

# commission du codex alimentarius



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

ORGANISATION  
MONDIALE  
DE LA SANTÉ



BUREAU CONJOINT: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROME Tél: +39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Point 15 e) de l'ordre du jour

CX/FAC 02/22

Février 2002

## PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES

### COMITE DU CODEX SUR LES ADDITIFS ALIMENTAIRES ET LES CONTAMINANTS

Trente-quatrième session

Rotterdam (Pays-Bas), 11-15 mars 2002

### DOCUMENT DE TRAVAIL SUR LES AFLATOXINES DANS LES PISTACHES

#### HISTORIQUE

1. A sa trente-troisième session, le Comité du Codex sur les additifs alimentaires et les contaminants (CCFAC) est convenu que l'Iran, en collaboration avec la Suède, préparerait un document de travail fournissant des données justificatives et des informations pertinentes pour l'établissement de limites maximales pour l'aflatoxine B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) et les aflatoxines totales dans les pistaches destinées à subir une transformation et les pistaches à consommer directement pour examen à sa session suivante.<sup>1</sup>

#### INTRODUCTION

2. Les aflatoxines sont produites essentiellement par certaines souches de *Aspergillus flavus* et par la plupart, sinon toutes les souches de *A. parasiticus*. L'aflatoxine B<sub>1</sub> est la plus fréquente dans les échantillons contaminés et les aflatoxines B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> ne sont en général pas signalées en l'absence d'AFB<sub>1</sub>. Les produits présentant le plus fort risque de contamination par l'aflatoxine sont notamment le maïs, les arachides, les graines de coton, la noix du Brésil, les pistaches, les figes, les épices et le coprah. Les sources alimentaires d'aflatoxines les plus importantes sont le maïs et les arachides et leurs produits, qui peuvent constituer une part essentielle du régime alimentaire dans certains pays.<sup>1</sup>

3. La pistache (Lat. *Pistacia vera*, Anacardiaceae) est originaire d'Asie centrale. Sa domestication a eu lieu il y a plus de 2000 ans et les négociants l'ont introduite au Moyen-Orient et dans la zone méditerranéenne. Aujourd'hui les principales zones de production se trouvent au Moyen-Orient, en Amérique du Nord et en Europe. L'Iran est le plus gros producteur de pistaches dans le monde.

4. La pistache est un fruit à noyau semi-sec qui comporte une amande simple à l'intérieur d'une coquille fine et dure enveloppée dans l'écale. La coquille se fend partiellement un mois au moins avant la maturité et la récolte. Normalement, l'écale ne se rompt pas lorsque la coquille s'ouvre dans le fruit immature de la pistache. Toutefois, dans un faible pourcentage des pistaches, la coquille et l'écale encore adhérente se fendent toutes les deux. Cette rupture de l'écale, souvent désignée comme "ouverture précoce", est un phénomène très important pour l'infection par les champignons *Aspergillus flavus/parasiticus* qui produisent l'aflatoxine. La rupture expose l'amande aux spores fongiques transportés par l'air ou aux insectes, comme le ver de l'orange [*Amyelios transitella* (Walker)], qui peuvent transporter des spores fongiques sur leur corps.<sup>2-4</sup>

<sup>1</sup> ALINORM 01/12A, par. 198.

## FORMATION ET PRÉVENTION DES AFLATOXINES DANS LES PISTACHES

5. Une pistache à “ouverture précoce” est caractérisée par une fente de l’écaille distincte, noire et aux bords lisses. Les pistaches à “ouverture précoce” les plus anciennes ont une écaille rugueuse et racornie et sont celles où les concentrations d’aflatoxine sont les plus fortes; elles contiennent jusqu’à 99% de l’ensemble des aflatoxines détectées. Les amandes infestées par le ver de l’orange présentaient des infections plus importantes par *A. flavus/parasiticus* et contenaient 84% de l’ensemble des aflatoxines détectées. Des études sur la teneur en aflatoxine dans des pistaches ont montré qu’un grand nombre des “ouvertures précoces” contenaient plus de 20 µg/kg et certaines dépassaient 1000 µg/kg. Les pistaches à aspect normal contenaient moins de 2 µg/kg.<sup>5-6</sup>

6. L’infection par *A. flavus/parasiticus* avant la récolte peut entraîner la formation accrue d’aflatoxine après la récolte si le séchage est lent ou si le stockage et le transport se font dans des conditions d’humidité élevée. Il est possible de prévenir l’aflatoxine dans les pistaches en évitant l’infection en premier lieu ou en modifiant l’environnement afin d’inhiber la croissance des moisissures et la production de mycotoxines. Dans le verger, les mesures préventives importantes sont celles qui visent à réduire autant que possible la quantité d’“ouvertures précoces” et les sources de champignons produisant l’aflatoxine.<sup>7</sup>

7. L’infection primaire de la pistache par *A. flavus/parasiticus* se faisant déjà dans le verger, la mesure la plus importante après la récolte consiste à éviter la propagation du champignon et l’accumulation de toxines. Afin d’améliorer la stabilité et d’éviter que la contamination ne s’étende, les pistaches doivent être écalées et séchées à une teneur en eau de 5 à 7%, correspondant à une activité de l’eau ( $A_w$ ) de moins de 0,70 à 25°C, le plus rapidement possible après la récolte, en général dans les 48 heures.<sup>8-9</sup>

8. La prévention de la formation de l’aflatoxine durant le stockage et le transport dépend du maintien d’une faible teneur en eau, de la température ambiante et des conditions d’hygiène. Lorsque la prévention n’est pas possible, des mesures correctives s’imposent, comme par exemple le tri, afin de garantir que des produits contaminés n’entrent pas dans la chaîne alimentaire.

9. Les pistaches qui sont le plus vraisemblablement infectées par les moisissures et contaminées par l’aflatoxine, les “ouvertures précoces” rugueuses, présentent plusieurs caractéristiques physiques qui les distinguent des pistaches normales. Les caractères les plus évidents d’une “ouverture précoce” sont la coloration de la coquille et les tendances à l’adhérence de l’écaille. La reconnaissance de la coloration noire présente sur les lèvres de la coquille des “ouvertures précoces” comme base pour le tri mécanique a été décrite.<sup>10-11</sup>

10. La répartition de l’aflatoxine dans les pistaches a fait l’objet d’études approfondies. Les résultats de ces études montrent que le tri qualitatif (rejet des pistaches abîmées ou flottantes tachées) permet d’éliminer une grande partie des aflatoxines présentes au moment de la récolte. Par ailleurs, ces études ont évalué les méthodes d’échantillonnage et pourraient servir de base pour un plan d’échantillonnage du Codex pour les aflatoxines dans les pistaches. La répartition des aflatoxines est très hétérogène dans un lot de pistaches, d’où l’importance des éléments du plan d’échantillonnage.<sup>12-18</sup>

## STRUCTURE CHIMIQUE ET MÉTHODES D’ANALYSE

11. Sur le plan chimique, les aflatoxines sont des composés hétérocycliques naturels hautement oxygénés et ont des structures étroitement liées. Toutes les aflatoxines contiennent essentiellement un nucléus de coumarine fondu à un bifurane. Une structure pentanone est attachée au nucléus de coumarine dans le cas des aflatoxines de la série B. Elle est substituée par un lactone à six membres dans les aflatoxines de la série G.<sup>19</sup>

12. Différentes méthodes d’analyse ont été élaborées pour identifier et quantifier les aflatoxines. En ce qui concerne l’analyse des aflatoxines dans les pistaches, des méthodes de chromatographie en couche mince, de chromatographie en phase liquide et d’immunochimie ont été validées. Les premières méthodes reposaient généralement sur la chromatographie en phase liquide. Aujourd’hui, les méthodes utilisant la chromatographie en phase liquide à haute résolution avec détection par fluorescence sont très courantes. Les méthodes utilisant la chromatographie en couche mince et la chromatographie en phase liquide sont laborieuses et longues. Grâce aux progrès réalisés en biotechnologie, on trouve maintenant sur le marché des essais hautement spécifiques

fondés sur des anticorps, pouvant identifier et mesurer les aflatoxines dans les aliments en moins de 10 minutes. Seuls quelques unes de ces trousse de dosage ont été évaluées par des études interlaboratoires. Les tests immunologiques simples, spécifiques et rapides joueront un rôle grandissant dans le contrôle de la présence des mycotoxines dans les produits d'alimentation humaine et animale.<sup>20-21</sup>

## EVALUATION TOXICOLOGIQUE

13. Le JECFA a évalué les aflatoxines à ses trente et unième, quarante-sixième, quarante-neuvième et cinquante-sixième réunions (aflatoxine M<sub>1</sub> uniquement). A sa quarante-neuvième réunion (1997), le JECFA a examiné les estimations du pouvoir carcinogène des aflatoxines et les risques potentiels associés à leur ingestion. A cette réunion, il n'a pas été proposé de DJT numérique car ces composés sont des carcinogènes génotoxiques, mais les estimations du pouvoir carcinogène, dans le cas du cancer du foie chez l'homme résultant de l'exposition à l'aflatoxine B<sub>1</sub>, ont été calculées à partir d'études épidémiologiques et toxicologiques. Le JECFA a analysé toute une série d'études menées chez les animaux et les êtres humains qui fournissaient des informations qualitatives et quantitatives sur le pouvoir hépatocarcinogène des aflatoxines. Le JECFA a évalué le pouvoir de ces contaminants, a établi un lien entre ces pouvoirs et les estimations de l'apport, et examiné l'impact potentiel de deux normes hypothétiques sur les arachides (10 ou 20 ppb) sur les populations sélectionnées et le risque encouru.<sup>1</sup> Il est demandé que des informations de ce type soient fournies pour les pistaches.

14. Dans l'évaluation faite à sa quarante-neuvième réunion, le JECFA a noté que le pouvoir carcinogène de l'aflatoxine B<sub>1</sub> est nettement plus élevé chez les porteurs du virus de l'hépatite B (environ 0,3 cancers/an/100 000 personnes/ng d'aflatoxine B<sub>1</sub>/kg de poids corporel par jour), tel que déterminé pas la présence dans le sérum de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (HBsAg +individus), que dans HBsAg – individus (environ 0,01 cancers/an/100 000 personnes/ng d'aflatoxine B<sub>1</sub>/kg de poids corporel par jour).<sup>1</sup>

15. Le JECFA a aussi noté que la vaccination contre le virus de l'hépatite B réduirait le nombre de porteurs du virus, et donc le pouvoir des aflatoxines dans les populations vaccinés, ce qui conduirait à une réduction dans le risque de cancer du foie.<sup>1</sup>

## PRÉSENCE DES AFLATOXINES DANS LES PISTACHES

16. Sur les 21 échantillons analysés en Suède entre 1996 et 1998, plus de 90% des échantillons contenaient des aflatoxine B<sub>1</sub> et totales inférieures à 2 et 4 ppb (limites maximales pour les aflatoxines dans l'UE), respectivement, mais des teneurs beaucoup plus fortes ont été observées dans deux échantillons, jusqu'à 1900 et 2200 ppb, respectivement.<sup>22</sup>

17. Selon un rapport du Mexique, sur 244 échantillons de pistaches analysés pendant la période 1993-1996, 2 % contenaient des aflatoxines supérieures à 20 ppb.<sup>1</sup>

18. Taguchi et al. n'ont pas détecté d'aflatoxines dans 24 échantillons de pistaches analysés à Osaka entre 1988 et 1992.<sup>23</sup>

19. Selon un rapport du Ministère de la santé du Japon, sur 2 422 échantillons de pistache analysés pendant la période 1972-1989, dans 96,5% l'aflatoxine B<sub>1</sub> était inférieure à la limite de détection et dans 2% l'aflatoxine B<sub>1</sub> dépassait 10 ppb.<sup>1</sup>

20. Sur 47 361 échantillons de pistaches analysés entre mars 1998 et mars 2001 en République islamique d'Iran, dans 59,6% des échantillons la teneur en aflatoxine B<sub>1</sub> était inférieure à la limite de détection, dans 16,6% elle se situait entre la limite de détection et 2 ppb, dans 13,9% elle se situait entre 2 et 10 ppb, et dans 9,9% la teneur en aflatoxine B<sub>1</sub> dépassait 10 ppb.<sup>24-25</sup>

## APPORT PAR LE RÉGIME ALIMENTAIRE

21. La principale voie de l'exposition humaine potentielle aux aflatoxines est l'ingestion d'aliments contaminés. Les céréales, les arachides, les fruits à coque et la farine de graine de coton notamment sont les aliments sur lesquels les champignons producteurs d'aflatoxine se développent couramment. La viande, les œufs, le lait et d'autres produits comestibles provenant d'animaux qui consomment des aflatoxines sont d'autres sources d'exposition potentielle.<sup>1</sup>

22. Les produits comme le maïs, les arachides, la graine de coton, la noix d'Amérique et le coprah sont tous classés parmi les produits à plus haut risque de contamination par l'aflatoxine, mais le risque associé aux humains varie selon l'apport alimentaire. Aussi, les produits très utilisés comme le maïs présentent davantage de risque pour les humains que d'autres. Selon les données publiées par l'OMS (GEMS/FOOD), la consommation de pistaches dans le monde se situerait entre 0 et 0,3 g.<sup>25</sup> En général, l'apport par le régime alimentaire de pistaches représente au moins 7% (0,3 g /4,3 g) de la consommation de fruits à coque entiers (dans la coquille).<sup>26</sup>

## CONCLUSIONS & RECOMMANDATIONS

23. Le présent document de travail sur les aflatoxines dans les pistaches permet de formuler les recommandations générales suivantes pour examen par le CCFAC à sa trente-quatrième session:

**I** Sur la base des données toxicologiques disponibles à ce jour, les teneurs en aflatoxines doivent être aussi basses que techniquement réalisable, compte tenu des facteurs économiques et sociaux. La meilleure façon de protéger les consommateurs contre les effets toxiques des aflatoxines c'est d'encourager et de garantir de bonnes pratiques agricoles notamment en:

- faisant connaître les points critiques où les champignons commencent à se développer et à produire des aflatoxines pendant la production agricole.
- incluant des programmes de contrôle de la qualité dans la production agricole.
- améliorant la formation des personnes intervenant à tous les stades de la production.
- appuyant les recherches sur les méthodes et les techniques visant à prévenir la contamination fongique dans le verger et durant la récolte, la transformation et le stockage.

**II** Il est recommandé au Codex d'élaborer un code d'usages pour la réduction des aflatoxines dans les fruits à coque.

**III** Il est recommandé au Comité de demander aux gouvernements de fournir des données qui complèteraient les données figurant au présent document afin d'envisager l'établissement de teneurs maximales.

**IV** Il est recommandé au Codex d'établir des plans d'échantillonnage et des méthodes d'analyse pour les aflatoxines dans les pistaches.

## REFERENCES

1. JECFA, 1998: Quarante-neuvième réunion du Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires. Safety evaluation of Certain Food additives and Contaminants: Aflatoxines. WHO Food Additives Series 40 (OMS, Genève), pp 359-469.
2. Crane J. C. 1989: Pistachios In: CRC Handbook of fruit set and development, CRC Press, Boca Raton, 389-399.
3. Mojtahedi H, Rabie C J, Lübben A, Styen M & Danesh D, 1979: Toxic Aspergilli from pistachio nuts. Mycopathologia 67 (2), 123-127.
4. Rice R E, 1978: Navel orange worm: a pest of pistachio nuts in California, Entomological Society of America 71 (5), 822-824.
5. Sommer N F, Buchanan J R & Fortlage R J, 1986: Relation to early splitting and tattering of pistachio nuts to Aflatoxine in the orchard. Phytopathology 76, 692-694.

6. Doster M A & Michailides T J, 1994(a): *Aspergillus* moulds and Aflatoxine in pistachio nuts in California, *Phytopathology* 84 (6), 583-590.
7. Doster M A & Michailides T J, 1994 (b): Development of *Aspergillus* moulds in litter from the pistachio trees. *Plant disease* 78 (4), 393-397.
8. Kader A A & Thompson JF, 1992: Postharvest handling systems: Tree nuts. In: *Postharvest Technology of Horticultural Crops* (Ed. A.A. Kader), University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Davis, U.S.A. Publication No. 3311.
9. Beuchat L R, 1978: Relationship of water activity to moisture content in tree nuts. *J. Food Sci.* 43, 754-755. Pitt J D & Hocking A. D, 1997: *Fungi and Food Spoilage* (2nd edition). Blackie Academic & Professionals, London, 375-383.
10. Pearson T C, Slaughter D C and Studer H E, 1994: Physical properties of pistachio nuts. *Transaction of the ASAE* 37 (3), 913-918.
11. Pearson T C & Schatzki T F, 1998: Machine Vision System for automated detection of Aflatoxine-contaminated pistachios. *J. Agric. Food. Chem.* 46, 2248-2252.
12. Schatzki T F, 1995a: Distribution of Aflatoxine in pistachios. 1. Lot distribution. *J. Agric. Food. Chem.* 43, 1561-1565.
13. Schatzki T F, 1995b: Distribution of Aflatoxine in pistachios. 2. Distribution in freshly harvested pistachios. *J. Agric. Food. Chem.* 43, 1566-1569.
14. Schatzki T F & Pan J L. 1996: Distribution of Aflatoxine in pistachios. 3. Distribution in pistachio process streams. *J. Agric. Food. Chem.* 44, 1076-1084.
15. Schatzki T F & Pan J L. 1997: Distribution of Aflatoxine in pistachios. 4. Distribution in small pistachios. *J. Agric. Food. Chem.* 45, 205-207.
16. Schatzki T F, 1998: Distribution of Aflatoxine in pistachios. 5. Sampling and testing U.S. pistachios for Aflatoxine. *J. Agric. Food. Chem.* 46, 2-4.
17. Schatzki T F, 1999: Distribution of Aflatoxine in pistachios. 6. Seller's and buyer's risk. *J. Agric. Food. Chem.* 47, 3771-3775.
18. Schatzki T F, 2000: Distribution of Aflatoxine in pistachios. 7. Sequential sampling. *J. Agric. Food. Chem.* 48, 4365-4368.
19. Salunkhe D K, Adsule R N and Padule D N, 1987: *Aflatoxines in foods and feeds*, Metropolitan Book Co. Pvt. Ltd., New Dehli, India, p. 18.
20. *Official Methods of Analysis*, 17<sup>th</sup> Edition, Vol II, 2000, Horwitz W (ed), AOAC Int, Arlington, VA, Chapter 49.
21. Trucksess M W and Wood G E, 1994: Recent methods of analysis for aflatoxines in foods and feeds, In: *The Toxicology of Aflatoxines: Human Health Veterinary and Significance*. Groopman J D (ed) Eagan Press, pp 409-431.
22. Thuvander A, Moller T, Enghardt Barbieri H, Jansson A, Salomonsson A-C and Olsen M, 2001: Dietary intake of some important mycotoxins by the Swedish population. *Food Addit. Contam.* 18(8), 696-706.
23. Taguchi S, Fukushima S, Sumimoto, T, Yoshida, S and Nishimune T, 1995: Aflatoxines in Foods Collected in Osaka, Japan, from 1988 to 1992. *J. AOACI.* 78, 325-327.
24. Iranian Ministry of Health and Medical Education, Food and Drug Control Labs (2001) "The situation of Aflatoxine contamination in pistachio during March 1998-March 2001".
25. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Food and Microbiology Labs (2001) "The situation of Aflatoxine contamination in pistachio during March 1998-March 2001".
26. WHO Food Safety Issues, GEMS/FOOD Regional Diets, pp. 4-5, 1998.