

commission du codex alimentarius

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

ORGANISATION MONDIALE
DE LA SANTÉ

BUREAU CONJOINT: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROME Tél.: +39 06 57051 Téléx: 625825-625853 FAO I Email: codex@fao.org Facsimile: +39 06 5705.4593

Point 16 d) de l'ordre du jour

CX/FAC 00/19
Janvier 2000

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES
COMITÉ DU CODEX SUR LES ADDITIFS ALIMENTAIRES ET LES CONTAMINANTS
Trente-deuxième session
Beijing (République populaire de Chine), 20-24 mars 2000

DOCUMENT DE SYNTHÈSE SUR LA ZÉARALÉNONE

Historique

1. A sa trente et unième session, le Comité du Codex sur les additifs alimentaires et les contaminants (CCFAC) a demandé à la Norvège de mettre définitivement au point le document de synthèse sur la zéaralénone pour examen à sa prochaine session (ALINORM 99/12A, par. 112).

Introduction

2. La zéaralénone est une importante mycotoxine des régions chaudes et tempérées. Elle est produite par des champignons du type *Fusarium*. On la trouve essentiellement dans le maïs et dans les céréales à paille comme l'orge, le blé, le sorgho, le millet, le riz, mais aussi dans le soja. Elle est courante dans le maïs, mais on a également détecté des concentrations très élevées (11-15 mg/kg) dans des échantillons d'orge provenant du Japon (19).

3. En outre, cette toxine a été détectée dans des produits à base de céréales comme la farine, le malte, la bière, le soja et les produits dérivés (1,3, 4). Si l'on a constaté des niveaux élevés de zéaralénone dans des échantillons de bière africaine, en revanche, les échantillons de bière provenant d'Europe et du Canada étaient très peu nombreux à présenter des mycotoxines, et ce à des niveaux très faibles (1,2, 18). On signale aussi la présence de zéaralénone dans des aliments mélangés pour animaux, associée à de l'hyperoestrogénisme et à d'autres problèmes chez les porcins et les bovins dans différents pays.

4. La taxonomie du *Fusarium* est complexe et tout classement difficile. De ce fait, beaucoup d'isolats ont été mal identifiés. De nombreux rapports antérieurs ont été révisés et beaucoup d'erreurs corrigées. La zéaralénone est désormais considérée comme produites par *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. cerealis*, *F. equiseti*, et *F. semitectum*. Les rapports signalant la production de zéaralénone par d'autres espèces sont contestés (5, 6, 7).

5. Des champignons du type *Fusarium* parasitent les céréales dans les champs. La production de toxine a lieu essentiellement avant la récolte, mais parfois aussi après la récolte si cette dernière n'est pas manipulée et séchée correctement.

6. La zéaralénone est une lactone de l'acide résorcyclique dont la description chimique est la suivante: lactone de l'acide 6-(10-hydroxy-6-oxotrans-1-undecenyl)-b-résorcyclique. Chez les mammifères, le groupe ceto à C-6 est réduit à deux métabolites stéréoisomériques de la zéaralénone (isomères a et b). Ces métabolites sont également produits par les champignons, mais à de plus faibles concentrations que la zéaralénone. Un autre composé ayant une structure similaire est le zéranol, qui est utilisé comme activateur de croissance. Ce composé ne se distingue de la zéaralénone que par l'absence d'une double liaison (C1-C2 (3,4)).

7. Plusieurs méthodes analytiques pour l'identification et la quantification de la zéaralénone ont été mises au point. Les premières méthodes étaient essentiellement basées sur la chromatographie sur couches minces (CCM). De nos jours, les méthodes utilisant la CLMR avec détection de la fluorescence sont très répandues, mais il existe aussi une détection aux UV et une détection électrochimique (3, 7, 8). Des tests ELISA de détermination de la zéaralénone sont également disponibles.

Évaluations toxicologiques

8. Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a évalué le pouvoir cancérigène de la zéaralénone et a conclu qu'il y avait peu de preuve du caractère cancérigène de la zéaralénone chez les animaux de laboratoire et que la zéaralénone n'était pas classifiable sur la base de leurs critères d'établissement du pouvoir cancérigène chez l'homme (Groupe 3) (4). Une étude de l'US NTP sur deux ans a fait apparaître un accroissement statistiquement significatif des adénomes hépatocellulaires chez la souris femelle. En outre, un accroissement statistiquement significatif des adénomes hypophysaires et une légère augmentation non significative du point de vue statistique des carcinomes hypophysaires ont été notés chez la souris, mais pas chez les rats (9). Cependant, un accroissement de l'incidence des adénomes hypophysaires chez le rat serait difficile à détecter compte tenu de l'incidence naturelle élevée de la maladie dans cette espèce. Aucun effet cancérigène n'a été décelé lors d'une nouvelle étude de deux ans sur le rat (10). Par la suite, on a constaté la formation de produits d'addition à l'ADN chez la souris, mais non chez le rat, après une seule exposition à la zéaralénone (11). Des lésions de l'ADN ont également été révélées à l'aide de la méthode du post-marquage ³²P (12). Cela correspond bien aux résultats de l'étude biennale de l'US NTP indiquant un effet cancérigène de la zéaralénone chez la souris, mais non chez le rat. En somme, la zéaralénone pourrait avoir un effet cancérigène différencié selon les espèces, éventuellement secondaire par rapport à l'effet hormonal. On ne dispose d'aucun renseignement sur la formation de produits d'addition à l'ADN chez les humains.

9. Une étude exhaustive de la présence et de la toxicité de la zéaralénone et une évaluation des risques qui en découlent ont été effectuées au Canada en 1987 (3). L'évaluation des risques a permis de conclure que les effets oestrogéniques et cancérigènes éventuels sont les effets critiques de la zéaralénone. En dérivant une DJT à partir de l'effet cancérigène possible au moyen d'une extrapolation mathématique linéaire, avec un niveau de risque de $1:10^{-6}$, on obtient une dose virtuellement sans danger de 0,05 µg/kg de poids corporel par jour. Dans une étude exposant des singes au zéranol, dont l'activité oestrogénique est supérieure à celle de la zéaralénone, on obtient un niveau sans effet hormonal de 50 µg/kg de poids corporel par jour. Le calcul d'une DJT à partir de cette étude, avec un facteur d'innocuité de 500 dû aux incertitudes du modèle animal, donne un niveau estimatif d'ingestion sans danger de 0,10 µg/kg de poids corporel par jour. Après une évaluation globale, une DJT provisoire de 0,1 µg/kg de poids corporel par jour a été proposée, à partir d'un niveau estimatif sans effet hormonal et d'une dose virtuellement sans danger pour ce qui est de l'effet cancérigène estimée sur la base d'un modèle présentant un niveau de risque modéré de $1:10^{-6}$.

10. Un groupe d'experts scandinaves a considéré en 1998 que la DJT canadienne était encore valable puisqu'aucune information pertinente supplémentaire *in vivo* sur le rapport dose-effets hormonaux et qu'aucune autre donnée concernant l'effet cancérigène possible de la zéaralénone n'avaient été publiées (7).

11. La zéaralénone ou le zéranol, activateur de croissance similaire, ont été suspectés d'être la cause d'une épidémie de puberté précoce chez de jeunes enfants à Porto Rico (13, 14). De la zéaralénone ou des métabolites ont été détectés dans le plasma sanguin. Les auteurs ont signalé des niveaux élevés de l'activateur de croissance zéranol dans la viande produite sur place, mais des études ultérieures de la FDA n'ont permis de détecter aucun activateur de croissance oestrogénique. Il n'a pas été exclu que des sources naturelles de composés ayant une action oestrogénique comme les métabolites des plantes ou les mycotoxines, aient pu être la cause de l'épidémie.

12. La zéaralénone a été évaluée récemment par le JECFA mais il n'existe aucun rapport définitif à ce sujet. Le Comité a constaté que le test de génotoxicité dans une batterie de tests couvrant plusieurs extrémités, y compris les mutations ponctuelles, la synthèse non programmée d'ADN et les aberrations chromosomiques, était négatif à l'exception de l'induction d'aberrations chromosomiques après exposition de cellules de mammifère *in vitro* à de très fortes concentrations. A l'occasion d'un test de post-marquage ³²p, on a constaté la modification de l'ADN par la zéaralénone. Toutefois, le Comité a conclu que ces

résultats ne prouvaient pas nécessairement l'existence d'une liaison covalente avec l'ADN de la zéaralénone/ou de ses métabolites, mais tenaient plutôt à des lésions par oxydation de l'ADN, étant donné que ces liaisons étaient fortement limitées par l'administration concomitante de l'antioxydant alpha-tocophérol. Les adénomes hépatocellulaires et les tumeurs hypophysaires observées dans les études à long terme du caractère cancérigène de la zéaralénone chez les souris n'ont été observés qu'à des doses largement supérieures aux concentrations ayant des effets hormonaux, c'est-à-dire à des doses de 8-9 mg/kg de poids corporel ou plus. Le Comité a conclu que ces tumeurs étaient une conséquence des effets oestrogéniques de la zéaralénone. Le Comité est parvenu à des conclusions analogues à sa trente-deuxième session après évaluation de l' α -zéaralanol. Chez les rats, il n'a noté aucune augmentation de l'incidence des tumeurs à des doses de 1 à 3 mg/kg de poids corporel par jour. Le Comité a conclu que l'innocuité de la zéaralénone pouvait être évaluée sur la base de la dose n'ayant pas d'effets hormonaux chez les porcins, espèce la plus sensible à cette substance. En utilisant un facteur de sécurité de 100 environ, le Comité a fixé une dose journalière tolérable maximale provisoire (DJTMP) pour la zéaralénone de 0,5 μ g/kg de poids corporel. Cette décision est fondée sur une dose sans effet observé de 40 μ g/kg de poids corporel par jour, obtenue dans le cadre d'une étude de 15 jours sur des porcins. Le Comité a aussi tenu compte de la dose à effet observé la plus faible, soit 200 μ g/kg de poids corporel par jour, obtenue dans cette étude sur des porcs et de la DJA précédemment établie de 0-0,5 μ g/kg de poids corporel pour le métabolite α -zéaralénone évalué en tant que médicament vétérinaire. Le Comité a recommandé que l'ingestion totale de zéaralénone et de ses métabolites dont l' α -zéaralanol ne dépasse pas cette valeur.

Ingestion alimentaire

13. Étant donné la rapidité de biotransformation et d'excrétion de la zéaralénone chez les animaux, l'ingestion alimentaire par la viande et ses produits dérivés a probablement peu d'incidence (3,4,17). On n'a constaté qu'une transmission minimale de zéaralénone au lait des vaches après exposition à de faibles doses de zéaralénone (15) et il n'existe pas de preuve de la présence de zéaralénone dans le lait destiné à la consommation humaine. On ne signale pas non plus de zéaralénone dans les œufs de production commerciale. On en conclut donc que les principales sources de zéaralénone sont les céréales et les produits dérivés, tandis que la viande, les œufs et le lait sont probablement plus secondaires.

14. Au Canada, l'ingestion d'origine alimentaire de zéaralénone due à la consommation de maïs et de céréales à base de maïs a été estimée à 0,005-0,087 μ g/kg de poids corporel chez les garçons de 12 à 19 ans qui représentent le principal groupe de consommateurs. Un taux d'ingestion supplémentaire par le popcorn a été estimé à 0,001 - 0,023 μ g/kg de poids corporel (3). Enfin, une ingestion théorique de zéaralénone de 0,027 - 0,066 μ g/kg de poids corporel a été estimée pour le lait. Ces estimations reposent sur des concentrations estimatives de zéaralénone et non sur des données d'analyse. Des études ultérieures ont montré que la transmission de zéaralénone au lait des vaches laitières était minimale dans des conditions d'exposition à la zéaralénone réalistes (15). L'ingestion due à des céréales autres que le maïs n'a pas été estimée. Le Canada a fourni en 1999 des données officielles fondées sur l'estimation de l'ingestion de six produits céréaliers par des adultes de 60 kg, qui indiquent une ingestion moyenne de zéaralénone de 0,985 μ g par jour, soit 0,016 μ g/kg poids corporel/jour. Chez les nourrissons canadiens âgés de 6 à 9 mois, l'ingestion journalière de zéaralénone, fondée sur la consommation estimative de céréales et préparations pour nourrissons, ainsi que de maïs à la crème, serait de 0,521 μ g/kg, soit 0,060 μ g/kg de poids corporel.

15. L'ingestion d'origine alimentaire de zéaralénone, par le biais des céréales et de leurs produits dérivés, dans les pays scandinaves a été provisoirement estimée à 0,02 – 0,04 μ g/kg de poids corporel par jour (7). Toutefois, les données utilisées pour ces estimations sont assez anciennes et aucun calcul d'ingestion détaillé n'a été effectué.

16. Les estimations de l'ingestion moyenne d'origine alimentaire de zéaralénone présentées par le JECFA reposent sur les cinq régimes alimentaires régionaux de la FAO et se situent dans une fourchette de 1,5 à 3,5 μ g/kg par jour (pour les régimes "européen" et "moyen oriental" respectivement). Les valeurs utilisées pour la zéaralénone reposent uniquement sur des valeurs analytiques provenant du Canada. En supposant une masse corporelle moyenne de 60 kg, ces ingestions correspondent à 0,03 et 0,06 μ g/kg de poids corporel par jour, respectivement. Les estimations de l'ingestion moyenne d'origine alimentaire de zéaralénone fondées sur des données correspondant aux régimes de chaque pays sont les suivantes: <0,98 μ g/jour (0,02 μ g/kg de poids corporel par jour) pour le Canada, 1,2 μ g/jour (0,02 μ g/kg de poids corporel

par jour) pour le Danemark, 1,1 µg/jour (0,02 µg/kg de poids corporel par jour) pour la Norvège et <2,1 µg/jour (0,03 µg/kg de poids corporel par jour) pour les États-Unis. Pour l'α-zéaralanol utilisé comme médicament vétérinaire, la dose journalière maximum théorique, calculée sur la base de limites maximales de résidus recommandées de 10 µg/kg dans le foie de bovins est de 2 µg/kg dans les muscles de bovins, est de 1,6 µg/jour (0,02 µg/kg de poids corporel par jour). Toutes ces valeurs sont bien inférieures à la DJTMP fixée par le JECFA.

Limites maximales pour la zéaralénone

17. Il n'existe pas de limite maximale internationale harmonisée pour la zéaralénone dans les denrées alimentaires. Huit pays ont une réglementation spécifique, allant de 30 à 1 000 µg/kg. Ces limites concernent soit des denrées alimentaires spécifiques, soit tous les aliments (16). On ne signale aucun obstacle au commerce international.

Conclusions et recommandations

18. Le JECFA a fixé une dose journalière tolérable maximum provisoire (DJTMP) pour la zéaralénone et ses métabolites (y compris l'α-zéaralanol) de 0,05 µg/kg de poids corporel par jour.

19. Bien que les premiers calculs d'ingestion indiquent des valeurs bien inférieures à la DJTMP, des données analytiques supplémentaires sont nécessaires. Les calculs d'ingestion pour chaque régime alimentaire régional de la FAO devraient reposer sur des valeurs analytiques représentatives de la teneur en zéaralénone des aliments de chaque région. Certains messages récents du RAPEX diffusés en Europe font état d'ingestions élevées de zéaralénone dues au maïs utilisé dans les aliments pour bébés, les ingestions calculées dépassant les valeurs de la DJTMP fixée par le JECFA. Des mesures supplémentaires semblent donc s'imposer pour réduire les niveaux de zéaralénone dans les produits à risque, notamment ceux consommés en grande quantité par les enfants.

20. Le présent document de synthèse sur la zéaralénone dans les denrées alimentaires conduit à formuler les recommandations ci-après:

- 1) La meilleure façon de protéger les consommateurs des effets toxiques de la zéaralénone est de réduire l'infection fongique des céréales et la production de toxines dans toute la mesure possible en:
 - a) identifiant les points critiques où les champignons infectent les céréales et fabriquent de la zéaralénone en cours de production et de stockage des céréales.
 - b) incluant des programmes de contrôle de la qualité dans la production agricole.
 - c) améliorant la formation de tous ceux qui participent à la production des céréales.
 - d) appuyant la recherche sur des méthodes et techniques de prévention de la contamination fongique dans les champs et pendant l'entreposage.
- 2) Le Codex travaille à la mise au point d'un Code d'usages pour la zéaralénone visant à réduire la présence de cette mycotoxine et d'autres mycotoxines dans les céréales.
- 3) Il semble encore nécessaire d'établir des limites maximales pour la zéaralénone présente dans les produits destinés à des consommateurs très vulnérables.

Références

1. FAO, Perspective on mycotoxins. Proceedings of the Joint FAO/WHO/UNEP Conference on Mycotoxins, Nairobi, Kenya, 1977 (Food and Nutrition Paper 13, MYC 4a) 1979, Rome
2. Taschan, H. et al., 18. Mycotoxin Workshop, Kulmbach, 1996.
3. Kuiper-Goodman, T., Scott, P.M. and Watanabe, H., Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 1987, 7, 253 - 306
4. IARC, Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. 1993.
5. Marasas, W.F.O., Nelson, P.E. and Toussoun, T.A. Toxigenic *Fusarium* species. Identity and mycotoxicology. The Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania, USA.

6. Thrane, U. *Fusarium* species and their specific profiles of secondary metabolites. In: Chelowski (Ed). *Fusarium. Mycotoxins, taxonomy and pathogenicity*. Elsevier, Amsterdam, NL, (1989) pp 199 - 225.
7. Nordic Council of Ministers. *Fusarium toxins in cereals - a risk assessment*. TemaNord 1998:502.
8. Betina, V. *Chromatography of mycotoxins, techniques and applications*. J. Chromatography Library, Vol. 54. Elsevier, Amsterdam, NL.
9. US national toxicology program. Carcinogenesis bioassay of zearalenone (CAS No 17924-92-4) in F344/N rats and B6C3F₁ mice (feed study). Technical report series no 235, NIH publ. No 83-1791. Research Triangle Park. NC
10. Becci, P.J., Voss, K.A., Hess, F.G., Gallo, M.A., Parent, M.A., Stevens, K.R. and Taylor, J.M. Long-term carcinogenicity and toxicity study of zearalenone in the rat. *J. Applied Toxicology* 1982, **2**, 247-254.
11. Li, D., Chen, S. and Randerath, K. Natural dietary ingredients (oat and alfalfa) induce covalent DNA modifications (I-compounds) in rat liver and kidney. *Nutrition and Cancer*, 1992, **17**(3) 205-216.
12. Pfohl-Leszkowick, A., Chekir-Ghedira, L. And Bacha, H. Genotoxicity of zearalenone, an oestrogenic mycotoxin: DNA-adduct formation in female mouse tissues. *Carcinogenesis*, 1995, **16**(10) pp 2315 - 2320.
13. Sàenz de Rodriguez, C.A. Environmental hormon contamination in Puerto Rico. *New England J. of Medicine* 1984. **310**, 1741 - 1742.
14. Sàenz de Rodriguez, C.A. Bongiovanni, A.M. and Conde de Borrego, L. An epidemic of precocious development in Poerto Rican children. *J. of Pediatrics*, 1985, **107**, 393-396.
15. Prelusky, D.B., Scott, P.M., Trenholm, H.I. and Lawrence, G.A. Minimal transmission of zearalenone to milk of dairy cows. *J. Environmental Science and Health, Part B* 25. Food contaminants and agricultural wastes, 1990, **25**, 87-103.
16. FAO Food and Nutrition Paper: *Worldwide Regulations for Mycotoxins*, 1995.
17. Biehl, M.L., Prelusky, D.B., Koritz, G.D., Hartin, K., Buck, W.B. and Trenholm, H.L. Biliary excretion and enterohepatic cycling of zealalenone in immature pigs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1993, **121**(1), 152-159.
18. Scott, P.M. Mycotoxins transmitted into beer from contaminated grains during brewing. *J. of AOAC International* 1996, **79**, 875 - 882.
19. Yoshizawa, T. Geographic difference in trichothecene occurrence in Japanese wheat and barley. *Bull, Inst. Compr. Agric. Sci. Kinki University* (1997) **5**, 23-30.