

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 00153 ROME Tél: +39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Point 14(a) de l'ordre du jour

CX/CF 07/1/17

Février 2007

F

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

Première session

Beijing, Chine, 16 - 20 avril 2007

DOCUMENT DE TRAVAIL SUR LE DÉOXYNIVALÉNOLO

Historique

1. À sa trente-sixième session, le Comité du Codex sur les additifs alimentaires et les contaminants (CCFAC) est convenu d'interrompre dans l'immédiat 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 concentrations de 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 du 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 contenant toutes les données pertinentes et détaillées, y compris la prévalence du DON et les effets de la transformation sur les concentrations de 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. Le présent document intitulé « Document de travail sur le déoxynivalénol » a été préparé ainsi que demandé, distribué et examiné à la trente-huitième session du Comité en avril 2006.
4. À sa trente-huitième session, le Comité est convenu de reconduire le Groupe de travail électronique présidé par les États-Unis, en le chargeant de réviser et de mettre à jour le document de travail avec (a) davantage de données fournies par les régions pour lesquelles les données relatives au DON sont absentes ou insuffisantes, (b) des données supplémentaires, notamment sur les concentrations de DON dans le maïs, (c) des informations sur l'effet produit par les variations saisonnières sur les teneurs, et (d) des informations sur l'effet produit par la transformation sur les concentrations de DON dans les aliments (3). Par ailleurs, le Comité a recommandé que le document de travail indique de façon précise quelle information sera disponible dans un avenir proche, y compris les dates, de sorte que le JECFA puisse planifier une évaluation de DON. Le Groupe de travail reconduit sous la présidence des États-Unis comprend l'Australie, la Belgique, le Canada, la Communauté européenne, la France, l'Allemagne, le Japon, les Pays-Bas, la République de Corée et le Royaume-Uni.

Introduction

5. 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 sesquiterpénoïdes 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 dépendre de la température; *F. graminearum* se produisant surtout dans les climats plus chauds (4). Les trichothécènes constituent le plus grand groupe de toxines produites par un champignon du genre *Fusarium* (5, 6).

6. Les trichothécènes se répartissent en quatre sous-groupes désignés comme types A, B, C et D, en fonction de leur structure moléculaire (7). 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 (8). La présence du déoxynivalénol est plus fréquente dans les céréales; toutefois, les autres trichothécènes peuvent co-exister avec le DON (9). Les trichothécènes du type A sont plus toxiques que ceux du type B (10).

7. *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) (11). *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 (12). 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 (13, 14). 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 liées à *F. graminearum* et à l'accumulation de DON (15). L'infection des céréales par 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 (16, 17). Le DON présent dans les céréales contaminées survit au brassage et est transmis à la bière (18, 19).

Toxicologie

8. 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 (20). 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).

9. Des évaluations des risques et des examens toxicologiques relatifs au DON ont été menés 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, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et d'autres chercheurs (21-25). Une dose journalière maximale provisoire (DJTMP) de 1 µg de DON par kg de poids corporel a été établie par le JECFA (22). Le potentiel génotoxique de DON n'a pas été totalement exploré. Une synthèse des principales données en matière de toxicité utiles à la caractérisation des risques liés aux trichothécènes a récemment été effectuée (26-28).

10. L'exposition de certains animaux domestiques au DON se traduit par la perte de l'appétit, le refus de s'alimenter et des vomissements, accompagnés par une diminution du gain de poids (24). 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. La baisse de la consommation alimentaire et le 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 < 2ppm) dans les aliments pour animaux naturellement contaminés; des doses plus élevées peuvent provoquer des vomissements et le refus complet de s'alimenter (29). 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 observées 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 (24). 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 (22, 30, 31). Une conclusion majeure de ces évaluations est que, comme les trichothécènes sont rapidement excrétés par les animaux, il n'y a pas de transfert significatif des toxines présentes dans les produits d'origine animale vers les humains.

11. 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 (16,22,27,32,33). 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. Une étude des données épidémiologiques disponibles depuis 2001 n'a pas permis d'établir une limite au-dessous de laquelle il n'y aurait aucun effet toxique aigu de DON (22). Les données épidémiologiques disponibles dénoncent les trichothécènes ou précisément les produits à base de céréales contaminés par le DON comme facteurs potentiellement déterminants de la toxicose humaine aiguë.

12. Une étude de la toxicité de DON et de ses effets potentiels sur les humains a récemment été publiée (27). Le principal risque lié au DON pour les humains est son potentiel de provoquer des gastroentérites aiguës accompagnées de vomissements. Par ailleurs, il a le potentiel de produire des effets chroniques sur la croissance, la fonction immunitaire et la reproduction, sur la base des conclusions des études portant sur les animaux. 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 (34). 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 (23, 35 36).

Échantillonnage

13. Il est difficile d'estimer de façon exacte et précise la teneur en mycotoxine dans un lot de céréales important 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 des techniques analytiques (37). 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 (38).

14. Les études statistiques (38) ont montré que les coefficients de la 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.

15. 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 (37). 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

16. Un grand nombre de méthodes analytiques ont été élaborées pour détecter et quantifier le DON et les autres trichothécènes. Ces toxines sont 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 des autres trichothécènes dans les céréales (39-42).

17. 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 à budget limité (43-46). Les méthodes de chromatographie liquide seules ou alliées 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- (47-61). 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 (19, 62-66). 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 les techniques chromatographiques plus avancées, de préférence associées à un spectromètre de masse.

18. 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 aux méthodes de chromatographie liquide ou en phase gazeuse, fréquemment utilisées dans les contrôles de routine. Ces méthodes sont plus simples et exigent moins de main d'œuvre. Des études approfondies portant sur les méthodes immunochimiques et autres méthodes rapides pouvant être utilisées pour détecter les trichothécènes ont été publiées (67-70). 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).

19. Les méthodes analytiques quantitatives qui seront utilisées à des fins de contrôle et d'application doivent être validées ou étudiées de manière collaborative de sorte que les résultats analytiques obtenus donnent une mesure exacte de l'analyte 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 pour la plupart d'entre elles. Au cours des études menées 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 à un prélèvement inadéquat 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 (41, 71). 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) (72, 73). L'utilisation d'isotopes stables des trichothécènes comme normes internes dans les procédures analytiques de chromatographie liquide / spectrométrie de masse est actuellement à l'étude (74-76).

20. 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 (77). Une étude interlaboratoire internationale a porté sur la comparaison entre les différentes méthodes d'analyse de DON (41, 78). Suite à la prévalence naturelle de DON avec les autres trichothécènes et la zéaralénone, il y a lieu de se concentrer sur l'élaboration et la validation des méthodes capables de détecter les résidus de multi-mycotoxines. Les 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 zéaralénone ainsi que des trichothécènes (51,79).

Le DON dans les céréales

21. La prévalence de DON à l'échelle mondiale dans les céréales fait l'objet d'une documentation détaillée (10, 16, 80, 81). 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 (82). Le DON a été détecté dans d'autres céréales, dont le seigle, l'avoine, le riz et leurs produits dérivés, dans de nombreuses régions du monde (10). 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, 83). En revanche, à des niveaux de contamination plus élevés, les toxines peuvent être plus uniformément réparties dans l'ensemble du grain (84). On sait que la zéaralénone co-existe avec le DON et d'autres trichothécènes puisqu'elle est produite par la même espèce de *Fusarium*. Un glucoside de DON "masqué" d'origine naturelle (DON-3-glucoside) a récemment été détecté dans du blé et du maïs contaminés par *Fusarium* (85). 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.

22. 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 (42). DON a été analysé dans 15187 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 et les céréales pour petit déjeuner, les nouilles et les petits gâteaux.

23. Dans une étude menée par l'Union européenne dans 12 de ses pays membres, le DON a été analysé dans un total de 11022 échantillons de divers aliments et de matières alimentaires brutes, le nivalénol dans 4166 échantillons, et les DON 3- et 5- acétylés dans 5675 échantillons (86). Le DON était présent dans 57 % des échantillons analysés, le nivalénol dans 16% et les dérivés acétylés dans 28%. Le pourcentage de la contamination des échantillons positifs associés à chaque toxine étaient comme suit: a) DON – 89% pour le maïs, 61% pour le blé/ les produits à base de blé, (b) nivalénol- 35% pour le maïs, 21% pour l'avoine et 14% pour le blé/les produits à base de blé et (c) DON acétylé 27% pour le maïs et 8% pour les produits à base de blé. Parmi les céréales analysées dans cette étude, le maïs a affiché la concentration de 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.

24. 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 teneur maximale était de 600 µg/kg. Dans les échantillons où la concentration de DON était supérieure à 150 µg/kg, le nivalénol était aussi présent à raison de 50 µg/kg ou plus (87).

25. 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 (88). Le DON a été détecté à une concentration allant de 50 à 340 µg/kg dans 41,2 % des échantillons. La majorité des échantillons provenait des aliments pour volailles.

26. 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.
27. En Finlande, 38 échantillons de céréales (14 de blé, 22 d'orge, 1 de seigle et 1 d'avoine) ont été collectés dans différentes parties de la Finlande entre 2001 et 2002 (66). Les teneurs moyennes de DON, de DON 3-acétylé et de nivalénol dans les échantillons étaient respectivement de 272, 17 et 150 µg/kg.
28. Une étude sur le DON contenu dans les céréales récoltées sur une période de trois ans a été menée en Russie (90). Le DON a été détecté dans 69 % des 2166 échantillons de blé stocké provenant de la principale région de Russie affectée par le *Fusarium*. La concentration de la contamination variait de 100 à 8600 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 1908 échantillons de blé alimentaire récemment récolté; la concentration de DON variait de 50 à 6650 µg/kg. L'incidence et la concentration de DON dans l'orge et le seigle récemment récoltés étaient sensiblement inférieures à celles du blé.
29. Les trichothécènes ont été analysés 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 (91). Le DON a été le trichothécène le plus fréquemment détecté (13% de l'ensemble des échantillons positifs examinés) et la concentration variait de moins de 2 à 4000 µg/kg. Le 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 2553 µg/kg.
30. 100 échantillons de blé ont été analysés au Brésil en 1995; la teneur moyenne en DON était de 618 µg/kg (92). In 2003, 297 échantillons de blé ont été analysés et 24.9% d'entre eux étaient contaminés par le DON; la teneur moyenne de contamination était de 603 et la teneur maximale de 8504 µg/kg. 563 échantillons d'orge ont été analysés entre 1998 et 2003 au Brésil. La teneur moyenne de contamination par le DON était de 114 µg/kg et la teneur maximale était de 5715 µg/kg.
31. Dans un total de 125 échantillons d'un groupe composé de blé, d'avoine, de maïs, de dérivés du maïs, de maïs industriel et de maïs d'ensilage provenant de sources différentes en Allemagne entre 2000 et 2001, 16 toxines *Fusarium* ont été analysées; 94% contenaient du DON (93). L'incidence de la contamination par le DON était de 100% pour toutes les denrées examinées à l'exception du blé (95%) et de l'avoine (71%). Les teneurs moyennes de DON dans le maïs, les dérivés du maïs, le maïs industriel et le maïs d'ensilage étaient respectivement de 849, 1626, 598 et 2919 µg/kg; les teneurs maximales étaient respectivement de 3820, 6682, 818 et 3944 µg/kg.
32. Le DON a été analysé dans 2524 échantillons de blé prélevés aux États-Unis entre 1994 et 2003 (94). 41 % contenaient une concentration de DON inférieure à 500 µg/kg; 18,6 % contenaient entre 500 et 1000 µg/kg; 39,8% contenaient entre 1000 et 6000 µg/kg et 0,6 % contenaient 6000 µg/kg. La concentration de DON variait sensiblement d'une année à l'autre.
33. Le DON a été analysé dans 2106 échantillons d'orge prélevés aux États-Unis entre 1993 et 2003 (94). 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 4990 µg/kg et 18,6% contenaient entre 4990 et 5000 µg/kg. La concentration variait sensiblement d'une année à l'autre.
34. Pendant les quatre premières années (de 2002 à 2005) d'un projet quinquennal au Royaume-Uni portant sur les facteurs agronomiques affectant la production des toxines du *Fusarium*, y compris le DON, 1473 échantillons de blé ont été analysés (95). 97 % contenaient moins de DON que la limite fixée par l'UE de 1 250 µg/kg. Le lieu était un facteur important des variations observées dans les concentrations de DON, 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 à une récolte de maïs. Aucune différence n'a été signalée entre la concentration de DON contenue dans les échantillons pris dans les cultures organiques et celle des échantillons pris dans les cultures conventionnelles. Pendant la même période, le DON a été analysé dans 630 et 488 échantillons d'orge et d'avoine (95). L'incidence et les concentrations de DON dans l'orge et l'avoine étaient faibles, et un seul échantillon d'orge dépassait la limite de l'UE fixée à 1250 µg/kg.

35. Le DON a été analysé dans 2 924 échantillons aux Pays-Bas entre 1998 et 2004 (96). 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 meuneries industrielles a aussi été calculé.

36. Au Japon, 136 échantillons de blé décortiqué ont été examinés en 2001 et 2002 (97). 77 % des échantillons analysés en 2001 contenaient des teneurs en DON quantifiables d'une concentration moyenne de DON de 286 µg/kg. 95% des échantillons analysés en 2002 contenaient des teneurs en DON quantifiables d'une concentration moyenne de DON de 184 µg/kg. Par ailleurs, 638 échantillons de blé décortiqué (de production nationale) ont été analysés en 2002, 2003, 2004 et 2005; 39% contenaient des teneurs en DON quantifiables à des concentrations maximales respectives de DON de 2100, 580, 930 et 230 µg/kg (98, 99). La concentration au 90^{ème} percentile était respectivement de 570, 260, 140 et 42 µg/kg.

37. Le DON a été analysé dans 210 échantillons d'orge de production nationale au Japon en 2002, 2003, 2004 et 2005; 50% contenaient du DON à des concentrations maximales respectives de 4800, 3700, 1800 et 460 µg/kg (98, 99). Les concentrations au 90^{ème} percentile étaient respectivement de 670, 930, 680 et 190 µg/kg.

38. Une étude sur la prévalence de DON au Royaume-Uni dans le blé de production nationale destiné à la production de la farine, qui a été menée entre 2003 et 2005, a indiqué que la toxine est fréquemment présente dans les récoltes de blé au Royaume-Uni (100). Le DON a été détecté à des concentrations supérieures aux limites de quantification (LOQ) de 10 µg/kg dans 88%, 89,5% et 90% des 60 échantillons en 2003, 50 échantillons en 2004 et 45 échantillons en 2005 respectivement. Les concentrations moyennes en 2003, 2004 et 2005 étaient respectivement de 123, 114 et 113 µg/kg et les concentrations maximales étaient respectivement de 1250, 1119 et 775 µg/kg.

39. Une étude sur la prévalence de DON dans l'orge maltée au Royaume-Uni a été menée en 2003 et 2004 (101). La toxine a été détectée à une concentration supérieure à la limite de quantification (LOQ) de 5 µg/kg dans respectivement 10% et 40% des 19 échantillons en 2003 et 40 échantillons en 2004. Les concentrations moyennes de DON en 2003 et 2004 étaient respectivement de 5,8 et 6,9 µg/kg et les concentrations maximales étaient respectivement de 13 et 28 µg/kg. Le déoxynivalénol a été détecté à une concentration supérieure à la limite de quantification (LOQ) dans 5% et 10% des lots de malt produit à partir de l'orge mentionné ci-dessus en 2003 et 2004 respectivement. Les concentrations moyennes et maximales détectées étaient respectivement de 6,1 et 27 µg/kg en 2003 et de 4,0 et 17 µg/kg en 2004.

40. Une étude annuelle sur la qualité des céréales menée en Allemagne a porté sur un groupe de mycotoxines et de composants indésirables présents dans le blé, le seigle et autres céréales non transformés (102). Des programmes d'échantillonnages statistiques nouveaux ont été élaborés chaque année. On connaissait les récoltes précédentes et la variété des échantillons. De 2001 à 2006, le DON a été analysé dans 5387 échantillons collectés dans des champs répartis dans tout le pays, (2443 échantillons de blé, 1463 de seigle, 736 de triticale, 470 d'orge et 275 d'avoine) (103-105). Le DON a été détecté dans 74 % des échantillons de blé, et dans 64 % des échantillons de seigle, sur une durée de six années. Néanmoins, les incidences et les concentrations de DON ont été variables au cours des années. Par exemple, la concentration moyenne de DON dans le blé était de 109 µg/kg en 2004 et de 36 µg/kg en 2005. Les conditions climatiques différentes sont dans une large mesure responsables de ces variations.

Le DON dans le maïs

41. *F. graminearum* est le principal responsable de la fusariose de l'épi qui entraîne la production de DON et des autres trichothécènes (106). On a constaté que, de toutes les denrées agricoles, le maïs est généralement la céréale la plus contaminée par les mycotoxines *Fusarium* (9). Les quantités de métabolites fongiques comme le DON et la zéaralénone qui s'accumulent dans les grains de maïs sont généralement supérieures aux quantités présentes dans les grains de blé ou d'orge infectés par les mêmes espèces fongiques; cela est dû au nombre plus grand des espèces *Fusarium* toxicogènes aptes à infecter les épis de maïs (9). *F. graminearum* et *F. moniliforme* sont les principales espèces de *Fusarium* présentes dans le maïs dans les régions les plus chaudes du monde; *F. culmorum* et *F. subglutinans* dominent dans les régions les plus froides du monde.

42. On a relevé dans beaucoup de pays des concentrations élevées de DON dans le maïs (10). Dans les études menées avant 1999, des concentrations allant jusqu'à 927 mg/kg de DON ont été détectées en Pologne, 8,5 mg/kg en Nouvelle Zélande, 4,09 mg/kg au Canada et jusqu'à 1,83 mg/kg en Afrique du Sud.

43. Dans les échantillons de maïs collectés dans les silos à grains et les moulins à aliments pour animaux dans le Nord de l'Italie entre 1995 et 1999, diverses mycotoxines, y compris le DON, ont été analysées (107). La concentration de DON était beaucoup plus élevée en 1996 que dans les autres années. Cette année-là, les conditions pluvieuses extrêmes avaient retardé les récoltes mais avaient favorisé le développement des champignons qui produisent le DON et la synthèse de la toxine. Notamment, en 1996, 7,7% des échantillons contenaient des concentrations de DON inférieures à 500 µg/kg, 16,4 % contenaient des concentrations allant de 500 à 1000 µg/kg, et 75,9 % contenaient des concentrations supérieures à 1000 µg/kg. Sur la période de cinq années, les teneurs moyenne et maximale en DON ont varié respectivement de 7 à 30% et de 13 à 33%, pourcentages exprimés par rapport aux teneurs de 1996.

44. Dans 46 échantillons de maïs fraîchement récoltés dans l'Italie du nord et du centre au cours de l'année 2002, les trichothécènes de type B ont été analysés (47). Le climat humide, les températures fraîches et les récoltes retardées pourraient être les facteurs ayant contribué à cette forte contamination par le DON. Le DON était le plus abondant (jusqu'à 3430 µg/kg), avec une incidence de 40%; 26% des échantillons contenaient jusqu'à 3500 µg/kg de DON 15-acétylé. La prévalence de DON et de DON acétylé a été observée dans 23% des échantillons.

45. Dans une étude portant sur les échantillons de maïs collectés immédiatement après la récolte dans des fermes situées dans différentes régions d'Italie, moins de 27% des 93 échantillons analysés ont donné un résultat positif pour les trichothécènes (108). Le DON était la toxine prédominante; sa concentration variait de 4 à 871 µg/kg. Dans les échantillons fortement contaminés, des quantités appréciables de mono acétates ont été détectées, outre le DON.

46. Le DON a été analysé dans les échantillons de maïs destiné aux poulets et aux porcs collectés dans des lots en vrac, au Brésil entre 1992 et 1997 (92). Les concentrations moyennes de DON sont passées de 14,7 µg/kg en 1992 à 637 µg/kg en 1996, mais elles ont baissé à 559 µg/kg en 1997. 195 échantillons de maïs destinés à l'alimentation humaine ont été analysés en 1994-1995 au Brésil; 6,2% étaient contaminés par le DON à des concentrations allant de 102 à 542 µg/kg. Un total de 2123 échantillons de maïs a été analysé entre 2002 et 2006. Les concentrations moyennes de la contamination par le DON étaient de 82 (2002), 67 (2003), 20 (2004), 60 (2005) et 119 (2006) µg/kg.

47. Une étude portant sur le maïs et le blé collectés dans des fermes situées aux pieds de l'Himalaya népalais a été menée en 1997 (109). On a trouvé des concentrations de DON et de NIV supérieures à 1000 µg/kg dans 16% des 76 échantillons de maïs, et des concentrations supérieures à 2000 µg/kg ont été trouvées 12 % des échantillons. Le DON et le NIV dans le blé népalais ne dépassaient pas la limite de détermination de 1000 µg/kg.

48. Les trichothécènes et autres toxines ont été analysés dans 16 échantillons de maïs collectés en Indonésie (110). Le DON, le nivalénol et la zéaralénone ont été détectés dans 2 échantillons (12% des échantillons); les concentrations étaient respectivement de 21, 32, et 49 µg/kg, et de 169, 11 et 12 µg/kg. Les chercheurs ont constaté qu'il s'agissait de la première détection des mycotoxines *Fusarium* d'origine naturelle dans le maïs en Indonésie, et également la première détection de DON dans le maïs des régions chaudes de l'Asie du Sud-Est.

Études sur la réduction des concentrations de DON dans les céréales

49. Plusieurs procédés physiques dont le nettoyage, le lavage, le filtrage, la ségrégation par densité, le décorticage, la séparation par gravité sur table spéciale et le polissage ont été utilisés seuls, ou en association avec la mouture pour réduire la concentration de 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 (111, 112). 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.

50. La mouture à sec est un procédé qui sépare les composantes des grains de céréales 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 (17). 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 (112-115). 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 (116, 117). Avec la mouture à sec, le DON contenu dans le maïs contaminé se trouve concentré dans le tourteau de germes (118).

51. 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 (17,119).

52. Un grand nombre de produits chimiques liquides et gazeux ont été testés pour leur efficacité à réduire la concentration de DON dans les céréales. La plupart des produits chimiques testés n'ont permis qu'une réduction faible ou inexistante de la concentration de DON (111, 112). On a trouvé que le bisulfite de sodium réduisait la concentration de DON dans le maïs mais on ne peut pas l'utiliser dans les aliments de consommation humaine en raison de son effet sur les propriétés rhéologiques de la farine car l'additif de DON formé n'est pas stable et le DON se recompose par hydrolyse dans certaines conditions de transformation (116).

53. Des méthodes de radiation ionisante, de transformation par extrusion ou thermique ont été mises au point pour réduire la concentration de 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 (111, 120, 121). Il est encore nécessaire de déterminer avec davantage de précisions les conditions optimales de transformation par extrusion permettant d'éliminer ou de supprimer le DON de façon pratique. L'ozone aqueux a montré qu'il peut dégrader de nombreux trichothécènes en produits plus simples, toutefois, l'identité et la toxicité des produits ainsi obtenus n'ont pas encore été entièrement étudiées (122).

54. Des réductions des concentrations de DON ont été réalisées sur des grains de maïs contaminés naturellement et transformés à la vapeur surchauffée (123). Les réductions les plus fortes ont eu lieu à 160 et à 185°C. Les réductions jusqu'à 52% ont été réalisées à 185°C pour une durée de transformation de 6 minutes, et elles étaient dues uniquement à la dégradation thermique et non à la solubilisation ni à l'extraction.

Le DON dans les produits transformés

55. Le processus de transformation des grains bruts et moulus en aliments destinés à la consommation humaine produit des effets significatifs sur la concentration de 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 (22).

56. Le DON et le nivalénol ont été analysés 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(14). 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 faisait suite à 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. Le DON a été détecté dans environ 50% des échantillons de seigle collectés 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 concentration 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.

57. Des 60 échantillons de blé analysés en Argentine pour détecter le DON, 93,3% étaient contaminés, et la contamination moyenne était de 1798 µg/kg (124). 61 échantillons de farine de blé ont été analysés et la concentration moyenne de DON était de 1309 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.

58. Dans années 2001 à 2004, le DON a été analysé en Allemagne dans un total de 4965 échantillons alimentaires achetés sur le marché allemand (125). 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 2000 à 3000 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 dans l'Union européenne (200 à 750 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.

59. Un total de 562 produits à base de blé appartenant à la récolte de 1993 aux États-Unis ont été collectés et analysés. (126). Le pourcentage des échantillons dont la contamination par le DON est supérieure à 1000 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 concentration de DON dans le blé récolté cette année-là.

60. Un total de 728 produits à base de blé a été examiné aux États-Unis entre 2000 et 2004 (94). Le pourcentage des échantillons dont la contamination par le DON est supérieure à 1000 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.

61. Plusieurs mycotoxines ont été analysées dans les produits pour petit déjeuner à base de céréales pour adultes recueillis 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 (127).

62. Plusieurs mycotoxines ont été analysées dans les aliments pour nourrissons à base de céréales collectés 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 (128). 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 (129).

63. L'étude en 1999 de 101 types de pain commercialement disponibles sur le marché allemand a révélé une incidence de DON, de nivalénol et de 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 (130). La concentration de DON dans les échantillons de pain fabriqué avec les céréales de production organique était inférieure à celle dans le pain fabriqué avec les céréales de production conventionnelle. Des résultats similaires ont été obtenus en Belgique où on a observé que les concentrations de DON dans le blé de production organique étaient inférieures à celles contenues dans le blé de production conventionnelle en 2002 et 2003; on a aussi observé que les concentrations de DON supérieures à la limite de quantification étaient plus fréquentes dans les farines de blé produit conventionnellement que dans les farines de blé produit organiquement, mais que les concentrations de la contamination étaient équivalentes dans les deux types de farine (59). Un grand nombre de facteurs contribue aux différences observées entre les céréales de production organique et celles de production conventionnelle et leurs produits moulus et finis (131).

64. 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 (132). 13 toxines trichothécènes, y compris le DON, le DON 3-acétylé, le DON 15-acétylé et le nivalénol, ont été analysées 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.
65. 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 (83). 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 zéaralénone 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.
66. 235 échantillons d'avoine ont été collectés et analysés sur une période de six mois en 2003 par l'Agence pour les normes alimentaires du Royaume-Uni (133). Un total de 6 trichothécènes ont été détectés à des concentrations 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.
67. Un certain nombre de trichothécènes ont été analysés lors de l'étude de 377 échantillons de céréales de détail menée au Royaume-Uni au cours de l'année 2003 (134). 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 pour petit déjeuner et les produits de grignotage à base de maïs, pour une valeur respective de 2261 et 879 µg/kg.
68. En 2002-2003, 164 échantillons de farine de blé ont été analysés au Japon (97). 85 % des échantillons analysés en 2002 contenaient le DON à une concentration moyenne de 138 µg/kg. 74 % des échantillons prélevés en 2003 contenaient du 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.
69. Le DON dans les échantillons de céréales et de produits à base de céréales a été analysé par les organismes de réglementation aux Pays-Bas entre 2001 et 2004 (96). 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%. Le DON a été analysé 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. Le DON a aussi été analysé 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.
70. 200 échantillons de son de blé (farelo) ont été analysés au Brésil en 1996-1997. Les concentrations moyennes de DON étaient de 1412 (1996) et 1506 (1997) µg/kg (92). 78 échantillons de farine de blé (farinha) ont aussi été analysés entre 2001 et 2004; 34,6 % étaient contaminés par le DON, la concentration moyenne était de 284 µg/kg et la concentration maximale était de 794 µg/kg. 72 échantillons de bière ont été analysés; 5,25% étaient contaminés par le DON et la contamination était de l'ordre de 50 à 336 µg/kg.
71. Le DON a été analysé dans un total de 218 produits à base de maïs, dont le maïs doux, le maïs en épi, les aliments pour bébés, l'huile de maïs, la farine de maïs, la polenta, la semoule de maïs, les pâtes à base de farine de maïs, les produits de grignotage à base de maïs et les tortillas, au Royaume-Uni en 2003 (95). Les concentrations étaient faibles dans la plupart des échantillons analysés et seulement 5 échantillons (2 de semoule de maïs, 2 de céréales pour petit déjeuner et 1 de polenta) contenaient plus de 500 µg/kg de DON. Le DON a été détecté à des concentrations allant de 50 à 500 µg/kg dans 36 échantillons. Le DON n'a pas été détecté au-dessus de 50 µg/kg dans les autres échantillons.
72. Le DON a été analysé dans le son de blé et le maïs utilisés comme matières premières pour aliments pour volailles au Koweït (135). Le DON a été détecté dans 79% des échantillons de son de blé et dans 91% des échantillons de maïs analysés, à des concentrations respectives allant jusqu'à 220 et 350 µg/kg. Les concentrations de DON dans les aliments pour poulets à griller en début et en fin d'élevage se situaient entre 220 et 1200 µg/kg et la contamination était respectivement de 79 et 100%.

73. 156 échantillons de céréales pour petit déjeuner (à base de maïs, de seigle, de blé et de riz ainsi que les céréales mélangées) ont été collectées sur le marché de détail canadien sur une période de trois ans (136). Le DON était la mycotoxine la plus fréquemment détectée; il a été détecté dans 40% du total des échantillons analysés.

74. Un total de 78 échantillons de produits à base de maïs ont été collectés dans les magasins d'alimentation et les supermarchés à Sao Paulo, au Brésil entre novembre 2001 et janvier 2002 (137). Le DON et le nivalénol ont été détectés dans un seul des 11 échantillons de la farine de maïs cuite analysée. Les concentrations de DON et de nivalénol ont été respectivement estimées à 167 et 166 µg/kg. Un des 6 échantillons de gruau de maïs contenait les toxines HT-2 et T-2 à des concentrations respectives de 555 et 767 µg/kg.

75. Le DON a été détecté dans 6 des 68 échantillons de céréales de transformation industrielle en Turquie (138). La quantité maximale détectable était de 2,67 µg/g (ppm) dans un échantillon de farine de maïs; des concentrations inférieures ont été trouvées dans le maïs sec et les macaroni.

76. Dans une étude portant sur 685 échantillons de contrôle alimentaire d'origine européenne, le DON et la toxine T-2 ont été analysés parallèlement (49). Le DON était le plus courant et sa concentration dépassait 20 µg/kg dans 50% des échantillons analysés. Les concentrations maximales de DON dans les céréales (blé, seigle, orge), et l'avoine, le son et le maïs et leurs produits dérivés étaient respectivement de 2580, 2380, 2690 et 1950 µg/kg. Les concentrations les plus élevées de toxine T-2 ont été observées dans le maïs (8,4 µg/kg), l'avoine et les produits à base d'avoine (266 µg/kg) respectivement. Les auteurs ont conclu que la teneur en DON est toujours de quelques ordres de grandeur supérieure ou au moins égale à celle de la toxine T-2, quels que soient les produits ou les modèles.

Études portant sur la réduction des concentrations de DON dans les aliments transformés

77. Des études approfondies sur l'influence et l'efficacité des diverses méthodes de transformation utilisées pour réduire la concentration de DON dans les produits à base de céréales moulues, dans la bière et les produits de boulangerie finis ont été publiées (111, 134, 139-141).

78. Une étude comparative a récemment été menée sur les concentrations de DON dans les bières de production organique et conventionnelle sur le marché belge (141). On a trouvé des concentrations de DON allant de 2 à 22 µg/l (moyenne = 6 µg/l) dans les bières conventionnelles, et de 2 à 14 µg/l (moyenne = 4 µg/l) dans les bières organiques. Dans l'ensemble, les incidences de DON ont respectivement été de l'ordre de 67 et 80% dans les bières de production conventionnelle et de production organique.

79. 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 (115). La concentration de DON dans le blé brut, la farine, le son et le gluten était respectivement de 1928, 994, 4680 et 293 µg/kg.

80. 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 (142). 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.

81. 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 (143). 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.

82. Une étude a été entreprise pour déterminer le degré de réduction de la concentration de DON observée aux différentes étapes de la transformation du blé dur naturellement contaminé non nettoyé jusqu'à la production des spaghetti cuits (13). 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.

83. 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. 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 (144). Les analyses chimiques et biologiques ont révélé que la concentration de DON dans le pain cuit était la même que celle contenue dans la farine, mais que dans les nouilles japonaises à base de blé, seulement 30% du DON contenu dans la pâte a été détecté dans les nouilles cuites, les solides de l'eau de cuisson ayant retenu plus de 40% du DON d'origine. Sur la base de ces données et des données sur la consommation des produits à base de blé au Japon obtenues auprès de l'Enquête nationale sur la nutrition, on estime que l'exposition au DON liée au produit final à base de blé serait de 60 à 70% de la concentration d'origine de DON dans la farine contaminée (145).

Réglementation

84. Au moins 37 pays ont établi des limites réglementaires ou indicatives de DON dans les aliments de consommation humaine ou animale. (146). La limite réglementaire dans les céréales et les produits finis à base de céréales destinés à la consommation humaine se situe entre 100 µg/kg et 2,000 µg/kg. La limite indicative de DON dans l'alimentation des porcs, de la volaille et du bétail se situe entre 500 µg/kg et 10000 µg/kg selon l'âge de l'espèce animale concernée.

Gestion des risques

85. 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 (147). 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.

86. 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 en matière de techniques après récolte et aux conditions adéquates de séchage et de stockage, auxquels succèdent les bonnes pratiques de fabrication, devraient réduire substantiellement la concentration de DON dans l'alimentation.

87. 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. (11, 148-151).

Études actuellement en cours

88. Les travaux de la recherche dans certains pays s'orientent actuellement vers les solutions possibles pour réduire les concentrations de DON dans les produits finis qui sont préparés à partir des céréales brutes contaminées par le DON. Dans les études de ce type, il est important de prendre comme référence de départ les céréales contaminées naturellement (infectées dans les champs) parce que le modèle de l'infection par *Fusarium* dans les grains est crucial quant au devenir des toxines durant la transformation (134).

89. Le ministère de l'agriculture, des forêts et des pêches au Japon a financé un projet de recherche préliminaire visant à détecter et à trier les grains de blé contaminés par le DON (152). Les résultats de ce projet obtenus en 2006 indiquent que le triage par lumière visible est efficace et permet d'éliminer les grains contaminés et de réduire ainsi la teneur en DON. Une méthode associant la lumière visible et la lumière proche infrarouge pour un tri plus rapide et plus rigoureux sera examinée dans le courant des trois prochaines années en tant que nouveau projet de recherche.

90. En collaboration avec l'industrie céréalière du Royaume-Uni, des travaux sont en cours pour mesurer les concentrations des mycotoxines *Fusarium* y compris le DON dans les céréales brutes (blé, maïs et avoine) et déterminer ensuite comment les étapes clés de la transformation affectent la contamination du produit alimentaire final (95). La recherche est axée sur la détermination des facteurs qui affectent les concentrations des toxines à chaque étape de la transformation au moyen d'études en laboratoire et à l'échelle pré industrielle et de l'échantillonnage pratiqué dans les usines de production. Les connaissances que ce projet permettra d'acquérir sont destinées à aider l'industrie à réduire encore davantage la contamination par les mycotoxines. Ces travaux examinent également la formation des métabolites et des résidus liés et toute implication toxicologique qui en découle. Il est prévu que les résultats et les conclusions finales de ce projet seront disponibles vers la fin 2008.

91. Le Canada est en train d'élaborer des méthodes nouvelles de chromatographie liquide à haute performance (CLHP) et de dosage immunoenzymatique (ELISA) pour le DON, basées sur les modifications apportées aux méthodes existantes (153).

Conclusions et recommandations

92. Il convient d'encourager les pays membres du Codex à continuer de soumettre les résultats de leurs études sur la concentration du DON présent 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 des différences régionales dans les habitudes de consommation alimentaire.

93. Il convient 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 mises en œuvre pour prévenir la production des trichothécènes dans les céréales.

94. Il convient 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.

95. Le Comité du Codex sur les contaminants dans les aliments devrait reporter l'élaboration des normes internationales jusqu'à ce qu'il dispose d'une nouvelle vue générale des données relatives à l'exposition, y compris davantage de données régionales sur l'incidence et la concentration de DON dans les céréales sur plusieurs années, ainsi que l'information pertinente sur les habitudes de consommation dans les divers pays.

96. 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.

97. Compte tenu de la co-prévalence naturelle de DON, des autres trichothécènes et de la zéaralénone, il conviendrait d'accorder davantage d'importance au développement et à la validation des méthodes capables de détecter les résidus des diverses mycotoxines.

References

1. ALINORM 04/27/12, para.158.
2. ALINORM 05/28/12, para. 149,150.
3. ALINORM 06/29/12, para. 137,138.
4. Miller J.D., Greenhalgh, R., Wang, Y-Z. and Lu, M. Trichothecene chemotypes of three *Fusarium* species. *Mycologia* 83: 121-130, 1991. .
5. Krska, R., Baumgartner S. and 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.
6. Yoshizawa, T. and 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.
7. Ueno, Y. *Trichothecenes-Chemical Biological and Toxicological Aspects*. Elsevier Science Publishers, New York, pp.7-111, 1983
8. Ueno, Y. *Trichothecenes in food*. IN: Krogh, P. (ED). *Mycotoxins in Food*. Food Science and Technology. Academic Press, London. pp. 123-147, 1987.
9. Chelkowski, J. Distribution of *Fusarium* species and their mycotoxins in cereal grains. IN: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K. Sinha and D. Bhatnager (EDS). Marcel Dekker, Inc. New York, N.Y. pp 45-64, 1998.
10. Placinta, C.M., D'Mello, J.P.F., and 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.
11. Champeil, A., Fourbet, J.F., Dore, T. and Rossignol, L. Influence of cropping system on *Fusarium* head blight and mycotoxin levels in winter wheat. *Crop Protection* 23:531-537 2004.
12. Sutton, J.C. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Can. J. Plant Pathol.* 4:195-209, 1982.
13. Visconti, A., Haidukowski, E.M., Pascale, M. and Silvestri, M. Reduction of deoxynivalenol during durum wheat processing and spaghetti cooking. *Toxicology Letters* 153:181-189, 2004.
14. Rasmussen, P.H., Ghorbani, F. and Berg, T. Deoxynivalenol and other *Fusarium* toxins in wheat and rye flours on the Danish market. *Food Addit. Contam.* 20(4):396-404, 2003.
15. Trigo-Stockli, D.M., Sanchez-Mariflez, R.I., Cortez-Rocha, M.O. and 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.
16. Scott, P.M. Trichothecenes in grains. *Cereal Foods World* 35:661, 1990.
17. Bennett, G.A. and Richard, J.L. Influence of processing on *Fusarium* mycotoxins in contaminated grains. *Food Technology* 50(5): 235-238, 1996.
18. Scott, P.M. Mycotoxins transmitted into beer from contaminated grains during brewing. *J. AOAC Int.* 79(4):875-881, 1996.
19. Schothorst, R.C. and Jekel, A.A. Determination of trichothecenes in beer by capillary gas chromatography with flame ionization detection. *Food Chem.* 82:475-479, 2003.
20. 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.
21. Eriksen, G.S. and Alexander, J. (EDS). *Fusarium* toxins in cereals-a risk assessment. Nordic Council of Ministers. TemaNord 502, pp. 1-115, Copenhagen, 1998.

22. Canady, R.A., Coker, R.D., Egan, S.K., Krska, R., Kuiper-Goodman, T., Olsen, M., Pestka, J., Resnik, S., and Schlatter, J. Deoxynivalenol. IN: Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. WHO Food Additive Series 47. pp. 419-555, World Health Organization, Geneva 2001.
23. SCF (Scientific Committee on Food) Opinion of the Scientific Committee on Food on *Fusarium* toxins. Part 6: Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol, adopted on 26 February 2002. European Commission SCF/CS/CNTM/MYC/27, Final. http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out123_en.pdf
24. 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) Adopted on 2 June, 2004.
25. Pieters, M.N., Freijer, J.L., Baars, A.J., Fiolet, D.C.M., van Klaveren, J. and Slob, W. Risk assessment of deoxynivalenol in food. Concentration limits, exposure and effects. Adv. Exp. Med. Biol. 504:235-248, 2002.
26. Schlatter, J. Toxicity data relevant for hazard characterization. Toxicology Letters 153:83-89 2004.
27. Pestka, J.J. and Smolinski, A.T. Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. J. Toxicol. Environ. Health, Part B: 39-69, 2005.
28. Cavret, S. and Lecoecur, S. Fusariotoxin transfer in animal. Food and chem. toxicol. 44:444-453, 2006.
29. Rotter, B.A. and Prelusky, D.B. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). J. Toxicol. Environ. Health. 48:1-34, 1996.
30. Eriksen, G.S. and Pettersson, H. Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. Animal Feed Science and Technology 114: 205-2239, 2004.
31. 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.
32. 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.
33. Henry, S.H. and 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.
34. Meko, F.A., Turner, P.C., Ashcroft, A.E., Miller, J.D., Qiao, Y.L., Roth, M.J. and Wild, C.P. Development of a urinary biomarker of human exposure to deoxynivalenol. Food Chem. Toxicol. 41:265-273, 2003.
35. Speijers, G.J.A., and Speijers, M.H.M. Combined toxic effects of mycotoxins. Toxicology Letters 153:91-98, 2004.
36. Sudakin, D.L. Trichothecenes in the environment: relevance to human health. Toxicology Letters. 143, 97-107, 2003.
37. 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.
38. Whitaker, T.B., Hagler, W.M., Giesbrecht, F.G. and Johansson, A.S. Sampling, sample preparation, and analytical variability associated with testing wheat for deoxynivalenol. J. AOAC Int. 83(5):1285-1292, 2000.
39. Lombaert, G.A. Methods for the determination of deoxynivalenol and other trichothecenes in foods. Adv. Exp. Med. Biol. 504: 141-153, 2002.
40. Koch, P. State of the art of trichothecenes analysis. Toxicology Letters 153: 109-112, 2004.
41. 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.

42. Samar, M.M. and Resnik, S.L. Analytical methods for trichothecenes surveillance- An overview over the period 1990-2000. *Food Sci. Tech. Int.* 8(5):257-268, 2002.
43. Scott, P.M. Mycotoxin methodology. *Food Addit. Contam.* 12(3): 395-403, 1995.
44. Langseth, W. and Rundberget, T. Instrumental methods for determination of nonmacrocylic trichothecenes in cereals, foodstuffs and cultures. *J.Chromatogr. A*, 815:103-121, 1998.
45. Lin, L., Zhang, J., Wang, P., Wang, Y. and Chen, J. Thin-layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods. *J. Chromatogr. A* 815:3-20, 1998.
46. 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.
47. Cavaliere, C., D'Ascenzo, G., Foglia, P., Pastorini, E., Samperi, R. and Lagana, A. Determination of type B trichothecenes and macrocylic lactone mycotoxins in field contaminated maize. *Food Chem.* 92: 559-568, 2005.
48. Berthiller, F., Schuhmacher, R., Buttinger, G. and 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.
49. Biselli, S. and 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.
50. MacDonald, S.J., Chan, D., Brereton, P., Damant, A. and 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.
51. Cavaliere, C., Foglia, P., Pastorini, E., Samperi, R. and Lagana, A. Development of a multiresidue method for analysis of major fusarium mycotoxins in corn meal using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19(14):2085-2093, 2005.
52. Razzazi-Fazeli, E., Bohm, J., Jarukamjorn, K. and Zentek, J. Simultaneous determination of major B-trichothecenes and the de-epoxy-metabolite of deoxynivalenol in pig urine and maize using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 796:21-33, 2003.
53. Royer, D., Humpf, H-U. and Guy, P.A. Quantitative analysis of *Fusarium* mycotoxins in maize using accelerated solvent extraction before liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *Food Addit. Contam* 21(7):678-692, 2004.
54. Plattner, R.D. and Maragos, C.M. Determination of deoxynivalenol and nivalenol in corn and wheat by liquid chromatography with electrospray mass spectrometry. *J..AOAC Int.* 86(1):61-65, 2003.
55. Abramovic, B., Jajic, I., Juric, V. and Gaal, F.F. Optimization of the determination of deoxynivalenol in corn by liquid chromatography and a comparison of two clean-up principles. *J. Serb. Chem. Soc.* 70(7): 1005-1013, 2005.
56. Tanaka, H., Takino, M., Sugita-Konishi, Y. and Tanaka, T. Development of a liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometric method for the simultaneous determination of trichothecenes, zearalenone and aflatoxins in foodstuffs. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20 (9):1422-1428, 2006.
57. Klotzel, M., Lauber, U. and Humpf, H-U. A new solid phase extraction clean-up method for the determination of 12 type A and B trichothecenes in cereals and cereal-based food by LC-MS/MS. *Mol. Nutr. Food Res.* 50:261-269, 2006.
58. Stroka, J., Derbyshire, M., Mischke, C., Ambrosio, M., Kroeger, K. Arranz, I., Sizoo, E. and van Egmond, H. Liquid chromatographic determination of deoxynivalenol in baby food and animal feed: interlaboratory study. *J AOAC Int* 89:1012, 2006.

59. Pussemier, L., Pierard, J.-Y., Anselme, M., Tangni, E.K., Motte, J.-C. and Larondelle, Y. Development and application of analytical methods for the determination of mycotoxins in organic and conventional wheat. *Food Addit. Contam.* 23(11): 1208-1218, 2006.
60. Sugita-Konishi, Y., Tanaka, T., Tabata, S., Nakajima, M., Nouno, M., Nakaie, Y., Chonan, T., Aoyagi, M., Kibune, N., Mizuno, K., Ishikuro, E., Kanamaru, N., Minamisawa, M., Aita, N., Kushiro, M., Tanaka, K. and Takatori, K. Validation of an HPLC analytical method coupled to a multifunctional clean-up column for the determination of deoxynivalenol. *Mycopathologia* 161:239-243, 2006.
61. Tanaka, H., Takino, M., Sugita-Konishi, Y., Tanaka, T., Development of a liquid chromatography/time of flight mass spectrometric method for the simultaneous determination of trichothecenes, zearalenone and aflatoxins in foodstuffs, *Rapid Commun Mass Spectrom.* 20, 1422-1428, 2006.
62. Eke, Z., Kende, A. and Torkos, K. Simultaneous detection of A and B trichothecenes by gas chromatography with flame ionization or mass selective detection. *Microchemical J.* 78:211-216, 2004.
63. Eke, Z. and Torkos, K. *N,N*-dimethyl-trimethylsilyl-carbamate as a derivatizing agent in gas chromatography of trichothecene mycotoxins. *Microchemical J.* 77:43-46, 2004.
64. Melchert, H-U. and Pabel, E. Reliable identification and quantification of trichothecenes and other mycotoxins by electron impact and chemical ionization-gas chromatography-mass spectrometry, using an ion-trap system in the multiple mass spectrometry mode. Candidate reference method for complex matrices. *J. chromatogr. A* 1056:195-199, 2004.
65. Olsson, j., Borjesson, T., Lundstedt, T. and Schnurer, J. Detection and quantification of ochratoxin A and deoxynivalenol in barley grains by GC-MS and electronic nose. *Int. J. food Microbiol.* 72:203-214, 2002.
66. Jestoi, M., Ritieni, A. and Rizzo, A. Analysis of the *Fusarium* mycotoxins fusaproliferin and trichothecenes in grains using gas chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 52:1464-1469, 2004.
67. Wilson, D.M., Sydenham, E.W., Lombaert, G.A., Trucksess, M.W., Abramson, D. and 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.
68. Schneider, E., Curtui, V., Seidler, C., Dietrich, R., Usleber, E. and Martlbauer, E. Rapid methods for deoxynivalenol and other trichothecenes. *Toxicology Letters* 153:113-121, 2004.
69. Zheng, M.Z., Richard, J.L. and Binder, J. A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia* 161:261-273, 2006.
70. Yoshizawa, T., Kohno, H., Ikeda, K., Shinoda, T., Yokohama, H., Morita, K., Kusada, O. and Kobayaashi, Y. A practical method for measuring deoxynivalenol, nivalenol, and T-2 + HT-2 toxin foods by an enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68(10):2076-2085, 2004.
71. Josephs, R.D., Derbyshire, M., Stroka, J., Emons, H. and Anklam, E. Trichothecenes: reference materials and method validation. *Toxicology Letters* 153:123-132 2004.
72. Krska, R., Szente, E., Freudenschuss, M., Hametner, C. and Zoller, P. Purity assessment of commercially available crystalline deoxynivalenol. *J. AOAC Int.* 87(4): 909-919 2004.
73. Krska, R., Schothorst, R.C., van Egmond, H.P., Josephs, R.D., Lepschy, J., Pettersson, H., Chan, D., Berthiller, F., Schuhmacher, R., Kandler, W., Parich, A. and Welzig, E. Processing and purity assessment of standards for the analysis of type-B trichothecene mycotoxins. *Anal. Bioanal. Chem.* 382(8):1848-1858, 2005.
74. Bretz, M., Beyer, M., Cramer, B. and Humpf, H-U. Stable isotope dilution analysis of the *Fusarium* mycotoxins deoxynivalenol and 3-acetyldeoxynivalenol. *Mol. Nutr. Food Res.* 50:251-260,2006.
75. Bretz, M., Beyer, M., Cramer, B. and Humpf, H-U. Synthesis of stable isotope labeled 3-acetyldeoxynivalenol. *Mol. Nutr. Food Res.* 49:1151-1153, 2005.
76. Haubl, G., Berthiller, F., Krska, R. and Schuhmacher, R. Suitability of a fully ¹³C isotope labeled internal standard for the determination of the mycotoxin deoxynivalenol by LC-MS/MS without clean up. *Anal. Bioanal. Chem.* 384:692-696, 2006.

77. Trucksess, M., Page, S., Wood, G. and 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.
78. Joseph, R.D., Schuhmacher, R. and 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.
79. 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.
80. Tanaka, T., Hasegawa, A., Yamamoto, S., Lee, U-S., Sugiura, Y. and 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.
81. Jelinek, C.F., Pohland, A.E. and Wood, G.E. Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an update. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 72(2):223-230, 1989.
82. Abramson, D. Mycotoxin formation and environmental factors. IN: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K.Sinha and D. Bhatnagar (EDS). Marcel Dekker, Inc., New York, pp.255-277, 1998.
83. Schollenberger, M., Jara, H.T., Suchy, S., Drochner, W. and Muller, H-M. *Fusarium* toxins in wheat collected in an area in southwest Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 72:85-89, 2002.
84. Scott, P.M., Kanhere, S.R., Dexter, J.E., Brennan, P.W. and 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.
85. Berthiller, F., Dall'Asta, C., Schuhmacher, R., Lemmens, M., Adam, G. and 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.
86. Schothorst, R.C. and 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.
87. MacDonald, S., Prickett, T.J., Wildey, K.B. and 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.
88. Sokolovic, M. and Simpraga, B. Survey of trichothecene mycotoxins in grains and animal feed in Croatia by thin-layer chromatography. *Food Control* 17:733-740, 2006.
89. Muller, H-M., Reimann, J., Schumacher, U. and 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.
90. Tutelyan, V.A. Deoxynivalenol in cereals in Russia. *Toxicology Letters* 153:173-179 2004.
91. Al-Julaifi, M.Z, and 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.
92. Martinelli, M.A. Privileged Communication. Brazil, 2006.
93. Schollenberger, M., Muller, H-M., Ruffle, M., Suchy, S., Plank, S. and Drochner, W. Natural occurrence of 16 *Fusarium* toxins in grains and feedstuffs of plant origin from Germany. *Mycopathologia* 161:43-52, 2006.
94. Wood, G.E. Privileged Communication, U.S. 2005.
95. Matthews, W. Privileged Communication. U.K. 2005.
96. Tas, W. Privileged Communication. The Netherlands, 2005.
97. Fukushima, K. Privileged Communication, Japan, 2005.
98. Fukushima, K. Privileged Communication. Japan, 2006.

99. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan. Domestically produced cereals survey (in Japanese). April, 27, 2003, May 9, 2003, March 17, 2005 and May 23, 2006. http://www.maff.go.jp/syohi_anzen/kabi/chosa_kekka.html Survey.
100. Salmon, S. Monitoring of contaminants in wheat grain. Home Grown Cereals Authority Project Report No. 386, HGCA, London, 2006.
101. Baxter, D. Review of food safety issues relating to the supply and market acceptability of UK malting barley and UK malt. Home grown Cereals Authority Project Report No. 380, HGCA, London, 2006.
102. Lindhauer, M., Münzing, K., Seling, S., Betsche, T., Kersting, H.J., Masloff, S., Seifert, M. High-quality cereals through continuous quality controls. Special yield and quality assessment as an advisory instrument for agricultural and consumer policy and its target groups. Research report 2: 21-25, 2005 (www.bmvel-forschung.de).
103. Masloff, S., Betsche, T. and Wolff, J. Evaluation of processing suitability of bread cereals in official responsibility. *Mycotoxin Research* 21: 94-96, 2005.
104. Masloff, S. Undesirable substances. Special yield and quality assessment 2004. Series: data analyses, BMELV, Germany, pp. 42-43, 2004 (www.bfel.de).
105. Masloff, S. Undesirable substances. Special yield and quality assessment 2005. Series: data analyses, BMELV, Germany, pp. 42-43, 2005 (www.bfel.de).
106. Abramson, D. Mycotoxin formation and environmental factors. IN: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K.Sinha and D. Bhatnager (EDS). Marcel Dekker, Inc. New York, N.Y. pp 255-277. 1998.
107. Pietri, A., Bertuzzi, T., Pallaroni, L. and Piva, G. Occurrence of mycotoxins and ergosterol in maize harvested over 5 years in Northern Italy. *Food Addit. Contam.* 21(5):479-487, 2004.
108. Lagana, A., Curini, R., D'Ascenzo, G., De Leva, I., Faberi, A. and Pastorini, E. Liquid chromatography/tandem mass spectrometry for the identification and determination of trichothecenes in maize. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 17(10):1037-1043, 2003.
109. Desjardins, A. E., Manandhar, G., Plattner, R.D., Maragos, C.M., Shrestha, K. and McCormick, S.P. Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in Nepalese maize and wheat and the effect of traditional processing methods on mycotoxin levels. *J. Agric. Food Chem.* 48:1377-1383, 2000.
110. Sardjono, A.N., Yamashita, A. and Yoshizawa, T. Natural co-occurrence of aflatoxins and *Fusarium* mycotoxins (fumonisins, deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone) in corn from Indonesia. *Food Addit. Contam.* 15(4):377-384, 1998.
111. Jackson, L.S. and Bullerman, L.B. Effect of processing on *Fusarium* mycotoxins. *Adv. Exp. Med. Biol.* 459:243-261, 1999.
112. Charmley, L.L. and 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.
113. Trigo-Stockli, D.M., Deyoe, C.W., Satumbaga, R.F. and Pedersen, J.R. Distribution of deoxynivalenol and zearalenone in milled fractions of wheat. *Cereal Chem.* 73(3):388-391, 1996.
114. Lee, U-S., Jang, H-S., Tanaka, T., Oh, Y-J., Cho, C-M and 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.
115. Samar, M.M., Fontan, C.F., Resnik, S.L., Pacin, A.M. and 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.
116. Young, J.C., Subryan, L.M., Potts, D., McLaren, M.E. and Gobran, F.H. Reduction in levels of deoxynivalenol in contaminated wheat by chemical and physical treatment. *J. Agric. Food Chem.* 34:461-465, 1986.

117. Nowicki, T.W., Gaba, D.G., Dexter, J.E., Matsuo, R.R. and Clear, R.M. Retention of DON in wheat during processing and cooking of spaghetti and noodles. *J. Cereal Science* 8:189-202, 1988.
118. Patey, A.L. and 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.
119. Lauren, D.R. and 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.
120. Castells, M., Marin, S., Sanchis, V. and Ramos, A.J. Fate of mycotoxins in cereals during extrusion cooking: a review. *Food Addit. Contam.* 22(2):150-157. 2005.
121. Cetin, Y. and Bullerman, L.B. Confirmation of reduced toxicity of deoxynivalenol in extrusion-processed corn grits by the MTT bioassay. *J. Agric. Food Chem.* 54:1949-1955, 2006.
122. Young, J.C., Zhu, H. and Zhou, T. Degradation of trichothecene mycotoxins by aqueous ozone. *Food Chem. Toxicol.* 44:417-424, 2006.
123. Pronyk, C., Cenkowski, S. and Abramson, D. Superheated steam reduction of deoxynivalenol in naturally contaminated wheat kernels. *Food Control* 17:789-796, 2006.
124. Pacin, A.M.; Resnik, S.L.; Neira, M.S.; Molto, G. and Martinez, E. Natural occurrence of deoxynivalenol in wheat, wheat flour and bakery products in Argentina. *Food Addit. Contam.* 14(4): 327-331, 1997.
125. Curtui, V., Brockmeyer, A., Dietrich, R., Kappenstein, O., Klaffke, H., Lepschy, J., Maertlbauer, E., Schneider, E., Seidler, C., Thielert, G., Usleber, E., Weber, R. and 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.
126. Trucksess, M.W., Ready, D.E., Pender, M.K., Ligmond, C.A., Wood, G.E. and Page, S.W.. Determination and survey of deoxynivalenol in white flour, whole wheat flour, and bran. *J. AOAC Int.* 79(4): 883-887, 1996.
127. Health Canada, Privileged Communication. 2005.
128. Lombaert, G.A., Pellaers, P., Roscoe, V., Mankotia, M., Neil, R. and Scott, P.M. Mycotoxins in infant cereal foods from the Canadian retail market. *Food Addit. Contam.* 20(5):494-504 2003.
129. Schollenberger, M., Suchy, S., Jara, H.T., Drochner, W. and Muller, H-M. A survey of *Fusarium* toxins in cereal-based foods marketed in an area of southwest Germany. *Mycopathologia* 147:49-57, 1999.
130. Schollenberger, M., Drochner, W., Ruffle, M., Suchy, S., Terry-Jara, H. and 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.
131. Pussemier, L., Larondelle, Y., Van Peteghem, C. and Huyghebaert, A. Chemical safety of conventionally and organically produced foodstuffs, a tentative comparison under Belgium conditions. *Food Control* 17:14-21, 2006.
132. Schollenberger, M., Muller, H.-M., Ruffle, M., Suchy, S., Planck, S. and Drochner, W. Survey of *Fusarium* toxins in foodstuffs of plant origin marketed in Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 97: 317-326, 2005.
133. 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)
134. Hazel, C.M. and Patel, S, Influence of processing on trichothecene levels. *Toxicology Letters* 153:51-59 2004.
135. Beg, M.U., Al-Mutairi, M., Beg, K.R., Al-Mazeedi, H.M., Ali, L.N. and Saeed, T. Mycotoxins in poultry feed in Kuwait. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50: 594-602, 2006.

136. Lombaert, G.A., Roscoe, V.A., Huzel, V., Neumann, G., Melietio, J., Kitchen, D., Kotello, S., Krakalovich, T., Trelka, R.W. and Scott, P.M. Mycotoxins in breakfast cereals from the Canadian retail market: Three-year survey. AGFD Abstract 121, 232nd ACS National Meeting, San Francisco, CA September 2006.
137. Milanez, T.V., Valente-Soares, L.M. and Baptista, G.G. Occurrence of trichothecene mycotoxins in Brazilian corn-based food products. *Food Control* 17:293-298, 2006.
138. Omurtag, G.Z. and Beyoglu, D. Occurrence of deoxynivalenol (vomitoxin) in processed cereals and pulses in Turkey. *Food Addit. Contam.* 20(4): 405-409, 2003.
139. Trigo-Stockli, D.M. Effect of processing on deoxynivalenol and other trichothecenes. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504:181-188, 2002.
140. Wolf-Hall, C.E. and Schwarz, P.B. Mycotoxin and fermentation-beer production. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504:217-226, 2002.
141. Anselme, M., Tangni, E.K., Pussemier, L., Motte, J.-C., Van Hove, F., Schneider, Y.-J., Van Peteghem, C. and Larondelle, Y. Comparison of ochratoxin A and deoxynivalenol in organically and conventionally produced beers sold on the Belgian market. *Food Addit. Contam.* 23(9):910-918, 2006.
142. Samar. M.M., Neira, M.S., Resnik, S.L. and Pacin, A. Effects of fermentation on naturally occurring deoxynivalenol (DON) in Argentinean bread processing technology. *Food Addit. Contam.* 18(11): 1004-1010, 2001.
143. Prange, A., Birzele, B., Kramer, J., Meier, A., Modrow, H. and Kohler, P. *Fusarium*-inoculated wheat: deoxynivalenol contents and baking quality in relation to infection time. *Food Control* 16: 739-745, 2005.
144. Sugita-Konishi, Y. Privileged Communication. Japan, 2005.
145. Sugita-Konishi, Y., Park, B.J., Kobayashi-Hattori, K., Tanaka, T., Chonan, T., Yoshikawa, K. and Kumagai, S. Effect of cooking process on the deoxynivalenol content and its subsequent cytotoxicity in wheat products. *Biosci. Biotech. Biochem.* 70:1764-1768. 2006.
146. FAO Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003, FAO Food and Nutrition Paper 81. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy ISBN 92-5-105162-3. 2004.
147. Lopez-Garcia, R. and Park, D.L. Effectiveness of postharvest procedures in management of mycotoxin hazards. IN: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K. Sinha and D. Bhatnagar (EDS). Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 407-433, 1998.
148. Schrodter, R. Influence of harvest and storage conditions on trichothecenes levels in various cereals. *Toxicology Letters* 153:47-49, 2004.
149. Aldred, D. and Magan, N. Prevention strategies for trichothecenes. *Toxicology Letters* 153:165-171 2004.
150. 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.
151. Snijders, C.H.A. Resistance in wheat to *Fusarium* infection and trichothecene formation. *Toxicology Ltrs.* 153:37-46, 2004.
152. Takafumi, I. Improvement on Wheat Flour Quality-Production of Quality Wheat Flour by Colour Sorting and Debranning. Abstract of Australasian Milling Conference – 9th Biennial Conference of the Flour Millers' Council of Australia and the Stock Feed Manufacturers' Council of Australia pp 133-138, 2006
153. Health Canada. Privileged Communication. 2006.