



Point 11(a) de l'ordre du jour

CX/CF 12/6/18
Février 2012

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES

COMITÉ DU CODEX SUR LES CONTAMINANTS DANS LES ALIMENTS

Sixième session

Maastricht, Pays-Bas, 26 – 30 mars 2012

DOCUMENT DE DISCUSSION SUR L'AVANT-PROJET DE NIVEAUX MAXIMAUX POUR LES FUMONISINES DANS LE MAÏS ET
LES PRODUITS À BASE DE MAÏS ET LES PLANS D'ÉCHANTILLONNAGE ASSOCIÉS

HISTORIQUE

1. A sa 3^{ème} session, le Comité du Codex sur les contaminants dans les aliments (CCCCF) est convenu d'entreprendre des travaux sur l'établissement des niveaux maximaux et des plans d'échantillonnage associés pour les fumonisines (FB1 et FB2) dans le maïs et dans les produits à base de maïs¹. Ces travaux ont été approuvés à la 32^{ème} session de la Commission du Codex Alimentarius². Lors de la 4^{ème} session du CCCC, la délégation brésilienne a présenté le document sur l'avant-projet de niveaux maximaux pour les fumonisines dans le maïs et les produits à base de maïs et les plans d'échantillonnage associés (CX/CF 10/4/8), qui a été examiné par le Comité.

2. S'il est vrai que l'accord a été général sur la nécessité d'établir des niveaux maximaux pour les fumonisines (B1 et B2) dans le maïs et les produits à base de maïs, plusieurs délégations n'ont pas approuvé les niveaux proposés. Les délégations africaines ont exprimé leur préoccupation à l'égard de l'exposition alimentaire aux fumonisines, car le maïs est un aliment de base dans leur pays. Une délégation a proposé l'inclusion de FB3 dans la définition du niveau maximal et certaines délégations ont contesté le plan d'échantillonnage proposé. Les autres détails relatifs à la discussion sur le sujet sont inclus dans le rapport du Comité³. Compte tenu des débats, le Comité est convenu de suspendre ces travaux et a retenu l'avant-projet de niveaux maximaux et les plans d'échantillonnage à l'étape 4 jusqu'à la finalisation de l'évaluation des fumonisines par le JECFA.³

3. Le présent document est une mise à jour du précédent document présenté au Comité (CX/CF 10/4/8), et contient les informations et les recommandations de la dernière évaluation des fumonisines par le JECFA, qui a eu lieu en juin 2011, et qui sont présentées dans le 74^{ème} rapport du JECFA (FAO/OMS, 2011). Lors de l'élaboration du présent document, les observations fournies au 4^{ème} CCCC par la Corée (CRD 18) et par l'Égypte, l'Union européenne, le Ghana, le Japon, le Kenya, la Norvège, les Philippines, la Thaïlande, Cocala et IAEA (CX/CF 10/4/8 add.1) ont également été prises en compte.

4. Le Comité est invité à examiner les conclusions et les recommandations, en particulier les niveaux maximaux proposés et les plans d'échantillonnage associés avant de se prononcer sur la façon de faire avancer la question. Dans l'examen des propositions, le Comité devrait tenir compte des résultats de la 74^{ème} réunion du JECFA (voir point 3a de l'ordre du jour).

INTRODUCTION

5. Les fumonisines sont des mycotoxines structurellement apparentées à un groupe de diesters de propane-1, 2, 3- tricarboxylique acide et divers 2-amino-12, 16-diméthylpolyhydroxyéicosanes dans lesquels les groupes hydroxyles C14 et C15 sont estérifiés avec le groupe carboxyle terminal de l'acide tricarboxylique (figure 1). On a identifié au moins 18 fumonisines analogues et elles ont été classées en catégories A, B, C et P sur la base de leur structure chimique (Sewram et al., 2005, Torres et al., 2007, Kumar et al., 2008). Les fumonisines de la catégorie B, composée principalement de fumonisine B₁ (FB₁), et de fumonisine B₂ (FB₂), sont supposées être les plus abondantes et les plus toxiques des fumonisines analogues naturellement présentes (OMS, 2011). Récemment, 28 isomères de fumonisine B1 ont été détectés dans une culture solide de riz infecté avec des *Fusarium verticillioides*, à l'aide de RP-HPLC/ESI-TOFMS et RP-HPLC/ESI-ITMS (Bartok et al, 2010).

¹ ALINORM 09/32/41, para. 101, annexe.VII.

² ALINORM 09/32/REP, annexe VI.

³ ALINORM 10/33/41, para. 85-94.

13. Dans les études sur les espèces animales révisées par le JECFA au cours des deux réunions, le foie et les reins ont été identifiés comme cibles de FB1. A sa 56^{ème} réunion, le JECFA a attribué une dose journalière maximale tolérable provisoire (DJMTP) de 2 µg/kg p.c./jour à FB1, FB2 et FB3, seules ou en association, sur la base de la NOEL de 0,2 mg/kg p.c./jour (toxicité rénale chez les souris) et d'un facteur d'incertitude de 100.

14. A sa 74^{ème} réunion, le JECFA a identifié quatre études menées sur des animaux appropriées pour fournir les données permettant d'obtenir une estimation de la dose repère (BMD). La modélisation a été faite à l'aide du logiciel pour BMD de l'USPA et les modèles de correspondance acceptable ($P > 0,05$) ont été sélectionnés pour calculer les valeurs de BMD₁₀ et de BMDL₁₀ pour une réponse à la dose repère (BMR) à 10% de risque supplémentaire. La BMDL₁₀ la plus faible était de 165 µg/kg p.c./jour pour FB1 pure (hépatocytes mégaloctyiques chez la souris mâle). En utilisant un facteur d'incertitude de 100, le JECFA a calculé une DJMTP de 2 µg/kg p.c./jour, confirmant la DJMTP de groupe établie antérieurement.

15. Les études épidémiologiques chez les humains examinées au cours des deux évaluations des fumonisines menées par le JECFA ont indiqué qu'il y avait un lien entre l'occurrence de *Fusarium verticillioides* dans le maïs et l'incidence de cancer œsophagien dans les différentes régions du monde. Cependant, la relation dose-réponse n'a pas encore été établie, et le mécanisme toxicologique n'a pas non plus été encore élucidé. Par ailleurs, les différences géographiques de la démographie, les groupes ethniques, la susceptibilité génétique, la culture, la situation économique et nutritionnelle, affectent tous le taux de cancer œsophagien.

16. Une étude portant sur le lien entre l'exposition à la fumonisine et le retard de croissance chez les enfants en République unie de Tanzanie évaluée lors de la 74^{ème} réunion du JECFA a indiqué que les nourrissons dont l'exposition estimée à la fumonisine dépassait la DJMTP de 2 µg/kg p.c. étaient sensiblement plus petits et pesaient moins lourd que ceux dont l'exposition était inférieure à la DJMTP. Ces résultats correspondent aux études sur les animaux dans lesquelles l'exposition aux fumonisines a été associée à la réduction du gain de poids et de l'efficacité à valoriser les aliments (FAO/OMS, 2011).

17. Le JECFA a évalué des études décrivant des taux plus élevés de malformations du tube neural dans les régions d'Afrique du Sud, de la Chine et des Etats-Unis quand les aliments à base de maïs consommés contenaient des niveaux relativement élevés de fumonisines. Comme la carence en folate a été impliquée dans le développement des malformations du tube neural, le blocage de l'ingestion du folate par les fumonisines a pu jouer un rôle à cet égard. Une nouvelle étude sur l'incidence des malformations du tube neural sur les américains d'origine mexicaine à la frontière texane/mexicaine, associée aux études toxicologiques et aux études épidémiologiques antérieures, confirme que l'exposition aux fumonisines des femmes enceintes peut être un facteur de contribution au risque accru de malformations du tube neural pour leurs bébés (FAO/OMS, 2011).

18. L'Agence Internationale pour la recherche sur le cancer (IARC) a classé FB1 comme éventuellement cancérigène pour les humains (Groupe 2B) (IARC, 2002).

MÉTHODE D'ANALYSE

19. Les méthodes ELISA ont récemment fait l'objet d'une grande attention car elles peuvent être utilisées aux fins du dépistage rapide sur le terrain ou en laboratoire (Castells et al., 2008). Cependant, ces méthodes surestiment généralement la concentration des fumonisines présentes dans les échantillons en raison de la réactivité croisée des anticorps avec les composés qui sont structurellement apparentés aux fumonisines (Bird et al., 2002; Jackson et Jablonski, 2004).

20. Les fumonisines sont des molécules polaires, solubles dans l'eau et dans les solvants polaires et sont par conséquent parfaitement adaptées à la détermination par CLHP en phase inverse. Compte tenu du manque de chromophores sensibles aux UV, des niveaux faibles de fumonisines peuvent être détectés après dérivatisation des extraits d'échantillons suivi de la détection par fluorescence (Ndube et al., 2011). En général, les fumonisines peuvent être extraites du maïs ou des produits à base de maïs à l'aide d'eau-méthanol ou d'eau-acétonitrile. Pour le nettoyage, les cartouches C18, SAX ou les colonnes d'immuno-affinité sont généralement utilisées (Sydenham et al., 1996; Solfrizzo et al., 2001, Caldas et Silva, 2007). La limite de quantification (LOQ) des méthodes CLHP/fluorescence se situe dans la fourchette de 0,02 à 0,5 µg/kg. La méthode CLHP/fluorescence est la méthode officielle de AOAC-IUPAC [995.15] pour les grains de maïs à des concentrations de 0,5 - 8 µg/g FB1 ou 0,8 -12,8 µg/ de fumonisines totales (Sydenham et al., 1996c). Wang et al. (2008) a analysé FB1, FB2, FB3 et FB4 par CLHP couplée à un détecteur évaporatif de dispersion laser sans dérivatisation préalable des échantillons, avec une LOQ de 0,3 mg/kg

21. Les méthodes de couplage chromatographique CL/MS ou CL/MS-MS ont été largement utilisées au cours des dernières années car elles fournissent une analyse quantitative ainsi que la confirmation de l'identité des fumonisines. Silva *et al.* (2009) a montré que CPL/SM-SM fournit une sensibilité plus élevée (12 µg/kg pour FB1 et FB2) par rapport à CPL/SM (40 µg/kg pour les deux fumonisines), et la détection par fluorescence (20 µg/kg pour FB1 et 15 µg/kg pour FB2), et s'est révélée être plus précise. Une étude de validation interlaboratoire pour les fumonisines B₁ et B₂ dans le maïs a été signalée par Senyuva *et al.* (2010); y participaient 12 laboratoires dans 11 pays. L'échantillon a été extrait à l'aide d'eau-méthanol-acétonitrile, nettoyé sur colonne d'immuno-affinité et les fumonisines analysées par CL/SM. Les valeurs des coefficients de variation relative pour la répétabilité intralaboratoire (RSD_r) variaient de 1,9 à 12,6%, et pour la reproductibilité interlaboratoire (RSD_R), de 18,2 à 25,5%. Les valeurs du HorRat pour r et R étaient toutes inférieures à 2, signifiant que la méthode est adéquate en tant que méthode réglementaire pour l'application des limites pour les fumonisines dans le maïs. Une méthode CL-SM/SM pour la détection de 23 toxines dans des échantillons d'aliments pour animaux, y compris FB1, FB2 et FB3 a été signalée par Monbaliu *et al.* (2010).

22. Les méthodes de quantification des fumonisines et de leurs métabolites hydrolysés dans les matrices animales comprennent celles qui ont été signalées par Fodor *et al.* (2008), Pagliuca *et al.* (2005), et Gazotti *et al.* (2011). Par la méthode de Gazotti *et al.* (2011) des échantillons de foie de porc ont été soumis à extraction à l'aide d'eau-méthanol, nettoyés par cartouches Oasis HLB et FB₁ et FB₂ et leurs métabolites hydrolysés ont été analysés par CL-SM/SM. La LOQ 10 était en µg/kg pour tous les échantillons analysés.

23. Les fumonisines liées à l'amidon et aux protéines présentes dans les aliments soumis à un traitement thermique pendant la transformation, comme les céréales pour petit déjeuner et les tortillas, ne peuvent pas être détectées par analyse conventionnelle. Dans une méthode décrite par Kim *et al.* (2003), la FB₁ fixée sur la protéine a été extraite avec 1% sodium dodécylsulfate (SDS), a été hydrolysée avec 2 N KOH, l'extrait a été nettoyé par ELS avec support polymérique OASIS et les fumonisines déterminées par CLHP en tant que HFB₁ (FB₁ hydrolysée). Cette méthode a ensuite été améliorée par Park *et al.* (2004) par complexion du SDS avec le bleu de méthylène, et en éliminant son interférence dans l'analyse CLHP. Dall'Asta *et al.* (2008) a signalé une méthode CL/SM/SM pour la quantification simultanée des fumonisines libres et masquées dans le maïs et les produits à base de maïs.

24. A sa 74^{ème} réunion, le JECFA a signalé que les problèmes actuels liés aux méthodes d'analyse comprennent le manque de matériaux de référence adéquats pour la validation des méthodes et l'indisponibilité de normes, notamment pour les fumonisines hydrolysées (HFB₁, HFB₂, HFB₃) et FB₆.

PLANS D'ÉCHANTILLONNAGE

25. Une méthode qui permet d'évaluer l'efficacité d'un plan d'échantillonnage des fumonisines est basée sur la connaissance de la variabilité associée aux procédures d'essai pour une fumonisine donnée et la distribution des résultats des essais répétés sur les échantillons prélevés dans un lot de maïs contaminé. Un plan d'échantillonnage pour les fumonisines est défini par une procédure d'essai et un niveau maximal. Le choix du nombre et de la taille des échantillons de laboratoire est un compromis entre la minimisation des risques (les faux positifs et les faux négatifs) et les coûts liés à l'échantillonnage et aux restrictions commerciales. (Whitaker *et al.*, 2007).

26. Dans une étude menée par Whitaker *et al.* (1998) sur les fumonisines dans le maïs décortiqué, un échantillon global d'environ 45 kg a été prélevé dans 24 lots de maïs décortiqué qui avait été récolté en Caroline du Nord, aux États-Unis. Chaque échantillon global a été divisé au riffle en échantillons d'essai de 1,1 kg chacun, et ceux-ci ont été broyés dans un broyeur Romer. A un niveau de contamination de 2 mg/kg dans un lot donné, le coefficient de variation (CV) associé à l'échantillonnage (échantillon de 1,1 kg de maïs décortiqué) était de 17%, le CV associé à la préparation des échantillons (prise d'essai de 25 g) était de 9,1%, et le CV relatif aux analyses (CLHP et 1 aliquote quantifiée) était de 9,7%. Ces valeurs étaient indépendantes du type de fumonisine. Le coefficient de variation associé à la procédure d'essai totale était de 45%, autrement dit du même ordre de grandeur que celui qui mesure l'aflatoxine dans le maïs décortiqué à l'aide d'une procédure d'essai similaire.

27. Dans une étude de l'échantillonnage portant sur des échantillons de maïs décortiqué de qualité alimentaire commercialisé au Nigeria en 2002, une moyenne de 17 prises d'essai, de 100 g chacune, a été prélevée de chacun des 86 lots de maïs (Whitaker *et al.*, 2007). Chaque prise d'essai a été finement moulue dans un broyeur Romer et un sous-échantillon d'analyse de 25 g a été prélevé pour l'analyse de FB1 par CLHP. La variance, l'écart-type et le coefficient de variation parmi les 100 échantillons utilisés pour détecter les fumonisines dans la cargaison de maïs de concentration réelle de 2 µg/g étaient de 1,91, 1,38 et 69% respectivement. L'incertitude associée à la procédure d'essai pour les fumonisines était d'un ordre de grandeur similaire à l'incertitude antérieurement établie par les auteurs aux États-Unis (Whitaker *et al.*, 1998).

28. Actuellement, il n'y a aucune étude disponible pour évaluer les plans d'échantillonnage pour les fumonisines contenues dans la farine/semoule de maïs. Dans CX/CF 10/4/8, un plan d'échantillonnage pour la farine/semoule de maïs a été proposé à la 4^{ème} session du CCCF. Plusieurs courbes de caractéristiques de fonctionnement ont été présentées dans le document pour examen par le Comité. Elles ont été préparées par Dr. Thomas Whitaker à l'aide des données de laboratoire utilisées dans son étude menée aux États-Unis sur les grains de maïs (Whitaker *et al.*, 1998). Une distribution normale a été utilisée pour calculer les courbes des caractéristiques de fonctionnement (Thomas Whitaker, *communication personnelle*).

29. La variabilité totale de la procédure d'essai pour les fumonisines dans la farine de maïs (ou tout autre matériau broyé) est la somme de la variance liée à l'échantillonnage et de la variance liée à l'analyse. Vu que le matériau est broyé, il n'y a pas de variance pour la préparation de l'échantillon. Bien qu'aucune donnée de laboratoire ne soit disponible, il est probable que la variabilité liée à l'échantillonnage pour la farine (V_{sf}) soit très inférieure à la variabilité liée à l'échantillonnage pour le grain broyé dans le broyeur Romer (V_{sr}) parce que la taille des particules de la farine transformée est très inférieure à celle des particules broyées dans le broyeur Romer ($V_{sf} \ll V_{sr}$). La variabilité analytique serait environ la même pour la farine transformée et le grain broyé dans le broyeur Romer. La variance de l'échantillonnage serait une composante plus importante de la variance totale pour l'échantillonnage du grain broyé dans le broyeur Romer. L'efficacité du plan d'échantillonnage est affectée par la taille des particules. Pour une taille d'échantillon donnée, plus la particule est petite (davantage de particules par unité de masse), plus la variabilité de l'échantillonnage est faible, moins de bons lots seront rejetés (risque de l'exportateur), et moins de mauvais lots seront acceptés (risque de l'importateur) (Whitaker BT, *communication personnelle*, 2012).

30. Concernant les données relatives au grains de maïs broyés dans le broyeur Romer, il sera prévu un échantillon plus grand que celui requis pour la farine transformée pour les mêmes niveaux de risque, à savoir que moins d'échantillons de farine transformée seront nécessaires pour les mêmes niveaux de risque (Whitaker BT, *communication personnelle*, 2012).

ASPECTS AGRICOLES, TECHNOLOGIQUES ET COMMERCIAUX

31. Le Code d'usages pour la prévention et la réduction de la contamination des céréales par les mycotoxines y compris l'annexe sur les fumonisines (CAC/RCP 51-2003) recommande de planifier avec soin le moment de la récolte du maïs, car il a été démontré que le maïs cultivé et récolté pendant les mois chauds est susceptible de contenir des niveaux de fumonisines nettement supérieurs à ceux du maïs cultivé et récolté pendant les mois plus froids de l'année.

32. Alors que le maïs est sensible à la perte d'eau et est soumis au stress hydrique quand l'activité de l'eau (a_w) est d'environ 0,98, les espèces *Fusarium* peuvent se former bien au-dessous de cette valeur et même jusqu'à ce que l'activité de l'eau diminue à près de 0,90. Par conséquent, en situation de stress dû à la sécheresse, le champignon se développe facilement et le contrôle des fumonisines dans les cultures où une infection fongique s'est produite pendant la pré-récolte est extrêmement difficile (Pitt JI, *communication personnelle*, 2009). Le stress dû à la sécheresse peut être minimisé par l'irrigation (Cavaliere *et al.*, 2007). De même, la fertilisation peut être utilisée pour minimiser le stress nutritionnel et des méthodes de plantation optimale et de désherbage peuvent être utilisées pour minimiser le stress lié à la population (Hasegawa *et al.*, 2008).

33. Les résultats de la recherche sur les pratiques agronomiques indiquent que: (a) les taux d'infection fongique sont plus élevés dans les champs où du maïs a été précédemment cultivé, notamment quand les résidus de ces cultures restent dans le champ, (b) l'incidence de la pourriture fusarienne des grains de maïs est plus élevée en climat chaud dans des conditions de sécheresse, et (c) le maïs fraîchement récolté doit être immédiatement séché jusqu'à un niveau d'humidité adéquat, puis entreposé (Bacon et Nelson, 1994; Munkvold et Desjardins, 1997; Warfield et Gilchrist, 1999; Miller, 1994; Fandohan *et al.*, 2005).

34. L'infection fongique et la production des mycotoxines dans les produits de culture biologique et de culture conventionnelle sont toujours des sujets extrêmement controversés (Magkos *et al.*, 2006) et il n'est scientifiquement pas prouvé que les différences observées entre les denrées conventionnelles et les denrées biologiques produiraient quelque effet objectivement mesurable sur la santé des consommateurs (Ariño *et al.*, 2007).

Stabilité des fumonisines pendant la transformation

35. Le destin des fumonisines pendant la transformation est affecté par un grand nombre de facteurs, y compris la température, l'humidité du produit, la concentration de la toxine dans le produit brut et la présence d'autres ingrédients dans l'aliment transformé. Les opérations de transformation comprennent le triage, l'usinage (sec et humide), le traitement thermique, l'extrusion et la nixtamalisation.

36. Le triage et le nettoyage peuvent diminuer la concentration des fumonisines en éliminant la matière contaminée, mais ne détruisent pas les mycotoxines. Les grains de maïs brisés contiennent des niveaux de fumonisines de près de 10 fois supérieurs aux grains intacts. Les stratégies visant à séparer les grains sains des grains contaminés comprennent l'élimination du maïs contaminé dans la partie qui flotte en surface lors du traitement en solution saturée de chlorure de sodium (Shetty & Bhat, 1999) et le nettoyage séquentiel des grains de maïs entreposés suivi du passage sur la table densimétrique (Malone *et al.*, 1998). Afolabi *et al.* (2006) ont proposé le triage visuel des grains de maïs comme technique de réduction des niveaux de fumonisines pour les petits agriculteurs.

37. Une étude menée auprès de trois moulins à maïs a montré que les fumonisines sont réparties le long du circuit de la mouture approximativement dans les mêmes proportions que leur occurrence dans la structure de la graine de maïs (Scudamore & Patel, 2009). Les concentrations de mycotoxines détectées dans les gruaux et les farines qui sont pour la plupart obtenus généralement à partir de l'endosperme contiennent les niveaux de mycotoxines les plus faibles et les concentrations sont étroitement liées à la taille des particules. Les niveaux de fumonisines dans les produits moulus varient considérablement avec les conditions d'usinage et la nature et l'état de chaque cargaison de maïs. Les niveaux détectés dans la farine de maïs pourraient représenter de 26 à 310% de ceux présents dans le grain de maïs initial.

38. La mouture humide est utilisée pour obtenir l'amidon, le germe et les fibres de maïs. La mouture à sec produit le son (obtenu en éliminant le péricarpe) et le germe, suivi des fragments obtenus en diminuant la taille des particules – gruaux, semoule et farine de maïs (Alexander 1987). Les fumonisines ne sont pas censées être détruites pendant ce processus et elles sont présentes dans tous les fragments, en concentrations plus élevées dans le son et le germe (Katta et al. 1997, Brera et al. 2004). Rensik (2006) a montré que le germe et le son contenaient des niveaux de fumonisines 29 fois plus élevés que la semoule et les gruaux de maïs, 13 fois plus élevés que la farine de maïs et 3 fois plus élevés que le maïs entier.

39. Les effets du traitement thermique sur la stabilité des fumonisines varient selon le processus, la température et de la durée. De nombreuses études ont signalé qu'une diminution importante des niveaux de fumonisine se produit quand la température du processus est > 150°C, comme celui qui est utilisé pour la production à sec ou à l'humidité de la semoule de maïs (Scott & Lawrence, 1995), la friture des chips de maïs (Jackson et al., 1997), la cuisson au four, le rôtissage et la cuisson alcaline (Castelo et al. 1998, Jackson et al. 1997, Katta et al. 1999), et le floconnage, la cuisson et la torréfaction (de Girolamo et al., (2001) Dans toutes ces études, les fumonisines ont été analysées par la méthode traditionnelle qui ne détecte pas les fumonisines liées (cachées, masquées).

40. Bullerman et al. (2008) ont montré que l'extrusion au glucose donne FB1(*N*-(déoxy-D-fructos-1-yl), en plus de FB1 hydrolysée (HFB1) et de FB1 N-carboxyméthyle. Seefelder et al (2003) ont montré que FB1 et HFB1 sont capables de se lier aux polysaccharides et aux protéines par le biais de leurs deux chaînes latérales d'acide tricarballoylique. Il existe actuellement des méthodes analytiques de détection des fumonisines liées dans la matrice des aliments.

41. Voss et al (2008) ont évalué la toxicité de gruaux de maïs dopés à la fumonisine B₁ extrudée par 10% de glucose administrés à des rats. À une exception près, les produits d'extrusion fermentés et dopés à la fumonisine B₁ ont provoqué des lésions rénales modérément sévères et la diminution du poids des reins, effets normalement observés chez les rats exposés aux fumonisines. Les lésions chez les rats ayant consommé des gruaux contaminés après extrusion au glucose étaient substantiellement moins sévères et le poids des reins était inchangé. Les auteurs ont conclu que l'extrusion au complément de glucose est potentiellement utile pour réduire à un niveau sans risque la toxicité des fumonisines dans les produits à base de maïs. Lu et al (2002) étaient parvenu à la même conclusion et avaient montré que le glucose s'allie aux fumonisines par le biais du groupe amine. Dall'Asta et al. (2010), ont cependant détecté une quantité plus élevée de fumonisines totales décelables dans les aliments digérés *in vitro* par rapport à la matrice non digérée, quantité même supérieure à celle calculée par application de la procédure d'hydrolyse.

42. La nixtamalisation est le processus de fabrication de la farine de type masa qui sert à préparer les tortillas et autres produits à base de maïs et qui consiste à bouillir et à tremper le maïs dans une solution d'hydroxyde de calcium. Le processus peut réduire la concentration des fumonisines de 50 à 80%, avec 35 à 60% des fumonisines détectées sous leur forme hydrolysée (Burns et al., 2008; Dombrink-Kurtzman et al., 2000). Il a été signalé que la procédure de nixtamalisation modifiée, par incorporation de diverses combinaisons de peroxyde d'hydrogène et de bicarbonate de sodium outre l'hydroxyde de calcium, engendre une réduction de 100% de FB₁, en revanche la masa obtenue a démontré une toxicité d'environ 60% de celle du maïs non traité dans la procédure de dosage sur artémia (Park et al., 1996). Burns et al. (2008) avaient laissé entendre que les interactions des matrices de mycotoxines dans le maïs pendant la nixtamalisation réduisent la biodisponibilité et la toxicité de FB₁ chez les rats.

43. Palencia et al (2003) ont découvert que les tortillas préparées par la méthode de nixtamalisation traditionnelle des communautés maya contenaient FB₁, FB₂ et FB₃ et leurs homologues hydrolysés. Il y avait des quantités équimolaires de FB₁ et de HFB₁ dans les tortillas, mais les fumonisines totales avaient été réduites de 50%. Ils ont aussi découvert une élévation réduite de la sphinganine dans les cellules traitées aux extraits de tortillas par rapport aux cellules traitées aux extraits de maïs contaminé.

44. La fermentation à l'éthanol du maïs contaminé par les fumonisines entraîne une très légère dégradation des toxines; la plupart des toxines reste dans les grains, les moûts et les solubles de distillerie (Bennett et Richard, 1996; Bothast et al., 1992). Les fumonisines ont aussi été détectées dans la bière, ce qui indique que les toxines survivent aux conditions (de température et de pH) qui prédominent pendant le brassage (Scott & Lawrence, 1995; Scott et al., 1997; Hlywka & Bullerman, 1999).

45. Visconti et al. (1996) ont démontré que l'efficacité de l'irradiation-gamma (15 kGy) stérilisait efficacement la farine de maïs, mais n'engendrait qu'une réduction d'environ 20% de sa teneur en fumonisines. Ferreira-Castro et al (2007) ont découvert la possibilité de diminuer les niveaux de fumonisines en irradiant le maïs à 5 ou 10 kGy; cependant, à 2 kGy, les champignons survivants (36%) peuvent produire plus de fumonisines que les champignons de contrôle non irradiés. Aziz et al. (2007) ont découvert que le dénombrement viable de *Fusarium* dans les semences diminuait quand les niveaux des doses de radiation augmentaient; une dose de 7 kGy était suffisante pour détruire complètement FB₁ dans le blé et le maïs.

OCCURRENCE DANS LES ALIMENTS

46. L'occurrence des fumonisines dans le maïs et autres cultures dans le monde varie considérablement en fonction d'un grand nombre de facteurs dont les conditions environnementales, le degré de dégradation par les insectes, l'hybride de maïs cultivé et les pratiques agronomiques utilisées.

47. Cette occurrence est bien documentée et analysée dans la documentation et par le JECFA (FAO/OMS, 2001; FAO/OMS, 2011). En raison de leur solubilité dans l'eau, il est peu probable que les fumonisines produisent une bioaccumulation dans les tissus animaux; soit elles n'ont pas été détectées soit elles sont détectées à des niveaux extrêmement faibles dans le lait, les œufs et la viande (Prelusky et al., 1996; Miller et al., 1996). De faibles niveaux de fumonisines ont été détectés dans la bière commerciale, probablement suite à l'emploi de gruaux de maïs en remplacement ou en supplément de l'emploi traditionnel de l'orge dans le processus de brassage (Scott et Lawrence, 1995; Hlywka et Bullerman, 1999, Maenetje et al., 2007)

48. A sa 74^{ème} réunion, le JECFA (FAO/OMS, 2011) a reçu des informations sur l'occurrence naturelle des fumonisines d'un certain nombre de pays (Argentine, Australie, Brésil, Canada, Chine, Ghana, Japon, République de Corée, Singapour, République unie de Tanzanie, Uruguay, Etats-Unis) et des résultats ont été fournis par les États membres de l'Union européenne (Autriche, Belgique, Chypre, République tchèque, Estonie, France, Allemagne, Hongrie, Lituanie, Luxembourg, Pays-Bas, Slovaquie et Espagne) par le biais de EFSA/AESA. Par ailleurs, les données publiées dans la documentation ouverte à tous dans 47 pays ont aussi été examinées lors de l'évaluation. Les données d'occurrence étaient pour la plupart sur FB1, FB2 ou FB3, avec des études récentes sur quelques échantillons naturellement contaminés par 3-*epi*-FB3, FB4 et FB6. Toutes les données d'occurrence ont été classées selon les catégories d'aliments utilisées dans les régimes alimentaires par modules de consommation du GEMS/Aliments (OMS, 2006).

49. Les données relatives à 10.354 échantillons analysés pour détecter FB1 dans les aliments figurent dans le tableau 1 (43% provenant des Amériques, 34% d'Asie, 12% d'Afrique, 10% d'Europe et 0,1% d'Océanie) (FAO/OMS, 2011). Plus de 80% des échantillons analysés concernaient le maïs. La moyenne des niveaux de FB1 dans le maïs varie largement entre les modules de consommation du GEMS/aliments et à l'intérieur même de ces modules, avec des niveaux de limite inférieure minimale et de limite supérieure maximale de 84 et 4323 µg/kg, respectivement. Le niveau de la limite supérieure de la moyenne mondiale totale pour FB1 dans le maïs était de 1.260 µg/kg et pour toutes les autres denrées, elle ne dépassait pas 100 µg/kg.

Tableau 1. Niveaux des fumonisines B1 dans les denrées alimentaires (FAO/OMS, 2011)

Denrée alimentaire	Nombre d'échantillons individuels	% échantillon < LOD ou LOQ	Moyenne mondiale totale* (µg/kg)		Moyenne (µg/kg) dans les modules de consommation du GEMS/Aliments (estimations des limites inférieure et supérieure)	
			Limite inférieure	Limite supérieure	Minimum	Maximum
Orge	175	82	35	44	0	212
Sarrasin	95	100	0	3	0	3
Figues séchées	230	25	238	250	238	250
Arachides décortiquées	16	81	97	105	97	105
Maïs	8.569	30	1.237	1.260	84	4.323
Millet	42	86	0	8	0	8
Avoine	17	88	1	10	1	10
Riz	242	96	2	31	0	100
Sorgo	17	76	35	74	0	151
Soja (sec)	137	53	33	34	0	84
Maïs doux, en grains	740	66	84	94	0	397
Blé	74	80	38	48	0	221

* Moyenne mondiale totale des limites inférieure et supérieure obtenue en réunissant les données de l'ensemble des modules de consommation du GEMS/Aliments; pour calculer les valeurs moyennes, les échantillons dans lesquels la concentration était inférieure à la LOQ ou la LOD ont été considérés à la valeur zéro (estimations de la limite inférieure) ou la limite elle-même (estimations de la limite supérieure).

50. Les données relatives à 12.392 échantillons sur les fumonisines totales figurant dans le tableau 2 (49% provenant des Amériques, 27% d'Asie, 13% d'Europe, 11% d'Afrique et 0,1% d'Océanie). Plus de 80% des échantillons concernaient le maïs. La moyenne des niveaux de FB1 dans le maïs varie largement entre les modules de consommation du GEMS/aliments et à l'intérieur même de ces modules, avec des niveaux de limite inférieure minimale et de limite supérieure maximale de 174 et 5921 µg/kg, respectivement.

51. Les niveaux inférieurs de la contamination par les fumonisines détectés dans les aliments traités thermiquement, comme la farine de maïs précuite, les échantillons de corn flakes et de produits de grignotage analysés dans un grand nombre d'études peuvent s'expliquer par les fumonisines liées qui se sont formées pendant la transformation et qui ne peuvent pas être détectés par les méthodes analytiques courantes (Seefelder et al., 2003; Lu et al., 2002). Kim et al. (2003) ont détecté une moyenne de 2,6 fois plus de FB1 présentes sous la forme liée dans les corn flakes par rapport aux analyses conventionnelles. Park et al. (2004) ont détecté environ 1,3 fois plus de FB1 sous la forme liée par rapport à la FB1 extractible dans 15 échantillons d'aliments à base de maïs de cuisson alcaline, comme les tortillas et les chips de maïs analysées.

52. Dall'Asta et al (2009) a montré que les fumonisines liées se formaient à des niveaux plus élevés que les formes libres dans 21 échantillons de produits à base de maïs analysés. La concentration médiane était de 1,43 mg/kg pour les produits de grignotage, 0,15 mg/kg pour les pâtes et le pain et 0,09 mg/kg pour les cornflakes. Les auteurs ont conclu que l'occurrence des mycotoxines liées ou masquées devrait être prise en considération dans les études d'évaluation des risques.

Tableau 2. Niveaux des fumonisines totales dans les denrées alimentaires (FAO/OMS, 2011)

Denrée	Nombre d'échantillons individuels	Moyenne mondiale totale* (µg/kg)		Moyenne (µg/kg) dans les modules de consommation du GEMS/Aliments (estimations des limites inférieure et supérieure)	
		Limite inférieure	Limite supérieure	Minimale	Maximale
Orge	123	51	102	0	340
Sarrasin	96	0	10	0	10
Maïs	10.759	1651	1.681	174	5921
Millet	42	0	18	0	18
Avoine	26	1	23	0	200
Riz	207	1	59	0	104
Soja (sec)	106	6	11	0	30
Maïs doux, en grains	939	131	164	0	549
Blé	94	0	29	0	200

* Moyenne mondiale totale des limites inférieure et supérieure obtenues en réunissant les données dans l'ensemble des modules de consommation du GEMS/Aliments; pour calculer les valeurs moyennes, les échantillons dans lesquels la concentration était inférieure à la LOQ ou la LOD ont été considérés à la valeur zéro (estimations de la limite inférieure) ou comme la limite elle-même (estimations de la limite supérieure).

53. Les informations sur l'occurrence naturelle des fumonisines dans les matériaux de consommation animale ont été extraites des données soumises par un certain nombre de pays (Brésil, Chine, Japon, Norvège, Afrique du Sud et Uruguay), des résultats soumis par les États membres de l'Union européenne par le biais de EFSA/AESA (Belgique, Estonie, France, Hongrie, Lituanie, Pays-Bas et Slovaquie), un fournisseur commercial d'aliments pour animaux et les enquêtes publiées. Les données relatives à 7.060 échantillons provenant d'Afrique (4,5%), d'Amérique (13,3%), d'Asie (69,8%), d'Europe (4,5%) et d'Australie et de Nouvelle-Zélande (7%) ont été sélectionnées pour évaluation (tableau 3). Les niveaux détectés dans les animaux pour aliments à base de maïs sont du même ordre que ceux détectés dans le maïs de consommation humaine (tableau 2).

Tableau 3. Niveaux des fumonisines (B1+B2+B3) dans les aliments pour animaux (FAO/OMS, 2011)

Denrée	Nombre d'échantillons individuels	% échantillon < LOD ou LOQ	Concentration moyenne*	
			Limite inférieure	Limite supérieure
Céréales	384	87	97	313
Semoule de gluten de maïs	18	-	3807	3807
Grains de distillerie avec solubles	185	14	1077	1110
Grains de distillerie plus solubles	78	23	825	883
Aliments pour animaux finis	2353	30	691	765
Maïs	1927	24	1565	1625
Autres aliments pour animaux	1391	75	339	524
Riz	20	95	38	275
Produits d'ensilage	248	79	184	383
Produits à base de soja	362	93	52	283
Blé	88	89	28	250

*Les échantillons dans lesquels la concentration était inférieure à la LOQ ou LOD ont été considérés à la valeur zéro (estimations de la limite inférieure) ou comme la limite elle-même (limite supérieure).

54. Le résumé des données relatives aux produits à base de maïs soumises par les gouvernements nationaux à la 4^{ème} session du CCCF figurent dans le tableau 4. Une grande variété de produits ont été analysés et seuls les résultats concernant les plus courants d'entre eux sont montrés. La semoule/farine de maïs a été le produit pour lequel le plus grand nombre d'échantillons a été analysé. Ce sont des produits avec des gruaux de tailles différentes obtenus après le dégermage du grain et la mouture du maïs. Au moins 61% des échantillons de semoule/farine de maïs étaient positifs aux fumonisines, et dans la plupart des cas, les niveaux moyens étaient < 10.000 µg/kg. Dans un même pays, les niveaux de fumonisines détectés dans la semoule de maïs étaient supérieurs à ceux détectés dans la farine de maïs. Les céréales pour petit déjeuner, les tortillas et le maïs éclaté présentaient des niveaux moyens de 0,20 à 0,60 mg/kg dans la majorité des cas. Aucune fumonisine ou des niveaux très faibles ont été détectés dans les échantillons d'aliments pour bébé analysés.

Tableau 4. Niveaux de fumonisines (µg/kg) dans les produits à base de maïs soumis par les gouvernements nationaux à la 4^{ème} session du CCCF (modifiés et révisés à partir de CX/CF 10/4/8)

Denrée	Pays	Échantillons analysés	% positifs ^a	Résultats	Max.	Moyenne ^b	Sd
Semoule de maïs	États-Unis	268	62,7	B1+B2	4070	530	..c
Farine de maïs	États-Unis	130	61,5	B1+B2	3600	520	..d
Farine de maïs	Finlande	7	85,7	B1+B2	1680	510	720
Farine de maïs et polenta	Royaume-Uni	41	100	B1+B2	20435 ^e	2824	4765
Farine de maïs	Royaume-Uni	51	85,4	B1+B2	2696	468	692
Polenta	Belgique	20	90	B1+B2	10850	590	580
Cornflakes/ céréales pour petit déjeuner	Australie	12	0	B1+B2	<100	-	-
Cornflakes/	Belgique	51	39,2	B1+B2	6700	238	930

Denrée	Pays	Échantillons analysés	% positifs ^a	Résultats	Max.	Moyenne ^b	Sd
céréales pour petit déjeuner							
Cornflakes/ céréales pour petit déjeuner	Finlande	9	66,7	B1+B2	640	70	80
Cornflakes	Japon	101	40,6	B1	103	15	12
				B2	190	10	1
Cornflakes	Royaume-Uni	44	72,3	B1+B2	440	104	98,4
Cornflakes/ céréales pour petit déjeuner	États-Unis	21	57,1	B1+B2	2300	510	-
Chips de maïs	Belgique	28	53,6	B1+B2	300	170	290
Chips de maïs	Finlande	9	66,7	B1+B2	200	70	70
Produits de grignotage au maïs	Japon	90	85,6	B1	1670	68	180
				B2	600	19	64
Produits de grignotage aux maïs	Royaume-Uni	48	76,1	B1+B2	300	90	60
Maïs éclaté	Belgique	60	20	B1+B2	260	87	34
Maïs éclaté	Chine	3	100	B1+B2	246	105	120
Maïs éclaté	Finlande	2	0	B1+B2	-	-	-
Maïs éclaté	Japon	69	76,8	B1	354	49	70
				B2	94	12	16
Maïs éclaté	Royaume-Uni	9	44,4	B1+B2	580	130	190
Maïs éclaté	États-Unis	109	16,5	B1+B2	1630	590	-
Taco	Finlande	1	100	B1+B2	300	-	-
Tortilla	Belgique	30	36,7	B1+B2	840	200	270
Tortilla/chips de tortilla/taco	Royaume-Uni	62	82	B1+B2	1370	247	238
Aliments pour bébé	Belgique	40	0	B1+B2	<75	-	-
Aliments pour bébé	Finlande	1	0	B1+B2	<30	-	-
Aliments pour bébé	Royaume-Uni	47	26	B1+B2	320	60	50

^a pour FB1; ^b les échantillons < LOQ sont au niveau de LOQ; ^c 9,6% des échantillons avec des niveaux supérieurs à 2 mg/kg; ^d 6,4% des échantillons avec des niveaux supérieurs à 2 mg/kg; ^e les niveaux les plus élevés (> 10.000 µg/kg) détectés dans les échantillons RASS de semoule de maïs organique provenant du Royaume-Uni.

55. Bien que le JECFA ait été chargé par le CCCF d'évaluer la cooccurrence des fumonisines avec d'autres mycotoxines, cette évaluation n'a pas pu être réalisée pour manque de disponibilité de niveaux simultanés de fumonisines et d'autres mycotoxines dans des échantillons individuels (FAO/OMS, 2011).

EXPOSITION HUMAINE ET ÉVALUATION DES RISQUES

56. L'exposition aux fumonisines est principalement liée à la consommation de maïs et de produits à base de maïs. La quantité ingérée peut varier considérablement, en fonction des niveaux de fumonisines dans le maïs /produits à base de maïs et la quantité de maïs /produits à base de maïs consommés par les différents individus ou populations.

57. A sa 74^{ème} réunion, le JECFA a examiné les évaluations nationales réalisées par l'Union européenne (collectivement), les Pays-Bas, le Portugal, la Chine, le Mexique-Etats-Unis, l'Espagne, la République de Corée, l'Afrique du Sud, la République unie de Tanzanie, le Brésil, l'Italie, la France et le Guatemala. Le maïs non transformé était généralement la seule source de fumonisine examinée, mais dans certaines études, d'autres céréales et produits à base de céréales ont aussi été pris en considération. La plupart de ces rapports contenait des estimations de l'exposition alimentaire à la fumonisine B1 uniquement. La plupart des estimations étaient inférieures à 1 µg/kg p.c. par jour pour la population générale mais des niveaux particulièrement élevés de B1 (jusqu'à 7,6 et 33,3 µg/kg p.c. par jour pour les consommateurs moyens et grands, respectivement) et de fumonisines totales (jusqu'à 10,6 et 44,8 µg/kg p.c. par jour pour les consommateurs moyens et grands, respectivement) ont été enregistrés dans certaines régions et groupes de population (FAO/OMS, 2011).

58. A sa 74^{ème} réunion, le JECFA a réalisé les estimations internationales de l'exposition à l'aide des régimes alimentaires par modules de consommation du GEMS/Aliments (FAO/OMS, 2011). Les données de concentration pour FB1 ainsi que pour les fumonisines totales dans chaque module ont été réunies pour calculer les concentrations représentatives sommaires pour chaque module. Les denrées examinées dans l'évaluation alimentaire étaient l'orge, le sarrasin, les figues séchées, les arachides décortiquées, le maïs, le millet, le riz, le soja (sec), le maïs doux en grains et le blé. Pour chaque denrée, quand les données de concentration n'étaient pas disponibles dans un module, les limites inférieure et supérieure totales mondiales ont été utilisées pour évaluer l'exposition (tableaux 1 et 2). Un poids corporel normal de 60kg a été utilisé dans l'évaluation.

59. En ce qui concerne le scénario de la limite supérieure, l'exposition alimentaire totale à FB1 a été estimée avec une variation allant de 0,3 µg/kg p.c. par jour (module L) à 6,2 µg/kg p.c. par jour (module A). L'exposition alimentaire totale aux fumonisines totales étaient supérieure à 2,0 µg/kg p.c. par jour (la DJMTP pour les fumonisines) dans les modules A et C (pays du centre et du nord de l'Afrique), G (Asie), et H et K (pays d'Amérique centrale et du Sud). Des résultats similaires ont été obtenus dans le scénario de la limite inférieure.

60. La contribution du maïs à l'exposition totale aux fumonisines totales variait de 18% (module E, scénario de la limite supérieure) à 99% (module H, scénario de la limite inférieure). C'est seulement dans le scénario de la limite supérieure que le blé a contribué à l'exposition aux fumonisines totales, avec des pourcentages allant de 1% (modules A, H et M) à 44% (module D).

CONSIDÉRATIONS EN MATIÈRE DE GESTION DES RISQUES ET PROBLÈMES DE SANTÉ PUBLIQUE

61. Les niveaux de référence pour les fumonisines (FB₁+FB₂+FB₃) dans les aliments aux États-Unis sont de 2 mg/kg pour les produits à base de maïs moulu à sec et dégermé (teneur en graisse <2,5%) et 3 mg/kg pour les grains de maïs éclaté (USFDA, 2001). Dans la Communauté européenne, la limite maximale (FB₁+FB₂) est de 4 mg/kg pour la farine de maïs non transformée, 1 mg/kg pour le maïs destiné à la consommation humaine directe, 0,8 mg/kg pour les céréales du petit-déjeuner à base de maïs et les produits de grignotage à base de maïs, 0,2 mg/kg pour les produits transformés à base de maïs et les aliments pour nourrissons et jeunes enfants; Le NM pour les fractions de mouture de maïs dépend de la taille de la particule – 1,4 mg/kg pour > 500 µm et 2 mg/kg pour ≤ 500 µm (CE No 1126/2007).

62. L'agence coréenne pour les produits alimentaires et pharmaceutiques (KFDA) a adopté en 2009 un NM pour les fumonisines (FB₁+FB₂) de 4 mg/kg pour le maïs et 2 mg/kg pour ses produits de transformation simple (moulu, taillé) et leur farine. KFDA a notifié l'organisation mondiale du commerce (G/SPS/N/KOR/334, 8 juillet 2009) concernant l'établissement d'un NM (FB₁+FB₂) à 1 mg/kg pour les produits transformés à base de grains dans lesquels la teneur en maïs, produits à base de maïs de transformation simple ou farine de maïs réunis constitue au moins 50% de la teneur totale du produit, les biscuits contenant au moins 50% de maïs, les céréales et produit à base de maïs pour maïs éclaté à 4 mg/kg pour le maïs et 2 mg/kg pour les gruaux et la farine de maïs (germe excepté) (CRD 18, 4^{ème} CCCF).

63. A sa 74^{ème} réunion, le JECFA a évalué l'impact de l'établissement des NM pour le maïs et les produits à base de maïs sur l'évaluation de l'exposition alimentaire (FAO/OMS, 2011). Pour ce faire, tous les échantillons pour lesquels la concentration moyenne de limite supérieure des fumonisines totales dépassait les NM ont été exclus des calculs.

64. Les pourcentages des échantillons rejetés après la mise en œuvre des NM proposés dans CX/CF 10/4/8 à la 4^{ème} session du CCCF sont présentés dans le tableau 5. Les NM n'ont pas engendré de rejet d'échantillons pour la majorité des denrées et des modules. Dans l'ensemble, seulement 15% des échantillons ont été rejetés.

65. Le rejet d'échantillons de grains de maïs a été noté dans 6 modules sur 13, le rejet le plus élevé étant dans le module A (88%). Des rejets d'échantillons de farine/semoule de maïs ont été observés dans 4 modules, pour plus de 50% dans les modules G et K. Le rejet d'échantillons de maïs éclaté et de céréales pour petit déjeuner et produits de grignotage à base de maïs n'a été observé que dans le module K. Aucun rejet n'a été observé dans les modules dont le NM était de 500 µg/kg pour les aliments pour bébés à base de maïs.

Tableau 5. Effet de la mise en œuvre des NM Codex proposés dans les catégories d'aliments proposées sur le rejet des échantillons par modules de consommation du GEMS/Aliments (modifié, FAO/OMS, 2011)

Denrée	NM proposé, µg/kg	Module du GEMS/Aliments	Nombre d'échantillons	% d'échantillons rejetés après mise en œuvre des NM
Grains de maïs, non transformés	5000	Cluster A	280	88%
Grains de maïs, non transformés	5000	Module D	172	28%
Grains de maïs, non transformés	5000	Module K	2296	12%
Grains de maïs, non transformés	5000	Module J	337	2%
Grains de maïs, non transformés	5000	Module H	805	2%
Grains de maïs, non transformés	5000	Module M	1047	1%
Farine/semoule de maïs	2000	Module G	331	57%
Farine/semoule de maïs	2000	Module K	721	53%
Farine/semoule de maïs	2000	Module B	554	16%
Farine/semoule de maïs	2000	Module M	781	4%
Grains de maïs éclaté	2000	Module K	70	17%
Céréales pour petit déjeuner/produits de grignotage à base de maïs	1000	Module K	102	11%

66. A sa 74^{ème} réunion, le JECFA a aussi évalué l'impact d'une série de NM hypothétiques pour les catégories « Grains de maïs, non transformés » et « Semoule/farine de maïs » sur le rejet des échantillons (tableau 6 et 7). Aucun ou peu d'effet a été observé sur les estimations internationales de l'exposition à la suite de la mise en œuvre de NM supérieurs à ceux proposés dans CX/CF 10/4/8 pour les deux catégories (5.000 et 2.000 µg/kg, respectivement)

Tableau 6. Effet de la mise en œuvre d'une série de NM hypothétiques pour les « grains de maïs, non transformés » sur le rejet des échantillons par modules de consommation du GEMS/Aliments (FAO/OMS, 2011)

Module du GEMS/Aliments	Nombre d'échantillons	% d'échantillons rejetés après mise en œuvre des NM (µg/kg)					
		500	1000	2500	5000	7000	10000
Module A	280	100%	96%	88%	88%	3%	
Module B	300	31%	31%	31%			
Module C	20	100%	100%				
Module D	172	51%	51%	40%	28%	28%	6%
Module E	96	58%	58%				
Module F	0						
Module G	431	60%	49%	27%			
Module H	805	90%	31%	31%	2%		
Module I	572	29%	22%				
Module J	337	27%	27%	9%	2%		
Module K	2296	100%	95%	32%	12%	3%	
Module L	339	8%	8%				
Module M	1047	88%	33%	33%	1%	1%	1%

Tableau 7. Effet de la mise en œuvre d'une série de NM hypothétiques pour la "Farine/semoule de maïs" sur le rejet des échantillons par modules de consommations du GEMS/Aliments (FAO/OMS, 2011)

Module du GEMS/Aliments	Nombre d'échantillons	% d'échantillons rejetés après la mise en œuvre des NM (µg/kg)					
		250	500	1000	2000	3000	4000
Module A	0						
Module B	554	63%	42%	16%	16%		
Module C	0						
Module D	0						
Module E	70	53%	53%				
Module F	0						
Module G	331	85%	85%	85%	57%	57%	43%
Module H	3	100%	100%				
Module I	101	9%	9%				
Module J	0						
Module K	721	87%	85%	76%	53%	32%	11%
Module L	878	15%	13%	4%			
Module M	781	90%	12%	4%	4%	4%	2%

67. L'effet de la mise en œuvre de divers NM pour les grains de maïs et la farine/semoule de maïs sur l'exposition alimentaire chronique aux fumonisines totales a été évalué par le JECFA à sa 74^{ème} réunion pour les régimes alimentaires par modules de consommation du GEMS/Aliments (tableau 8). Une réduction de l'exposition dans toutes les denrées a été observée dans 9 modules (de 6% à 68%). La mise en œuvre des NM de 5.000 et de 2.000 µg/kg pour les grains de maïs et la farine/semoule de maïs, respectivement, a considérablement diminué l'exposition dans le module A (de 8,4 à 2,7 µg/kg p.c./jour) et G (de 2,9 à 1,2 µg/kg p.c./jour). Pour le module H, l'impact le plus élevé sur l'exposition a été observé quand le NM pour les grains de maïs a été fixé à 2.500 µg/kg, mais aucun scénario de NM n'engendrerait une exposition dans ce module à des niveaux inférieurs à la DJMTP de 2 µg/kg p.c./jour. Pour diminuer l'exposition dans tous les modules à l'exception du module H à un niveau inférieur à la DJMTP, le NM pour les grains de maïs devrait être fixé à 1.000 µg/kg.

68. A sa 74^{ème} réunion, le JECFA a conclu que des effets néfastes liés à l'exposition aux fumonisines peuvent avoir lieu et que la réduction de l'exposition aux fumonisines et autres toxines produites par *F. verticillioides* est extrêmement souhaitable, notamment dans les régions du monde où le maïs est un aliment de base important et où il peut se produire une contamination élevée. Comme les fumonisines dans les aliments pour animaux ne sont pas transférées en quantité appréciable dans les produits d'origine animale, l'occurrence des fumonisines dans les aliments pour animaux n'a pas été considérée comme un problème de santé publique.

69. A sa 74^{ème} réunion, le JECFA a conclu que la mise en œuvre des NM proposés dans CX/CF 10/4/8 (5.000 et 2.000 µg/kg pour les grains de maïs, non transformés et la farine/semoule de maïs, respectivement) pourrait réduire de façon significative l'exposition (de plus de 20%) aux fumonisines totales dans six modules (A, B, D, F, G, K). La principale contribution à cette réduction provient du NM proposé pour les « grains de maïs, non transformés ». Aucun ou peu d'effet sur les estimations internationales de l'exposition n'a été observé à la suite de la mise en œuvre des NM supérieurs à ceux proposés dans CX/CF 10/4/8. Il a été noté que la mise en œuvre des niveaux proposés engendrerait le rejet de 1–88% des « grains de maïs, non transformés » et de 4–57% de la « farine/semoule de maïs » dans l'ensemble des modules.

Tableau 8. Effet de la mise en œuvre d'une série de NM hypothétiques et des NM Codex proposés sur l'estimation internationale de l'exposition alimentaire chronique aux fumonisines totales (FAO/OMS, 2011)

NM ^a pour les grains de maïs, non transformés (µg/kg)	NM ^a pour la farine/semoule de maïs (µg/kg)	Modules de consommation du GEMS/Aliments (µg/kg p.c. par jour)												
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
Aucune limite	Aucune limite	8,4	1,9	2,3	1,9	1,2	0,4	2,9	7,3	2,0	1,0	3,0	0,4	2,0
10.000	4.000	8,4	1,9	2,3	1,6	1,2	0,4	1,3	7,3	2,0	1,0	2,9	0,4	1,8
10.000	2.000	8,4	1,4	2,3	1,6	1,2	0,4	1,2	7,3	2,0	1,0	2,8	0,4	1,8
7.000	3.000	8,3	1,9	2,3	0,8	1,2	0,4	1,2	7,3	2,0	1,0	2,6	0,4	1,8
5.000	2.000	2,7	1,4	2,3	0,8	1,2	0,3	1,2	6,9	2,0	0,9	2,3	0,4	1,8
2500	.	2,7	0,8	2,3	0,4	1,2	0,3	0,8	3,1	2,0	0,7	2,0	0,4	0,9
1.000	500	1,4	0,5	1,5	0,3	1,1	0,2	0,6	3,0	1,1	0,5	0,8	0,3	0,9
500	250	0,4	0,4	1,5	0,3	1,1	0,2	0,5	2,2	1,0	0,5	0,5	0,3	0,6
5.000	4.000	2,7	1,9	2,3	0,8	1,2	0,3	1,3	6,9	2,0	0,9	2,4	0,4	1,8
5.000	3.000	2,7	1,9	2,3	0,8	1,2	0,3	1,2	6,9	2,0	0,9	2,3	0,4	1,8
5.000	1.000	2,7	1,4	2,3	0,8	1,2	0,3	1,2	6,9	2,0	0,9	2,3	0,4	1,8
5.000	500	2,7	1,3	2,3	0,8	1,2	0,3	1,2	6,9	2,0	0,9	2,3	0,3	1,8
5.000	250	2,7	1,3	2,3	0,8	1,2	0,3	1,2	6,9	2,0	0,9	2,4	0,3	2,3
7.000	2.000	8,3	1,4	2,3	0,8	1,2	0,4	1,2	7,3	2,0	1,0	2,6	0,4	1,8
2.500	2.000	2,7	0,8	2,3	0,4	1,2	0,3	0,9	3,1	2,0	0,7	2,0	0,4	0,9
1.000	2.000	1,4	0,8	1,5	0,3	1,1	0,3	0,8	3,1	1,1	0,5	1,3	0,4	0,9
500	2.000	0,6	0,8	1,5	0,3	1,1	0,2	0,7	2,2	1,0	0,5	1,3	0,4	0,7

^aNiveaux maximaux (NM) proposés dans CX/CF 10/4/8 à la 4^{ème} session du CCCF: 5.000 µg/kg pour les « grains de maïs, non transformés », 2.000 µg/kg pour la « farine/semoule de maïs ».

CONCLUSIONS

- (a) Les données fournies par les gouvernements nationaux à la 74^{ème} réunion du JECFA ont montré que, dans la plupart des pays, l'incidence des fumonisines dans les grains de maïs est élevée (70%), avec une moyenne mondiale du niveau des fumonisines totales d'environ 1.700 µg/kg et une moyenne de la limite supérieure maximale qui atteint presque 6.000 µg/kg dans les modules de consommation du GEMS/Aliments.
- (b) La mise en œuvre d'un NM de 5.000 µg/kg pour les grains de maïs engendrerait le rejet de 88 et 28% des échantillons dans les modules du GEMS/Aliments A et D, respectivement. La mise en œuvre d'un NM de 2.500 µg/kg n'engendrerait aucun changement du taux de rejet dans le module A et augmenterait les rejets jusqu'à 40% dans le module D. La recommandation de réduire de 5.000 à 2.500 µg/kg augmente le niveau des rejets de 2 à 31% dans le module H, de 12 à 32% dans le module K et de 1 à 33% dans le module M.
- (c) La mise en œuvre d'un NM pour les fumonisines dans les grains de maïs a un impact important sur l'exposition alimentaire. Cet impact était plus important dans le scénario allant d'aucune limite à 5.000 µg/kg, principalement dans les modules A, D et G, avec aucun impact supplémentaire significatif dans la plupart des modules quand le NM est fixé à 2.500 µg/kg.
- (d) Les grains de maïs sont une denrée qui devra être soumise à une transformation ultérieure avant d'être prête à consommer, y compris la mouture et le traitement thermique, qui réduira les niveaux de fumonisines présents. Par conséquent, l'exposition due à la consommation des grains de maïs, non transformés, examinée par le JECFA surestime l'exposition réelle aux fumonisines suite à la consommation de produits à base de maïs prêts à consommer.
- (e) Les données présentées à la 4^{ème} session du CCCF sur la farine et la semoule de maïs ont montré que, dans trois pays sur quatre, les niveaux moyen et maximal des fumonisines (FB1+FB2) étaient d'environ 500 µg/kg et > 2.000 µg/kg, respectivement. Les données évaluées à la 74^{ème} réunion du JECFA ont indiqué qu'un NM de 2.000 µg/kg pour la farine/semoule de maïs engendre 57 et 53% d'échantillons rejetés dans les modules G et K, respectivement. Ce rejet atteindrait 85 et 76% si le NM était réduit à 1.000 µg/kg.
- (f) Le NM de 2.000 µg/kg dans la farine/semoule de maïs, outre le NM pour les grains de maïs de 5.000 µg/kg engendrerait un dépassement de la DJMTP dans le module A (de 35%), dans les modules C et K (de 15%) et dans le module H (de plus de 3 fois). Les NM proposés de 2.500 et 1.000 µg/kg pour les grains et la farine/semoule de maïs, respectivement, aurait un impact surtout sur l'ingestion dans le module H, entraînant un dépassement de la DJMTP de 55%.
- (g) Les fumonisines sont détectées dans le maïs éclaté et les produits à base de maïs, comme les céréales pour petit déjeuner et les aliments pour bébés à base de maïs. Cependant, les données disponibles sont encore limitées pour permettre de proposer des NM pour ces denrées.
- (h) Il est important d'observer que les fumonisines liées présentes dans les produits à base de maïs extrudé (comme les céréales pour petit déjeuner) et certains produits à base de maïs fermenté (comme le kenkey et le banku) ne sont pas détectées par les procédures d'extraction courantes et que l'exposition aux fumonisines ne peut pas être pleinement évaluée. Les études disponibles ont montré que les niveaux présents sous la forme liée sont supérieurs à ceux présents sous la forme libre.
- (i) Des efforts doivent être faits pour élargir les études sur les fumonisines liées et engendrer des données de consommation au niveau international pour les produits à base de maïs extrudé qui permettraient une évaluation complète des fumonisines.
- (j) Des études sur l'échantillonnage étaient disponibles pour les fumonisines dans les grains de maïs, qui ont permis de proposer un plan d'échantillonnage pour cette denrée.
- (k) Bien qu'aucune étude sur l'échantillonnage ne soit disponible pour la farine/semoule de maïs, les données relatives aux grains broyés dans le broyeur Romer ont permis d'élaborer des courbes de fonctionnement et de proposer un plan d'échantillonnage pour les fumonisines dans la farine/semoule de maïs.

RECOMMANDATIONS

Les niveaux maximaux (NM) suivants pour les fumonisines (FB1 + FB2) sont présentés pour examen par le Comité.

Denrée	Niveau maximal pour les fumonisines (FB1+FB2), µg/kg
Grains de maïs, non transformés	5.000
Farine/semoule de maïs	2.000

Les plans d'échantillonnage suivants pour les fumonisines (FB1 + FB2) sont présentés pour examen par le Comité. Les courbes des caractéristiques de fonctionnement décrivant leur efficacité et d'autres plans d'échantillonnage figurent ci-dessous.

Plan d'échantillonnage pour les grains de maïs, non transformés

Niveau maximal	5.000 µg/kg FB1 + FB2
Prélèvements	50 x 100 g
Taille de l'échantillon global	5 kg
Préparation de l'échantillon	Mouture à sec avec un broyeur adéquat (broyeur Romer)
Taille de l'échantillon de laboratoire	1 kg
Nombre d'échantillons de laboratoire	1
Prise d'essai	Prise d'essai de 25 g
Méthode	CLHP
Règle de décision	Si le résultat d'analyse pour les fumonisines d'un échantillon est égal ou inférieur à 5.000 µg/kg, accepter le lot. Sinon, rejeter le lot.

Farine/semoule de maïs

Niveau maximal	2.000 µg/kg FB1 + FB2
Prélèvements	10 x 100 g
Taille de l'échantillon global	1 kg
Préparation de l'échantillon	Aucune
Taille de l'échantillon de laboratoire	Prise d'essai de 25 g
Nombre d'échantillons de laboratoire	1
Prise d'essai	comme l'échantillon de laboratoire
Méthode	CLHP
Règle de décision	Si le résultat d'analyse pour les fumonisines d'un échantillon est égal ou inférieur à 2.000 µg/kg, accepter le lot. Sinon, rejeter le lot.

PLANS D'ÉCHANTILLONNAGE POUR LES FUMONISINES DANS LES GRAINS DE MAÏS ET DANS LA FARINE/SEMOULE DE MAÏS

DÉFINITION

Lot - quantité identifiable d'un produit alimentaire livré en une seule fois et qui, de l'avis de l'agent d'échantillonnage, présente des caractères communs, tels que l'origine, la variété, le type d'emballage, l'emballeur, l'expéditeur ou le marquage.

Sous-lot - partie déterminée d'un lot plus gros sur laquelle sera appliquée la méthode d'échantillonnage. Chaque sous-lot doit être physiquement distinct et identifiable.

Plan d'échantillonnage - il est défini par une procédure d'essai pour les fumonisines et un niveau d'acceptation/rejet. Cette procédure comprend trois étapes: collecte de l'échantillon, préparation de l'échantillon et analyse de quantification des fumonisines. Le niveau d'acceptation/rejet est un seuil de tolérance habituellement égal au niveau maximal Codex (NM).

Échantillon progressif – quantité de matériau prélevé à un point unique aléatoire dans le lot ou le sous-lot.

Échantillon global - total de tous les échantillons progressifs prélevés dans le lot ou le sous-lot. L'échantillon global doit être au moins aussi important que l'échantillon ou le total des échantillons de laboratoire.

Échantillon de laboratoire – la plus petite quantité de maïs décortiqué broyé dans un broyeur. L'échantillon de laboratoire peut être une portion ou la totalité de l'échantillon global. Si l'échantillon global est plus important que le(s) échantillon(s) de laboratoire, le(s) échantillon(s) de laboratoire devra/devront être prélevé(s) de façon aléatoire dans l'échantillon global.

Prise d'essai – portion de l'échantillon de laboratoire broyé. L'échantillon de laboratoire total devra être broyé dans un broyeur. Une portion de cet échantillon broyé est prélevée de manière aléatoire pour en extraire les fumonisines aux fins de l'analyse chimique.

Courbe des caractéristiques de fonctionnement– représentation graphique de la probabilité d'acceptation d'un lot par rapport à la concentration dans le lot dans un modèle de plan d'échantillonnage donné. La courbe OC fournit une estimation des chances de rejet d'un bon lot (risque pour l'exportateur) et des chances d'acceptation d'un mauvais lot (risque pour l'importateur) relative à un modèle de plan d'échantillonnage donné pour les fumonisines. Un bon lot est défini comme contenant une concentration de fumonisines inférieure au niveau maximal; un mauvais lot est défini comme contenant une concentration de fumonisines supérieure au niveau maximal.

CONSIDERATIONS RELATIVES AUX MODÈLES DE PLANS D'ÉCHANTILLONNAGE

1. Les statistiques en matière d'échantillonnage, figurant dans les équations 1 à 4, sont fondées sur la variabilité et la répartition des fumonisines dans les échantillons de laboratoire de maïs décortiqué (Whitaker et al, 1998; Whitaker et al, 2007). La taille des échantillons de laboratoire est exprimée en nombre de grains de maïs à des fins statistiques. Le nombre de grains de maïs décortiqué est supposé être de 3.000 par kg. Le nombre de grains par kg permet de convertir la taille de l'échantillon de laboratoire du nombre de grains en poids et vice versa
2. Les estimations de variabilité associées à l'échantillonnage, à la préparation des échantillons et à l'analyse, figurant dans les équations 1 à 4, et la distribution binomiale négative (Whitaker et al, 2007) permettent d'établir les courbes des caractéristiques de fonctionnement (OC) qui décrivent l'efficacité des plans d'échantillonnage des fumonisines proposés. La variance analytique reflète la variabilité analytique au sein d'un même laboratoire, qui est inférieure à la variabilité analytique entre laboratoires.

Matériaux à échantillonner

3. Chaque lot, qui sera examiné par rapport aux fumonisines, doit être échantillonné individuellement. Les lots supérieurs à 50 tonnes devront être subdivisés en sous-lots à échantillonner séparément. Si un lot est supérieur à 50 tonnes, le nombre de sous-lots est égal au poids du lot en tonnes divisé par 50. Il est recommandé qu'un lot ou un sous-lot ne dépasse pas les 50 tonnes. Le poids minimum d'un lot sera de 500 g.
4. Compte tenu que le poids du lot n'est pas toujours un multiple exact de sous-lots de 50 tonnes, le poids d'un sous-lot pourra dépasser le poids maximum cité de 25%.

5. Les échantillons seront prélevés dans le même lot, à savoir qu'ils devront porter le même code de série ou, au minimum, la même date limite de consommation. Il faudra éviter tout changement qui pourrait affecter la teneur en mycotoxine, la détermination analytique ou affecter la représentativité des échantillons globaux prélevés. Par exemple, il ne faudra pas ouvrir l'emballage dans des conditions météorologiques défavorables ou exposer les échantillons à des excès d'humidité ou de soleil. Il faudra éviter la contamination croisée par d'autres cargaisons potentiellement contaminées situées dans une proximité immédiate.
6. Dans la plupart des cas, tout camion ou conteneur devra être déchargé pour permettre un échantillonnage représentatif.

Échantillon progressif

7. Les procédures utilisées pour prélever les échantillons progressifs dans un lot de maïs décortiqué sont extrêmement importantes. Chaque grain individuel dans le lot doit avoir la même chance d'être prélevé. Les biais seront introduits par les méthodes de sélection des échantillons selon que le matériel et les procédures utilisés pour sélectionner les échantillons progressifs entravent ou réduisent les chances qu'un grain aura d'être choisi dans un lot.
8. Comme il n'y a aucun moyen de savoir si les grains de maïs contaminé sont uniformément répartis dans le lot, il est essentiel que l'échantillon global corresponde à l'accumulation de nombreux petits échantillons progressifs du produit prélevés dans des endroits différents de l'ensemble du lot. Si l'échantillon global est plus important que prévu, il faudra le mélanger et le subdiviser jusqu'à obtention de la taille désirée pour l'échantillon de laboratoire.
9. Le nombre d'échantillons progressifs à prélever dans un lot (sous-lot) dépend du poids du lot et de la taille de l'échantillon global. Le poids minimum proposé pour l'échantillon progressif devrait être d'environ 100 grammes pour les lots de 50 tonnes métriques (50.000 kg).

Lots statiques

10. On entend par lot statique une masse importante de maïs décortiqué contenue soit dans un seul grand conteneur soit dans une remorque, un camion ou un wagon ou dans de nombreux petits conteneurs tels que des sacs ou des boîtes, le maïs étant immobile au moment du prélèvement de l'échantillon. Le prélèvement purement aléatoire d'un échantillon dans un lot statique peut être difficile car tous les conteneurs du lot ou du sous-lot ne sont pas nécessairement accessibles.
11. La collecte d'un échantillon global dans un lot statique exige généralement l'emploi de sondes pour prélever le produit dans le lot. Les sondes utilisées doivent être conçues en fonction du type de conteneur. La sonde 1) doit être assez longue pour atteindre l'ensemble du produit, 2) doit permettre que tout élément dans le lot puisse être prélevé, et 3) ne doit pas altérer les éléments du lot. Comme mentionné ci-dessus, l'échantillon global devrait être un mélange de nombreux petits échantillons progressifs du produit prélevés en de nombreux points différents dans le lot.
12. Pour les lots commercialisés sous emballage individuel, la fréquence d'échantillonnage (SF), ou le nombre de paquets dans lesquels les échantillons progressifs sont prélevés, est fonction du poids du lot (LT), du poids de l'échantillon progressif (IS), du poids de l'échantillon global (AS) et du poids du paquet individuel (IP), comme suit:

$$SF = (LT \times IS) / (AS \times IP).$$

13. La fréquence d'échantillonnage (SF) est le nombre de paquets échantillonnés. Tous les poids doivent être exprimés dans les mêmes unités de masse, par exemple en kg.

Lots dynamiques

14. Il est plus facile d'obtenir des échantillons globaux représentatifs en prélevant les échantillons progressifs dans un flot continu de maïs décortiqué lors du transfert du lot d'un endroit à un autre. Quand les échantillons sont prélevés dans le flot, prendre de petits échantillons progressifs de maïs décortiqué tout le long du passage du flot; réunir les échantillons progressifs pour obtenir l'échantillon global; si l'échantillon global est plus important que l'(les) échantillon(s) de laboratoire requis, mélanger et subdiviser l'échantillon global pour obtenir la taille désirée du(des) échantillon(s) de laboratoire.
15. Le matériel d'échantillonnage automatique comme l'échantillonneur transversal disponible dans le commerce est muni d'un compte-minutes qui actionne automatiquement un bec déflecteur à travers le flot continu à intervalles prédéterminés et réguliers. Faut de matériel d'échantillonnage automatique, une personne peut être chargée de passer manuellement une palette dans le flot à intervalles réguliers pour prélever les échantillons progressifs. Qu'il s'agisse de la méthode automatique ou manuelle, les échantillons progressifs doivent être prélevés et mélangés à intervalles fréquents et réguliers tout au long du passage du flot continu de maïs au point d'échantillonnage.

16. Les échantillonneurs transversaux doivent être installés de la manière suivante: (1) le plan d'ouverture du bec déflecteur doit être perpendiculaire à la direction du flot; (2) le bec déflecteur doit traverser la totalité de la section transversale du flot; et (3) l'ouverture du bec déflecteur doit être suffisamment large pour collecter tous les éléments intéressants du lot. En règle générale, la largeur de l'ouverture du bec déflecteur doit être d'environ deux ou trois fois plus grande que les plus grandes dimensions des éléments du lot.

17. La taille de l'échantillon global (S) en kg, prélevé dans un lot à l'aide d'un bec déflecteur est:

$$S=(D \times LT) / (T \times V),$$

où D est la largeur de l'ouverture du bec déflecteur (cm), LT est la taille du lot (kg), T est l'intervalle ou le temps écoulé entre les passages du bec déflecteur à travers le flot (secondes) et V est la vitesse du bec déflecteur (en cm/sec).

18. Si le débit massique du flot continu, MR (kg/sec), est connu, la fréquence de l'échantillonnage (SF), ou le nombre de passages effectués par le bec déflecteur automatique peut être exprimé en fonction de S, V, D, et MR.

$$SF = (S \times V) / (D \times MR).$$

Emballage et transport des échantillons

19. Chaque échantillon de laboratoire devra être placé dans un récipient propre et en matériau inerte offrant une protection adéquate contre la contamination, la lumière du jour, et contre tout dommage dû au transport ou à l'entreposage. Toutes les précautions nécessaires devront être prises pour éviter tout changement dans la composition de l'échantillon de laboratoire qui pourrait survenir durant le transport ou l'entreposage. Les échantillons devront être entreposés dans un endroit frais et dans l'obscurité.

20. Chaque échantillon de laboratoire prélevé pour un usage officiel devra être plombé sur le lieu de l'échantillonnage et identifié. Il faudra enregistrer chaque échantillon afin que chaque lot puisse être identifié sans ambiguïté, indiquer la date et le lieu de l'échantillonnage et fournir toute information supplémentaire qui pourrait être utile à l'analyste.

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

21. La lumière du jour est autant que possible à éviter pendant la préparation des échantillons, car les fumonisines peuvent se décomposer progressivement sous l'influence des ultraviolets. Par ailleurs, la température ambiante et l'humidité relative doivent être contrôlées afin de ne pas favoriser le développement des moisissures et la formation des fumonisines.

22. Comme la répartition des fumonisines est extrêmement hétérogène, les échantillons de laboratoire doivent être homogénéisés en broyant la totalité des échantillons soumis au laboratoire. L'homogénéisation est un procédé qui réduit la taille des particules et disperse les particules contaminées de façon homogène dans l'ensemble de l'échantillon de laboratoire broyé.

23. L'échantillon de laboratoire doit être finement broyé et parfaitement mélangé grâce à un procédé qui permet à l'homogénéisation d'être aussi complète que possible. L'homogénéisation complète implique que la taille des particules est extrêmement réduite et que la variabilité associée à la préparation de l'échantillon est proche de zéro. Après broyage, le broyeur doit être nettoyé pour prévenir toute contamination croisée.

Prise d'essai

24. Les procédures de prélèvement pour la prise d'essai dans l'échantillon de laboratoire broyé doivent être appliquées de façon aléatoire. Si le mélange a eu lieu pendant ou après le processus de broyage, la prise d'essai de 25 g peut être prélevée dans n'importe quelle partie de l'échantillon de laboratoire. Sinon, la prise d'essai de 25 g doit être obtenue par accumulation de plusieurs petites portions prélevées dans l'ensemble de l'échantillon de laboratoire.

25. Il est recommandé de prélever trois prises d'essai dans chaque échantillon de laboratoire broyé. Les trois prises d'essai seront utilisées aux fins de l'application, d'un appel et de la confirmation, le cas échéant.

MÉTHODES ANALYTIQUES

26. Il conviendra d'utiliser une approche fondée sur des critères, qui établit une série de critères d'efficacité auxquels la méthode d'analyse utilisée doit être conforme. Cette approche fondée sur des critères présente l'avantage de ne pas obliger à fournir des détails spécifiques sur la méthode utilisée et permet donc de profiter des progrès de la méthodologie sans avoir à réexaminer ou à modifier la méthode spécifiée. La liste des critères possibles et des niveaux d'efficacité figure au tableau 1 (réglementation CE No 401/2006). Sur la base de cette approche, les laboratoires seront libres d'utiliser la méthode analytique la mieux adaptée à leurs installations.

Tableau 1. Critères d'efficacité pour les fumonisines B1 et B2.

Niveau ($\mu\text{g/kg}$)	Précision		Récupération (%)
	RSDr (%)	RSDR (%)	
≤ 500	≤ 30	≤ 60	60 to 120
> 500	≤ 20	≤ 30	70 to 110

ÉFFICACITÉ DE PLUSIEURS PLANS D'ÉCHANTILLONNAGE POUR LES FUMONISINES DANS LE MAÏS DÉCORTIQUÉ

27. L'efficacité de chaque modèle de plan d'échantillonnage est illustrée dans une courbe des caractéristiques de fonctionnement (OC). Chaque courbe a été élaborée sur la base des relations entre la variabilité relative à l'échantillonnage, à la préparation des échantillons, et à l'analyse (équations 1, 2, 3, et 4) et la distribution binomiale négative (Whitaker et al., 1998 et Whitaker et al. 2007). Les équations qui décrivent la variance de l'échantillonnage (S^2_s) pour la taille d'échantillon exprimée en nombre de grains ns, la variance de la préparation de l'échantillon (S^2_{sp}) avec le broyeur Romer et la taille de la prise d'essai nss exprimée en g, et la variance analytique (S^2_a) pour CL pour le nombre d'aliquotes na figurent dans les équations 1, 2 et 3 respectivement, en tant que fonction de la concentration de fumonisine C exprimée en mg/kg.

$$\text{Échantillonnage} \quad S^2_s = (3,300/ns) 0,033 C^{1,75} \quad (1)$$

$$\text{Prép. de l'échantillon} \quad S^2_{sp} = (25/nss) 0,011 C^{1,59} \quad (2)$$

$$\text{Analytique} \quad S^2_a = (1/na) 0,014 C^{1,44} \quad (3)$$

$$\text{Variance totale} \quad S^2_t = S^2_s + S^2_{sp} + S^2_a \quad (4)$$

Effet produit par l'accroissement de la taille d'un échantillon de laboratoire unique analysé par lot

28. Les courbes d'efficacité qui décrivent l'efficacité du plan d'échantillonnage pour les fumonisines dans le maïs décortiqué sur la base d'échantillons de laboratoire de 1, 2, et 5 kg et des niveaux maximaux (NM) de 10, 5, 2 et 1 mg/kg sont reproduites dans les figures 1, 2, 3, et 4, respectivement. A mesure que la taille de l'échantillon augmente, les chances de rejet des lots (chances de rejet d'un lot = $1,0 - \text{chances d'accepter un lot}$) dont les concentrations sont inférieures au NM diminuent (réduction des faux positifs) et les chances d'accepter des lots dont les concentrations sont supérieures au NM diminuent (réduction des faux négatifs).

29. La courbe montrant l'effet d'un échantillon de 10kg contenant un NM de 5 mg/kg est reproduite en figure 5.

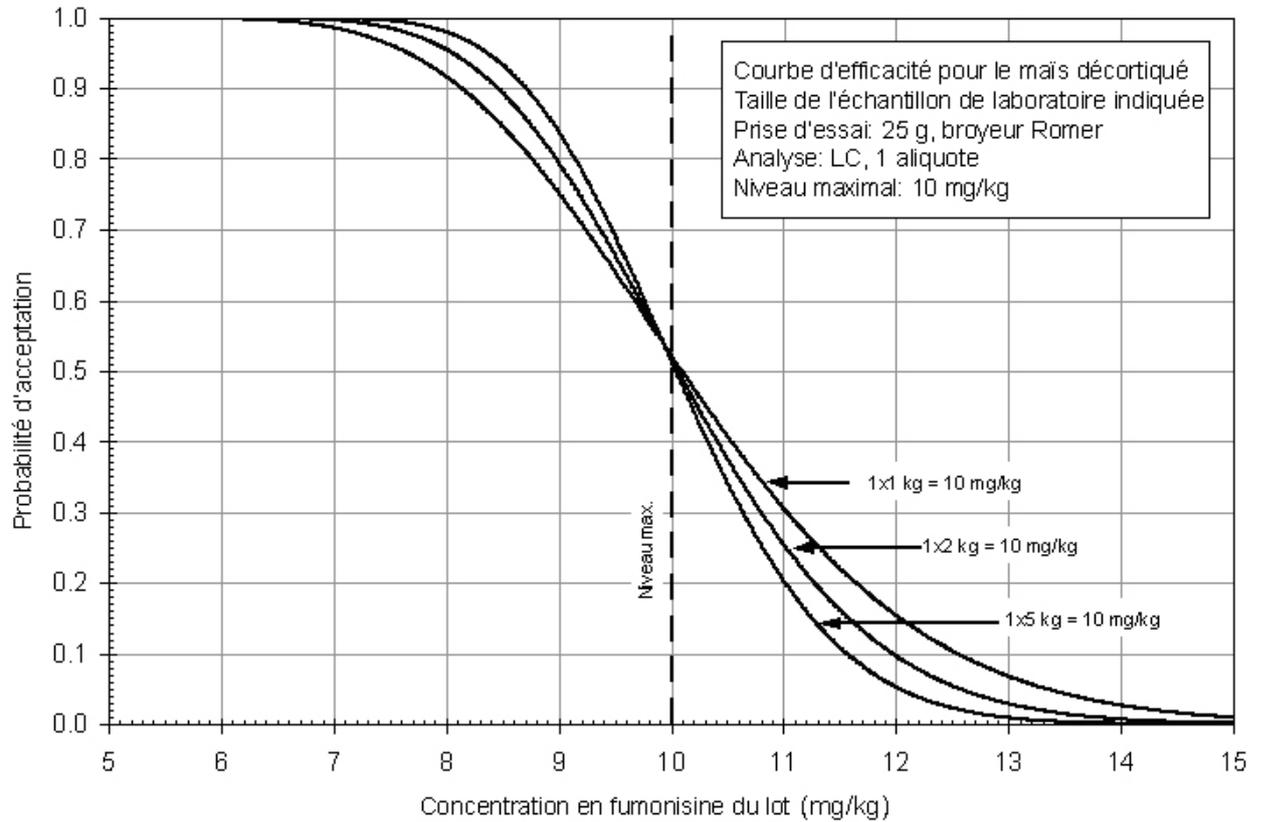


Figure 1. Courbe des caractéristiques de fonctionnement montrant l'efficacité des modèles de plan d'échantillonnage qui utilisent des échantillons de 1, 2, et 5 kg pour détecter les fumonisines dans des lots de maïs décortiqué pour un niveau maximal de 10 mg/kg.

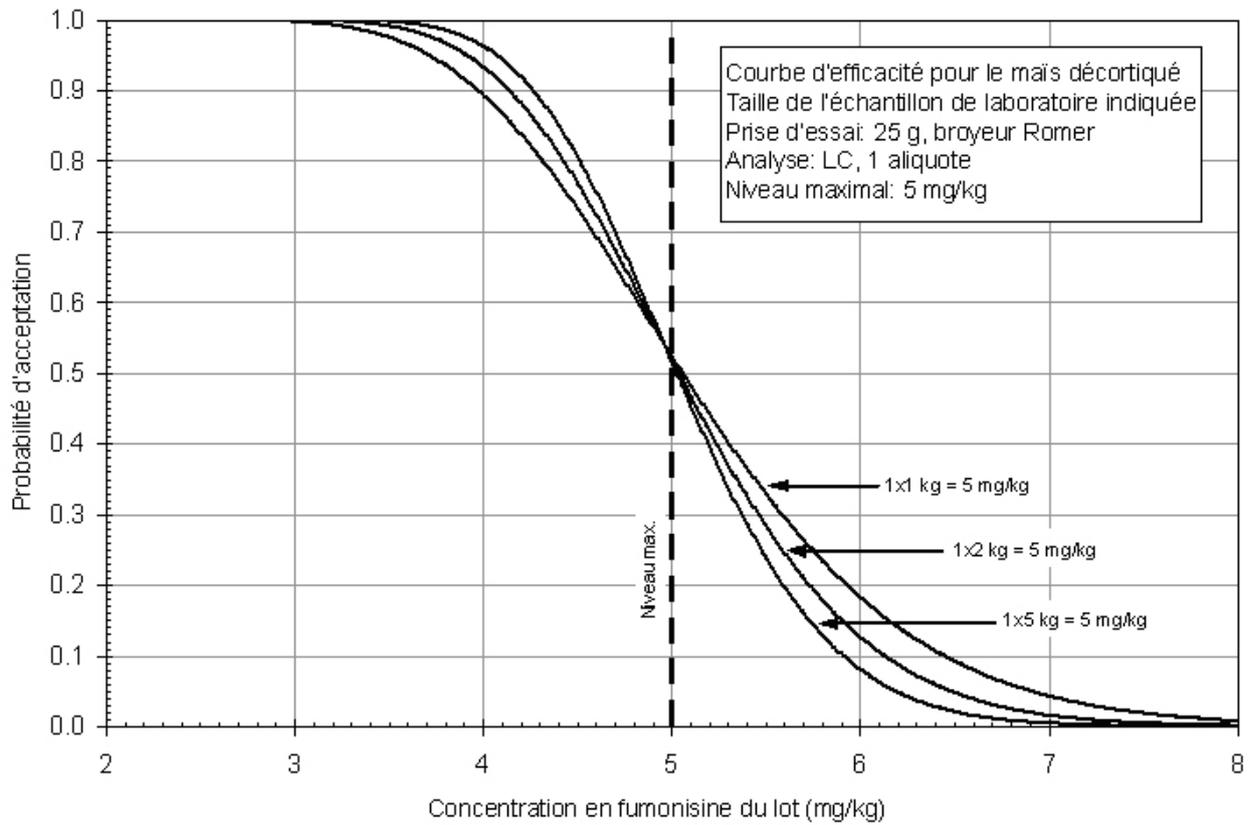


Figure 2. Courbe des caractéristiques de fonctionnement montrant l'efficacité des modèles de plan d'échantillonnage qui utilisent des échantillons de 1, 2, et 5 kg pour détecter les fumonisines dans des lots de maïs décortiqué pour un niveau maximal de 5 mg/kg.

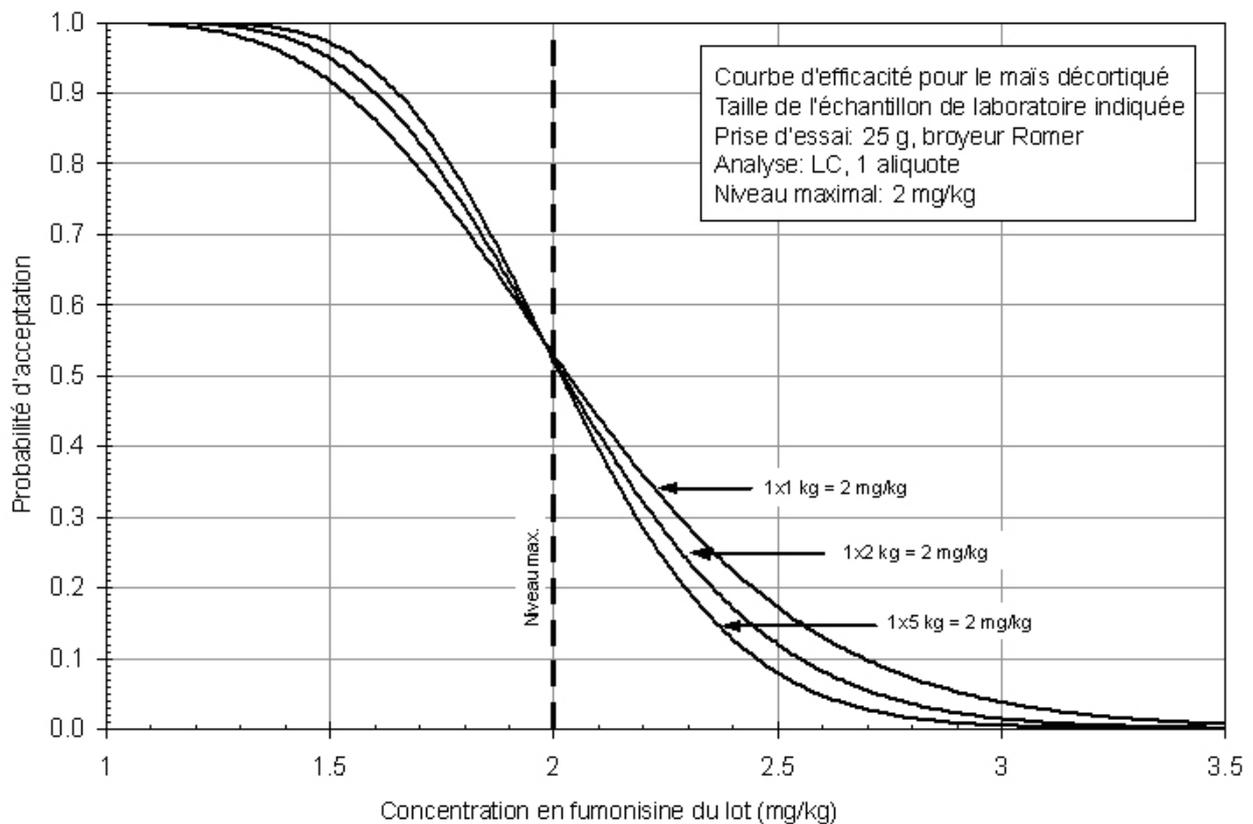


Figure 3. Courbe des caractéristiques de fonctionnement montrant l'efficacité des modèles de plan d'échantillonnage qui utilisent des échantillons de 1, 2, et 5 kg pour détecter les fumonisines dans des lots de maïs décortiqué pour un niveau maximal de 2 mg/kg.

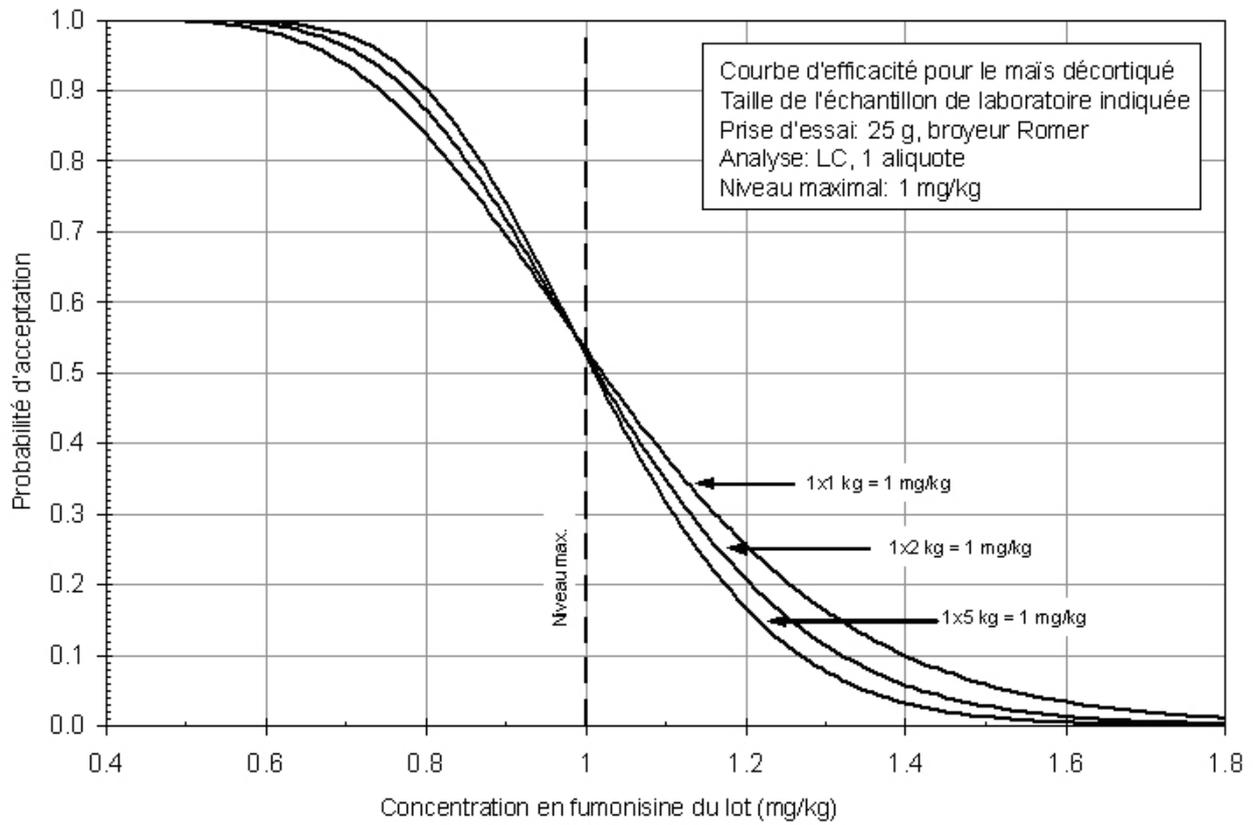


Figure 4. Courbe des caractéristiques de fonctionnement montrant l'efficacité des modèles de plan d'échantillonnage qui utilisent des échantillons de 1, 2, et 5 kg pour détecter les fumonisines dans des lots de maïs décortiqué pour un niveau maximal de 1 mg/kg.

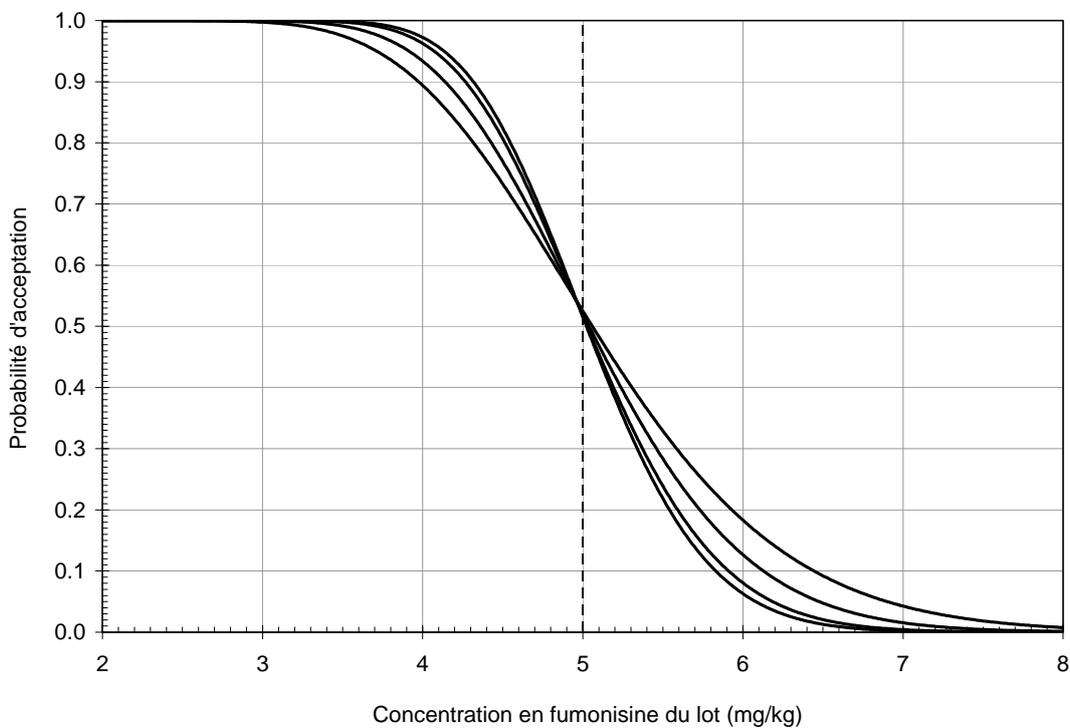


Figure 5. Courbes des caractéristiques de fonctionnement montrant l'effet de l'utilisation d'échantillons de 1, 2, 5, et 10 kg avec un niveau maximal de 5 mg/kg sur les chances d'acceptation (rejet) des lots pour diverses concentrations des lots.

30. Chaque plan d'échantillonnage dans les figures 1, 2, 3, 4 et 5 montre l'effet produit par l'accroissement de la taille d'un échantillon de laboratoire unique sur les chances d'accepter ou de rejeter les lots pour une large fourchette de concentrations de fumonisines dans les lots. Pour chaque niveau maximal, quand la taille de l'échantillon augmente, les chances de rejeter des lots (chances de rejeter un lot = 1,0 – chances d'accepter un lot) de concentration inférieure au niveau maximal diminue (réduction des faux positifs) et les chances d'accepter des lots de concentration supérieure au niveau maximal diminue (réduction des faux négatifs). L'accroissement de la taille des échantillons produit l'effet désirable de réduire à la fois les faux positifs et les faux négatifs simultanément.

Effet produit par l'accroissement du nombre d'échantillons de laboratoire analysés par lot

31. Les courbes des caractéristiques de fonctionnement qui décrivent l'efficacité du plan d'échantillonnage pour les fumonisines dans le maïs décortiqué dans lequel le nombre d'échantillons de laboratoire de 1,0 kg augmente de 1 à 2 échantillons et les niveaux maximaux varient de 1, 2, 5 et 10 mg/kg sont présentés dans les figures 6, 7, 8 et 9 respectivement. La courbe reflète l'incertitude associée à l'utilisation d'1 ou 2 échantillons de laboratoire de 1 kg, échantillon(s) broyé(s) dans un broyeur Romer, d'une prise d'essai de 25 g, et de la quantification des fumonisines dans la prise d'essai par CLHP.

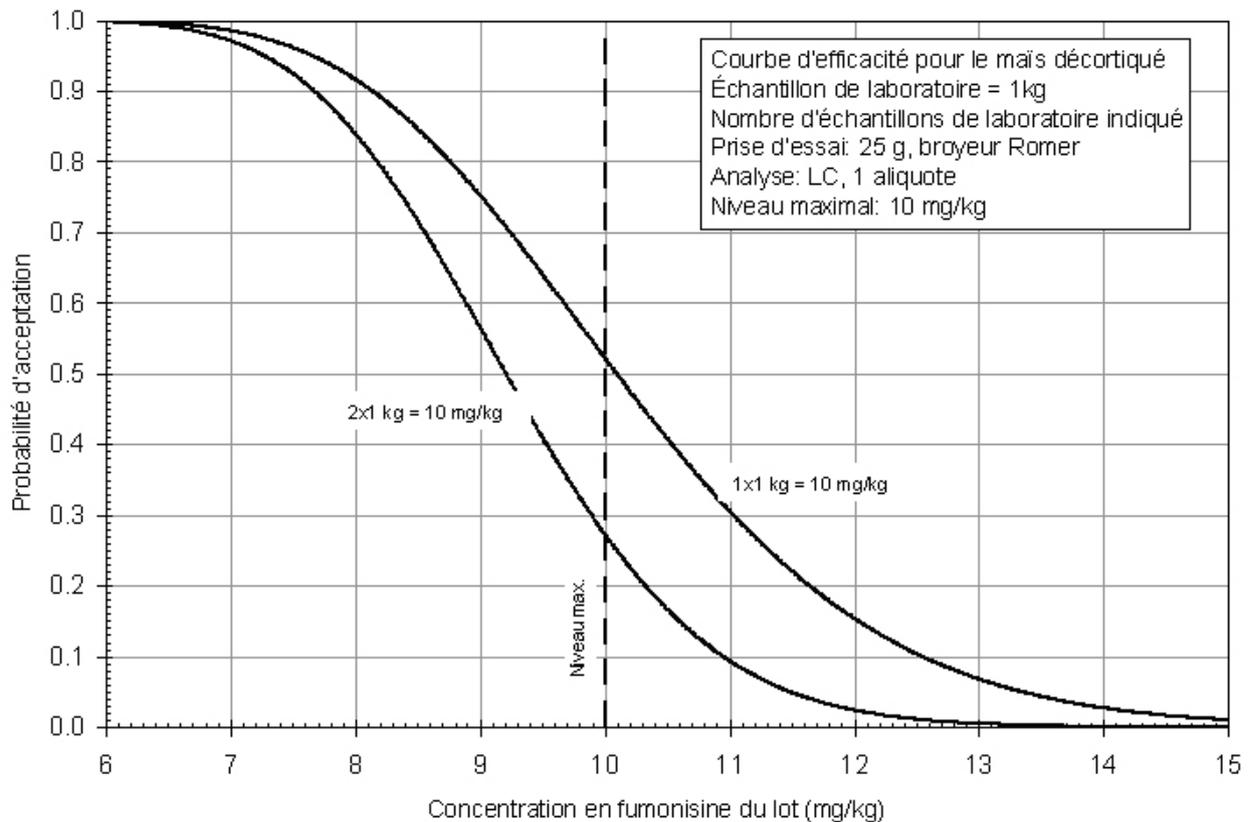


Figure 6. Courbe des caractéristiques de fonctionnement montrant l'efficacité des modèles de plan d'échantillonnage qui utilisent 1 ou 2 échantillons de 1,0 kg chacun pour détecter les fumonisines dans des lots de maïs décortiqué pour un niveau maximal de 10 mg/kg.

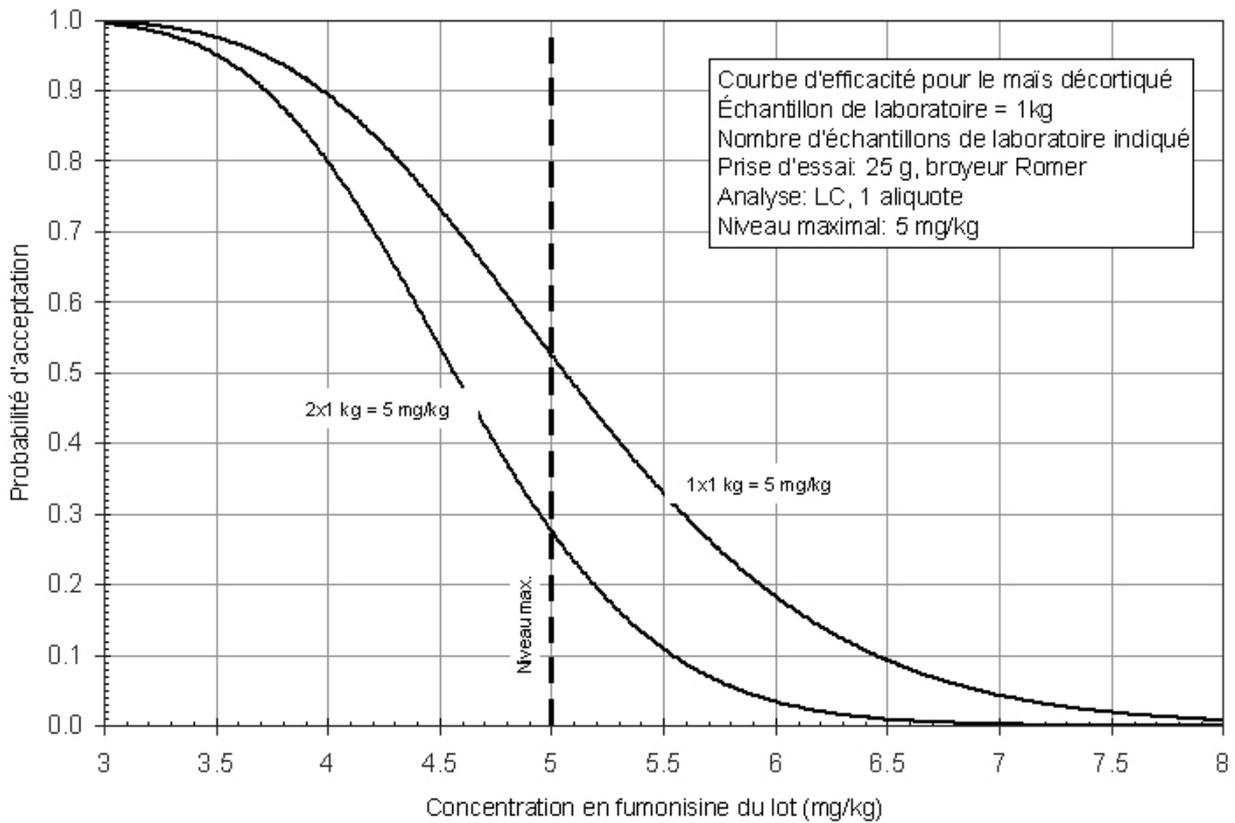


Figure 7. Courbe des caractéristiques de fonctionnement montrant l'efficacité des modèles de plan d'échantillonnage qui utilisent 1 ou 2 échantillons de 1,0 kg chacun pour détecter les fumonisines dans des lots de maïs décortiqué pour un niveau maximal de 5 mg/kg.

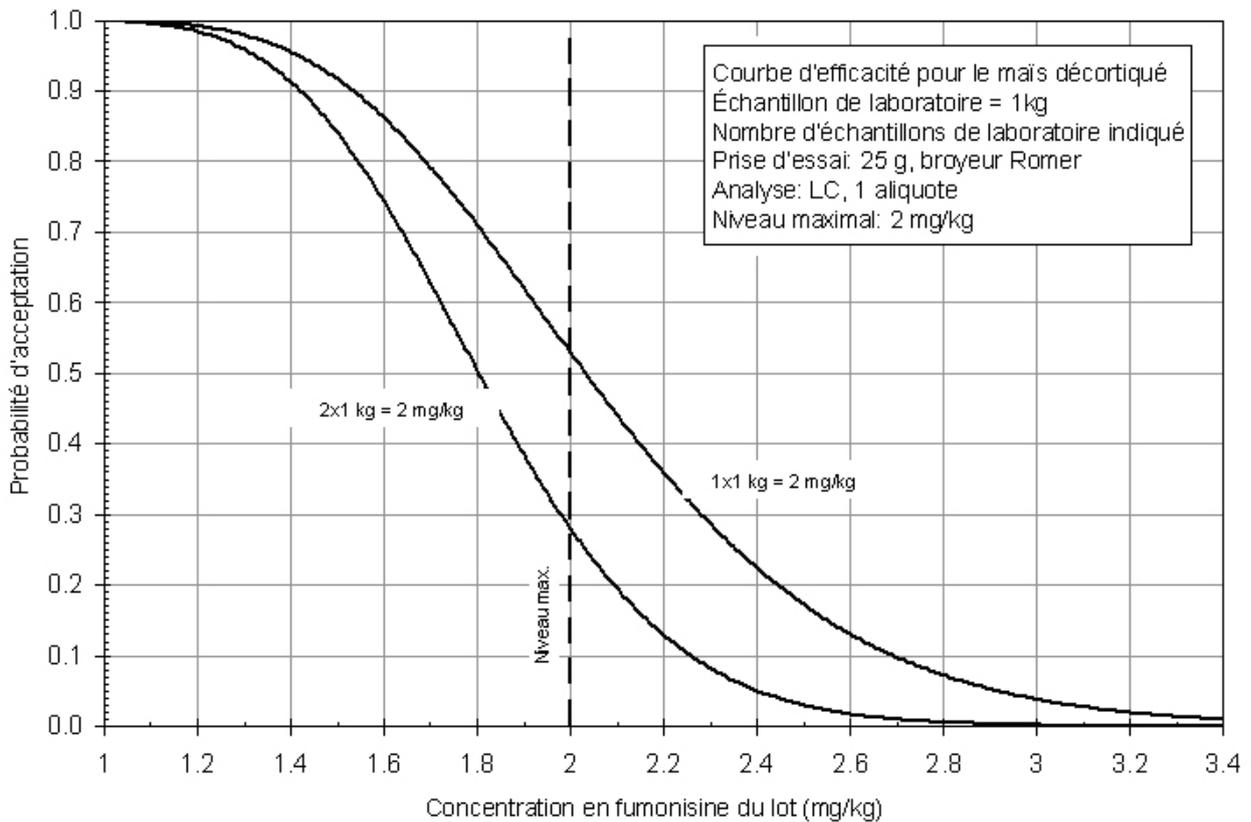


Figure 8. Courbe des caractéristiques de fonctionnement montrant l'efficacité des modèles de plan d'échantillonnage qui utilisent 1 ou 2 échantillons de 1,0 kg chacun pour détecter les fumonisines dans des lots de maïs décortiqué pour un niveau maximal de 2mg/kg.

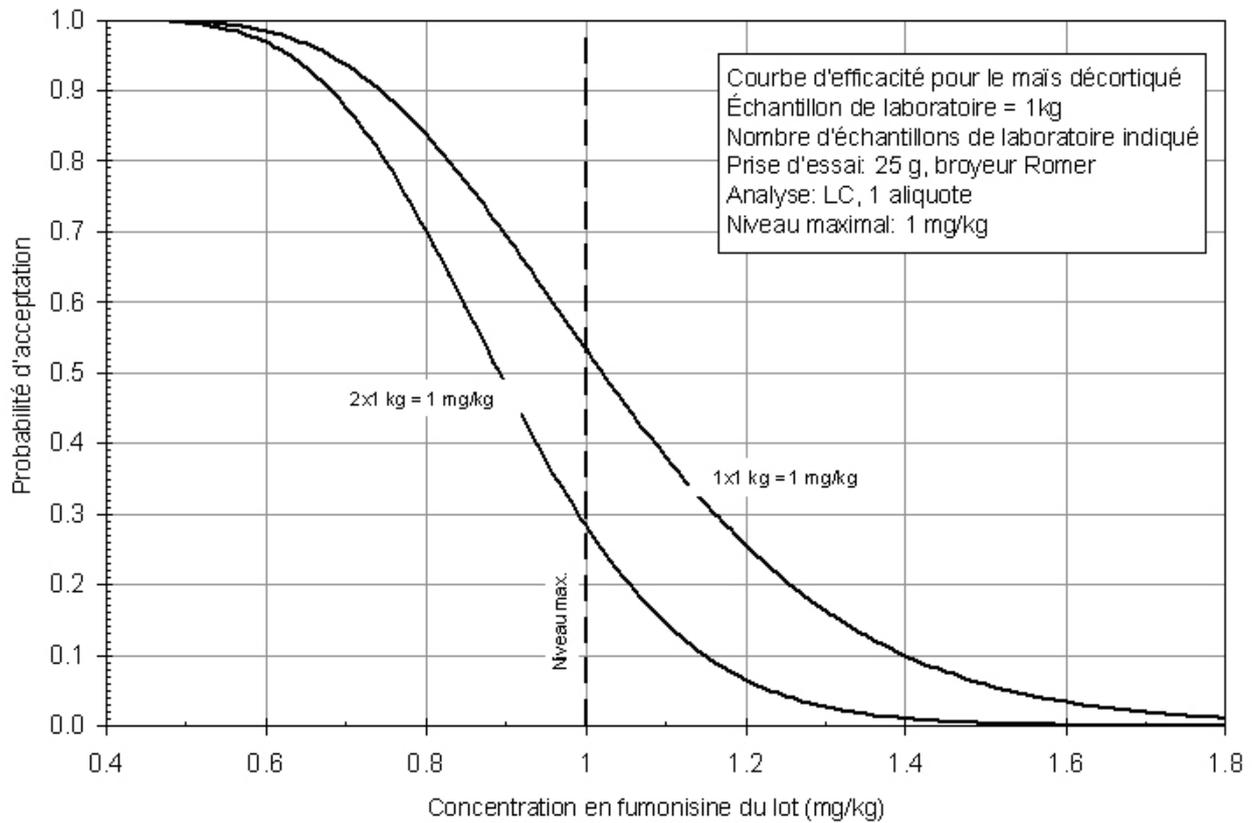


Figure 9. Courbe des caractéristiques de fonctionnement montrant l'efficacité des modèles de plan d'échantillonnage qui utilisent 1 ou 2 échantillons de 1,0 kg chacun pour détecter les fumonisines dans des lots de maïs décortiqué pour un niveau maximal de 1 mg/kg

32. Pour chaque niveau maximal, quand le nombre d'échantillons de laboratoire augmente de 1 à 2 échantillons (chaque échantillon = 1,0 kg), les chances de rejet des lots de concentration inférieure au niveau maximal augmentent (augmentation des faux positifs) et les chances de rejet des lots de concentration inférieure au niveau maximal diminuent (réduction des faux négatifs). L'accroissement du nombre des échantillons analysés par lot est une méthode efficace pour réduire les chances de faux négatifs, mais le coût est élevé pour l'exportateur car elle augmente les chances de faux positifs.
33. Les courbes des figures 1 à 9 montrent que l'interaction entre le niveau maximal, la taille de l'échantillon de laboratoire et le nombre d'échantillons de laboratoire peut être utilisée pour minimiser les chances d'accepter des lots contenant des fumonisines en concentration supérieure à un certain niveau. Par exemple, si un plan d'échantillonnage était conçu pour ne pas accepter plus de 10% de lots avec une concentration de 6 mg/g ou plus, alors soit $1 \times 5 \text{ kg} \leq 5 \text{ mg/kg}$ (figure 2) ou $2 \times 1 \text{ kg} \leq 5 \text{ mg/kg}$ (figure 7) seront conformes à ce critère.

ÉFFICACITÉ DE PLUSIEURS PLANS D'ÉCHANTILLONAGE POUR LES FUMONISINES DANS LA FARINE/SEMOULE DE MAÏS

34. Comme il n'existe aucune donnée d'échantillonnage pour les fumonisines dans la farine de maïs ou la semoule de maïs, la variabilité associée au prélèvement d'une prise d'essai dans un échantillon broyé avec un broyeur Romer (équation 2) est utilisée pour estimer la variance de l'échantillonnage pour la farine/semoule de maïs. La variabilité totale de la procédure d'essai pour les fumonisines dans la farine de maïs (ou tout autre matériau broyé) est la somme de la variance de l'échantillonnage et de la variance analytique. Comme le matériau est broyé, il n'y a généralement pas de variance pour la préparation de l'échantillon. Bien qu'aucune donnée de laboratoire ne soit disponible, il est probable que la variabilité de l'échantillonnage pour la farine (V_{sf}) sera très inférieure à la variabilité de l'échantillonnage pour le grain broyé avec le broyeur Romer (V_{sr}) parce que la taille des particules de la farine transformée est supposée être beaucoup plus petite que le maïs broyé avec le broyeur Romer. ($V_{sf} \ll V_{sr}$). Il est supposé que la variabilité analytique sera environ la même pour la farine transformée et le grain broyé dans le broyeur Romer. La variance de l'échantillonnage serait une composante plus importante de la variance totale pour l'échantillonnage du grain broyé avec le broyeur Romer. L'efficacité du plan d'échantillonnage est affectée par la taille des particules. L'utilisation de l'équation 5 ci-dessous relative à la variance de l'échantillonnage permettrait de prévoir la nécessité d'un échantillon plus grand que prévu si une variance de l'échantillonnage plus petite était utilisée pour refléter avec davantage d'exactitude la taille des particules de la farine de maïs. Pour une taille d'échantillon donnée, plus la particule est petite (davantage de particules par unité de masse), plus la variabilité de l'échantillonnage est faible, moins de bons lots seront rejetés (risque de l'exportateur), et moins de mauvais lots seront acceptés (risque de l'importateur) (Whitaker BT, *communication personnelle*, 2012).
35. Des courbes relatives à l'échantillonnage du maïs décortiqué broyé (farine/semoule de maïs) avec des tailles d'échantillons et des méthodes analytiques données ont été calculées à l'aide des variances décrites dans les équations 2 et 3 qui ont été mesurées par Whitaker et al, 1998. Les variances de l'échantillonnage et analytique:

$$\text{Variance de l'échantillonnage} = (25/ns) 0,011 C^{1,59} \quad (5)$$

$$\text{Variance analytique} = (1/na) 0,014 C^{1,44} \quad (6)$$

où ns est le poids en grammes de l'échantillon broyé et na le nombre d'aliquotes quantifiées par LC.

La variance de l'échantillonnage (équation 5) reflète la distribution des tailles des particules conforme au maïs décortiqué broyé avec le broyeur Romer et elle est la variance de la préparation de l'échantillon pour le maïs décortiqué (équation 2).

Variance analytique (équation 6) reflète la quantification des fumonisines dans une aliquote unique déterminée par les méthodes CL.

36. Les effets de la taille de l'échantillon et du nombre d'échantillons sur les courbes des caractéristiques de fonctionnement sont montrés dans les figures 10 et 11 respectivement, pour un NM de 2 mg/kg. Les effets de l'accroissement de la taille des échantillons et du nombre des échantillons sur la courbe est le même que celui décrit ci-dessus pour le maïs décortiqué.

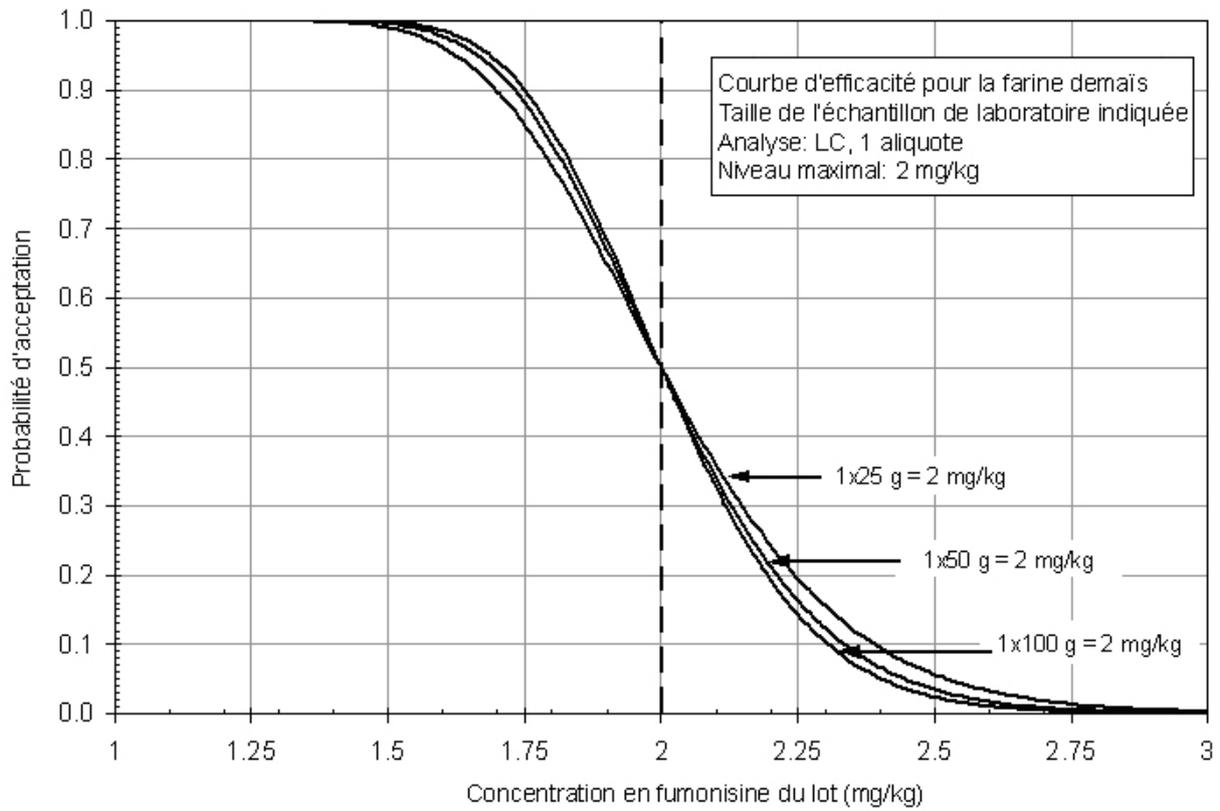


Figure 10. Courbe des caractéristiques de fonctionnement montrant l'efficacité des modèles de plan d'échantillonnage qui utilisent des échantillons de 25, 50 et 100 g pour détecter les fumonisines dans des lots de farine/semoule de maïs pour un niveau maximal de 2 mg/kg.

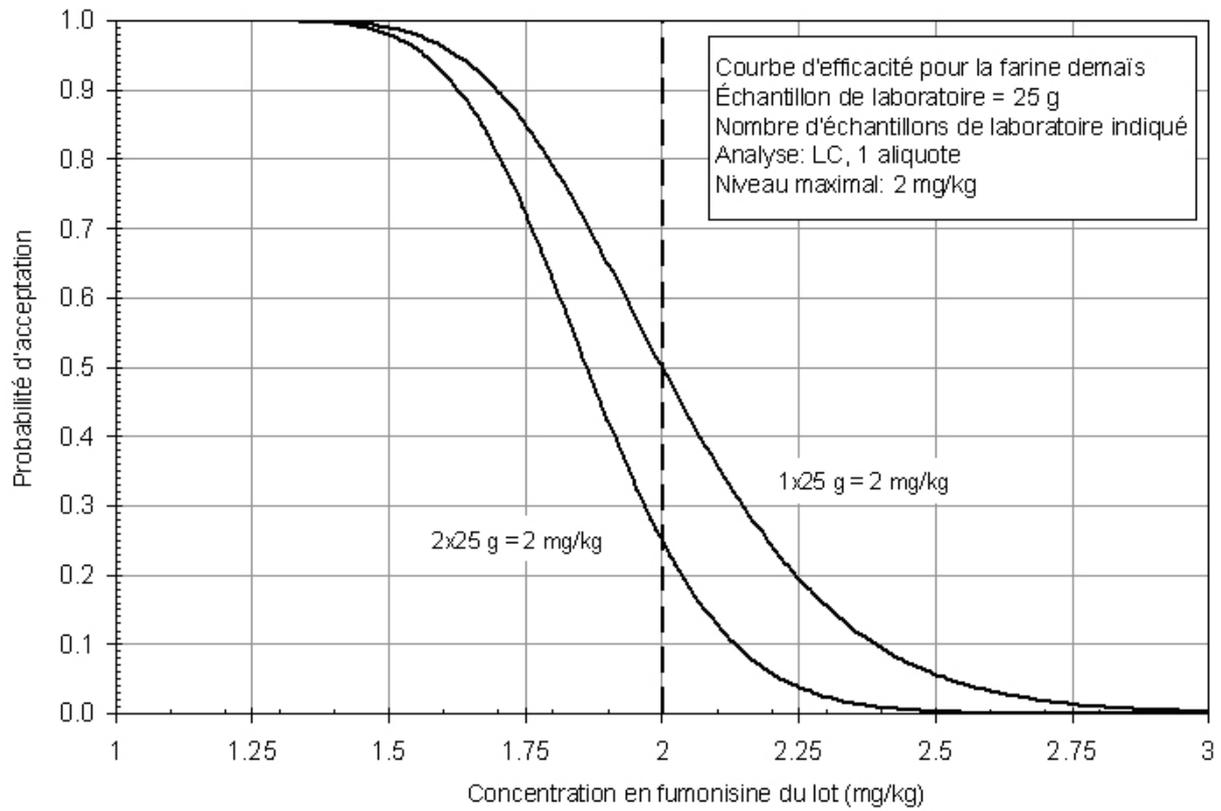


Figure 11. Courbe des caractéristiques de fonctionnement montrant l'efficacité des modèles de plan d'échantillonnage qui utilisent 1 ou 2 échantillons de 25 g chacun pour détecter les fumonisines dans des lots de farine/semoule de maïs pour un niveau maximal de 2 mg/kg.

REFERENCES

1. Abbas, H.K., Cartwright, R.D., Shier, W.T. Aflatoxin and fumonisin contamination of maize (maize, *Zea mays*) hybrids in Arkansas. *Crop Prot.* 25, 1–9, 2006.
2. Afolabi CG, Bandyopadhyay R, Leslie JF, Ekpo EJ. Effect of sorting on incidence and occurrence of fumonisins and *Fusarium verticillioides* on maize from Nigeria. *J. Food Prot.* 69, 2019-23, 2006.
3. Alexander, R.J. Maize dry milling: processes, products and applications. IN: *Maize: Chemistry and Technology*. S.A. Watson and P.E. Ramstad, eds. Am. Assoc. Cereal Chem.: St. Paul, MN, pp 351-376, 1987.
4. Ariño A., Estopañan, G., Juan, T., Herrera, A. Estimation of dietary intakes of fumonisins B₁ and B₂ from conventional and organic maize. *Food Control* 18: 1058–1062, 2007.
5. Bacon, C.W.; Nelson, P.E.; Fumonisin production in maize by toxigenic strains of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. *J. Food Prot.* 57(6): 514-521, 1994.
6. Bacon, C.W. and Hinton, D.M.; Symptomless endophytic colonization of maize by *Fusarium moniliforme*. *Can. J. Bot./Rev. Can. Bot.* 74(8): 1195-1202, 1996.
7. Bartók T, Tölgyesi L, Szekeres A, Varga M, Bartha R, Szécsi A, Bartók M, Mesterházy A, Detection and characterization of twenty-eight isomers of fumonisin B₁ (FB₁) mycotoxin in a solid rice culture infected with *Fusarium verticillioides* by reversed-phase high-performance liquid chromatography/electrospray ionization time-of-flight and ion trap mass spectrometry, *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2010 Jan;24(1):35-42
8. Bennett, G.A. and Richard, J.L. Influence of processing on *Fusarium* mycotoxins in contaminated grains. *Food Technology* 50(5), 235-238, 1996.
9. Bird, C.B., et al. (2002). Determination of total fumonisins in corn by competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay: Collaborative study. *Journal of the AOAC International* 85, 404-410.
10. Bothast, R.J.; Bennett, G.A.; Vancauwenberge, J.E.; Richard, J.L. Fate of fumonisin B₁ in naturally contaminated maize during ethanol fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:233-236, 1992.
11. Brera, C.; Debegnach, F.; Grossi, S.; Miraglia, M.; Effect of industrial processing on the distribution of fumonisin B₁ in dry milling maize fractions. *Journal of Food Protection* 67 (6): 1261-1266, 2004.
12. Bullerman, L.B.; Bianchini, Hanna, M.A., Jackson, L.S.; Jablonski, J.; Ryu, D. Reduction of Fumonisin B₁ in Corn Grits by Single-Screw Extrusion *J. Agric. Food Chem.* 56, 2400–2405, 2008.
13. Burns TD., Snook ME, Riley RT and Voss KA. Fumonisin concentration and in vivo toxicity of nixtamalized *Fusarium verticillioides* culture material; evidence for fumonisin-matrix interaction. *Food Chem Toxicol.* 46, 2841-2848, 2008.
14. Caldas, E.D.; Silva, A.C.S. Mycotoxins in maize based food products consumed in Brazil: An exposure assessment for fumonisins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (19): 7974-7980, 2007.
15. Castells, M; Marín, M; Sanchis, V; Ramos, A.J. Distribution of fumonisins and aflatoxins in corn fractions during industrial cornflake processing *Int. J. Food Microbiol.* 123: 81–87, 2008.
16. Castelo, M.M.; Jackson, L.S.; Hanna, M.A.; Reynolds, B.H.; Bullerman, L.B. Loss of fumonisin B₁ in extruded and baked maize –based foods with sugars. *Journal of Food Science* 66: 416-421, 2001.
17. Cavaliere, C.; Foglia, P.; Guarino, C.; Motto, M.; Nazzari, M.; Samperi, R.; Lagana, A.; Berardo, N.; Mycotoxins produced by *Fusarium* genus in maize: determination by screening and confirmatory methods based on liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Food Chemistry* 105(2): 700-710, 2007.
18. Clay K. Fungal Endophytes of Grasses. *Annual Review of Ecology and Systematics.* 21: 275-297, 1990.
19. Codex Alimentarius, Code of Practice for the prevention and reduction of mycotoxins contamination in cereals, including annexes on ochratoxin A, zearalenone, fumonisins and tricothecenes. CAC/ RCP51, pp. 1–8, 2003.
20. Dall'Asta, C., Galaverna, G., Aureli, G., Dossena, A., Marchelli, R., A LC/MS/MS method for the simultaneous quantification of free and masked fumonisins in corn and cornbased products. *World Mycot. J.* 2008, 1, 1–10.
21. Dall'Asta, C., Galaverna G, Mangia M, Sforza S, Dossena A, Marchelli R. Free and bound fumonisins in gluten-free food products. *Mol Nutr Food Res.* 2009 Apr;53(4):492-9

22. Dall'Asta, C., et al. (2010). In Vitro digestion assay for determination of hidden fumonisins in maize. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58, 12042-12047
23. De Girolamo, A.; Solfrizzo, M.; Von Holst, C.; Visconti, A. Comparison of different extraction solvents and clean-up procedures for the determination of fumonisins in maize and maize-based food products. *Food Addit. Contam.*, 18, 59–67, 2001.
24. Dombrink-Kurtzman, M.A.; Dvorak, T.J. Barron ME, Roney LW. Effect of nixtamalization (alkaline cooking) on fumonisin-contaminated corn for production of masa and tortillas. *J. Agric. Food Chem.* 48: 5781-86, 2000.
25. EC-Commission Regulation. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Commission. No. 1126/2007. http://www.fsai.ie/uploadedFiles/Commission_Regulation_EC_No_1126_2007.pdf
26. Fandohan, P.; Gnonlonfin, B.; Hell, K.; Marasas, W.F.O.; Wingfield, M.J. Natural occurrence of Fusarium and subsequent fumonisin contamination in preharvest and stored maize in Benin, West Africa. *Int. J. Food Microbiology* 99(2): 173-183, 2005.
27. FAO/WHO. Safety evaluations on certain mycotoxins in food (Fifty-sixth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Food Additive Series No. 47, and FAO Food and Nutrition Paper 74, 2001. Available at: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je03.htm> (Accessed 15 January 2009).
28. FAO/WHO – World Health Organization. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants (2011). Seventy-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 966
29. Ferreira-Castro, F.L.; Aquino, S.; Greiner, R.; Ribeiro, D.H.B.; Reis, T.A.; Correa, B. Effects of gamma radiation on maize samples contaminated with Fusarium verticillioides *Applied Radiation and Isotopes* 65, 927–933, 2007.
30. Frisvad JC, Smedsgaard J, Samson RA, Larsen TO, Thrane U. Fumonisin B2 production by *Aspergillus niger*. *J Agric Food Chem.* 2007 Nov 14;55(23):9727-32.
31. Fodor J, Balogh K, Weber M, Miklós M, Kametler L, Pósa R, Mamet R, Bauer J, Horn P, Kovács F, Kovács M. (2008). Absorption, distribution and elimination of fumonisins B₁ metabolites in weaned piglets. *Food Additives and Contaminants* 25(1), 88-96.
32. Gazzotti T, et al. (2011). Analysis of fumonisins B₁, B₂ and their hydrolysed metabolites in pig liver by LC-MS/MS. *Food Chemistry*, 125, 1379-1384.
33. Hasegawa, R. H.; Fonseca, H.; Fancelli, A. L.; Silva da V. N., Schammas E. A., Reis, T. A.; Correa, B.; Influence of macro- and micronutrient fertilization on fungal contamination and fumonisin production in maize grains. *Food Control* 19 (1):36-43, 2008.
34. Hlywka, J.J. and Bullerman, L.B. Occurrence of fumonisin B₁ and B₂ in beer. *Food Addit. Contam.* 16(8): 319-324, 1999.
35. IARC. International Agency for Research on Cancer. Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 82: 171-301, 2002.
36. Jackson, L.S.; Katta, S.K.; Fingerhut, D.D.; DeVries, J.W.; and Bullerman, L.B. Effects of baking and frying on the fumonisin B₁ content of maize-based foods. *J. Agric Food Chem.* 45:4800-4805, 1997.
37. Jackson, L.; Jablonski, J. *Mycotoxins in food: detection and control.* Woodhead Publishing 367-405, 2004.
38. Katta, S.K.; Cagampang, A.E.; Jackson, L.S. and Bullerman, L.B. Distribution of Fusarium molds and fumonisins in dry-milled maize fractions. *Cereal Chem.* 74(6): 858-863, 1997.
39. Katta, S.K.; Jackson, L.S.; Sumner, S.S.; Hanna, M.A.; Bullerman, L.B. Effect of temperature and screw speed on stability of fumonisin B₁ in extrusion-cooked maize grits. *Cereal Chem.*, 76, 16–20, 1999.
40. Kim, E.K.; Scott, P.M.; Lau, B.P. Hidden fumonisin in maize flakes. *Food Addit. Contam.* 20, 161-169, 2003.
41. Kumar, V.; Basu, M.S.; Rajendran, T.P. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities, *Crop Protection* 27(6): 891-905, 2008.
42. Lu, Y.; Clifford, L.; Hauck, C.C.; Hendrich, S.; Osweiler, G.; Murphy, P.A. Characterization of fumonisin B₁- glucose reaction kinetics and products. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4726-4733, 2002.
43. Maenetje PW, Dutton MF. The incidence of fungi and mycotoxins in South African barley and barley products. *J Environ Sci Health B.* 2007 Feb;42(2):229-36.

44. Malone, B.M.; Richard, J.L.; Romer, T.; Johansson, A.S. and Whitaker, T. Fumonisin reduction in maize by cleaning during storage discharge. IN: Proceedings of the 48th Australian Cereal Chemistry Conference. L. O'Brian, A.B. Blakeney, A.S. Ross and C.W. Wrigley eds. Cairns, Australia, pp372-379, August 1998.
45. Monbaliu S, Van Poucke C, Detavernier C, Dumoulin F, Van De Velde M, Schoeters E, Van Dyck S, Averkieva O, Van Peteghem C, De Saeger S. (2010). Occurrence of mycotoxins in feeds as analyzed by a multi-mycotoxin LC-MS/MS method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 66-71.
46. Magkos, F.; Arvaniti, F.; Zampelas, A. Organic Food: Buying More Safety or Just Peace of Mind? A Critical Review of the Literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46:23–56, 2006.
47. Månsson M, Klejnstrup ML, Phipps RK, Nielsen KF, Frisvad JC, Gottfredsen CH, Larsen TO. Isolation and NMR characterization of fumonisin B2 and a new fumonisin B6 from *Aspergillus niger*. *J Agric Food Chem*. 2010 27;58(2):949-53.
48. Marasas, W.F.O. Discovery and Occurrence of the Fumonisin: A Historical Perspective. *Environmental health perspectives supplements* 109(2): 239-243, 2001.
49. Miller, J.D. Epidemiology of *Fusarium* ear diseases of cereals. IN: *Mycotoxins in Grain-Compounds Other Than Aflatoxin*. J.D. Miller and H.L. Trenholm eds. Eagan Press, St. Paul, MN, pp 19-36, 1994.
50. Miller, M.A.; Honstead, J.P., and Lovell, R.A. Regulatory aspects of fumonisins with respect to animal feed. IN: *Fumonisin in Food*. L.S. Jackson; J.W. DeVries and L.B. Bullerman eds. Plenum Press, NY, pp 363-368, 1996.
51. Miller, J.D. Factors affecting the occurrence of fumonisin in maize. Abstracts of Papers (p.21)-International Conference on the Toxicology of Fumonisin. June 28-30, Arlington, VA, 1999.
52. Mogensen JM, Frisvad JC, Thrane U, Nielsen KF, Production of Fumonisin B2 and B4 by *Aspergillus niger* on grapes and raisins, *J Agric Food Chem*, 2010 Jan 27;58(2):954-8,
53. Munkvold, G.P.; Desjardins, A.E. Fumonisin in maize - Can we reduce their occurrence? *Plant Disease*. 81(6):556-565, 1997.
54. Noonim P, Mahakarnchanakul W, Nielsen KF, Frisvad JC, Samson RA. Fumonisin B2 production by *Aspergillus niger* in Thai coffee beans. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2009;26(1):94-100.
55. Ndube N, van der Westhuizen L, Green IR, Shephard GS. HPLC determination of fumonisin mycotoxins in maize: a comparative study of naphthalene-2,3-dicarboxaldehyde and o-phthalaldehyde derivatization reagents for fluorescence and diode array detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2011 1;879(23):2239-43.
56. Pagliuca G, Zironi E, Ceccolini A, Matera R, Serrazanetti GP, Piva A. (2005). Simple method for the simultaneous isolation and determination of fumonisin B₁ and its metabolite aminopentol-1 in swine liver by liquid chromatography-fluorescence detection. *Journal of Chromatography B* 818, 97-103.
57. Palencia, E., et al. (2003). Total fumonisins are reduced in tortillas using the traditional nixtamalization method of mayan communities. *Nutrient interacts and toxicity research communication. The Journal of Nutrition* 133(10), 3200-3203.
58. Park, J.W.; Scott, P.M.; Lau, B.P.; Lewis, D.A.; Analysis of heat-processed maize foods for fumonisins and bound fumonisins. *Food Addit. Contam*. 21(12):1168-78, 2004.
59. Prelusky, D.B.; Trenholm, H.L.; Rotter, B.A.; Miller, J.D.; Savard, M.E.; Yeung, J.M.; and Scott, P.M. Biological fate of fumonisin B₁ in food-producing animals. IN: *Fumonisin in Food*. L.S. Jackson, J.W. DeVries, and L.B. Bullerman, eds. Plenum Press, New York, pp 265-278, 1996.
60. Resnik, S.L. Food processing to reduce the entry of mycotoxins to the food and feed chains. Conference on "Advances in research on toxigenic fungi and mycotoxins in South America ensuring food and feed safety in a mycoglobe context" Carlos Paz, Cordoba, Argentina, March 2006.
61. Rheeder, J.P.; Marasas, W. F.O.; Vismer, H.F. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol*. 68: 2101-2105, 2002.
62. Scott, P.M.; Lawrence, G.A. Analysis of beer for fumonisins. *J. Food Prot.*, 58, 1379–1382, 1995.
63. Scudamore KA, Patel S. *Fusarium* mycotoxins in milling streams from the commercial milling of maize imported to the UK, and relevance to current legislation. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2009 May;26(5):744-53.
64. Seefelder, W.; Knecht, A.; Humpf, H.U. Bound fumonisin B₁: analysis of fumonisin-B₁ glyco and amino acid conjugates by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem*. 51, 5567-73, 2003.

65. Shelby, R.A.; White, D.G.; Bauske, E.M. Differential fumonisin production in maize hybrids. *Plant Disease* 78: 582-584, 1994.
66. Shetty, P.H.; Bhat, R.V. Physical method for segregation of fumonisin-contaminated maize. *Food Chem.*, 66, 371–374, 1999.
67. Silva, L.; Fernández-Franzón, M.; Font, G.; Pena, A.; Silveira, I.; Lino, C.; Mañes, J. Analysis of fumonisins in corn-based food by liquid chromatography with fluorescence and mass spectrometry detectors. *Food Chemistry* 112, 1031–1037, 2009.
68. Solfrizzo, M.; De Girolamo, A.; Visconti, A. Determination of fumonisins B₁ and B₂ in maizeflakes by high performance liquid chromatography and immunoaffinity clean-up. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 18(3):227-235, 2001.
69. Senyuva, H.Z., Gilbert, J., Stroka, J. (2010). Determination of fumonisins B₁ and B₂ in corn by LC/MS with immunoaffinity column clean-up: Interlaboratory Study. *Journal of the AOAC International*, 93 (2), 611-621.
70. Sewram, V.; Mshicileli, N.; Shephard, G.S.; Vismer, H.F.; Rheeder, J.P.; Lee, Y.W.; Leslie, J.F.; Marasas, W.F.O. Production of fumonisin B and C analogs by several *Fusarium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 4861-4866, 2005
71. Sydenham, E.W.; Shephard, G.S.; Thiel, P.G.; Stockenström, S.; Snijman, P.W.; Van Schalkwyk, D.J. Liquid chromatographic determination of fumonisins B₁, B₂, and B₃ in maize: AOAC–IUPAC collaborative study. *J. AOAC Int.*, 79, 688–696, 1996.
72. USFDA. Fumonisin Levels in Human Foods and Animal Feeds. Guidance for Industry Final guidance. US Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. November, 2001. Available at: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/fumongu2.html>
73. Visconti, A.; Solfrizzo, M.; Doko, M.B.; Boenke, A.; Pascale, M. Stability of fumonisins at different storage periods and temperatures in gamma-irradiated maize. *Food Addit. Contam.* 13(8): 929- 938, 1996.
74. Voss, K.A.; Riley, R.T. Differential sensitivity of rat kidney and liver to fumonisin toxicity: organ-specific differences in toxin accumulation and sphingoid base metabolism. *Toxicol. Sci.* 92: 335-345, 2006.
75. Wang, J.; Zhou, Y.; Wang, Q. Analysis of mycotoxin fumonisins in corn products by high-performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detection. *Food Chemistry* 107(2): 970-976, 2008.b
76. Warfield, C.Y. and Gilchrist, D.G. Influence of kernel age on fumonisin B₁ production in maize by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(7): 2853-2856, 1999.
77. Whitaker, T.B.; Trucksess, M.W.; Johansson, A.S.; Giesbrecht, F.G.; Hagler, W.M.; and Bowman, D.T. Variability associated with testing shelled maize for fumonisin. *J AOAC Intl.* 81(6): 1162-1168, 1998.
78. Whitaker, T.B.; Doko, M.B.; Maestroni, B.M.; Slate, A.B.; Ogunbanwo, B.F.; Evaluating the Performance of Sampling Plans to Detect Fumonisin B₁ in Maize Lots Marketed in Nigeria. *J AOAC Intl.* 90(4): 1050-1059, 2007.
79. WHO – World Health Organization. GEMS/Food Custers Diet (Global Environment Monitoring System/ Food Contamination Monitoring and Assessment Program). 2006. Available at <http://www.who.int/foodsafety/chem/gems/en/index1.html>
80. Yates, I.E., Widstrom, N.W., Bacon, C.W., Glenn, A., Hinton, D.M., Sparks, D., Jaworski, A.J. Field performance of maize grown from *Fusarium verticillioides*-inoculated seed. *Mycopathologia* 159: 65–73, 2005.
81. Yates, I.E.; Sparks, D. *Fusarium verticillioides* dissemination among maize ears of field-grown plants. *Crop Protection Journal*. 27:606-613, 2008.