approx. 1:30 poids/volume pour 16h. Le pollen contenant des niveaux bas d'AP ont été extraits dans un rapport de de 1:10 poids/volume pour 30 h.		Boppré et al., 2008
Miel	Dilution avec de l'eau dans un taux de 1:4 poids/volume et une extraction liquid-liquide avec l'addition de l'acétonitrile après addition de sel QuEChERS.		Kempf et al., 2011
Pollen au sol	0,05 M d'acide sulphurique pour extraire un rapport de 1:15 poids/volume pour 24 h.		Kempf et al., 2010
Alimentation animale			
Animal forage	Extraction avec 2% l'acide formique pour 30 min à température de la salle dans 1:20 poids/rapport du solvant.		Mulder et al., 2009
Autre			
Matières fécales bovines	Extraction avec 2% l'acide formique pour 30 min à température de la salle dans 1:20 poids/rapport du solvant.		Hoogenboom et al. 2011

*Compilations de phytothérapie chinoise contenant des AP sont disponibles (Roeder, 2000; Fu et al, 2007; Roeder et Wiedenfeld, 2009).

ANNEXE IV: Méthodes utilisées pour le nettoyage des extraits contenant des AP

Méthode de nettoyage	Type d'extrait	Remarques	Référence
<i>Extraction liquide-liquide (LLE)</i>			
Les agents réducteurs utilisés étaient la poussière de zinc et le métabisulphite de sodium. LLE avec le dichloromethane sur les colonnes Extrelut	Séneçon jacobée	La LLE avec des solvants chlorés comme le dichloromethane exige la réduction des AP-N-oxydes polaires aux aminés tertiaires préalablement à la LLE. Des rendements quelque peu élevés ont été obtenus avec de la poussière de zinc par rapport au métabisulphite de sodium.	Joosten et al., 2010
Réduction de la poussière de zinc de l'extrait végétal dans l'acide sulphurique de 0.05M suivi par LLE sur la colonne Extrelut avec le dichloromethane	Diverses espèces de séneçon		Hartmann et Toppel., 1987, Hartmann et Witte, 1992, Hartmann et Dierich, 1998
Réduction de la poussière de zinc, suivi par LLE sur la colonne Extrelut avec le dichloromethane /methanol (95:5)	Miel		Crews et al, 1997.
<i>Phase solide d'extraction</i>			
Les échanges de cations forts (SCE) SPE pour AP et AP N-oxydes	Consoude, Tussilage, Pétasites, espèces de Emiila et Doronicum		Mroczek et al, 2002
Cartouches SCE utilisées pour extraire les AP et les AP-N-oxydes issus des extraits aqueux acidiques	Vipérine faux-plantain/ Paterson's Curse		Colegate et al., 2005
Cartouches utilisées pour extraire les AP et les AP-N-oxydes issus des extraits aqueux acidiques	Miel		Beales et al., 2004, Betteridge, 2005
SPE sur les cartouches SCE	Vipérine commune pollen et autres espèces		Boppré et al., 2005, Boppré et al., 2008
Cartouches SCE	Miel et pollen		Kempf et al., 2008, 2010

En ligne garde-fou	-SPE C18 colonnes	Miel		Kempf et al., 2011
Cartouches neutre	SPE polymérique	Forage animal		Mulder et al. 2009
Cartouches neutre	SPE polymérique	Urine et matières fécales bovine		Hoogenboom et al. 2011

ANNEXE V: méthodes de séparation et detection pour AP

	Méthode	Produit original	AP	LOD	Remarques	Référence
GC						
Médicament à base de plantes	GC-EI-MS d'AP dérivé	huile de bourrache et parties d'usine de bourrache	AP issu de <i>Borago officinalis</i>	20 ng/g		Wretensjö et Karlberg, 2003
Miel et pollen	La méthode GC-MS. Les divers AP sont d'abord réduits à a leur structure de centre de la nécine et ensuite dérivés et analysés.	Miel et pollen	Retronécine, la base noyau de la nécine de beaucoup d'AP: Détermination de la somme d'AP	3 ng/g (LOD) 10 ng/g (LOQ)	La méthode n'est pas applicable au type AP d'otonécine.	Kempf et al (2008, 2010)
Tissu animal	Méthode GC. Derivatisation préalable à l'analyse est requise pour volatiliser la base de nécine.	Moutons de rumen fluide	Retronécine, la base noyau de la nécine de beaucoup d'AP	90 ng/ml		Hovermale et Graig, 1998
LC-MS						

Médicament à base de plantes	LC-MS/MS avec colonne rapprochée C18 RP HPLC à pH 11	séneçon jacobée	N-Oxydes AP et AP de <i>Senecio jacobaea</i>	200-500 ng/g	D'une manière pratique aucun prétraitement d'échantillon n'a été requis	Joosten et al (2010)
	LC-ToF-MS avec colonne C18 RP HPLC	séneçon jacobée	N-oxydes AP et AP de <i>Senecio jacobaea</i>	Approx 1000 ng/g	Méthode semiquantitative pour contrôler la dégradation d'AP dès compostage.	Crews et Anderson, 2009, Crews et al. 2009, Hough et al, 2010
	LC-IT-MS avec colonne C18 RP HPLC	Tussilage farfara	AP de <i>Tussilage farfara</i>	Approx. 500 ng/g		Jiang et al, 2009
	LC-IT-MS avec colonne C18 RP HPLC	Consoude officinale	Oxydes d'AP et PAN de Consoude	LOQ 100 ng/g		Liu et al (2009)
	LC-IT-MS avec colonne C18 RP HPLC	Racine russe de consoude officinale	Oxydes d'AP et PAN de <i>Consoude</i>	??	Méthode d'identification des nouveaux AP	Wuilloud et al (2004)
	LC-IT-MS avec colonne C18 RP HPLC	Produits commerciaux de consoude officinale	Oxydes d'AP et PAN de <i>Consoude</i>	??	Analyse qualitative	Altamirano et al (2005)
	LC-IT-MS avec colonne C18 RP HPLC à pH élevé	Deux espèces de Onosma et Emilia	Oxydes d'AP et PAN de <i>Emilia</i> et <i>Onosma</i>	??	Méthode d'identification des nouveaux AP	Mroczek et al, 2004

	LC-IT-MS avec colonne Aqua C8 RP HPLC	Vipérine faux-plantain/ Paterson's curse	AP et les oxydes AP-N-oxydes de <i>Echium</i>	??	Méthode d'identification des nouveaux AP	Colegate et al (2005)
Médicament à base de plantes	LC-IT-MS avec colonne C18 RP HPLC	<i>Gynura segetum</i> (plante médicinale chinoise)	Oxydes d'AP et PAN de <i>Gynura segetum</i>	??	Méthode d'identification des nouveaux AP	Qi et al (2009)
	LC-MS/MS avec colonne C18 RP HPLC à pH élevé	Qianliguang (plante médicinale chinoise)	Oxydes d'AP et PAN de <i>Senecio scandens</i>	690 ng/g		Li et al, 2008;
	LC-IT-MS avec colonne C18 RP HPLC	Qianliguang	Oxydes d'AP et PAN de <i>Senecio scandens</i>	50-100 ng/g		Zhang et al, 2008
	LC-IT-MS avec colonne Aqua C18 RP HPLC	Médicaments à base de plantes	Oxydes d'AP et PAN de <i>Consoude</i> et <i>Senecio scandens</i>	1 ng/ml dans l'extrait		Cao et al (2008)
Miel et pollen	LC-MS avec colonne HPLC polymérique	Miel	AP de <i>Senecio jacobaea</i>	2 ng/g	AP N-oxyde réduction préalable à l'analyse	Crews et al, 1997
	LC-IT-MS avec colonne C8 RP HPLC	Miel	AP issu de <i>Echium</i> et <i>Heliotropium</i>	Approx. 1,5 ng/g	AP N-oxyde réduction préalable à l'analyse	Beales et al, 2004;

	LC-IT-MS avec Aqua C18 RP HPLC colonne	Miel	Oxydes d'AP et PAN issu de Echium	Approx. 1,5 ng/g		Betteridge et al, 2005
	LC-IT-MS avec colonne Aqua C18 RP HPLC	Pollen	N-Oxydes d'AP et PAN issu de from <i>Echium</i> , <i>Eupatorium</i> , <i>Senecio jacobaea</i> et <i>S. ovatus</i> pollen	??	Méthode d'identification des nouveaux AP	Boppré et al, 2005; Boppré et al 2008
Aliment pour animaux	LC-MS/MS avec C18 rapproché RP UPLC colonne à pH 11	Forage animal	Oxydes d'AP et PAN de <i>Senecio jacobaea</i> , <i>S. vulgaris</i> et <i>S. inaequidens</i>	5-10 ng/g		Mulder et al., 2009
Produit d'origine animale	LC-MS/MS avec colonne rapprochée C18 RP UPLC	Lait bovin	Oxydes d'AP et PAN de <i>Senecio jacobaea</i>	LOQ 0.05-0.2 ng/ml		Hoogenboom et al., 2011

Autres	LC-ToF-MS et LC-IT-MS avec colonne C18 RP HPLC	Sérum de rat, urine et bile	Métabolites d'AP issu de <i>Senecio scandens</i>	LOQ 0.6-1,2 ng/ml	Méthode d'identification des nouveaux métabolites d'AP et AP	Xiong et al, 2009a, 2009b
	LC-MS/MS avec C18 rapproché UPLC colonne à pH 11	Urine de bovin, urine, matières fécales	Oxydes d'AP et PAN de <i>Senecio jacobaea</i>	LOQ 0.2-0.5 ng/ml		Hoogenboom et al., 2011

ANNEXE VI: Données d'occurrence d'AP dans les groupes d'aliments

	Plantes à AP (AP testés)	Produit	Origine	Concentration moyenne	Concentration minimale	Concentration maximale	Méthode analytique utilisé (LOD/LOQ)	Référence
Aliment pour animaux et pâturage spp.	AP total	Ensilage	Les Pays-Bas	<10 µg/kg	-	28 µg/kg	LC-MS/MS basé (LOD= 10 µg/kg)	Mulder et al., 2009
		Ensilage Préfanage		<10 µg/kg	-	<10 µg/kg		
		Foin		<10 µg/kg	-	<10 µg/kg		
		Réserve naturel du foin		22 µg/kg	-	549 µg/kg		
		Herbe sèche		<10 µg/kg	-	<10 µg/kg		
		Grains, couche d'herbe		21 µg/kg	-	288 µg/kg		
		Foin sec/alfalfa		411 µg/kg	-	3524 µg/kg		

		Grains, couche de luzerne		476 µg/kg	-	5401 µg/kg		
	Séneçon de Madagascar (<i>Senecio madagascariensis</i>) (AP total)	Pédoncles, feuilles, fleurs	Hawaii, Maui, Iles hawaïennes	874 µg/g	217 µg/g	1990 µg/g	GC-MS (LOD et LOQ inconnue)	Gardner et al., 2006
	Crotalaire (<i>Crotalaria juncea</i>) (AP total pour lesquels seuls du junceine et trichodesmine ont été détectés)	Graines	Asie du Sud-Est, Asie, Amérique du sud, Afrique, Europe	1,87 µmol/g	0,8 µmol/g	3,8 µmol/g	HPLC-UV-ELSD (LOD= 40 µg), HPLC-UV-MS (LOD= 1 µg), NRM spectroscopie	Ji et al., 2005
	Showy rattlebox (<i>Crotalaria spectabilis</i> Roth.)		Nigeria	96 µmol/g	-	-		
			USA	60 µmol/g				
	<i>Crotalaria</i> taxa (AP total) <i>C. alata</i> Buch.-Ham. ex D.Don	Matériel végétal	Queensland, Territoire du nord, Australie de l'Ouest	(teneur en AP dans les équivalents de la rétroisine)			GC-MS (LOD et LOQ inconnu)	Fletcher et al., 2009
				0,03 mg/g	0 mg/g	0,06 mg/g		
	<i>C. aridicola</i> subsp. <i>densifolia</i> A.E.Holland			13,6 mg/g	7 mg/g	22 mg/g		
	<i>C. brevis</i> Domin			0,03 mg/g	0 mg/g	0,15 mg/g		
	<i>C. crispata</i> F.Muell. ex Benth.			7,7 mg/g	3 mg/g	21 mg/g		
	<i>Crotalaria cunninghamii</i> R.Br. subsp. <i>cunninghamii</i>			0,06 mg/g	0,04 mg/g	0,08 mg/g		
	<i>C. dissitiflora</i> Benth. subsp. <i>dissitiflora</i>			<LOD	<LOD	<LOD		

<i>C. goreensis</i> Guill. & Perr.			4,5 mg/g	0,3 mg/g	14 mg/g		
<i>C. grahamiana</i> Wight & Arn.			1,3 mg/g	1,3 mg/g	1,3 mg/g		
<i>C. incana</i> L. subsp. <i>incana</i>			0,04 mg/g	0,04 mg/g	0,04 mg/g		
<i>C. incana</i> subsp. <i>purpurascens</i> (Lam.) Milne-Redh.			0,03 mg/g	0,03 mg/g	0,03 mg/g		
<i>C. lanceolata</i> E.Mey. subsp. <i>Lanceolata</i>			<LOD	<LOD	<LOD		
<i>C. medicaginea</i> var. <i>neglecta</i> (Wight & Arn.) Baker (chemotype 1)			2,2 mg/g	0,7 mg/g	4 mg/g		
<i>C. medicaginea</i> var. <i>neglecta</i> (Wight & Arn.) Baker (chemotype 2)			4,6 mg/g	0 mg/g	11 mg/g		
<i>C. medicaginea</i> var. <i>neglecta</i> (Wight & Arn.) Baker (chemotype 3)			6,8 mg/g	6,8 mg/g	6,8 mg/g		
<i>C. mitchellii</i> Benth. subsp. <i>mitchellii</i>			0,5 mg/g	0,3 mg/g	0,7 mg/g		
<i>C. montana</i> var. <i>angustifolia</i> (Gagnep.) Niyomdham			0,1 mg/g	0 mg/g	0,3 mg/g		
<i>C. montana</i> var. <i>exserta</i> (Domin) A.E.Holland			<LOD	<LOD	<LOD		

<i>C. novae-hollandiae</i> subsp. <i>crassipes</i> (Hook.) A.E.Holland			2,3 mg/g	2,3 mg/g	2,3 mg/g		
<i>C. novae-hollandiae</i> subsp. <i>lasiophylla</i> (Benth.) A.T.Lee			0,2 mg/g	0 mg/g	0,6 mg/g		
<i>C. novae-hollandiae</i> DC. subsp. <i>novae-hollandiae</i> (chemotype 1)			0,6 mg/g	0,1 mg/g	1,4 mg/g		
<i>C. novae-hollandiae</i> DC. subsp. <i>novae-hollandiae</i> (chemotype 2)			6,0 mg/g	0,3 mg/g	23 mg/g		
<i>C. novae-hollandiae</i> DC. subsp. <i>novae-hollandiae</i> (chemotype 3)			0,4 mg/g	0,2 mg/g	0,7 mg/g		
<i>Crotalaria pallida</i> var. <i>obovata</i> (G.Don) Polhill			0,1 mg/g	0 mg/g	0,2 mg/g		
<i>C. ramosissima</i> Roxb.			22,3 mg/g	11 mg/g	71 mg/g		
<i>C. retusa</i> L. var. <i>retusa</i>			12,2 mg/g	0,5 mg/g	31 mg/g		
<i>Crotalaria spectabilis</i> Roth.			0,6 mg/g	0,6 mg/g	0,6 mg/g		
<i>Crotalaria verrucosa</i> L.			0,01 mg/g	0 mg/g	0,05 mg/g		
<i>Crotalaria zanzibarica</i> Benth.			0,3 mg/g	0,3 mg/g	0,3 mg/g		

Médicament à base de plantes	<i>Senecio scandens</i> (Adonifoline)	Herbe, fleur, pédoncule mince, pédoncule épais queue, racine, feuille	Différents sites en Chine	32,56 µg/g (herbe)		109,9 µg/g (herbe)	HPLC-MS (LOD= 0,5 ng/mL; LOQ= 1,0 ng/mL)	Zhang et al., 2008
				261,6 µg/g (fleur, n=1)	4,000 µg/g (herbe)			
				85,90 µg/g (pédoncule mince, n=1)				
				43,81 µg/g (pédoncule épais stem, n=1)				
				31,48 µg/g (racine, n=1)				
				15,61 µg/g (feuille, n=1)				
Céréale	Charmac (<i>Heliotropium popovii</i>) (Heliotrine (N-oxyde), lasiocarpine)	Farine (contaminée)	Afghanistan de l'ouest	Heliotrine 0,16 mg/kg Heliotrine N-oxyde 5,4 mg/kg Lasiocarpine 0,045 mg/kg			LC/MS/MS	Kakar et al., 2010
		Farine (contrôle)	Afghanistan de l'ouest	Heliotrine 0,07 mg/kg Heliotrine N-oxyde 2,6 mg/kg Lasiocarpine 0,025 mg/kg				Kakar et al., 2010
Miel	Séneçon printanière (<i>Senecio vernalis</i>) (Total AP)	Pollen, fleurs ou inflouescences	Allemagne, De places de marché et pharmacies en Europe, via internet de USA, Mexique, Nouvelle Zélande, Asie	4,1 mg/g (pollen) 2,3 mg/g (fleurs ou inflouescences)		5.2 mg/g (pollen, fleurs)	GS-MS (pollen de fleur) Haute résolution GC-MS (pollen produits; LOD= 0,003 µg/g; LOQ= 0,01 µg/g)	Kempf et al., 2010a
	Séneçon jacobée séneçon (<i>Jacobaea vulgaris</i>) (Total AP)			3,3 mg/g (pollen) 3,4 mg/g (fleurs)		-		

Eupatoire à feuilles de chanvre (<i>Eupatorium cannabinum</i>) (Total AP)			0,6 mg/g (pollen) 4,2 mg/g (fleurs)	2,9 mg/g (pollen) 1,0 mg/g (fleurs)	-		
Vipérine commune (<i>Echium vulgare</i>) (Total AP)			0,9 mg/g (pollen) 2,0 mg/g (fleurs)	-	-		
Orchidées (<i>Phalaenopsis hybrids</i>) (Total AP)			0,6 mg/g (pollen) 4,4 mg/g (fleurs)	-	-		
Produits du pollen (Total AP)			5,17 µg/g	-	16,35 µg/g		
Séneçon jacobée (<i>Jacobaea vulgaris</i>) (Total AP)	Miel	-	3,4 µg/g	-	3,9 µg/g	GC-MS (Deinzer et al., 1977)	Kempf et al., 2010b
			0,02 µg/g	1,08 µg/g	0,06 µg/g	LC-MS (MAFF, 1995; Crews et al., 1997)	
			<0,002 µg/g	0,3 µg/g	-		
			0,95 µg/g	-	1,5 µg/g		
Vipérine faux-plantain/ Paterson's Curse (<i>Echium plantagineum</i>) (Total AP)			0,58 µg/g	-	0,95 µg/g	GC-MS (Culvenor et al., 1981)	
			0,91 µg/g	-	2,63 µg/g	LC-MS (Beales et al., 2004; Beales et al., 2007)	
			0,27 µg/g	-	1,03 µg/g		
Héliotrope bleue (<i>Heliotropium amplexicule</i>) (Total AP)			0,81 µg/g	-	1,65 µg/g	LC-MS (Beales et al., 2004; Beales et al., 2007)	

Héliotrope européenne (<i>Heliotropium europaeum</i>) (Total AP)			0,19 µg/g	-	0,25 µg/g	LC-MS (Beales et al., 2004; Beales et al., 2007)
Vipérine commune (<i>Echium vulgare</i>) (Total AP)			0,39 µg/g	-	1,3 µg/g	LC-MS (Beales et al., 2004; Beales et al., 2007)
Vipérine commune (<i>Echium vulgare</i>) (Total AP)			0,79 µg/g	-	2,85 µg/g	LC-MS (Betteridge et al., 2005)
Sénéçon jacobée (<i>Jacobaea vulgaris</i>) (Total AP)	Pollen de fleur, charges de pollen	-	0,175 mg/g (pollen de fleur, sénécionine eq.)	-	-	GC-MS (Budde et al., 2004)
			0,8 mg/g (pollen de fleur, lasiocarpine eq.)	-	-	LC-MS (Boppré et al., 2008)
			0,1 mg/g (charges de pollen, lasiocarpine eq.)	-	-	
Vipérine faux-plantain/ Paterson's Curse (<i>Echium plantagineum</i>) (Total AP)			0,028 mg/g (charges de pollen, lasiocarpine eq.)	-	-	LC-MS (Boppré et al., 2008)
			0,006 mg/g (charges de pollen, lasiocarpine eq.)	-	-	
Vipérine commune (<i>Echium vulgare</i>) (Total AP)			8,2 mg/g (pollen de fleur, lasiocarpine eq.)	-	-	LC-MS (Boppré et al., 2005)
			14 mg/g (pollen de fleur, lasiocarpine eq.)	-	-	
			0,35 mg/g (charges de pollen, lasiocarpine eq.)	-	-	LC-MS (Boppré et al., 2008)

	Eupatoire à feuilles de chanvre (<i>Eupatorium cannabinum</i>) (Total AP)			0,120 mg/g (charges de pollen, lasiocarpine eq.)	-	-	LC-MS (Boppré et al. 2008)	
	Séneçon alpine (<i>Senecio alpinus</i>) (Total AP)			0,155 mg/g (pollen de fleur, lasiocarpine eq.)	-	-	LC-MS (Boppré et al. 2008)	
				0,07 mg/g (charges de pollen, lasiocarpine eq.)	-	-		
	Total AP (≥ 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	Miel	Les Pays-Bas	6,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$	-	365 $\mu\text{g}/\text{kg}$	LC-MS/MS based (LOD= 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (van Rhijn, 2007)	RIVM, 2007 (VWA)
Total 16 AP et N-oxydes (≥ 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	Miel (brut)	Importé	36 $\mu\text{g}/\text{kg}$	-	3,3 mg/kg	LC-MS/MS (LOD = 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$; LOQ = 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	Raezke, Données non publiées 2010; Kempf et al., 2011	
Total 16 AP et N-oxydes (≥ 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	Miel (retail)	Allemagne	9,1 - 22,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (4 enquêtes)	-	31 – 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$	LC-MS/MS (LOD = 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$; LOQ = 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	Raezke 2010a, Données non publiées Intertek Food Services GmbH, 2010	
Lait	Séneçon jacobée (<i>Jacobaea vulgaris</i>) (0,16% AP, 10 mg/kg/jour)	Lait (vaches)	-	0,840 mg/L (moyenne la plus élevée)	-	-	-	Dickinson et al., 1976, cite par OMS 1988
	Séneçon jacobée (<i>Jacobaea</i>)	Lait (chèvres)	-	0,381 mg/L	<2 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0,530 mg/L	-	Dickinson et al., 1980,

	<i>vulgaris</i>) (0,16% AP, 10 mg/kg/jour)							cité par OMS 1988
Viande	<i>Crotalaria novae-hollandiae</i> subsp. <i>novae-hollandiae</i> Chemotype 2 (Total ap et adduits)	Foie, rein, coeur, muscle (veaux)	Australie septentrionale	-	-	250 µg/kg (muscle) 2500 µg/kg (foie) (rein et coeur entre)	LCMSMS	Fletcher et al., 2010
	Heliotrope bleu (<i>Heliotropium amplexicaule</i>) (Total AP et adduits)	Foie, rein, coeur, muscle (veaux)	Australie septentrionale	-	-	<LOQ (1 µg/kg)	LCMSMS	
	Epilobe à feuille étroite (<i>Senecio brigalowensis</i>) (Total AP et adduits)	Foie, rein, coeur, muscle (veaux)	Australie septentrionale	-	-	400 µg/kg après 3 semaines, 40 µg/kg après 6 semaines (foie) (rein, coeur,, muscle en dessous de ça)	LCMSMS	
	Total AP	Foie et rein (animaux domestiqués)	-	-	-	73 µg/kg	-	Edgar, données non publiées citées par ANZFA 2001
Oeufs	Total AP dans le blé	Oeufs (poulet)	-	-	-	0,168 mg/kg	-	Edgar et Smith, 2000, cité par COT 2008

ANNEXE VII Pratiques de gestion

Les pratiques de gestion peuvent être destinées à

- Des mesures de prévention pour la propagation des végétaux contenant des AP, à un niveau régional (principalement trouvés dans les espèces de séneçon);
- Des mesures pour la prévention de la consommation de ces végétaux par le bétail, comme les AP sont transférés de l'alimentation humaine à l'alimentation animale;
- Des pratiques pour la réduction des AP dans l'alimentation humaine et animale contaminée.

Les détails sur les pratiques de gestion trouvées sont résumés ci-dessous. Les mesures trouvées pour la gestion des mauvaises herbes sont principalement destinées au contrôle du séneçon jacobée.

Prévention de la propagation des végétaux contenant des AP

La principale mesure de contrôle est le contrôle des mauvaises herbes conformément aux bonnes pratiques agricoles. Conformément à la FAO (FAO, 2007, citées par la FAO, 2010), les méthodes les plus utilisées pour le contrôle des mauvaises herbes comprennent:

- Les méthodes préventives (procédures légales et de quarantaine, et autres au niveau de la ferme);
- Méthodes de culture (rotation de la récolte, préparation de la terre, emploi des cultures de protection, polyrécolte, Paillage, gestion de l'eau);
- Désherbage mécanique (manuel ou utilisant des machines);
- Méthodes chimiques (emploi des herbicides);
- Méthodes biologiques (méthodes classiques à travers l'introduction du de l'exotique au naturel Ennemis et augmentation de la population des ennemis naturels déjà existants);
- Autres méthodes non conventionnelles (solarisation du sol, emploi de l'eau chaude et autres dans le développement).

Contrôle préventif des mauvaises herbes

La prévention du séneçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*) requiert moins de ressources que le contrôle des infestations et est par conséquent un bon investissement (McLaren & Faithfull, 2004⁵). Selon les auteurs, la prévention devrait inclure les étapes suivantes:

- Destruction des végétaux isolés avec des herbicides ou manuellement, avant qu'ils mettent des graines;
- S'assurer que le foin et d'autres graines de fourrage et de plantation ne sont pas contaminés. Si l'aliment fourrage doit être utilisé, il devrait être donné à manger uniquement dans les zones déjà infestées ou dans une zone définie qui peut être traitée facilement si une éclosion apparaît;
- L'application des mêmes normes au sol, sable et gravillons comme appliqués aux aliments fourrage;
- Les cheptels en quarantaine qui ont brouté dans des zones infestées puisque les graines peuvent être charriées sur les sabots et les pelages, et dans les tubes digestifs du bétail. Inspecter la zone de quarantaine régulièrement pour le séneçon sur les végétaux;
- Les véhicules de nettoyage, la machinerie et l'équipement après avoir été utilisés dans les zones infestées;
- Prendre des mesures internes de quarantaine pour les propriétés infestées. Les produits issus de zones infestées devraient être séparés de ceux croissant dans des aires propres. Maintenir des bandes d'isolement

⁵ Cet article a été écrit en se fondant sur la situation de l'état de Victoria en Australie. Comme les pratiques peuvent s'appliquer à d'autres régions, les informations ont été reprises dans cette annexe.

exemptes de mauvaises herbes entre la terre infestée et la terre non infestée. Des zones humides clôturées permanentes ou temporairement afin d'exclure le pâturage jusqu'aux mois plus secs;

- Des zones d'études comme les ravins et les zones de refuge dont les cheptels sont exclus pour permettre le traitement effectif des mauvaises herbes;
- Les contrôleurs délégués de formation, l'entretien du bord de la route etc. pour identifier et rapporter des infestations, pour les traiter au moment voulu, et pour les gérer d'une façon à prévenir l'épandage;
- L'ensachement de tous les matériaux lors du retrait des végétaux en fleurs ou de la graine, puisque les graines sont facilement détachables de la tête. Les fleurs et les graines contaminés devraient être détruites en utilisant le feu ou l'enfouissement profond.

La priorisation des mesures de contrôle pourrait être faite en utilisant le système comme il est proposé par Neumann et al. (2009). Basées sur la distance du Sénéçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*) à un champ ou pâturage, trois zones à risque sont identifiées. Lorsque le risque est catégorisé comme élevé (0-50 mètres), une action immédiate sur le contrôle des espèces de sénéçon (*Senecio*) est recommandé. Lors d'un risque moyen (50-100 mètres), une politique de contrôle devrait assurer que les modifications de risque moyen à élevé soient anticipées et effectivement réglées. Pas d'actions immédiates ne seront requises en cas de risque peu élevé (> 100 mètres).

En 2004, le département de l'environnement, de l'alimentation et des affaires rurales (Defra) du Royaume-Uni a publié un code d'usages sur la façon d'empêcher la propagation du sénéçon. Le but du CoP est de contrôler la propagation du sénéçon jacobée là où il y a un risque identifiable pour les animaux vulnérables y compris à travers la production du fourrage (Defra, 2004, cité par COT, 2008).

Contrôle cultural des mauvaises herbes

Pâturages

L'infestation ou la présence d'espèces de sénéçon dans les pâturages doit être contrôlée par :

- La promotion d'un pâturage à base d'un gazon dense, constant et compétitif (Leiss, 2010). Les gazons avec un pourcentage élevé de terre non couverte (>25 pour cent) supportaient un risque plus élevé de 40 fois sur l'occurrence des espèces de sénéçon que les gazons avec moins de 25 pour cent de terre non couverte (Suter et al., 2007).
- Les densités de la proportion de surface occupée appropriées et les régimes de paissance et/ou irrigation et ou fertilisation des pâturages. La paissance rotationnelle est mieux que la paissance continue parce que cette dernière conduit à un risque élevé important d'infestations avec des espèces de sénéçon (Suter et al., 2007). Le cheptel ruminant comme les moutons peuvent s'adapter aux végétaux contenant des AP, et il a été suggéré que les moutons 'adaptés' peuvent être utilisés pour contrôler de telles espèces d'organismes nuisibles comme la *Crotalaria retusa* (Anjos, 2010).
- La fertilisation des pâturages avec du superphosphate ou de l'urée (Thompson & Saunders, 1986 cité par Leiss, 2010). Une application élevée en nitrogène, doublant le nitrogène de 50 à 100 kg par hectare par an, réduit l'occurrence du sénéçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*) cinq fois et celle du sénéçon aquatique (*Senecio aquaticus*) trois fois (Suter et al., 2007; Suter & Lüscher, 2008 cité par Leiss, 2010).
- En combinant les fréquences de fauchage élevées avec l'emploi de nitrogène additionnel. Ceci conduit à une promotion des espèces d'herbes poussant rapidement qui résistent à la défoliation fréquente et sont des compétiteurs forts. Cette méthode de germination et l'établissement du sénéçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*) sont fortement réduits (Crawley & Nachapong, 1985 cité par Leiss, 2010).
- La coupe du sénéçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*) au début ou à la fin de l'anthèse, ceci réduit le nombre de têtes de fleurs de 87 pour cent (Siegrist-Maag et al., 2008 cité par Leiss, 2010). Il est recommandé de faire le premier fauchage lorsque 50 pour cent des végétaux débutent l'anthèse et le deuxième fauchage lorsque la moitié des végétaux rétablis débute l'anthèse à nouveau.

Récoltes

Les champs de blé, les champs de millet, etc., devraient être désherbés avant la plantation et périodiquement durant les premières six semaines du cycle de croissance. Le désherbage final environ deux semaines avant la récolte réduit de façon importante la possibilité de contamination de la récolte par des graines toxiques. Dans les récoltes de légumineux, le désherbage mécanique ou manuel peut être l'unique option (FAO, 210).

Dans le désherbage, on devrait prêter une certaine attention aux zones approchant la récolte ou le pâturage, puisque celles-ci peuvent constituer un réservoir pour les mauvaises herbes et créer année après année des problèmes. Des mesures à long terme peuvent inclure le contrôle d'organismes nuisibles biologiques mais ceci requiert des recherches approfondies et une évaluation de l'impact environnemental des espèces introduites (North West Weeds, 2007, cité par la FAO, 2010).

Une autre méthode effective dans le contrôle du séneçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*) est le labourage profond de la terre non agricole suivi des cultures en été et en automne (McLaren & Faithfull, 2004). Mais ceci est uniquement conseillé lorsque cela est fait systématiquement et lors de la suppression du séneçon jacobée qui germe de la banque de graines du sol.

Contrôle mécanique des mauvaises herbes

Le contrôle manuel effectif requiert le retrait de la cime et de toutes les racines plus larges. Par conséquent, ceci peut être uniquement effectif pour les semis et les rosettes en contraste avec des végétaux plus grands, qui développent normalement des racines profondes. D'un autre côté, les troubles relatifs au sol peuvent conduire à plus de germination étant donné que les graines enterrées se trouvent exposées à la lumière (du jour).

Une autre forme de retrait mécanique est le débroussaillage ou le fauchage. Néanmoins, le séneçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*) a développé la capacité de repousser en quelques semaines et peut passer à une reproduction végétative formant de multiples cimes prolongeant leurs existence (van der Meijden & van der Waals-Kooi, 1979; Wardle, 1987 cité par Leiss, 2010). Par conséquent le débroussaillage et le fauchage devraient être suivis par une application chimique et/ou cultivation.

La combustion a tué 93 pour cent du séneçon jacobée à l'étape du l'ensemencement durant laquelle les végétaux brûlés ne maintiennent pas leur viabilité (Wardle, 1987 cité par Leiss, 2010).

Contrôle chimique des mauvaises herbes

L'efficacité de plusieurs interventions de gestion pour contrôler les espèces de séneçon (*Senecio*) a été analysée (Roberts & Pullin, 2007). L'application des herbicides 2,4-D, Asulam, Clopyralide, et MCPA est effective dans la réduction des densités de séneçon. Toutefois, lors de l'examen des espèces individuelles, 2,4-D et MCPA sont uniquement effectifs contre le séneçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*), alors que l'Asulam était uniquement effectif contre le séneçon aquatique (*Senecio aquaticus*).

Parce que le Séneçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*) a une proportion large de biomasse dans le système de racines et de la cime en dessous du niveau de la terre, c'est un défi d'obtenir une quantité effective dans les cimes et les racines. Pour les meilleures réussites, le contrôle herbicide devrait être appliqué lorsque les végétaux ne sont pas soumis à des conditions de stress (c'est-à-dire à la sécheresse ou des températures extrêmes) (McLaren & Faithfull, 2004). En outre, la concentration effective sera réduite lorsque la pluie tombe durant les 5 heures de l'application, comme cela a été observé avec 2,4-D et MCPA (Coles, 1967; Forbes et al., 1980 cité par Roberts & Pullin, 2007).

Contrôle biologique des mauvaises herbes

Les ennemis naturels *Longitarsus jacobaeae* (coléoptère radicolé) et une combinaison de *Longitarsus jacobaeae* et *Tyria jacobaeae* (goutte de sang) semblent avoir le potentiel de réduire les densités de séneçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*). C'est la combinaison d'altises et de l'écaille du séneçon qui réduit le séneçon jacobée dans une moyenne de 99,5 pour cent. L'application du *Tyria jacobaeae* seule ne semble pas réduire de façon significative les densités de séneçon jacobée mais réduit le nombre de capitula par plante, graines par capitula, viabilité des graines, et poids secs des végétaux (Roberts & Pullin, 2007).

Cochylis atricapitana, un pédoncule de séneçon et le “*Platyptilia isodactyla*” de l’Europe, a été libéré en tant qu’agent de biocontrôle en Australie et en Nouvelle-Zélande. En conséquence, une réduction de 40 pour cent du sommet de la plante des plantes en floraison et une diminution importante à la fois dans la taille et la survie des rosettes a été observée (McLaren et al., 2000; Gourlay, 2007a).

L’agent de biocontrôle le plus récent utilisé est le *Platyptilia isodactyla*, qui a un hôte commun le séneçon aquatique (*Senecio aquaticus*). Ce pterophoridae a été libéré en Australie en 1999 et en Nouvelle-Zélande en 2006. Les densités de séneçon aquatique ont été réduites de 60-80 pour cent (Gourlay, 2007b).

En Australie, le contrôle biologique de l’héliotrope bleu (*Heliotropium amplexicaule*) a été testé. L’héliotrope bleu est une mauvaise herbe introduite en Australie d’origine d’Amérique du Sud et des agents de contrôle biologiques cibles ont été originaires d’une origine similaire avec une sélection basée sur la spécificité de l’hôte (Briese & Walker, 2002).

Autre contrôle des mauvaises herbes

Le contrôle du séneçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*) dans des zones très difficilement accessibles sera le mieux accompli par le clôturage de la zone ou son abandon à un retour à l’état de brousse. L’ombrage, la compétition de la plante et la réduction dans l’éparpillement des graines à cause des effets brise-vent sont les paramètres de contrôle principaux. Pour la concurrence végétale, la radiata pine est l’espèce de plantation la plus effective mais les plantations d’eucalyptus peuvent supprimer aussi avec succès le séneçon jacobée (McLaren & Faithfull, 2004).

Une autre mesure proposée pour les zones qui sont difficiles d’accès est le pâturage des moutons. Le pâturage des moutons conduit à un nombre moindre de plantes de floraison et l’ensemencement et peut conduire à une réduction de la banque de graines au fil du temps. Toutefois, la prudence devrait être adoptée lorsque les moutons sont utilisés à cause du risque sur les dommages du foie (McLaren & Faithfull, 2004).

Prévention de l’ingestion des AP par le cheptel

Prévention du pâturage

Les plantes contenant des AP sont normalement mauvaises pour le cheptel. La plupart des cas d’empoisonnement avec des matériaux végétaux frais apparaissent lorsque les pâturages sont surpâturés ou s’il y a un stock limité de fourrage (AESA, 2007). Dans le cas de la réduction des pâturages durant la sécheresse, des mesures d’alimentation alternatives devraient être implantées par les autorités nationales et locales afin d’étendre leurs capacités (FAO, 2010).

Là où les l’alimentation animale est préservée, la contamination des matériaux végétaux contenant des AP n’est pas facilement reconnue par les animaux. Des expériences effectuées sur le foin indiquent que la concentration d’AP ne diminue pas avec l’entreposage lorsque les récoltes sont sèches (OMS, 1988).

Les plantes *Crotalaria* et autres plantes portant des AP sont parfois utilisées en tant que couvre sol, améliorants du sol (les espèces d’herbes aux punaises sont des légumes) et en tant qu’alimentation pour l’animal. L’emploi fiable de ces végétaux en tant qu’alimentation animale dépend du fait que les feuilles et pédoncules de la plante contiennent moins d’AP que les parties de la floraison et les graines. Ceci devrait être pris en compte lorsqu’on autorise les animaux à brouter sur ces végétaux. Également, la susceptibilité relative des animaux à l’intoxication des AP (bétail étant moins sensible que le mouton par exemple) devrait être prise en compte (FAO, 2010).

Des investigations sur les microbes de rumen avec le potentiel de désintoxiquer les AP a conduit à la suggestion de l’emploi de la concoction de tels microbes en tant que thérapie probiotique pour le cheptel (Lodge-Ivey et al., 2005), et que la résistance chez les animaux peut être induite par exposition préalable, par exemple par l’administration de petites doses quotidiennes de graine de *Crotalaria Retusa* avant l’introduction du mouton dans les champs envahis par la *Crotalaria Retusa* (Anjos, 2010).

Retrait du matériel d’AP des graines

Tamisage

Les dispositions relatives aux normes du Codex pour les céréales et les légumineuses (CODEX STAN 153-1985,

CODEX STAN 171-1989, CODEX STAN 172-1989, CODEX STAN 199-1995, CODEX STAN 201-1995) pour la présence de graines toxiques devraient être appliquées avant que la récolte soit broyée ou distribuée pour la consommation humaine. La méthode test contenue dans la norme d'ISO est facilement appliquée et ne requiert pas un équipement de laboratoire élaboré ou l'entraînement étendu des opérateurs. Elle peut être aussi appliquée à la norme de Codex, en gardant à l'esprit la nature du compte-rendu. Dans certains cas le criblage peut être utilisé pour séparer les graines de mauvaises herbes portant des AP sur la base de la taille (FAO, 2010).

Compostage/silage

Pour l'alimentation animale contaminée, le silage peut être une option pour la réduction des AP. Il a été démontré que le compostage du séneçon jacobée (*Jacobaea vulgaris*) dans des sacs noirs d'ordures dans la lumière du jour directe dans le champ conduit à une désagrégation des AP dans les quatre semaines et une perte complète dans les 10 semaines (Crews et al., 2009). Il est aussi possible d'utiliser la croissance du séneçon jacobée dans un digesteur.

Connaissance

Une des mesures de contrôle les plus importantes est la connaissance et la propagation de la connaissance à propos des AP et les implications des mauvaises herbes et des graines ayant des AP dans les produits destinés à la consommation humaine ou en tant qu'aliments pour les animaux. Des programmes de radio ruraux, des services de vulgarisation et les associations de fermiers devraient être examinés comme des moyens d'éducation des producteurs alimentaires à propos de la présence des AP dans les aliments de consommation humaine et animale (FAO, 2010).

ANNEXE VII

Liste des participants

PRÉSIDENT

Astrid Bulder
National Institute for Public Health and the
Environment (RIVM)
Centre for Substances and Integrated Risk
Assessment (SIR)
P.O. Box 1, 3720 BA, Bilthoven, The Netherlands
Tel: +31 30 274 7048
Fax: +31 30 274 4475
E-mail: Astrid.Bulder@rivm.nl

PAYS MEMBRES /ORGANISATION**Australie**

Christopher Schyvens
Food Standards Australia New Zealand
E-mail:
christopher.schyvens@foodstandards.gov.au
Cc to codex.contact@daff.gov.au

Brésil

Mrs. Maria Aparecida Martinelli
Coordinator of Brazilian Codex Committee
National Institute for Metrology, Standardization
and
Industrial Quality – INMETRO
Ministry of Development, Industry and Trade
Phone: +55 61 3340 2211
E-mail: codexbrasil@inmetro.gov.br

Ms. Lígia Lindner Schreiner
Expert on Regulation
Brazilian Health Surveillance Agency
General Office of Foods
Tel.: +55 61 3462 5399
E-mail: ligia.schreiner@anvisa.gov.br and
gacta@anvisa.gov.br

Union européenne

Ms Almut Bitterhof
European Commission
Health and Consumers Directorate-General
Telephone: ++32 - 2 - 298 67 58
E-mail: almut.bitterhof@ec.europa.eu

Mr Frans Verstraete
European Commission
Health and Consumers Directorate-General
Tel.: ++32 - 2 - 295 63 59
E-mail: frans.verstraete@ec.europa.eu
CC to codex@ec.europa.eu

France

M. Jérémy PINTE
Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la
pêche
DGAL- bureau de la réglementation alimentaire et
des biotechnologies
251, rue de Vaugirard
75732 PARIS CEDEX 15
Tél: +33 1 49 55 81 46
Fax: +33 1 49 55 59 48
E-mail: jeremy.pinte@agriculture.gouv.fr
Cc to sgae-codex-fr@sgae.gouv.fr

Allemagne

Dr. Ute GALLE-HOFFMANN
Head of Unit 322
Federal Ministry of Food, Agriculture and
Consumer Protection
Rochusstr. 1
53123 Bonn, Germany
Phone: + 49 - (0) - 228 - 99 529.3677
FAX: + 49 - (0) - 228 - 99 529.4943
E-mail: 322@bmelv.bund.de

Hongrie

Ms Agnes Gyöngyösi Palotas
Chief Counsellor
Ministry of Rural Development
Department of Food Chain Development
1055 Budapest, Kossuth tér 11, Hungary
Telephone: (36-1)301-4040; FAX: (36-1)301-4808
E-mail: agnes.gyongyosi@vm.gov.hu

Indonésie

Tetty Helfery Sihombing
Ir. Tetty Helfery Sihombing
Director of Food Product Standardization, National
Agency for Food and Drug Control of Indonesia
Phone : +6221 42875584
Fax : +6221 42815180
E-mail : subdit_spo@yahoo.com
tetyhelfery@yahoo.com

Japon

Dr Fumi IRIE
Deputy Director
Standards and Evaluation Division
Department of Food Safety
Ministry of Health, Labour and Welfare
1-2-2 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8916,
Japan
Phone: +81-3-3595-2341
Fax: +81-3-3501-4868
E-mail: codexj@mhlw.go.jp

Jordanie

Wail Omari
Jordan institution for standards and metrology
(JISM)
Email: womari@jism.gov.jo

Pays-Bas

Hans van Egmond
RIKILT Institute of Food Safety
PO Box 230, 6700 AE Wageningen, The
Netherlands
Tel.: +31 317 48 03 79
Fax: +31 317 48 77 17
E-mail: Hans.vanEgmond@wur.nl

Patrick Mulder
RIKILT Institute of Food Safety
PO Box 230, 6700 AE Wageningen,
The Netherlands
Tel.: +31 317 48 04 33
Fax: +31 317 48 77 17
E-mail: Patrick.Mulder@wur.nl

Lianne de Wit
National Institute for Public Health and the
Environment (RIVM)
Centre for Substances and Integrated Risk
Assessment (SIR)
P.O. Box 1, 3720 BA, Bilthoven, The Netherlands
Tel: +31 30 274 7048
Fax: +31 30 274 4475
E-mail: Lianne.de.Wit@rivm.nl

Nouvelle-Zélande

John Reeve
Principal Adviser (Toxicology)
New Zealand Food Safety Authority
Level 7, North Tower Telecom Network House
68-86 Jervois Quay, PO Box 2835
Wellington New Zealand
Ph: 04 894 2533
Fax: 04 894 2530
Cell: 029 894 2533
john.reeve@nzfsa.govt.nz

Suède

Alexey Solyakov, Techn D, PhD
National Veterinary Institute
Department of Chemistry, Environment and Feed
Hygiene
SE-75189 Uppsala, SWEDEN
Tel: +46 18 674023
Fax: +46 18 674099
E-mail: Alexey.Solyakov@sva.se

Suisse

Dr. Otmar Zoller
Swiss Federal Office of Public Health
Consumer Protection Directorate
Food Safety Division; Section Chemical Risks
CH-3003 Berne
Office: Schwarzenburgstrasse 165, 3097 Liebefeld,
Switzerland
Telephone: +41 (0)31 322 95 51; FAX +41 (0)31
322 95 74
E-Mail: otmar.zoller@bag.admin.ch

Togo

Kodzo Edem Tayi
Institut National d'Hygiène BP 1396 Lomé
Tel +228 939 24 68
+228 221 06 33
Email: edemtak@yahoo.fr

**ORGANISATIONS INTERNATIONALES
NON-GOUVERNEMENTALES /
GOUVERNEMENTALES**

Apimondia

Dr. Kurt-Peter Raezke
Director Testing & Analytics
Intertek Food Services GmbH
Olof-Palme-Str. 8
28719 Bremen, Germany
Tel: +49 (0) 421 65 727 200
Fax: +49 (0) 421 65 727 202
Email: kurt-peter.raezke@intertek.com

FAO

Dr Annika Wennberg
FAO JECFA Secretary
Nutrition and Consumer Protection Division
Food and Agriculture Organization of the United
Nations
Telephone: + 39 06 5705 3283; FAX: + 39 06 5705
4593
E-mail: Annika.Wennberg@fao.org