

commission du codex alimentarius **F**



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 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Point 13 (e) de l'ordre du jour

CX/FAC 06/38/25

Février 2006

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES COMITÉ DU CODEX SUR LES ADDITIFS ALIMENTAIRES ET LES CONTAMINANTS

Trente-huitième session

La Haye, Pays-Bas, 24 – 28 Avril 2006

DOCUMENT DE TRAVAIL SUR LE DÉOXYNIVALÉNOL (DON)

(préparé par les États-Unis avec l'assistance de la Belgique, du Canada, de la Communauté européenne, de la Finlande, de la France, de l'Allemagne, du Japon, de la République de Corée, des Pays-Bas, du Royaume-Uni, et du Conseil international des associations de fabricants de produits d'épicerie)

Historique

1. À sa trente-sixième session, le Comité est convenu de suspendre temporairement l'examen des limites maximales pour le déoxynivalénol. Il demanderait en revanche des informations sur les questions suivantes: prévalence du déoxynivalénol dans les céréales; influence de la transformation, de la décontamination et du triage sur l'abaissement des teneurs en DON; limites nationales ou limites indicatives pour le DON; et procédures d'échantillonnage et méthodes d'analyse, pour examen à sa prochaine session (1).
2. À sa trente-septième session, le Comité a noté que davantage de données sur la prévalence de DON dans les céréales et dans les produits transformés à base de céréales étaient déjà disponibles ou le seraient d'ici peu à plus grande échelle. En conséquence, le Comité a décidé de demander au JECFA de procéder à l'évaluation de l'exposition fondée sur ces nouvelles données. À cet effet, le Comité a souligné à nouveau la nécessité de tenir compte des aliments transformés et des effets de la transformation sur les teneurs en DON (2).
3. Le Comité a également décidé d'établir un Groupe de travail électronique présidé par les États-Unis, chargé de rédiger un document de travail présentant des données détaillées, y compris sur la prévalence de DON et sur les effets de la transformation sur les teneurs en DON, pour examen à sa prochaine session. Les membres du Groupe de travail comprennent: la Belgique, le Canada, la Communauté européenne, la Finlande, la France, l'Allemagne, le Japon, la République de Corée, les Pays-Bas, le Royaume-Uni le Conseil international des associations de fabricants de produits d'épicerie.

Introduction

4. Le déoxynivalénol (DON; vomitoxine; Rd-toxine; 12,13-époxy-3,7,15-trihydroxy-9-trichothéc-8-one ; CAS no. 51481-10-8), appartient à une catégorie de mycotoxines sesquiterpénoïde désignées sous le nom de trichothécènes. Les trichothécènes sont produits par plusieurs champignons du genre *Fusarium*, notamment *F. graminearum* et *F. culmorum* qui sont pathogènes du blé, du seigle, de l'orge, du maïs et autres céréales. La répartition mondiale des deux espèces de champignons semble être liée à la température; *F. graminearum* se produisant surtout dans les climats plus chauds (3). Les trichothécènes constituent le plus grand groupe de toxines produites par un champignon du genre *Fusarium* (4,5).

5. Les trichothécènes se répartissent en quatre sous-groupes désignés comme types A, B, C et D, en fonction de leur structure moléculaire (6). Les types A et B sont les plus importants, largement présents dans les céréales et les aliments pour animaux comme contaminants naturels. Les trichothécènes de type A comprennent la toxine T-2 et la toxine HT-2, et les trichothécènes de type B comprennent le déoxynivalénol, le nivalénol et leurs dérivés 3- et 15-acétylés. Les trichothécènes de type A se caractérisent par la présence d'un carbone saturé en C-8, alors que les trichothécènes de type B ont un carbonyle à la même place (7). Le déoxynivalénol est le plus fréquent dans les céréales; toutefois, les autres trichothécènes peuvent co-exister avec le DON (8). Les trichothécènes du type A sont plus toxiques que ceux du type B (9).

6. *F. graminearum* et *F. culmorum* sont présents dans les sols dans le monde entier et sont responsables de la brûlure de l'épi des céréales due à *Fusarium*, entraînant la production de DON. Des études ont montré que la sévérité de la brûlure fusarienne de l'épi dépend essentiellement des effets climatiques (température, précipitations, humidité) (10). *F. graminearum* est également responsable de la fusariose de l'épi du maïs entraînant la production de DON. Ces champignons infectent généralement les cultures céréalières réceptives dans les champs quand le temps est frais et humide, à l'apparition des soies ou à l'anthèse pendant le développement de la graine (11). On sait que l'incidence et la sévérité de la contamination par le DON peuvent varier d'une région à l'autre, d'une saison à l'autre, et aussi selon la variété de céréale (12,13). Ces variations peuvent être associées à des périodes de fortes précipitations entre le stade de l'anthèse et le moment de la récolte, qui sont propices aux infections dues à *F. graminearum* et à l'accumulation de DON (14). L'infection des céréales dues à ces champignons peut entraîner la production d'un mélange de plusieurs trichothécènes structurellement voisins ainsi que du déoxynivalénol; les trichothécènes individuels qui composent le mélange peuvent varier d'un pays à l'autre et d'une région à l'autre. Le DON est hydrosoluble, très stable pendant le stockage et la mouture, relativement thermotolérant, il s'est montré capable de résister à la plupart des procédés de transformation ou de cuisson, et il n'est pas complètement détruit lors de la fermentation (15,16).

Toxicologie

7. L'Agence internationale pour la recherche sur le cancer (IARC) a examiné la toxicité de DON et de quelques autres toxines dérivées de *Fusarium graminearum* et de *Fusarium culmorum* en 1993 (17). L'IARC a conclu que les preuves de la cancérogénicité des toxines dérivées de *Fusarium graminearum* chez l'homme étaient *insuffisantes*, que les preuves de la cancérogénicité de DON chez les animaux d'expérience étaient *insuffisantes* et que les toxines dérivées de *F. graminearum* et de *F. culmorum* ne pouvaient pas être qualifiées de cancérogènes chez l'homme (Groupe 3).

8. Des évaluations des risques et des examens toxicologiques relatifs au DON ont été menées par le Conseil nordique des ministres, le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA), le Comité scientifique de l'alimentation humaine de la Commission européenne, le Panel scientifique européen sur les contaminants dans la chaîne alimentaire et d'autres chercheurs (18-22). Une dose journalière provisoire maximale provisoire (DJTMP) de 1 µg de DON par kg de poids corporel a été établie par le JECFA. Une synthèse récente des principales données en matière de toxicité utiles à la caractérisation des risques liés aux trichothécènes a été réalisée (23,24).

9. L'exposition de certains animaux domestiques au DON se traduit par une perte de l'appétit, un refus de s'alimenter et des vomissements, accompagnés par une diminution du gain de poids (21). Un grand nombre d'études alimentaires ont été menées sur les porcs car ceux-ci semblent plus sensibles au DON que les volailles, les ruminants et autre bétail. Une baisse de la consommation alimentaire et un ralentissement du gain de poids ont été signalés comme étant les principaux effets cliniques observés chez les porcs après une ingestion de DON en faible concentration ($< 2\text{ppm}$) dans les aliments pour animaux naturellement contaminés; des doses plus élevées peuvent provoquer des vomissements et un refus complet de s'alimenter (25). Suite à plusieurs études menées sur les porcs, dans lesquelles les réponses toxicologiques chez les animaux ayant ingéré des aliments dopés d'une quantité connue de DON pur ont été comparées avec les réponses notées chez les animaux ayant ingéré des aliments naturellement contaminés par une quantité de DON équivalente, on a observé que les aliments naturellement contaminés ont eu un effet plus marqué sur les paramètres de la prise alimentaire et du gain de poids que la toxine pure (21). Il est possible que l'immunosuppression, les changements hématologiques et histologiques observés chez les animaux ayant ingéré des aliments naturellement contaminés par le DON soient intensifiés par la co-contamination due aux autres mycotoxines. Nul ne sait pourquoi les porcs sont plus sensibles au DON que les autres animaux. Des évaluations toxicologiques du devenir des trichothécènes chez les animaux de laboratoires ainsi qu'auprès des autres espèces d'animaux ont été publiées (19, 26, 27). Une conclusion majeure de ces évaluations a été que les trichothécènes sont rapidement excrétés par les animaux, et par conséquent, qu'il n'y a pas de transfert significatif de ces toxines des produits dérivés des animaux vers les humains.

10. Des empoisonnements humains liés à la consommation des céréales contaminées aux trichothécènes (blé, orge, maïs) ont été signalés en Corée, au Japon, en Inde, en Colombie, en Chine et en Afrique du Sud (15,24,28,29). Des symptômes comme la nausée, les vomissements, la diarrhée, les douleurs abdominales, les maux de tête et les étourdissements ont été observés. Le rôle précis de DON dans ces manifestations n'est pas certain. Certes, des concentrations relativement élevées de DON ont été relevées dans certains échantillons de maïs moisi et de blé atteint de la fusariose de l'épi dans lesquels des espèces de *Fusarium* ont été identifiées, mais il n'a pas été possible de démontrer une corrélation rigoureuse entre le DON et les symptômes humains (29). Les données épidémiologiques disponibles, en revanche, dénoncent les trichothécènes ou précisément les produits à base de céréales contaminés par le DON comme facteurs potentiellement déterminants de la toxicose humaine aigüe.

11. Une étude de la toxicité de DON et de ses effets potentiels sur les humains a récemment été publiée (24). Un biomarqueur urinaire pouvant être utilisé pour détecter le DON autant chez les humains que chez les animaux a récemment été élaboré; son utilisation devrait faciliter les études épidémiologiques des effets toxicologiques indésirables associés à cette mycotoxine (30). La co-prévalence de plusieurs toxines *Fusarium*, ainsi que de la zéaralénone, a été observée dans les céréales. La présence d'autres toxines dans les céréales est préoccupante en raison des interactions possibles de ces toxines et de leur impact combiné sur les réponses toxicologiques observées chez les animaux et chez les humains (20,31,32).

Échantillonnage

12. Il est difficile d'estimer de façon exacte et précise la teneur en mycotoxine dans un lot de céréales de grande taille en raison de la grande variabilité associée à la méthode de contrôle de la mycotoxine. La méthode de contrôle de la mycotoxine consiste généralement en 3 étapes: (a) un échantillon mélangé (obtenu à partir d'échantillons croissants pris dans divers endroits du lot) est collecté dans un lot, (b) l'ensemble du mélange est finement moulu pour réduire la taille des particules, et un sous-échantillon est prélevé de l'échantillon fragmenté pour extraction par solvant, et (c) la mycotoxine est extraite du sous-échantillon fragmenté et quantifiée à l'aide de techniques analytiques (33). La variance associée à la méthode de contrôle de la mycotoxine qui mesure le DON dans les céréales est la somme des variances associées à l'échantillonnage, à la préparation de l'échantillon et aux analyses (34).

13. Les études statistiques (34) ont montré que les coefficients de variation associée au contrôle du blé sont relativement faibles comparés au contrôle de la mycotoxine effectués sur d'autres denrées, comme les aflatoxines dans les arachides. La variabilité plus faible (par rapport à celle des autres mycotoxines et des autres denrées alimentaires) est en partie due au nombre de grains de blé par unité de masse (environ 30 grains par gramme) qui est 10 fois supérieur à celui du maïs décortiqué et 30 fois supérieur à celui des arachides décortiquées, même si d'autres facteurs entrent aussi en jeu. Cela laisse entendre que la répartition de la contamination par le DON dans les grains de blé est peut-être moins asymétrique que celle de l'aflatoxine dans les autres denrées.

14. La variabilité associée à la méthode de contrôle de la mycotoxine peut être diminuée en augmentant la taille de l'échantillon, le degré de fragmentation, la taille du sous-échantillon, et le nombre des aliquots quantifiés (33). La connaissance de la variabilité associée aux méthodes d'échantillonnage des céréales, alliée à la disponibilité des méthodes analytiques validées et à l'information appropriée sur la répartition et la tolérance ou sur la limite indicative de DON, peut être utile à (1) fournir une estimation des erreurs dans l'évaluation de la teneur en DON dans les lots de produits à base de céréales, (2) élaborer des plans d'échantillonnage de DON dans les céréales et (3) sélectionner la taille des échantillons ou le nombre des échantillons nécessaires à réduire la variabilité totale d'une méthode de contrôle dans son ensemble.

Méthodes analytiques

15. Un grand nombre de méthodes analytiques ont été élaborées pour détecter et quantifier le DON et les autres trichothécènes. Ces toxines peuvent être isolées et analysées par la chromatographie à émulsion mince, les méthodes diverses de chromatographie en phase liquide, en phase gazeuse et à fluide supercritique, ainsi que par les méthodes immunochimiques. Des études approfondies ont été faites sur les méthodologies actuelles de détection et d'analyse de DON et autres trichothécènes dans les céréales (35-45).

16. Les méthodes de chromatographie à émulsion mince appliquées à la détection et à l'analyse de DON sont fiables et économiques et conviennent aux laboratoires dont le budget est restreint. Les méthodes de chromatographie liquide seule ou alliée à la spectrométrie de masse et autres détecteurs sont de plus en plus pratiquées dans beaucoup de laboratoires pour analyser le DON et les autres trichothécènes de types B- et A. Les méthodes de chromatographie en phase gazeuse peuvent aussi être utilisées pour détecter un grand nombre de trichothécènes. Les toxines ou leurs dérivatifs sont principalement détectés à l'aide de détecteurs à ionisation de flamme, à capture d'électrons ou en associant un spectromètre de masse. Dans la mesure du possible et des moyens disponibles, il est recommandé de remplacer progressivement les méthodes de chromatographie à émulsion mince utilisées pour la détection de DON par des techniques chromatographiques plus avancées, de préférence associées à un spectromètre de masse.

17. Les méthodes immunochimiques ont dernièrement suscité beaucoup d'intérêt parce qu'elles peuvent être utilisées à des fins de pré-sélection rapide sur le terrain ou en laboratoire et certaines sont un complément efficace des méthodes de chromatographie liquide ou en phase gazeuse, fréquemment utilisée dans les contrôles de routine. Ces méthodes sont plus simples et exigent moins de main d'œuvre. Des études approfondies des méthodes immunochimiques et autres méthodes rapides pouvant être utilisées pour détecter les trichothécènes ont été publiées (37, 46-47). L'information concernant le kit d'analyse des mycotoxines est disponible dans les pages d'accueil de l'AOAC International (www.aoac.org) et du Réseau européen de sensibilisation à la mycotoxine (EMAN) (www.mycotoxins.org).

18. Les méthodes analytiques quantitatives qui doivent être utilisées à des fins de contrôle et d'exécution devraient être validées ou étudiées collaborativement de sorte que les résultats analytiques obtenus donnent une mesure exacte de l'échantillon à analyser concerné. Les méthodes qui ont été élaborées et validées pour l'extraction et la détection de DON dans les grains entiers ne peuvent pas être appliquées efficacement aux produits à base de céréales transformés sous réserve d'autres modifications dans la plupart des cas. Dans les études portant sur les produits à base de céréales moulus ou transformés, il est indispensable de procéder à la contre-vérification de chaque type de produit analysé afin de déterminer si les variations de la teneur en DON correspondent à la concentration exacte de la toxine ou un mauvais prélèvement de la toxine dans le substrat du produit. Des matériaux de référence certifiés (CRMs) sont disponibles pour le DON contenu dans le blé et le maïs, et ceux-ci peuvent servir à démontrer que la méthode utilisée fournit des résultats exacts (37,48). Deux étalons analytiques de DON cristallisé disponibles dans le commerce, utilisés en laboratoire dans le monde entier, ont affiché un pourcentage de pureté respectivement supérieur à 96 et à 98% (49).

19. Les méthodes analytiques officielles actuelles de l'AOAC concernant le DON contenu dans le blé comprennent la chromatographie à émulsion mince (méthode 986.17) et la chromatographie en phase gazeuse (méthode 986.18). Une méthode de chromatographie liquide pour la détermination de DON dans la farine de blé entier, la farine blanche et le son a été soumise à une étude interlaboratoire et adoptée comme méthode approuvée par les collègues par l'AOAC International (50). Une étude interlaboratoire internationale a porté sur la comparaison entre les différentes méthodes d'analyse de DON (37, 51). Suite à la prévalence naturelle de DON avec les autres trichothécènes et la zéaralenone, il y aurait lieu de se concentrer sur l'élaboration et la validation de méthodes capables de détecter les résidus de multi-mycotoxines. Des méthodes qui allient la chromatographie en phase liquide à la spectrométrie de masse permettent depuis peu de réaliser la détection rapide et simultanée de la zéaralenone ainsi que des trichothécènes (52,53).

Le DON dans les céréales

20. La prévalence de DON à l'échelle mondiale dans les céréales fait l'objet d'une documentation détaillée (9,15,54,55). Le blé, l'orge et le maïs réunis représentent les deux tiers de la production mondiale de céréales et sont des cultures très vulnérables à la brûlure fusarienne et à la contamination par les trichothécènes (56). Le DON a été trouvé dans d'autres céréales, dont le seigle, l'avoine, le riz et leurs produits dérivés, dans un grand nombre de régions du monde (9). Des études ont montré qu'à des niveaux de contamination faibles, le DON et ses dérivés acétylés restent en grande partie localisés sur la partie extérieure du grain (57). En revanche, à des niveaux de contamination plus élevés, les toxines peuvent être plus uniformément réparties dans l'ensemble du grain (58). On sait que la zéaralenone co-existe avec le DON et d'autres trichothécènes puisqu'elle est produite par la même espèce de *Fusarium*. Un glucoside de DON "masqué" naturellement produit (DON-3-glucoside) a récemment été détecté dans du blé et du maïs contaminés par *Fusarium* (59). L'identité du composé a été confirmée par R.M.N. et la quantité présente dans le maïs et le blé naturellement contaminés varie entre 4 et 12% de la concentration de DON.

21. On a fait la synthèse des données analytiques sur le DON provenant des études menées sur les céréales et les produits à base de céréales dans un grand nombre de régions du monde entre 1990 et 2000 (60). DON a été analysé dans 15 187 échantillons; 48,1% étaient pris dans le blé (moyenne de 531 µg/kg, 61,6% positifs), 20% dans le maïs (moyenne de 230 µg/kg, 60,3% positifs) et 18,5% dans les produits à base de blé (moyenne de 314 µg/kg, 52,2% positifs). Le DON a également été détecté en teneur plus faible dans d'autres céréales comme l'orge, l'avoine, le seigle, le riz et dans les produits transformés comme la bière, les crêpes cuites, les aliments pour bébés et nourrissons, les céréales mixtes de petit déjeuner, les nouilles et les petits gâteaux.

22. Dans une étude récente menée par 12 pays membres de l'Union européenne, le DON, le nivalénol, la toxine T-2 et la toxine HT-2 ont été analysés dans un total de 11 022 échantillons d'aliments et de matières alimentaires brutes (61). 57 % des échantillons étaient positifs au DON et le blé et les produits à base de blé représentaient le plus grand nombre des échantillons. Parmi les céréales, le maïs a affiché la teneur en trichothécènes la plus élevée. 7 % des céréales brutes et de la farine contenaient une concentration de DON de 750 µg/kg ou plus, et 6% des produits à base de céréales contenaient une concentration de DON de 500 µg/kg ou plus. Le blé et les produits contenant du blé comme les pâtes alimentaires et le pain constituaient les sources principales d'ingestion des quatre trichothécènes qui ont été mesurés.

23. Dans une étude portant sur les céréales stockées après la récolte de 1999 au Royaume-Uni, le DON a été détecté dans 88% des 320 échantillons de blé, d'orge et d'avoine analysés; 83% contenaient moins de 100 µg/kg; la limite maximale était de 600 µg/kg. Dans les échantillons où la teneur en DON était supérieure à 150 µg/kg, le nivalénol était aussi présent à raison de 50 µg/kg ou plus (62).

24. En Croatie, 465 échantillons de céréales pour animaux ont été prélevés et analysés sur une période de sept ans auprès des fabricants et des installations de stockage (63). Le DON a été détecté à une concentration allant de 50 à 340 µg/kg dans 41,2 % des échantillons. La majorité des échantillons provenaient des aliments pour volailles.

25. Le DON a été analysé dans 272 échantillons d'avoine après la récolte dans une région de l'Allemagne du sud-est, sur une période de cinq ans (64). Le DON était la toxine la plus répandue avec une incidence de 49 à 85% et une teneur moyenne dans les échantillons positifs de 52 à 302 µg/kg. On a noté une corrélation entre la prévalence et la concentration des trichothécènes dans l'avoine et la forte pluviosité dans les mois d'été précédant la récolte.

26. Une étude sur le DON contenu dans les céréales récoltées sur une période de trois ans a été menée en Russie (65). Le DON a été détecté dans 69 % des 2 166 échantillons de blé stocké provenant de la principale région de Russie affectée par le *Fusarium*. La concentration de la contamination variait de 100 à 8 600 µg/kg et on a noté une corrélation positive entre la concentration de DON et le pourcentage de grains de blé endommagés par le *Fusarium*. Le DON a été détecté dans 11% des 1 908 échantillons de blé alimentaire récemment récolté; la teneur en DON variait de 50 à 6 650 µg/kg. L'incidence et la concentration de DON dans l'orge et le seigle récemment récoltés étaient sensiblement inférieures à celles du blé.

27. La présence des trichothécènes a été analysée dans un total de 843 échantillons prélevés dans des aliments pour animaux et des produits alimentaires commercialisés pendant une période de 3 ans en Arabie Saoudite (66). Le DON était le trichothécène le plus fréquemment détecté (13% de l'ensemble des échantillons positifs examinés) et la concentration variait de moins de 2 à 4 000 µg/kg. DON était présent dans 21% des échantillons de maïs et dans 18% des échantillons d'aliments pour volailles, mais la teneur la plus élevée a été enregistrée dans les échantillons d'orge, avec une concentration moyenne de 2 553 µg/kg.

28. La présence de DON a été analysée dans 2 524 échantillons de blé prélevés aux États-Unis entre 1994 et 2003 (67). 41 % contenaient une concentration de DON inférieure à 500 µg/kg; 18,6 % contenaient entre 500 et 1,000 µg/kg; 39,8% contenaient entre 1 000 et 6 000 µg/kg et 0,6 % contenaient 6 000 µg/kg. La concentration de DON variait sensiblement d'une année à l'autre.

29. La présence de DON a été analysée dans 2 106 échantillons d'orge prélevés aux États-Unis entre 1993 et 2003 (67). 38 % contenaient une concentration de DON inférieure à 490 µg/kg; 14,5 % contenaient entre 490 et 990 µg/kg; 28,5 % contenaient entre 990 et 4 990 µg/kg et 18,6% contenaient entre 4 990 et 5 000 µg/kg. Comme pour le blé, on a noté des variations de concentration d'une année à l'autre.

30. Pendant les trois premières années (de 2001 à 2004) d'un projet quinquennal au Royaume-Uni portant sur les facteurs agronomiques affectant la production des toxines du *Fusarium*, y compris le DON, 1 200 échantillons de blé ont été analysés (68). 97 % contenaient moins de DON que la limite fixée par l'UE de 1 250 µg/kg. Le lieu était un facteur important mais pas toujours constant d'une année à l'autre. Le risque de contamination par le DON était élevé quand une récolte de blé succédait une récolte de maïs. Aucune différence n'a été signalée entre la teneur en DON contenue dans les échantillons pris dans les cultures organiques et celle des échantillons pris dans les cultures conventionnelles.

31. La présence de DON a été analysée dans 2 924 échantillons aux Pays-Bas entre 1998 et 2004 (69). La concentration moyenne de DON dans le blé était de 580 µg/kg au cours de l'année 1998, durant laquelle la contamination par *Fusarium* a été la plus élevée. Pendant les autres années, la moyenne de la concentration de DON a varié entre 190 et 317 µg/kg. L'effet des différentes limites de DON sur la concentration moyenne de DON dans les lots de blé approuvés pour la vente aux industries de meunerie a aussi été calculé.

32. Au Japon, 136 échantillons de blé décortiqué ont été examinés en 2001 et 2002 (70). 77 % des échantillons analysés en 2001 contenaient une concentration moyenne de DON de 286 µg/kg. 95% des échantillons analysés en 2002 contenaient une concentration moyenne de DON de 184 µg/kg. Par ailleurs, 638 échantillons de blé décortiqué (de production intérieure) ont été analysés en 2002-2004; 37% contenaient une concentration maximale de DON de 2100 µg/kg (2002), 580 µg/kg (2003) et 930 µg/kg (2004). La concentration au 90^{ème} percentile était de 570 µg/kg (2002), 260 µg/kg (2003) et 140 µg/kg (2004).

Études sur la réduction de la teneur en DON dans les céréales

33. Plusieurs procédés physiques dont le nettoyage, le lavage, le filtrage, la ségrégation par densité, le décortilage, la séparation par gravité sur table spéciale et le polissage ont été utilisés seuls, ou en association avec la mouture pour réduire la teneur en DON dans les céréales. L'efficacité de ces procédés dépend du degré de la contamination et de la répartition de la toxine dans l'ensemble du grain (71,72). L'usage de la mouture pour enlever le DON du blé et des autres céréales est essentiellement basé sur la séparation physique des couches externes des grains, dans lesquelles la contamination est plus élevée.

34. La mouture à sec est un procédé selon lequel les composantes des grains de céréales se séparent en fractions de particules de taille différente. Les différentes fractions, comme la farine de blé ou de maïs, conservent la plupart des caractéristiques du grain d'origine (16). Des études ont montré que dans le blé moulu, les trichothécènes sont détectés en concentration plus élevée dans le son que dans le blé d'origine et en concentration plus faible dans la farine blanche (72-75). Les techniques de transformation de la farine permettent de diviser par 2 ou plus la concentration de DON. Le degré auquel la mouture à sec peut réduire la concentration de DON dans la farine dépend du degré de pénétration fongique de l'endosperme du grain de blé et de la répartition de DON à l'intérieur du grain. Le degré de pénétration fongique dépend du cultivar de blé concerné (76,77). Par la mouture à sec, le DON contenu dans le maïs contaminé se trouve concentré dans le tourteau de germes (78).

35. La mouture humide est un procédé couramment utilisé pour obtenir l'amidon du maïs qui sert à la production des sirops et autres produits de consommation humaine. Comme le DON est très soluble dans l'eau, il passe à la phase aqueuse pendant le processus de mouture humide, et sa présence dans le résidu solide utilisé dans les produits alimentaires est négligeable (16,79).

36. Un grand nombre de produits chimiques liquides et gazeux ont été testés pour leur efficacité à réduire la teneur en DON dans les céréales. La plupart des produits chimiques testés n'ont permis qu'une réduction faible ou inexistante de la concentration de DON (71,72). On a trouvé que le bisulfite de sodium réduisait la teneur en DON dans le maïs mais il ne peut pas être utilisé pour les aliments de consommation humaine en raison de son effet sur les propriétés rhéologiques de la farine car l'adduit de DON formé n'est pas stable et le DON se recompose par hydrolyse dans certaines conditions de transformation (76).

37. Des méthodes de radiation ionisante, de transformation par extrusion ou thermique ont été élaborées pour réduire la teneur en DON jusqu'à un certain degré et dans des conditions très spécifiques. Par contre, on ne dispose pas actuellement de méthode unique capable d'éliminer complètement le DON des céréales (71,80).

38. Le Ministère de l'agriculture, des forêts et de la pêche au Japon a financé la recherche visant à développer des machines de triage par la couleur et des machines à perlage pour les grains de blé (70). Les résultats d'expériences préliminaires ont montré que les prototypes de ces machines peuvent être utiles à séparer les grains de blé contaminés par le DON des grains non contaminés.

Le DON dans les produits transformés

39. Le processus de transformation des grains bruts et moulus en aliments destinés à la consommation humaine a des effets significatifs sur la teneur en DON dans les produits finis. Les humains sont exposés à la contamination par le DON essentiellement par suite de la contamination des produits finis. DON est une molécule relativement thermostable; elle est stable à 120°C, modérément stable à 180°C et partiellement stable à 210°C. DON est hydrosoluble et stable dans des conditions de faible acidité mais n'est pas stable dans les alcalis (19).

40. La présence de DON et de nivalénol a été analysée dans un total de 190 échantillons de farine de blé ordinaire, de blé dur et de seigle prélevés auprès des meuneries et des marchés de détail au Danemark entre 1998 et 2001(13). Le taux d'incidence de DON était de 78% sur l'ensemble des échantillons pour toutes les années. Le niveau de contamination variait d'une année à l'autre. L'incidence et la concentration de DON les plus élevées ont été relevées dans les échantillons de blé et de seigle provenant de la récolte de 1998, qui a succédé une saison de croissance exceptionnellement froide et humide cette année-là. La concentration moyenne dans les farines de blé et de seigle était respectivement de 191 µg/kg et 99 µg/kg. DON a été détecté dans environ 50% des échantillons de seigle recueillis entre 1998 et 2000, avec une concentration moyenne de 49 µg/kg. La farine de blé dur a affiché le niveau le plus élevé de contamination par le DON et tous les échantillons collectés en 2000 et 2001 contenaient une moyenne et une médiane de DON supérieures à 100 µg/kg. Plus de 70% des échantillons contenaient plus de 500 µg/kg de DON et la concentration la plus élevée était de 2 591 µg/kg.

41. Des 60 échantillons de blé analysés en Argentine pour détecter le DON, 93,3% étaient contaminés, et la contamination moyenne était de 1 798 µg/kg (81). 61 échantillons de farine de blé ont été analysés et la concentration moyenne de DON était de 1 309 µg/kg; la concentration moyenne de DON dans 42 produits de boulangerie différents était de 464 µg/kg. Cette étude a été effectuée sur des échantillons de blé provenant de la récolte de 1993/94 pendant laquelle il y avait eu une saison pluvieuse.

42. Pendant les années 2001-2004, le DON a été analysé en Allemagne dans un total de 4 965 échantillons alimentaires achetés sur le marché allemand (82). Le DON a été détecté dans la plupart des aliments contenant des céréales avec une incidence supérieure à 50%. Pour les aliments comme le pain, les petits pains et les pâtes alimentaires, l'incidence de la contamination par le DON était généralement de 70 à 90%. La contamination par le DON la plus élevée a été détectée dans le blé dur et ses produits dérivés. La concentration médiane de DON était de l'ordre de 2 à 10 fois supérieure à celle des autres céréales fréquemment contaminées (blé tendre, maïs et leurs produits dérivés) avec une concentration maximale de DON de 2 000 à 3 000 µg/kg. La concentration moyenne et médiane de DON dans la plupart des produits, à quelques exceptions près, était nettement inférieure à la limite maximale autorisée actuellement en Allemagne (100 à 500 µg/kg). On a noté des différences qualitatives et quantitatives de contamination des aliments par le DON relativement peu importantes d'une année à l'autre. On n'a pas noté de différences régionales, même si l'incidence et la concentration étaient nettement inférieures dans les produits d'agriculture organique par rapport à celles provenant de la production conventionnelle.

43. Un total de 562 produits à base de blé appartenant à la récolte de 1993 aux États-Unis ont été collectés et analysés. (83). Le pourcentage des échantillons dont la contamination par le DON est supérieure à 1 000 µg/kg dans le son, la farine blanche, la farine de blé entier, et des échantillons pour essais divers était respectivement de 12, 10, 16 et 5. Près de 52, 50, 40 et 27% des mêmes échantillons pour essais étaient contaminés par le DON, pour une valeur supérieure à 100 µg/kg. Dans le Midwest des États-Unis, le temps frais et humide du printemps et de l'été 1993 a provoqué une augmentation de la teneur en DON dans le blé récolté cette année-là.

44. Un total de 728 produits à base de blé a été examiné aux États-Unis entre 2000 et 2004 (67). Le pourcentage des échantillons dont la contamination par le DON est supérieure à 1 000 µg/kg dans le son de blé, la farine de blé et autres produits à base de blé moulu était respectivement de 17,5, 1,0 et 1,8. Le pourcentage des mêmes échantillons pour essais contenant plus de 100 µg/kg était respectivement de 31, 37 et 36.

45. La présence de plusieurs mycotoxines a été analysée dans les produits de petit déjeuner à base de céréales pour adultes pris sur le marché du détail canadien sur une période de 3 ans à compter de 1999/2000. Selon l'année, le DON a été détecté dans 40 à 59% échantillons, à une concentration moyenne allant de 10 à 70 µg/kg (84).

46. La présence de plusieurs mycotoxines a été analysée dans les aliments pour nourrissons à base de céréales pris sur le marché du détail canadien sur une période de 3 ans. Le DON a été détecté dans 63% des échantillons, à une concentration moyenne allant de 32 à 150 µg/kg (85). Dans une étude similaire des aliments pour bébés et nourrissons dans le sud-est de l'Allemagne, le DON a été détecté dans 60% des échantillons à une concentration de DON allant de 15 à 314 µg/kg (86).

47. L'étude en 1999 de 101 types de pain commercialement disponibles sur le marché allemand a révélé une incidence de DON, de nivalénol et déoxynivalénol 3-acétylé respectivement de 92, 5 et 8%; la concentration médiane contenue dans les échantillons positifs était respectivement de 134, 25 et 40 µg/kg (87). La concentration de DON dans les échantillons de pain fabriqué avec des céréales de production organique était inférieure à celle dans le pain fabriqué avec des céréales de production conventionnelle. Il y a cependant un grand nombre de facteurs qui peuvent contribuer à la différence observée entre les céréales de production organique et celles de production conventionnelle et leurs produits moulus et finis (88).

48. 219 échantillons d'aliments à base de céréales, de pseudocéréales et d'aliments sans gluten ont été collectés dans les magasins d'alimentation et de produits de santé en Allemagne (89). La présence de 13 toxines trichothécènes y compris le DON, le DON 3-acétylé, le DON 15-acétylé et le nivalénol a été analysée dans ces échantillons; l'incidence de la contamination était respectivement de 57, 1, 13, et 10%. La concentration la plus élevée de DON était de 389 µg/kg alors que la concentration des autres toxines était inférieure à 100 µg/kg.

49. 60 échantillons de farine de blé blanche ou complète ont été collectés en 1999 auprès des meuneries et des magasins d'alimentation dans la région du sud-est de l'Allemagne (57). Le DON a été détecté comme toxine prédominante. Sur la base de tous les échantillons, l'incidence de DON, du nivalénol, de DON 3-acétylé, de DON 15-acétylé, de la toxine HT-2, de la toxine T-2 et de la zéaralenone était respectivement de 98, 12, 2, 3, 7, 2 et 38%; la concentration médiane des échantillons positifs était respectivement de 199, 25, 11, 15, 12, 4 et 3 µg/kg.

50. 235 échantillons d'avoine ont été collectés et analysés sur une période de six mois en 2003 par l'Agence pour les normes alimentaires au Royaume-Uni (90). Un total de 6 trichothécènes ont été détecté à une concentration allant de 10 à 404 µg/kg dans 52% des échantillons; le DON, les toxines T-2 et HT-2 figuraient parmi les plus répandus.

51. La présence d'un certain nombre de trichothécènes a été analysée lors de l'étude de 377 échantillons de céréales de détail menée au Royaume-Uni au cours de l'année 2003 (91). 298 échantillons contenaient une concentration de toxines détectable; le DON et le nivalénol étaient les plus répandus. La concentration de DON la plus élevée a été notamment relevée dans les céréales de petit déjeuner et les produits de grignotage à base de maïs, pour une valeur respective de 2 261 et 879 µg/kg.

52. En 2002-2003, 164 échantillons de farine de blé ont été analysés au Japon (70). 85 % des échantillons analysés en 2002 contenaient le DON à une concentration moyenne de 138 µg/kg. 74 % des échantillons prélevés en 2003 contenaient le DON; la concentration moyenne était de 43 µg/kg. La baisse de la concentration de DON dans les échantillons de farine prélevés en 2003 est liée à la limite maximale provisoire pour le DON dans le blé décortiqué fixée à 1,1 mg/kg par le gouvernement japonais en mai 2002.

53. La présence de DON dans des échantillons de céréales et de produits à base de céréales a été analysée par les organismes de réglementation aux Pays-Bas entre 2001 et 2004 (69). Sur les 447 échantillons de céréales non transformées analysés, la concentration de DON était inférieure à 100 µg/kg pour 19 % d'entre eux, entre 100 et 750 µg/kg pour 52%, entre 750 et 1000 µg/kg pour 2% et supérieure à 1000 µg/kg pour 3%. La présence de DON a été analysée dans 239 échantillons de farine auto-levante; 91% contenaient une concentration de DON inférieure à 100 µg/kg et 9% contenaient une concentration de DON inférieure à 750 µg/kg. La présence de DON a aussi été analysée dans 447 échantillons de pâtes alimentaires; 95% des échantillons contenaient moins de 500µg/kg de DON, 4% contenaient entre 500 et 750 µg/kg et 3% contenaient plus de 750 µg/kg de DON. La co-prévalence de l'ochratoxine A a été détectée dans quelques échantillons de farine et de céréales non transformées.

Études portant sur la réduction de la teneur en DON dans les aliments transformés

54. Des études détaillées sur l'influence et l'efficacité des diverses méthodes de transformation appliquées à la réduction de la teneur en DON dans les produits à base de céréales moulues, dans la bière et les produits de boulangerie finis ont été publiées (71,91-93).

55. Dans un grand nombre de pays, la recherche se concentre actuellement sur les moyens possibles de réduire la teneur en DON dans les produits alimentaires finis préparés à partir de céréales brutes ayant été contaminées par le DON. Dans ce type d'étude il est important de prendre comme référence de départ les céréales naturellement contaminées (dans les champs) parce que le développement de l'infection au *Fusarium* dans les grains est crucial quant au devenir des toxines pendant la transformation (91).

56. En collaboration avec l'industrie céréalière au Royaume-Uni, des travaux sont en cours pour mesurer la concentration des mycotoxines *Fusarium* y compris le DON dans les céréales brutes (blé, maïs et avoine) et pour déterminer comment les étapes clés de la transformation affectent la contamination du produit alimentaire fini (68). La recherche vise à déterminer les facteurs qui affectent la concentration des toxines à chaque étape de la transformation à l'aide d'études pratiquées en laboratoires et à l'échelle pré-industrielle et de l'échantillonnage des plantes de production. Les données fournies par ce projet ont pour but de permettre à l'industrie de réduire davantage la contamination par les mycotoxines. Ces travaux examinent aussi la formation des métabolites et de leurs résidus et les conséquences toxicologiques qui leur sont liées.

57. Une étude récente a été menée en Argentine sur la répartition de DON dans les différentes fractions produites par la mouture industrielle du blé naturellement contaminé (75). La concentration de DON dans le blé brut, la farine, le son et le gluten était respectivement de 1 928, 994, 4 680 et 293 µg/kg.

58. La stabilité de DON dans la farine de blé a été évaluée pendant le stade de fermentation de la fabrication du pain à l'échelle pré-industrielle en Argentine (94). En utilisant une farine contenant 150 µg/kg de DON et en faisant fermenter la pâte à 50°C, on a réussi à réduire la concentration de DON de 56% dans le pain viennois et 49 % dans le pain français. Les chercheurs ont conclu que la réduction de DON pendant la fabrication du pain pourrait provenir d'une réaction liée à la fermentation de la levure et pas seulement de la décomposition thermique.

59. Une étude détaillée visant à déterminer l'influence de l'infection du blé par *Fusarium* sur la valeur boulangère du blé a récemment été menée en Allemagne (95). Les résultats ont indiqué que le niveau élevé de l'infection par *Fusarium* accompagné d'une concentration élevée de DON n'endommageait pas nécessairement la valeur boulangère du blé contaminé au DON.

60. Une étude a été entreprise pour déterminer le degré de réduction de la teneur en DON observée aux différentes étapes de la transformation du blé dur naturellement contaminé non nettoyé jusqu'à la production des spaghetti cuits (12). Concernant le blé non nettoyé, la concentration moyenne de DON a diminué de 77% dans le blé nettoyé, de 37% dans la semoule, de 33% dans les spaghetti non cuit et de 20% dans les spaghetti cuits. La concentration moyenne de DON dans les criblures, le son et les finots était respectivement multipliée par 4.1, 1.6 et 0.6, par rapport au blé non nettoyé. Les résultats de cette étude montrent sans exagérations que les pâtes cuites conservent 25% ou moins de la concentration de DON détectée dans les céréales.

61. La rétention de DON dans les procédés de mouture et de production des produits finis utilisant du blé naturellement contaminé a récemment été étudiée au Japon (96). La farine de minoterie a affiché une rétention de 40 à 55% de la concentration originale de DON contenue dans le blé brut et quasi 200% de la concentration de DON a été détectée dans le son. En utilisant la même farine dans la fabrication du pain, le DON a affiché une rétention identique à celle relevée dans la pâte. Concernant la transformation des nouilles japonaises à base de blé, seulement 30% de DON contenu dans la pâte a été détecté dans les nouilles à cuire, les solides de l'eau de cuisson ayant retenu 44.7% de la concentration de DON. La réduction globale du niveau de la contamination par le DON dans le blé jusqu'au produit fini a été prudemment estimée à 51% pour le pain et à 14% pour les nouilles.

Usages homologués

62. Au moins 37 pays ont établi des limites réglementaires ou indicatives de DON dans les aliments de consommation humaine ou animale. (97). La limite réglementaire dans les céréales et les produits finis à base de céréales destinés à la consommation humaine varie de 100 µg/kg à 2,000 µg/kg. La limite indicative de DON dans les régimes alimentaires des porcs, de la volaille et du bétail varie de 500 µg/kg à 10,000 µg/kg selon l'âge de l'espèce animale concernée.

Contrôle des risques

63. Il n'existe pas à l'heure actuelle de méthode unique pratique pour réduire de manière significative les niveaux de contamination par le DON du blé et des autres céréales. Plusieurs méthodes physiques et chimiques ont été efficaces pour réduire à des degrés divers la contamination par le DON dans les céréales récoltées. Mais la technologie actuelle ne permet pas de protéger les cultures céréalières de la contamination par le DON et autres trichothécènes avant la récolte. L'incidence et la concentration de DON dans les cultures céréalières dans le monde varient considérablement en fonction de nombreux facteurs comme les conditions environnementales, le cultivar utilisé, et les pratiques agronomiques traditionnelles des différents pays. Pour gérer le risque associé à la contamination des céréales par le DON, il est nécessaire de faire appel à une approche de système intégré de gestion des risques. Elle comprend la gestion pré-récolte (dont les bonnes pratiques agricoles), la gestion des récoltes (dont la récolte en temps voulu, le contrôle de la température et de l'humidité pendant le transport et le stockage des céréales) et la gestion après récolte (dont les bonnes pratiques de fabrication, les stratégies de décontamination et de dérivation) accompagnée des contrôles appropriés à chaque étape (98). Pour pouvoir prendre les décisions relatives à la gestion des risques au plan international, il est nécessaire de recueillir davantage d'information sur la variabilité d'année en année de la concentration de DON contenue dans les céréales cultivées dans les diverses parties du monde ainsi que les habitudes de consommation des différentes populations.

64. En 2003, la Commission du Codex Alimentarius (CCA) a adopté le *Code de Pratique pour la prévention et la réduction de la contamination par les mycotoxines dans les céréales, y compris des annexes sur l'ochratoxine A, la zéaralénone, les fumonisines et les trichothécènes*. (CAC/RCP 51-2003). La mise en œuvre des pratiques énoncées dans ce document, associée aux progrès accomplis dans les techniques après récolte et aux conditions adéquates de séchage et de stockage, auxquels succèdent les bonnes pratiques de fabrication, devraient réduire substantiellement la teneur en DON dans les aliments.

65. Des études approfondies portant sur les systèmes culturaux et sur les pratiques agricoles pré-récolte et après récolte pouvant réduire ou prévenir la contamination par le *Fusarium* des cultures céréalières ont récemment été publiées dans des textes scientifiques. (10, 99-101).

Conclusions et recommandations

66. Il y aurait lieu d'encourager les pays membres du Codex à continuer de soumettre les données produites lors des études sur la concentration de DON contenue dans les produits à base de céréales dans leur pays respectif, obtenues à l'aide des méthodes analytiques validées et sur une période de plusieurs années afin d'exprimer les variations saisonnières. Ces données pourraient servir à déterminer les estimations des expositions et à élaborer une norme internationale appropriée pour le DON contenu dans le blé, en tenant compte les différences régionales dans les habitudes de consommation alimentaire.

67. Il y aurait lieu d'encourager la recherche concernant le développement des cultivars de céréales (et du blé en particulier) résistants à *F. graminearum* et *F. culmorum* et à la brûlure de l'épi due à *Fusarium* qui s'en suit dans le blé, ainsi que la formulation de stratégies pouvant être mise en œuvre pour aider à prévenir la production des trichothécènes dans les céréales.

68. Il y aurait lieu d'encourager et de poursuivre la recherche concernant les méthodes de prévention et/ou de réduction de la contamination par l'espèce *Fusarium* des céréales dans les champs, pendant le stockage et pendant la transformation. Il est nécessaire de mieux comprendre les interactions entre les céréales et le *Fusarium* dans les infections symptomatiques et asymptomatiques des céréales dans les champs. Il est nécessaire de mener des études visant à identifier et à déterminer la toxicité des produits issus de la dégradation et de la modification chimique de DON et des autres trichothécènes par suite des diverses méthodes de transformation.

69. Le Comité devrait attendre que davantage de données régionales sur l'incidence et la concentration de DON dans les céréales sur une période de plusieurs années soient disponibles avant d'élaborer les normes internationales. Il est, en outre, nécessaire d'obtenir l'information adéquate sur les habitudes de consommation dans les divers pays.

70. La toxicité de DON 3-acétylé et de DON 15-acétylé qui sont présents en même temps que le DON doit être analysée quant à leur contribution à la toxicité globale de DON étant donné qu'ils représentent fréquemment 10 à 20% de la concentration de DON.

Références

1. ALINORM 04/27/12, para.158.
2. ALINORM 05/28/12, para. 149,150.
3. Miller J.D., Greenhalgh, R., Wang, Y-Z. et Lu, M. Trichothecene chemotypes of three *Fusarium* species. *Mycologia* 83: 121-130, 1991. .
4. Krska, R., Baumgartner S. et Josephs, R. The state-of-the-art in the analysis of type-A and type-B trichothecene mycotoxins in cereals. *Fresenius J. Analytical Chemistry* 371:285-289, 2001.
5. Yoshizawa, T. et Jin, Y-Z. Natural occurrence of acetylated derivatives of deoxynivalenol and nivalenol in wheat and barley in Japan. *Food Addit Contam* 12: 689-694, 1995.
6. Ueno, Y. Trichothecenes-Chemical Biological et Toxicological Aspects. Elsevier Science Publishers , New York, pp.7-111, 1983
7. Ueno, Y. Trichothecenes in food. IN: Krogh, P. (ED). *Mycotoxins in Food. Food Science and Technology*. Academic Press, Londres. pp. 123-147,1987.
8. Chelkowski, J. Distribution of *Fusarium* species and their mycotoxins in cereal grains. IN: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K. Sinha et D. Bhatnager (EDS). Marcel Dekker, Inc. New York, N.Y. pp 45-64, 1998.
9. Placinta, C.M., D'Mello, J.P.F., et Macdonald, A.M.C. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science Technology* 78:21-37, 1999.
10. Champeil, A., Fourbet, J.F., Dore, T. et Rossignol, L. Influence of cropping system on *Fusarium* head blight and mycotoxin levels in winter wheat. *Crop Protection* 23:531-537 2004.
11. Sutton, J.C. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Can. J. Plant Pathol.* 4:195-209, 1982.

12. Visconti, A., Haidukowski, E.M., Pascale, M. et Silvestri, M. Reduction of deoxynivalenol during durum wheat processing and spaghetti cooking. *Toxicology Letters* 153:181-189, 2004.
13. Rasmussen, P.H., Ghorbani, F. et Berg, T. Deoxynivalenol and other *Fusarium* toxins in wheat and rye flours on the Danish market. *Food Addit. Contam.* 20(4):396-404, 2003.
14. Trigo-Stockli, D.M., Sanchez-Mariflez, R.I., Cortez-Rocha, M.O. et Pedersen, J.R. Comparison of the distribution and occurrence of *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol in hard red winter wheat for 1993-1996. *Cereal Chem.* 75(6):841-846, 1998.
15. Scott, P.M. Trichothecenes in grains. *Cereal Foods World* 35:661,1990.
16. Bennett, G.A. et Richard, J.L. Influence of processing on *Fusarium* mycotoxins in contaminated grains. *Food Technology* 50(5): 235-238,1996.
17. IARC . Toxins derived from *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, and *F. crookwellense*: zearalenone, deoxynivalenol, nivalenol and fusarenone X. IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans, pp. 397-444, 1993.
18. Eriksen, G.S. et Alexander, J. (EDS). *Fusarium* toxins in cereals-a risk assessment. Nordic Council of Ministers. TemaNord 502, pp. 1-115, Copenhagen, 1998.
19. Canady, R.A., Coker, R.D., Egan, S.K., Krska, R., Kuiper-Goodman, T., Olsen, M., Pestka, J., Resnik, S., et Schlatter, J. Deoxynivalenol. IN: Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. WHO Food Additive Series 47. pp. 419-555, Organisation mondiale de la santé, Genève 2001.
20. CSA (Comité scientifique de l'alimentation) Opinion of the Scientific Committee on Food on *Fusarium* toxins. Part 6: Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol, adoptées le 26 février 2002. European Commission SCF/CS/CNTM/MYC/27, Final. http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out123_en.pdf
21. The EFSA Journal. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Deoxynivalenol (DON) as undesirable substance in animal feed (Question N° EFSA-Q-2003-036) Adoptée le 2 juin 2004.
22. Pieters, M.N., Freijer, J.L., Baars, A.J., Fiolet, D.C.M., van Klaveren, J. et Slob, W. Risk assessment of deoxynivalenol in food. Concentration limits, exposure and effects. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504:235-248, 2002.
23. Schlatter, J. Toxicity data relevant for hazard characterization. *Toxicology Letters* 153:83-89 2004.
24. Pestka, J.J. et Smolinski, A.T. Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. *J. Toxicol. Environ. Health, Part B*: 39-69, 2005.
25. Rotter, B.A. et Prelusky, D.B. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *J. Toxicol. Environ. Health.* 48:1-34, 1996.
26. Eriksen, G.S. et Pettersson, H. Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Animal Feed Science and Technology* 114: 205-2239, 2004.
27. Prelusky, D.B. Residues in food products of animal origin. IN: Miller, J.D.,Trenholm, H.L. (EDS). *Mycotoxins in Grain. Compounds Other Than Aflatoxin.* Eagen Press, St. Paul, MN, pp 405-414, 1994.
28. Li, F-Q., Li, Y.W., Luo, X.Y., and Yoshizawa, T. *Fusarium* toxins in wheat from an area in Henan Province, PR China, with a previous human red mold intoxication episode. *Food Addit. Contam.* 19(2):163-167, 2002.
29. Henry, S.H. et Bosch, F.X. Foodborne disease and mycotoxin epidemiology. IN: Hui, Y.H., Smith, R.A., and Spoerke, D.G.(EDS). *Foodborne Disease Handbook*, Marcel Dekker, Inc. New York:, pp.593-626, 2000.
30. Meko, F.A., Turner, P.C., Ashcroft, A.E., Miller, J.D., Qiao, Y.L., Roth, M.J. et Wild, C.P. Development of a urinary biomarker of human exposure to deoxynivalenol. *Food Chem. Toxicol.* 41:265-273, 2003.
31. Speijers, G.J.A., et Speijers, M.H.M. Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicology Letters* 153:91-98, 2004.
32. Sudakin, D.L. Trichothecenes in the environment: relevance to human health. *Toxicology Letters.* 143, 97-107, 2003.
33. Whitaker, T.B. Sampling techniques. IN: *Methods in Molecular Biology*, Vol. 157: *Mycotoxin Protocols.* M.W. Trucksess and A.E. Pohland (EDS). Humana Press Inc. Totowa, N.J. pp. 11-24, 2000.
34. Whitaker, T.B., Hagler, W.M., Giesbrecht, F.G. et Johansson, A.S. Sampling, sample preparation,, and analytical variability associated with testing wheat for deoxynivalenol. *J. AOAC Int.* 83(5):1285-1292, 2000.

35. Lombaert, G.A. Methods for the determination of deoxynivalenol and other trichothecenes in foods. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504: 141-153, 2002..
36. Koch, P. State of the art of trichothecenes analysis. *Toxicology Letters* 153: 109-112, 2004.
37. Krska, R., Welzig, E., Berthiller, F., Molinelli, A. and Mizaikoff, B. Advances in the analysis of mycotoxins and its quality assurance. *Food Addit. Contam.* 22(4): 345-353, 2005.
38. Scott, P.M. Mycotoxin methodology. *Food Addit. Contam.* 12(3): 395-403, 1995.
39. Langseth, W. et Rundberget, T. Instrumental methods for determination of nonmacrocylic trichothecenes in cereals, foodstuffs and cultures. *J.Chromatogr. A*, 815:103-121, 1998.
40. Lin, L., Zhang, J., Wang, P., Wang, Y. et Chen, J. Thin-layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods. *J. Chromatogr. A* 815:3-20, 1998.
41. Yoshizawa, Y. Chromatographic methods for trichothecenes. IN: *Methods in Molecular Biology*, Vol. 157: *Mycotoxin Protocols*. M.W. Trucksess and A.E. Pohland (EDS). Humana Press Inc. Totowa, N.J. pp.115-129. 2000.
42. Cavaliere, C., D'Ascenzo, G., Foglia, P., Pastorini, E., Samperi, R. et Lagana, A. Determination of type B trichothecenes and macrocylic lactone mycotoxins in field contaminated maize. *Food Chem.* 92: 559-568, 2005.
43. Berthiller, F., Schuhmacher, R., Buttinger, G. et Krska, R. Rapid simultaneous determination of major type A- and B- trichothecenes as well as zearalenone in maize by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*. 1062:209-216, 2005.
44. Biselli, S. et Hummert, C. Development of a multicomponent method for *Fusarium* toxins using LC-MS/MS and its application during a survey for the content of T-2 toxin and deoxynivalenol in various feed and food samples. *Food Addit. Contam.* 22(8): 752-760, 2005.
45. MacDonald, S.J., Chan, D., Brereton, P., Damant, A. et Wood, R. Determination of deoxynivalenol in cereals and cereal products by immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography: interlaboratory study. *J.AOAC Int.* 88(4): 1197-1204, 2005
46. Wilson, D.M., Sydenham, E.W., Lombaert, G.A., Trucksess, M.W., Abramson, D. et Bennett, G.A.. Mycotoxin analytical techniques. IN: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K. Sinha and D. Bhatnager (EDS). Marcel Dekker, Inc. New York, N.Y. pp135-182, 1998.
47. Schneider, E., Curtui, V., Seidler, C., Dietrich, R., Usleber, E. et Martlbauer, E. Rapid methods for deoxynivalenol and other trichothecenes. *Toxicology Letters* 153:113-121, 2004.
48. Josephs, R.D., Derbyshire, M., Stroka, J., Emons, H. et Anklam, E. Trichothecenes: reference materials and method validation. *Toxicology Letters* 153:123-132 2004.
49. Krska, R., Szente, E., Freudenschuss, M., Hametner, C. et Zoller, P. Purity assessment of commercially available crystalline deoxynivalenol. *J. AOAC Int.* 87(4): 909-919 2004..
50. Trucksess, M., Page, S., Wood, G. et Cho, T. Determination of deoxynivalenol in white flour, whole wheat flour, and bran by solid phase extraction/liquid chromatography: Interlaboratory study. *J. AOAC Int.* 81:880-886. 1998.
51. Joseph, R.D., Schuhmacher, R. et Krska, R. International interlaboratory study for the determination of the *Fusarium* mycotoxins zearalenone and deoxynivalenol in agricultural commodities. *Food Addit. Contam.* 18(5):417-430, 2001.
52. Biselli, S., Hartig, L., Wegner, H. and Hummert, C. Analysis of *Fusarium* toxins using LC-MS-MS. Application to various food and feed matrices. *LC-GC North America*, 23 (4): 404-416, 2005.
53. Cavaliere, C., Foglia, P., Pastorini, E., Samperi, R. et Lagana, A. Development of a multiresidue method for analysis of major *Fusarium* mycotoxins in corn meal using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 19(14): 2085-2093, 2005.
54. Tanaka, T., Hasegawa, A., Yamamoto, S., Lee, U-S., Sugiura, Y. et Ueno, Y. Worldwide contamination of cereals by the *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol, and zearalenone. 1. Survey of 19 countries. *J. Agric. Food Chem.* 36: 979-983, 1988.
55. Jelinek, C.F., Pohland, A.E. et Wood, G.E. Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an update. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 72(2):223-230, 1989.
56. Abramson, D. Mycotoxin formation and environmental factors. IN: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K.Sinha et D. Bhatnagar (EDS). Marcel Dekker, Inc., New York, pp.255-277, 1998.
57. Schollenberger, M., Jara, H.T., Suchy, S., Drochner, W. et Muller, H-M. *Fusarium* toxins in wheat collected in an area in southwest Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 72:85-89, 2002.

58. Scott, P.M., Kanhere, S.R., Dexter, J.E., Brennan, P.W. et Trenholm, H.L. Distribution of the trichothecene mycotoxin deoxynivalenol (vomitoxin) during the milling of naturally contaminated hard red spring wheat and its fate in baked products. *Food Addit. Contam.* 1(4): 313-323, 1984.
59. Berthiller, F., Dall'Asta, C., Schuhmacher, R., Lemmens, M., Adam, G. et Krska, R. Masked mycotoxins: determination of a deoxynivalenol glucoside in artificially and naturally contaminated wheat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 53:3421-3425, 2005.
60. Samar, M.M. et Resnik, S.L. Analytical methods for trichothecenes surveillance- An overview over the period 1990-2000. *Food Sci. Tech. Int.* 8(5):257-268, 2002.
61. Schothorst, R.C. et van Egmond, H.P. Report from SCOOP task 3.2.10 "collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU member states" Subtask:trichothecenes. *Toxicology Letters* 153: 133-143, 2004.
62. MacDonald, S., Prickett, T.J., Wildey, K.B. et Chan, D. Survey of ochratoxin A and deoxynivalenol in stored grains from the 1999 harvest in the UK. *Food Addit. Contam.* 21(2):172-181, 2004.
63. Sokolovic, M. et Simpraga, B. Survey of trichothecene mycotoxins in grains and animal feed in Croatia by thin-layer chromatography. *Food Control In Press* 2005.
64. Muller, H-M., Reimann, J., Schumacher, U. et Schwadorf, K. Natural occurrence of *Fusarium* toxins in oats harvested during five years in an area of southwest Germany. *Food Addit. Contam* 15(7):801-806, 1998.
65. Tutelyan, V.A. Deoxynivalenol in cereals in Russia. *Toxicology Letters* 153:173-179 2004.
66. Al-Julaifi, M.Z, et Al-Falih, A.M. Detection of trichothecenes in animal feeds and foodstuffs during the years 1997 to 2000 in Saudi Arabia. *J. Food Prot.* 64(10):1603-1606, 2001.
67. Wood, G.E. Privileged Communication, U.S. 2005.
68. Matthews, W. Privileged Communication. U.K. 2005.
69. Tas, W. Privileged Communication. The Netherlands, 2005.
70. Fukushima, K. Privileged Communication, Japan, 2005.
71. Jackson, L.S. et Bullerman, L.B. Effect of processing on *Fusarium* mycotoxins. *Adv. Exp. Med. Biol.* 459:243-261, 1999.
72. Charmley, L.L. et Prelusky, D.B. Decontamination of *Fusarium* mycotoxins. IN: Miller, J.D.,Trenholm, H.L. (EDS). *Mycotoxins in Grain. Compounds Other Than Aflatoxin.* Eagen Press, St. Paul, MN, pp. 421-435, 1994.
73. Trigo-Stockli, D.M., Deyoe, C.W., Satumbaga, R.F. et Pedersen, J.R. Distribution of deoxynivalenol and zearalenone in milled fractions of wheat. *Cereal Chem.* 73(3):388-391, 1996.
74. Lee, U-S.,Jang, H-S., Tanaka,T., Oh, Y-J., Cho, C-M et Ueno, Y. Effect of milling on decontamination of *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol, and zearalenone in Korean wheat. *J. Agric. Food Chem.* 35:126-129,1987.
75. Samar, M.M., Fontan, C.F., Resnik, S.L., Pacin, A.M. et Castillo, M.D. Distribution of deoxynivalenol in wheat, wheat flour, bran, and gluten, and variability associated with the test procedure. *J. AOAC Int.* 86(3):551-556, 2003.
76. Young, J.C., Subryan, L.M., Potts, D., McLaren, M.E. et Gobran, F.H. Reduction in levels of deoxynivalenol in contaminated wheat by chemical and physical treatment. *J. Agric. Food Chem.* 34:461-465, 1986.
77. Nowicki, T.W., Gaba, D.G., Dexter, J.E., Matsuo, R.R. et Clear, R.M. Retention of DON in wheat during processing and cooking of spaghetti and noodles. *J. Cereal Science* 8:189-202, 1988.
78. Patey, A.L. et Gilbert, J. Fate of *Fusarium* mycotoxins in cereals during food processing and methods for their detoxification. IN: Chelkowski, J. (ED), *Fusarium: Mycotoxins, Taxonomy, and Pathogenicity.* Elsevier: New York. Pp.399-420, 1989.
79. Lauren, D.R. et Ringrose, M.A. Determination of the fate of three *Fusarium* mycotoxins through wet-milling of maize using an improved HPLC analytical technique. *Food Addit. Contam.* 14(5):435-443, 1997.
80. Castells, M., Marin, S., Sanchis, V. et Ramos, A.J. Fate of mycotoxins in cereals during extrusion cooking: a review. *Food Addit. Contam.* 22(2):150-157. 2005.
81. Pacin, A.M.; Resnik, S.L.; Neira, M.S.; Molto, G. et Martinez, E. Natural occurrence of deoxynivalenol in wheat, wheat flour and bakery products in Argentina. *Food Addit. and Contam.* 14(4): 327-331, 1997.
82. Curtui, V., Brockmeyer, A., Dietrich, R., Kappenstein, O., Klaffke, H., Lepschy, J., Maertlbauer, E., Schneider, E., Seidler, C., Thielert, G., Usleber, E., Weber, R. et Wolff, J. German research project "Analysis and occurrence of

- important *Fusarium* toxins (Deoxynivalenol, Zearalenone) and dietary intake of these toxins by the German consumer". SANCO/2004/2884.
83. Trucksess, M.W., Ready, D.E., Pender, M.K., Ligmond, C.A., Wood, G.E. et Page, S.W.. Determination and survey of deoxynivalenol in white flour, whole wheat flour, and bran. *J. AOAC Int.* 79(4): 883-887, 1996.
 84. Health Canada, Privileged Communication, 2005.
 85. Lombaert, G.A., Pellaers, P., Roscoe, V., Mankotia, M., Neil, R. et Scott, P.M. Mycotoxins in infant cereal foods from the Canadian retail market. *Food Addit. Contam.* 20(5):494-504 2003.
 86. Schollenberger, M., Suchy, S., Jara, H.T., Drochner, W. et Muller, H-M. A survey of *Fusarium* toxins in cereal-based foods marketed in an area of southwest Germany. *Mycopathologia* 147:49-57, 1999.
 87. Schollenberger, M., Drochner, W., Ruffle, M., Suchy, S., Terry-Jara, H. et Muller, H-M. Trichothecene toxins in different groups of conventional and organic bread of the German market. *J Food Comp Anal* 18: 69-78, 2005.
 88. Pussemier, L., Larondelle, Y., Van Peteghem, C. et Huyghebaert, A. Chemical safety of conventionally and organically produced foodstuffs, a tentative comparison under Belgium conditions. *Food Control* 17:14-21, 2006.
 89. Schollenberger, M., Muller, H.-M., Ruffle, M., Suchy, S., Planck, S. et Drochner, W. Survey of *Fusarium* toxins in foodstuffs of plant origin marketed in Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 97: 317-326, 2005.
 90. United Kingdom Food Standards Agency. Retail oat products survey. February 6, 2004. [Http://food.gov.uk/multimedia/webpage/174922](http://food.gov.uk/multimedia/webpage/174922)
 91. Hazel, C.M. et Patel, S, Influence of processing on trichothecene levels. *Toxicology Letters* 153:51-59 2004.
 92. Trigo-Stockli, D.M. Effect of processing on deoxynivalenol and other trichothecenes. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504:181-188, 2002.
 93. Wolf-Hall, C.E. et Schwarz, P.B. Mycotoxin and fermentation-beer production. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504:217-226, 2002.
 94. Samar. M.M., Neira, M.S., Resnik, S.L. et Pacin, A. Effects of fermentation on naturally occurring deoxynivalenol (DON) in Argentinean bread processing technology. *Food Addit. Contam.* 18(11): 1004-1010, 2001.
 95. Prange, A., Birzele, B., Kramer, J., Meier, A., Modrow, H. et Kohler, P. *Fusarium*-inoculated wheat: deoxynivalenol contents and baking quality in relation to infection time. *Food Control* 16: 739-745, 2005.
 96. Sugita-Konishi, Y. Privileged Communication. Japan, 2005.
 97. FAO Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003, FAO Food and Nutrition Paper 81. Organisation des Nations-Unies pour l'agriculture et l'alimentation, Rome, Italie ISBN 92-5-105162-3. 2004.
 98. Lopez-Garcia, R. et Park, D.L. Effectiveness of postharvest procedures in management of mycotoxin hazards. IN: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K. Sinha et D. Bhatnagar (EDS). Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 407-433, 1998.
 99. Schrodter, R. Influence of harvest and storage conditions on trichothecenes levels in various cereals. *Toxicology Letters* 153:47-49,2004.
 100. Aldred, D. et Magan, N. Prevention strategies for trichothecenes. *Toxicology Letters* 153:165-171 2004.
 101. Edwards, S.G. Influence of agricultural practices on *Fusarium* infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. *Toxicology Letters* 153:29-35, 2004.