

commission du codex alimentarius

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

ORGANISATION MONDIALE
DE LA SANTÉ

BUREAU CONJOINT: Via delle Terme di Caracalla 00100 ROME Tél.: +39 6 57051 Télex: 625825-625853 FAO I Cables: Foodagri Rome Facsimile: +39 6 5705.4593

Point 14 de l'ordre du jour

**CX/FAC 99/16
Décembre 1998**

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES

COMITÉ DU CODEX SUR LES ADDITIFS ALIMENTAIRES ET LES CONTAMINANTS

Trente et unième session

La Haye (Pays-Bas) 22-26 mars 1999

DOCUMENT DE SYNTHÈSE CONCERNANT LA PATULINE

(Document rédigé par la France)

INTRODUCTION

1. Lors de la 28^{ème} session du CCFAC, il a été demandé à la France de préparer un document de synthèse sur la patuline, susceptible d'aboutir à la fixation de limites maximales de contamination des aliments par la patuline. Ce document de synthèse prend en compte les données toxicologiques actuelles ainsi que les résultats analytiques fournis par l'Allemagne, le Royaume-Uni, les Etats-Unis et la France ainsi que les données d'exposition de la population. Lors de la 29^e session du CCFAC, la France a été invitée à rédiger un nouveau document prenant en compte les commentaires envoyés par les gouvernements. Lors de la 30^e session du CCFAC, le document de la France a été accepté pour passage à l'étape 3, sous réserve de la modification de la limite maximale proposée en patuline dans le jus de pomme et les boissons contenant du jus de pomme prêtes à être consommées..

2. La patuline est une mycotoxine produite par un grand nombre de champignons différents des genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Byssochlamys*. Elle peut être détectée dans les fruits, les légumes et les céréales moisies ainsi que dans le fourrage. (NB: elle peut aussi être détectée dans les fromages). La patuline après infection naturelle par des *Penicillium* est retrouvée dans de nombreux fruits et légumes entiers ou transformés (jus, sauces, compotes, gelées) mais la contamination la plus fréquente est celle provoquée par *Penicillium expansum* rencontrée lors de certaines formes de pourrissement des pommes telles que la "moisissure bleue", sur les fruits endommagés en surface. Toutefois la présence de patuline dans des fruits apparemment sains ne peut pas être exclue. Le degré de contamination est corrélé au degré de pourrissement et la patuline migre peu en dehors des tissus altérés: une exposition humaine n'est donc envisageable qu'à partir des fruits transformés. De nombreuses analyses concernant la patuline ont été réalisées de 1972 à 1979 sur des jus de pomme et ont montré des taux de contamination très variables de 5 à 2500 µg/kg.

PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES

3. La patuline est une lactone (4-hydroxy-4h-furo[3,2-c] pyrane-2-(6h)-one), d'un poids moléculaire de 154,12. Elle forme des cristaux incolores, a un point de fusion de 111°C, elle est soluble dans l'eau, l'éthanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle, l'éther et le chloroforme, mais insoluble dans le benzène et l'éther de pétrole. La patuline n'est pas détruite par la chaleur et est stable à pH acide. sa teneur est diminuée par le stockage prolongé, l'action des sulfites renforcée par l'élévation de température, l'addition d'acide ascorbique, la fermentation alcoolique et le traitement par charbon actif.

La patuline perd son activité biologique en milieu alcalin et en présence de molécules comportant des groupements sulfhydryles comme la cystéine et le glutathion.

MÉTHODES D'ANALYSE

4. Les méthodes de détermination de la patuline utilisées respectent en général le schéma suivant:
 - 1 - Extraction
 - 2 - Purification ou élimination des composés gênants
 - 3 - Concentration
 - 4 - Détermination qualitative et quantitative par des techniques chromatographiques
5. Il existe des méthodes normalisées de dosage de la patuline dans les jus de pomme. L'ISO a publié deux normes ISO 8128-1: 1993 et ISO 8128-2: 1993, l'une par Chromatographie en Couche Mince, l'autre par Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC). Ces méthodes sont très proches de celles publiées au manuel des méthodes d'analyses officielles de l'AOAC International: AOAC 974-18 et AOAC 995-10. D'autres méthodes sont également couramment utilisées, par exemple la méthode AFNOR NF V76-116 de novembre 1985 qui est la méthode officielle en France. Son domaine d'application s'étend aux jus de pommes, aux concentrés de jus de pommes et aux cidres. La Suisse possède également ses méthodes officielles parues dans le Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 75, 506-513 (1984). Ces méthodes sont présentées dans le tableau 1 joint en annexe avec leurs caractéristiques techniques et leurs valeurs de répétabilité et de reproductibilité. Il est à noter qu'un projet de l'Union Européenne coordonné par le Royaume-Uni a été lancé le 30 septembre 1996. Cette étude a pour but de sélectionner et de normaliser les méthodes d'analyse des mycotoxines pour les Etats de l'Union Européenne et de les présenter sous la forme de normes CEN. Pour la patuline, les matrices retenues sont le jus de pommes et la compote de pommes.

ABSORPTION, DISTRIBUTION ET EXCRÉTION

6. La patuline marquée au ^{14}C , administrée par voie orale sous forme d'une dose simple de 3 mg/kg p.c. à des rats Sprague-Dawley est majoritairement éliminée par les fèces et les urines en 24 heures. Après 7 jours, 2 à 3 % sont cependant retenus dans les tissus mous (rate, reins, poumon et foie) ainsi que dans le sang.

IDENTIFICATION DES PROBLÈMES TOXICOLOGIQUES

Toxicité aiguë

7. La dose létale 50, chez la souris, est de 15 à 35 mg/kg selon le mode d'administration. La patuline a un effet cytotoxique lui conférant des propriétés antibiotique, antifongique et anti-protazoaire. Le mécanisme de cette cytotoxicité passe par une augmentation de la perméabilité membranaire. La patuline désorganise les microfilaments cytoplasmiques. Elle inhibe in vitro plusieurs enzymes dont les ARN-polymérase et ADN-polymérase. Elle altère également la transcription et la translation par un effet direct sur l'ADN.

Mutagénicité - carcinogénicité

8. Les études de carcinogénicité ont été réalisées sur des souris et des rats, cependant, deux des trois études ont porté sur des animaux de la première génération issue de ceux ayant servi aux études de tératogénèse. Les résultats des tests de mutagénicité sont variables, positifs envers *Bacillus subtilis* et négatifs envers *E. Coli* et *Salmonella Typhimurium*. La patuline induit des cassures de l'ADN mais pas de synthèse non-programmée d'ADN. Elle induit des aberrations chromosomiques mais sans échange de chromatides soeurs. Il n'y a donc pas de preuve évidente d'un pouvoir cancérigène de la patuline même si tous les experts toxicologues s'accordent sur la nécessité de réaliser une étude de cancérigénèse sur une autre espèce que le rat. Enfin, la patuline a des effets immunotoxiques mais ces derniers interviennent à des doses très supérieures à la dose sans effet.

Dose Maximale tolérable

9. Une première évaluation toxicologique réalisée lors de la 35^e réunion du JECFA en 1990 avait établi une dose hebdomadaire maximale tolérable provisoire (DHMTTP ou pTWI en anglais) de 7 µg/kg de poids corporel. Une seconde évaluation réalisée lors de la 44^e réunion du JECFA en 1995 a pris en

compte le fait que chez le rat la majorité de la patuline ingérée est éliminée en 48 h et 98 % en 7 jours. Cette absence d'accumulation a conduit le JECFA à établir une dose journalière maximale tolérable provisoire (DJMTP ou pTDI en anglais). Une étude portant sur les effets combinés de la patuline sur la reproduction, les effets toxiques à long terme et la cancérogénicité a permis de déterminer une dose sans effet à 43 µg/kg de poids corporel et par jour. Sur la base de ce travail et en utilisant l'habituel facteur de sécurité de 100, le JECFA a donc fixé provisoirement à 0,4 µg/kg l'ingestion maximale journalière tolérable.

ÉVALUATION DE L'EXPOSITION

10. L'évaluation de l'exposition réalisée prend en compte les résultats analytiques disponibles (tableaux 2 et 3 joints en annexe) ainsi que les données de consommation des produits susceptibles d'être contaminés (tableau 4 joint en annexe). Ces données proviennent des pays cités dans le paragraphe 1. Le but du comité est de proposer des mesures compatibles avec la sécurité du consommateur et donc basées sur le respect du non-dépassement des doses tolérables fixées par le JECFA soit 0.4 µg/kg p.c./jour.

11. Pour un adulte de 60 kg cette limite correspond à 24 µg/jour de patuline, pour un enfant de 20 kg à 8 µg par jour et pour un enfant de 10 kg à 4 µg/jour de patuline.

12. Les conditionnements individuels des jus de fruit (spécialement destinés aux jeunes enfants) vont de 125 à 200 ml. La logique approuvée par le Comité lors de l'examen du document CX/FAC 98/17 veut que la consommation régulière d'une portion ou d'une unité de conditionnement ne présente pas de risque pour le consommateur. De ce fait, si un enfant de 10 kg consomme dans une journée un volume de jus de pomme contenu dans une unité de vente de 125 ml, il faut que ce jus de pomme n'excède pas 32 µg/l en patuline pour que la DJMTP (pTDI en anglais) ne soit pas dépassée. Cette teneur en patuline ne doit pas excéder 40 µg/l dans le cas d'un enfant de 20 kg qui consomme une unité de vente de 200 ml par jour.

13. Or, les données précises de consommation (tableau 4) indiquent que des quantités de l'ordre de 200 ml de jus de pomme (223 ml en France sur 1500 sujets de 2 à 65 ans, 290 et 150 ml au Royaume-Uni, respectivement chez l'adulte et l'enfant) par jour sont consommées de manière régulière par certains consommateurs (en France 5 % des consommateurs de jus de pomme). Enfin, en France plus de 20 % des enfants de moins de 30 mois consomment des jus de fruit dont 3 % qui consomment du jus non spécialement destiné aux nourrissons (Etude SOFRES/Alliance 7, 1997).

14. Si les produits solides à base de pomme (tableau 3), présentent un niveau de contamination toujours inférieur à 50 µg/kg, en revanche, les informations disponibles indiquent que 10 à 30 % des jus de pomme peuvent être contaminés au delà de 50 µg/kg (tableau 2) et que 55 % des jus de pomme peuvent être contaminés au delà de 25 µg/kg). (Source: Union Nationale des Producteurs et Distributeurs de Jus de Fruits - France) Toutes ces données confirment donc le risque de dépassement de la DJMTP.

DISCUSSION

15. La patuline est une substance toxique pour laquelle un risque cancérogène est suspecté. Même si la preuve formelle de ce risque n'a pas été établie, une dose journalière tolérable maximale provisoire (pTDI en anglais), a été fixée par le JECFA en 1995, à 0,4 µg/kg de poids corporel.

16. Parmi les fruits et légumes contaminés, seules les pommes peuvent présenter des teneurs très élevées en patuline. Ces pommes ne sont, à l'évidence, jamais consommées telles quelles; le risque lié à la patuline provient donc des produits transformés. Les produits transformés autres que les jus (produits solides, compotes, etc.) présentent des niveaux de contamination généralement inférieurs à 50 µg/kg, soit que le traitement technologique détruit la patuline, soit que les fruits très contaminés soient écartés de la production pour des raisons organoleptiques. Le risque de dépassement de dose tolérable est donc hautement improbable par consommation de ces produits. La fermentation détruit la patuline en forte proportion dans les cidres. De plus les cidres ne sont pas destinés aux enfants ce qui rend hautement improbable un risque de dépassement de DJMTP à cause de ces produits.

17. Les jus de pomme peuvent être fortement contaminés bien que l'élimination des fruits pourris du processus de fabrication soit techniquement possible, donne des résultats satisfaisants et s'inscrit parfaitement dans l'application des bonnes pratiques agricoles et de fabrication. Il existe pour cela des

méthodes automatisées (flottation des fruits) et des méthodes manuelles donnant de meilleurs résultats mais de mise en oeuvre plus contraignante.

18. Il est important d'insister sur le fait qu'il s'agit de la contamination d'une boisson et que les niveaux d'ingestion journaliers peuvent être plus élevés que ceux d'un aliment solide. Cette remarque est particulièrement importante à prendre en compte pour l'enfant.

19. Pour les données de consommation, l'utilisation d'une unité de conditionnement de 200 ml, d'une portion standardisée de 237 ml ou des données de consommation régulière de 200 ml par jour observées par différents pays aboutissent à la nécessité de protéger les enfants consommateurs de ces produits.

RECOMMANDATIONS

20. Etant donné que:

- la contamination par la patuline des produits obtenus à partir de fruits, essentiellement de pomme, est couramment constatée,
- les taux d'ingestion de jus de pomme par certaines populations de consommateurs, notamment les enfants, rapportés au poids des individus, peuvent être très importants,
- le commerce de ces produits n'est pas négligeable dans certaines régions géographiques,
- certains Etats, comme l'Autriche, la Finlande, la France, la Grèce, l'Islande, le Royaume-Uni et la Suède, disposent déjà de limites maximales indicatives en patuline dans le jus de pomme et, parfois dans d'autres produits, il est recommandé de mettre à l'étude la fixation d'une limite maximale pour la patuline, conformément à la procédure décrite dans la norme générale Codex sur les contaminants.

21. Si l'on voulait assurer un niveau de protection étendu à la plupart des enfants, y compris lorsque ceux-ci sont des consommateurs réguliers et importants de jus de pomme, une limite maximale en patuline pourrait être fixée à 25 µg/kg dans le jus de pomme.

22. Toutefois la fixation d'une limite de 25 µg/kg risque de ne pas pouvoir être toujours respectée par les producteurs de jus de pomme et peut poser des problèmes sur le plan du commerce international. La fixation d'une limite maximale de 50 µg/kg de patuline dans le jus de pomme et les boissons contenant du jus de pomme prêtes à être consommées, est susceptible d'assurer un niveau de protection suffisant pour une large majorité des consommateurs dont la consommation en boissons est suffisamment diversifiée. Conformément au souhait du CCFAC au cours de sa 30e session, la limite de 50 µg/kg est donc proposée à l'étape 3 de la procédure Codex. Cette limite pourra le cas échéant être révisée, en fonction de l'évolution des connaissances sur la toxicité de la patuline.

23. Dans tous les cas, il est primordial d'inciter les industriels transformateurs de pomme à respecter les règles de bonnes pratiques de fabrication décrites dans le code de bonnes pratiques joint en annexe. Il s'agit en particulier d'éliminer de leur production les fruits gâtés, leur aspect étant un bon indicateur de leur niveau de contamination.

24. En seconde intention, il est également nécessaire d'inciter les industriels, lorsque les conditions de récolte et de stockage sont défavorables d'envisager, en complément du tri initial, des mesures de décontamination des jus. Parmi elles, le stockage prolongé, l'action des sulfites renforcée par l'élévation de température, l'addition d'acide ascorbique dans le milieu, le traitement sur charbon actif sont des mesures efficaces. Ce dernier traitement ayant toutefois l'inconvénient de décolorer les jus par adsorption simultanée des polyphénols.

25. Les études toxicologiques concernant la patuline et portant en particulier sur son action cancérogène, devraient être encouragées.

26. Il pourrait être nécessaire de demander au Comité du Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage (CCMAS) de se prononcer sur les méthodes de détermination des teneurs en patuline.

Références

- Harrison M.A., 1989, Presence and stability of patuline in apple products: a review. *J. Food Safety*, 9: 147-153.
- Lindroth S., 1980, Occurrence, formation and detoxification of patulin mycotoxin. Technical Research Centre of Finland, Publication 24, UDC 615-9: 582.24.
- Mortimer D.N., Parker I., Shepherd M.J., Gilbert J., 1985, A limited survey of retail apple and grape juices for the mycotoxin patulin. *Food Additives and Contaminants*, 2 (3): 165-170.
- Sydenham E.W., Vismer H.F., Marasas W.F.O., Brown N.L., Schlechter M., Rheeder J.P., 1997, The influence of deck storage and initial processing on patulin levels in apple juice. *Food Additives and Contaminants*, 14 (5): 429-434.

Tableau 1 - Méthodes

| Méthodes | r en µg/l | | R en µg/l | Extraction | Purification |
|---|------------------|------|------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| Méthode officielle française NF V 76-116 Nov. 1985 | non indiqué | | non indiqué | Acétate d'éthyle | Colonne de Silicagel |
| AOAC Official Method 974.18 | non indiqué | | non indiqué | Acétate d'éthyle | Colonne de Silicagel |
| AOAC Official Method 995.10 | 20µg/l | 12,9 | 16,5 | Acétate d'éthyle | Lavage au carbonate de sodium |
| | 50 µg/l | 18,5 | 32,2 | | |
| | 100 µg/l | 29,4 | 56,6 | | |
| | 200 µg/l | 66,4 | 78,4 | | |
| ISO 8128-2: 1993 | 33,4 | | 41,0 | Acétate d'éthyle + Chloroforme | Colonne de Silicagel |
| ISO 8128-1: 1993 | 40 µg/l | 8,9 | 10,5 | Acétate d'éthyle | Lavage au carbonate de sodium |
| | 207 µg/l | 41,9 | 47,5 | | |
| Méthode officielle suisse Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 75,506 (1984) | non indiqué | | non indiqué | Acétate d'éthyle | Lavage au carbonate de sodium |
| Méthode officielle suisse Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 75,506 (1984) | non indiqué | | non indiqué | Extrelut | Colonne de Silice |

Tableau 2- Analyses portant sur les jus de pomme

| Année | Pays | Nombre | % positifs | % > 50 µg/kg | min.-max. |
|--------------|-----------------------|---------------|-------------------|------------------------|------------------|
| 1980 | France | 27 | 100 | --- | 10-106 |
| 1980 | Royaume-Uni | 136 | 16 | 0 | 1-38 |
| 1980 | Pologne | 46 | 0 | 0 | --- |
| 1981 | Nouvelle-Zélande | 20 | 3 | --- | 106-216 |
| 1982 | Italie | 58 | 21 | 0 | 5-15 |
| 1982 | Australie | 222 | 57.5 | 32 | 5-1130 |
| 1983 | France | 137 | --- | 17 | --- |
| 1984 | France | 112 | --- | 19,6 | --- |
| 1985 | Royaume-Uni | 38 | 26 | 2.6 | 5-56 |
| 1991 | France | 7 | 42 | --- | --- |
| 1992 | Royaume-Uni | 32 | 57 | 16 | 59-434 |
| 1992 | France | 31 | 3,2 | --- | --- |
| 1993 | Royaume-Uni | 62 | 28 | 4.8 | 61-118 |
| 1993 | France | 99 | 10 | --- | --- |
| 1994 | Royaume-Uni | 191 | 57 | 2 | 54-497 |
| 1994 | France | 50 | 8,5 | --- | --- |
| 1995 | Royaume-Uni | 185 | 35 | 6 | 73-490 |
| 1996 | Royaume-Uni | 174 | --- | 0.5 | 184 |
| 1996 | France | 66 | 50 | 11 | 10-400 |
| 1994/96 | Allemagne | --- | 72 | 6 | --- |
| | Etats-Unis d'Amérique | 102 | 74 | 26 | >500 |

Tableau 3- Analyses portant sur les aliments solides à base de pomme

| Année | Pays | Nombre | % positifs | % > 50 µg/kg | min.-max. |
|--------------|-------------|---------------|-------------------|------------------------|------------------|
| 1980 | Royaume-Uni | 113 | 0 | 0 | --- |
| 1981 | Allemagne | 105 | 7 | 0 | 11-50 |
| 1982 | Australie | 70 | 25 | 0 | 5-32 |
| 1983 | Italie | 20 | 50 | 0 | 5-50 |
| 1993 | Royaume-Uni | 85 | 0 | 0 | <25 |
| 1991 | France | 3 | 0 | 0 | <30 |
| 1992 | France | 1 | 0 | 0 | <30 |
| 1993 | France | 15 | 0 | 0 | <30 |
| 1993 | France | 25 | 0 | 0 | <25 |
| 1994 | France | 21 | 1 | 1 | --- |
| 1996 | France | 32 | 9 | 0 | <10 |
| 1996 (bébé) | France | 41 | 9,7 | 0 | <10 |

Tableau 4 - Consommation de jus de pomme

L'utilisation d'une portion standard (méthode développée par le Royaume-Uni et décrite dans le document CCFAC 96/) aboutit à une consommation maximale de 237 ml de jus de fruit par jour (97,5^e percentile des consommations).

Les résultats des enquêtes de consommation en France et au Royaume-Uni mettent en évidence les consommations suivantes:

| Pays | Age | Moyenne (ml/jour) | 97.5^e percentile (ml/jour) |
|---------------|------------------|--------------------------|--|
| Royaume-Uni* | 2-5 ans | 50 | 150 |
| Royaume-Uni* | adultes | 61.5 | 290 |
| France** | adultes+ enfants | 223 | --- |
| Allemagne*** | 4-6 ans | 158 | --- |
| Allemagne *** | 7-9 ans | 160 | --- |
| Allemagne *** | 25-50 ans | 61 | --- |

* Données au 97,5^e percentile des seuls consommateurs parmi l'ensemble de la population.

** Données au 97,5^e percentile des seuls consommateurs parmi l'ensemble de la population; consommation maximale régulière sur sept jours par enquêtes de consommation individuelles corrigées des variations saisonnières.

*** Données de consommation moyennes journalières de jus de fruits.