



**WETENSCHAPPELIJK COMITE
VAN HET FEDERAAL AGENTSCHAP VOOR DE VEILIGHEID
VAN DE VOEDSELKETEN**

ADVIES 35-2007

**Betreft: Opkomende chemische risico's in de voedselketen – Gevalsstudie:
Opkomende mycotoxinen (dossier Sci Com 2007/07 : eigen initiatief)**

Advies gevalideerd door het Wetenschappelijk Comité op 9 november 2007.

Samenvatting

Het Wetenschappelijk Comité opende op eigen initiatief een dossier om opkomende chemische risico's te bestuderen. Eerst wordt het begrip "opkomende chemische risico's (OCR)" omschreven en wordt de studie van OCR gesitueerd in de nationale en de internationale context. Er wordt een systeem voor de indeling van opkomende risico's vastgelegd.

In een tweede fase wordt de gevalstudie "Opkomende mycotoxinen" nader besproken. Hierbij ligt de focus op de opkomende mycotoxinen waarnaar in België en in Europa onderzoek wordt uitgevoerd. Het Wetenschappelijk Comité verwoordt aanbevelingen voor het bewakingsplan van het FAVV en voor wetenschappelijk onderzoek tenslotte met betrekking tot opkomende mycotoxinen.

Summary

Advice 35-2007 of the Scientific Committee of the FASFC

The Scientific Committee started a self tasking study on emerging chemical risks. Firstly, the concept of emerging chemical risks (ECR) is defined and the studie of ECR is located in the national and international context. A system of classification of the emerging risks is established.

Secondly, a case studie on emerging mycotoxines is presented. The study is focused on emerging mycotoxins which are a subject of research in Belgium and in Europe. The Scientific Committee make recommendations for the FASFC control plan and for scientific research on the emerging mycotoxines.

Sleutelwoorden

Opkomende chemische risico's, mycotoxinen, gevalstudie

1. Referentietermen

1.1. Doelstelling

De algemene doelstelling van het eigen initiatief dossier “opkomende chemische risico’s in de voedselketen” bestaat erin een werkwijze vast te leggen voor de identificatie van nieuwe chemische gevaren en voorstellen te doen met het oog op het actualiseren van het bewakingsprogramma van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV).

De vastgelegde referentietermen zijn:

- 1) Het begrip “opkomend chemisch risico” (OCR) omschrijven
- 2) Het initiatief van het Wetenschappelijk Comité situeren in de nationale en de internationale context
- 3) Het begrip OCR illustreren door middel van voorbeelden en/of gevalstudies.
- 4) De OCR indelen volgens diverse criteria (chemische groepen, effecten, oorsprong, ...).
- 5) Een systeem voorstellen voor het identificeren van en het vaststellen van prioriteiten voor de OCR
- 6) Aanbevelingen doen voor het controleprogramma
- 7) Aanbevelingen doen voor het wetenschappelijk onderzoek

Overwegende de besprekingen tijdens de werkgroepvergaderingen van 13 april 2007, 6 juli 2007, 9 oktober 2007 en de plenaire zitting van 9 november 2007,

geeft het Wetenschappelijk Comité het volgende advies :

2. Inleiding

Op grond van de in de literatuur beschikbare informatie wordt het begrip “opkomende chemische risico’s in de voedselketen” omschreven. Het Wetenschappelijk Comité bestudeert de opkomende chemische risico’s voor de voedselketen aan de hand van gevalstudies. De eerste gevalstudie die wordt besproken, betreft opkomende mycotoxinen.

3. Opkomende chemische risico’s (OCR)

3.1. Definitie van het begrip OCR

De door de EFSA (2006) voorgestelde definitie werd als uitgangspunt gebruikt. Deze definitie werd als volgt aangepast :

“Een opkomend risico is een probleem dat in de toekomst een risico voor de voedselketen kan inhouden. De indicatoren van een opkomend risico houden verband met (1) een significante blootstelling aan een voorheen niet herkend gevaar, of (2) een verhoogde blootstelling (men spreekt in dit geval van een opnieuw opkomend risico) of (3) een toenemende gevoeligheid van de populatie voor een bekend gevaar”.

Deze definitie wordt door middel van de volgende voorbeelden geïllustreerd:

(1) Significante blootstelling aan een voorheen niet herkend gevaar (met betrekking tot de veiligheid van de voedselketen).

- Nieuwe kennis
 - Acrylamide in frituuraardappelen en koekjes
 - Benzeen in frisdrank
 - Mycotoxines T2 en HT2 in levensmiddelen en in diervoeders
 - Migratie van verpakkingscomponenten (monomeer van plastics)
- Nieuwe productiemethoden
 - Gebruik van benzoaat als bewaarmiddel in frisdrank, waaruit benzeen kan ontstaan
 - Ontsmetting van plantaardige producten met chloorderivaten (hypochloriet)
 - Bestraling van verpakkingsmateriaal met gammastralen
 - Gedrag van verpakkingsmateriaal in de magnetron
- Terechtkomen van industriële chemische producten en andere xenobiotica in de voedselketen
 - Geperfluoreerde stoffen (PFOS, PFOA)
 - Polygebromeerde verbindingen (PBDE)
 - Organische tinverbindingen
 - Ftalaten

(2) Nieuwe / toenemende (en onverwachte) blootstelling aan een bekend gevaar.

- Nieuwe blootstelling aan een verboden verbinding als gevolg van :
 - Frauduleus gebruik (azokleurstoffen in chili(poeder), nitrofuranen en malachietgroen in aquacultuurproducten, melamine in pet food, ...)
 - Accidentele verontreiniging (nitrofen in granen en graanproducten, ...)
 - Verontreiniging vanuit het milieu (DDT in scharreleieren, malachietgroen in vis, aldrine in kweekzalm, ...)
- Toenemende blootstelling aan een reeds bekend gevaar als gevolg van :
 - Wijziging van de eetgewoonten (toxinen en verontreinigingen in voedingssupplementen, bereidingen op basis van planten en specerijen, ...)
 - Verandering van het gehalte aan verontreinigingen van specifieke levensmiddelen (aflatoxine in Hongaarse paprika's of Italiaanse maïs (polenta), ...)
- Onverwachte blootstelling aan een reeds bekend gevaar als gevolg van :
 - Procesverontreiniging (dioxine in gelatine en in vet als gevolg van een verontreiniging met HCl en dioxinen van diervoeder die te wijten is aan de verontreiniging van klei, ...)
 - Versleping (allergenen in welbepaalde levensmiddelen, diergeneesmiddelen in diervoer, ...)
 - Verontreiniging vanuit het milieu (zware metalen en dioxinen in levensmiddelen als gevolg van industriële activiteit, PCB's, dioxinen en andere verontreinigingen uit het milieu in scharreleieren, ...)

(3) Verhoging van de gevoeligheid van de populatie voor een reeds bekend gevaar

- Allergenen

3.2. Situering van het initiatief van het Wetenschappelijk Comité in de nationale en de internationale context

De European Food Safety Authority (EFSA) moet volgens artikel 34(1) van Verordening 178/2002 monitoringprocedures opstellen voor het systematisch zoeken, verzamelen, vergelijken en analyseren van informatie en gegevens om opkomende risico's in levensmiddelen op te sporen. Volgens het advies van de EFSA over opkomende risico's (dat op 31 mei 2006 werd aangenomen) zal een eenheid voor opkomende risico's worden opgericht. Die eenheid zal alle relevante informatiebronnen nagaan zodat opkomende risico's

in een vroeg stadium kunnen worden voorspeld en op die manier kunnen worden vermeden of beperkt (FSA, 2007).

Er werden dan ook tot op heden verschillende projecten opgezet rond « emerging risks ». Hieronder volgt een opsomming van de verschillende projecten :

- Het PERIAPT project simuleerde het nut van een later uit te bouwen netwerk dat is toegespitst op de problematiek rond de identificatie van opkomende risico's voor het Europees onderzoek, de ontwikkeling van de voedselveiligheid en het beleid dienaangaande. Er werd een platform gevormd dat op termijn een transnationaal onderzoeksprogramma over emerging risks kan ontwikkelen door middel van een verbetering van de samenwerking, nationale en regionale onderzoeksprogramma's (project SAFEFOODERA).
- EMRISK was een project gefinancierd door EFSA dat de ontwikkeling beoogde van een identificatiesysteem voor opkomende risico's (ERIS) met als doel instruments aan te reiken voor het opsporen van een opkomend risico. Aan het project werkten mensen uit een groot aantal Europese landen mee (FSA, 2007).
- Er bestaat een expertennetwerk binnen het geïntegreerde SAFE FOOD project van het 6^{de} kaderprogramma.
- Er werden internationale netwerken en nationale uitwisselingssystemen opgezet, zoals OIE -World Animal Health Information System international (http://www.oie.int/eng/info/en_info.htm), WHO -Global outbreak Alert and Response Network (GOARN) (<http://who.int/csr/outbreaknetwork/en/>) and Global Public Health Intelligence Network (GPHIN) (<http://www.who.int/csr/alertresponse/en/>), Food Surveillance System (FSS), WHO, wereldwijd netwerk van nationale voedselveiligheidsautoriteiten (INFOSAN) en RASFF(EC).
- Het Center for Emerging Issues van USDA-APHIS (VS, <http://www.aphis.usda.gov/vs/ceah/cei/index.htm>) identificeert problemen die van invloed kunnen zijn op dierziekten of de handel in dierlijke producten in de Verenigde Staten (VS). De onderwerpen houden meestal verband met microbiologie maar soms worden ook chemische gevallen behandeld (Kleter GA et al. 2006).
- Het Office of Research and Development van het US Environmental Protection Agency (EPA ORD) Research on "environmental futures" including "emerging pollutant" (VS <http://epa.gov/osp/futures/aboutgoal.htm>) heeft tot doel opkomende pollutanten te identificeren waarvan het voorkomen in het milieu veranderd is of vroeger onbekend was of waarvan de toxische eigenschappen vroeger niet bekend waren (Kleter GA et al. 2006).
- Het Europees wetenschappelijke comité voor opkomende en nieuw geïdentificeerde gezondheidsrisico's (SCENHIR, http://europa.eu.int/comm/health/ph_risk/committees/04_scenihir/04_scenihir_en.htm) houdt zich bezig met voeding maar ook met andere problemen zoals nieuwe technologieën (Kleter GA et al. 2006).
- Het project "Horizon scanning for environmental contaminants" van het Central Science Laboratory (CSL) van FSA (Food Safety Agency) (oktober 2006 – maart 2007) heeft als doel de methodologieën voor het identificeren van de dreigingen van opkomende verontreinigingen voor de voedselveiligheid te onderzoeken.
- Een internationale workshop van de FSA over de preventie van incidenten met levensmiddelen en een horizontale screening van de veiligheid in verband met opkomende voedselrisico's die in samenwerking met de EFSA vond plaats op 5 en 6 maart 2007. De belangrijkste doelstelling van de workshop bestond erin het risico voor gebruikers van verontreinigd voedsel te verminderen door een strategie voor de preventie van incidenten te ontwikkelen.
- Kleter et al. (2006) probeerden aan de hand van drie gevalsstudies indicatoren te definiëren en een benadering met het oog op de identificatie van opkomende voedselrisico's vast te leggen. Het gaat hierbij om de volgende 3 gevallen: 1) gebruik van antibiotica bij de intensieve aquacultuurteelt van garnalen en vis, 2) bestrijdingsmiddelen van natuurlijke oorsprong die chemische en microbiologische producten kunnen bevatten en 3) toxoplasmose bij varkens van biologische bedrijven en bedrijven met vrije uitloop in vergelijking met de gangbare varkenshouderij.

Op nationaal vlak lopen thans een aantal onderzoeksprojecten over opkomende risico's. Zo loopt bij het CODA een project dat ertoe strekt een experimentele instrument te ontwikkelen

en te valideren waarmee opkomende chemische risico's voor de voedselveiligheid kunnen worden geëvalueerd.

3.3. Indeling van de opkomende chemische risico's (OCR)

Volgens de weg waarlangs ze in de voedselketen terechtkomen:

- Natuurlijke toxinen (plantaardige, fungische, mariene, bacteriële, ...)
- Niet-toegelaten bestrijdingsmiddelen, geneesmiddelen, kleurstoffen en additieven
- Verontreinigingen vanuit het milieu (zware metalen, dioxinen, PCB's, gebromeerde en geperfluoreerde verbindingen)
- Verontreinigingen die samenhangen met de processen voor verwerking, bereiding en verpakking van levensmiddelen (acrylamide, furanen, benzeen, semicarbazide,...)

Volgens de toxicologische werking:

- Carcinogene en genotoxische stoffen (aflatoxinen, polycyclische aromatische koolwaterstoffen, azokleurstoffen, furanen, allyloxybenzeenverbindingen, dioxinen, ...)
- Hormoonverstorende stoffen (geneesmiddelen met hormonale werking, bepaalde bestrijdingsmiddelen en verontreinigingen uit het milieu (dioxinen), plantaardige microbestanddelen (polyfenolen), ...)
- Allergene stoffen
- Andere (nefrotisch, hepatotoxisch, immunosuppressief,...)

Volgens het soort risico:

- Acuut risico : toxinen van planten, fytotoxinen, allergenen (bijvoorbeeld : zeealgen in oesters)
- Chronisch risico: hormoonverstorende stoffen, carcinogene producten, bioaccumuleerbare producten, ...

Volgens de factoren die het optreden van OCR kunnen beïnvloeden:

De hierna volgende factoren die samenhangen met de levensmiddelenindustrie, het wereldklimaat en de maatschappij moeten in aanmerking worden genomen om de OCR te identificeren en te prioriteren :

- Procesveranderingen in verband met de landbouwproductie en de verwerking / bereiding van producten. Voorbeelden:

- Selectiewerkzaamheden (verrijking met mogelijk toxische afweermiddelen (bijv. solanine); problematiek rond in Europa verboden GGO's, ongewenste voedingsbestanddelen in soja)
- Bodemverbetersaars en meststoffen (zuiveringsslib, cadmium in fosfaatmeststoffen, ...)
- Bescherming van gewassen en producten tijdens bewaring (wijziging van de aard van residuen van bestrijdingsmiddelen, botanische onzuiverheden, mycotoxinen)
- Intensivering van de aquacultuur (risico voor ophoping van persistente pollutanten, geneesmiddelenresiduen, toxinen, ...)
- Intensivering van de fruitteelt en de tuinbouw in ontwikkelingslanden (bijv. intensief gebruik van nematociden, insecticiden en fungiciden in voor de export bestemde beschutte teelten)
- Gebrek aan inperking van productiekolommen (GGO's, Bio) en problematiek rond ongewenste residuen (bijv. verboden GGO's in levensmiddelen en diervoeders, verontreiniging van biologische producties met residuen van synthetische bestrijdingsmiddelen, verontreiniging van geneeskrachtige planten met giftige in het wild voorkomende planten (inperking))

- Economische eisen (economische druk) en risico's door een intensiever gebruik van illegale producten (bestrijdingsmiddelen, antibiotica (bijv. nitrofuranen in uit India ingevoerde eieren), verboden kleurstoffen) of producten van mindere kwaliteit (bijv. technologische hulpstoffen)
- Nieuwe verontreinigingen die ontstaan bij verandering van procédé (drogen, verwarmen, frituren, verhitten in autoclaaf, ...) en vrijkomen uit contactmaterialen (verpakkingen, sealings, inkt (ITX), lijm, enz) ; « Non food grade chemicals »
- Energie- en zoutarme producten (bijvoorbeeld light producten en risico voor schimmelgroei)
- Nieuwe afvalstromen uit de levensmiddelenindustrie en bijproducten van vervangingsproducten (bijv. koolzaadschroot, corn gluten feed dat voortkomt van de productie van bio-ethanol, biodiesel)

Maatschappelijke factoren

- Reizen en bevlaging met exotische en natuurlijke producten (voedingssupplementen op basis van exotische planten, specerijen, geneeskrachtige planten, consumptie van producten waarvan de toxicologie minder goed bekend is, bijv. plantenaftrekels, essentiële oliën, allerlei bloemensalades,...)
- Transcontinentaal handelsverkeer (bijv. grotere invoer van zaaizaad dat verontreinigd is met nieuwe kiemen die mycotoxinen voortbrengen)
- Onvolledige perceptie van de reële risico's bij consumenten (voorkeur voor « natuurlijke » levensmiddelen en geneesmiddelen zonder aandacht voor de eventuele toxiciteit van daarin aanwezige toxinen en verontreinigingen, voorkeur voor voedingssupplementen om eventuele slechte eetgewoonten te corrigeren met risico voor overdosering van bepaalde bestanddelen, vegetarisme, enz.)
- Voorkeur voor bewerkt (kant-en-klaar) voedsel met toename van de risico's voor problemen tijdens verwerking (versleping, gebruik van slechte ingrediënten of hulpstoffen, verontreiniging met contactproducten, ...)

Factoren in samenhang met het wereldklimaat

- Introductie van nieuwe schimmelsoorten als gevolg van klimaatveranderingen en verhoogd risico voor aanmaak van exotische mycotoxinen (bijv. aflatoxine in Hongaarse paprika's en Italiaanse maïs)
- Uitbreiding van de perioden die gunstig zijn voor de groei van schimmelzwammen (warm en vochtig) en toename van de verontreiniging van graanproducties met mycotoxinen (met inbegrip van aflatoxinen)
- Introductie van nieuwe gekweekte of in het wild voorkomende planten als gevolg van de klimaatveranderingen met risico voor nieuwe schimmelvorming (productie van mycotoxinen) en botanische onzuiverheden.

De in het PERIAPT project vermelde factoren zijn : economie, internationale handel, klimaat, cultuur, demografie en wisselwerking met geneesmiddelen. Deze lijst van factoren is niet volledig maar geeft aan dat het noodzakelijk is om een groot aantal vak- en expertisegebieden bij de opzet te betrekken om een efficiënte strategie te zoeken en vast te leggen voor de identificatie van opkomende voedselrisico's (VWA, 2005).

De factor « economie » is niet als zodanig opgenomen in de door het Wetenschappelijk Comité voorgestelde indeling maar wordt o.m. in aanmerking genomen bij de veranderingen in samenhang met de landbouwproductie en bij de economische eisen.

4. Gevalsstudie: Opkomende mycotoxinen

4.1. Inleiding : Omschrijving van het onderzoeksgebied

Omdat het gebied van de opkomende mycotoxinen zo uitgebreid is, zal in deze nota vooral aandacht besteed worden aan de mycotoxinen waarnaar in België of Europa onderzoek wordt gedaan of waarvoor de wetgeving aan het veranderen is. In een aantal gevallen gaat het om nieuwe mycotoxinen waarvoor er nog geen regelgeving is (opkomende mycotoxinen in de enge betekenis). In andere gevallen gaat het om opnieuw opkomende mycotoxinen waarbij het toxine reeds bekend is maar nu nieuwe problemen veroorzaakt omdat het wordt vastgesteld in nieuwe matrices, vanwege wijzigingen van de teeltmethoden, klimaatveranderingen, en internationale handel, enz.

4.2. Opkomende mycotoxinen

4.2.1. Nog niet door de wetgeving in aanmerking genomen Fusarium-toxinen

- 3-acetyldeoxynivalenol, 15-acetyldeoxynivalenol en nivalenol. Voor deze trichothecenen van type B, die o.m. worden aangemaakt door *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, zijn de maatregelen die voor deoxynivalenol (DON) zijn gepland, blijkbaar toereikend. Waakzaamheid blijft geboden om ervoor te zorgen dat de verhouding tussen de aanmaak van deze toxinen (die in de officiële programma's niet worden gecontroleerd) en DON (het toxine dat in de officieel programma wordt opgespoord) niet significant verandert bij granen die in België worden geteeld en uit het buitenland worden ingevoerd.
- Fumonisine B3 (FB3) is een Fusarium-toxine (*F. proliferatum*, *F. verticillioides*). De controle van fumonisinen B1 (FB1) en B2 (FB2) is blijkbaar toereikend in België. In Tanzania daarentegen, is bij analyse van maïs op fumonisinen gebleken dat fumonisine B3 vaker voorkomt dan FB1 en FB2 (B. De Meulenaer, persoonlijke mededeling).
- T2 en HT2 zijn trichothecenen van het type A die worden aangemaakt door Fusarium (*F. poae*, *F. avenaceum*, *F. sporotrichioides*, *F. lansesthae*). Op Europees vlak zijn voor 2008 maximumwaarden gepland. Uit de ramingen van de ingenomen hoeveelheden blijkt dat de aanwezigheid van toxinen zorgwekkend kan zijn vanuit het oogpunt van de volksgezondheid. De voorlopige gecombineerde aanvaardbare dagelijkse inname (ADI) bedraagt 0,06 µg/kg body weight (bw) per dag (EU Scientific Committee on Food, 2002). Er moeten verder gegevens worden verzameld en de factoren die voor het voorkomen van de toxinen verantwoordelijk zijn moeten nog beter worden bestudeerd. Aanwezigheid van T2 en HT2 in granen en graanproducten, in het bijzonder in haver en haverproducten dient gecontroleerd te worden. 2006 bleek een jaar te zijn dat bijzonder gunstig was voor verontreiniging met deze toxinen.
- Enniatinen en beauvericine. Dit zijn cyclodepsipeptiden waarover nog slechts beperkte toxicologische gegevens beschikbaar zijn maar die in granen in vrij hoge gehalten (ppm-niveau) kunnen voorkomen. Enniatinen komen vooral voor in Scandinavië en werden ook reeds aangetoond in België (zie bijlage 1). Beauvericine werd minder frequent vastgesteld in België maar komt daarentegen wel voor in Italië en in de VS (bijv. survey in Kansas Counties (2005): 8 maïsmonsters op 48 bevatten meer dan 100 ppm beauvericine en slechts één monster op 48 bevat minder dan 1 ppm ! (persoonlijke mededeling van J. Scott Smith, Kansas State University). Beauvericine wordt vooral aangemaakt door *F. sporotrichioides* die ook verantwoordelijk is voor de aanmaak van T2 en HT2.
- Daarnaast bestaan er nog andere fusarium-toxinen (diacetoxyscirpenol (DAS), fusarine, moniliformine, fusariumzuur, ...) waarvoor nog niet voldoende studies beschikbaar zijn die handelen over de aanwezigheid ervan in omstandigheden die in België voorkomen of over de toxicologie ervan.

4.2.2. Alternaria-toxinen

Alternaria alternata en *A. radicina* zijn twee schimmels die zich kunnen ontwikkelen op graan, zonnebloemzaad, peper, sesam, olijven, diverse fruitsoorten, tomaat, wortel en selderij.

De secundaire metabolieten die worden aangemaakt door *A. alternata* zijn alternariol, alternariol methyl ether, altertoxine en tenuazonzuur (zie bijlage 2). *A. radicina* is verantwoordelijk voor de aanmaak van radicine, epiradicinol en radicinol.

De aanwezigheid van deze metabolieten in levensmiddelen kan gevaarlijk zijn voor de mens. Sommige ervan gaven blijk van een embryotoxische en teratogene werking bij muizen en hamsters en van een cytotoxische werking ten aanzien van bacteriën en cellen van zoogdieren. Extracten van *A. alternata* bleken mutageen ten aanzien van verscheidene micro-organismen en cellen van zoogdieren.

De problematiek rond Alternaria-toxinen wordt onderzocht in samenhang met een Europees project (European Project QLK1-1999-00986: "Reduction of contamination by fungi and mycotoxins during the organic vegetable production chain: Alternaria-carrot model"). (<http://ec.europa.eu/research/quality-of-life/ka1/volume1/qlk1-1999-00986.htm>)

Er bestaan voornamelijk geen grens- of richtwaarden voor mycotoxinen van *Alternaria* omdat de blootstelling van mensen via de voeding gering zou zijn. Er dient niettemin te worden gewezen op bepaalde groepen van specifieke producten zoals vruchtensappen en babyvoeding (op basis van wortel, appel). Er zouden later acties kunnen worden ondernomen wanneer nieuwe informatie dat noodzakelijk maakt.

4.2.3. Andere toxinen

Een groot aantal andere toxinen die vooral worden aangemaakt door de geslachten *Penicillium* en *Aspergillus* zouden volgens buitenlandse onderzoeken in aanmerking kunnen komen. In België moet worden gewezen op het grote aantal bekende toxinen zoals ochratoxine A (OTA), gliotoxine, sterigmatocystine en ook minder bekende toxinen zoals cyclopiazonzuur, mycofenolzuur, citrinine, penicillinezuur en helvolzuur die werden teruggevonden in stofmonsters die in graanopslagplaatsen werden genomen (Tangni *et al.*, 2007). (zie ook de alinea over alternatieve wijzen van blootstelling in het deel over "opnieuw opkomende mycotoxinen").

4.3. **Opnieuw opkomende mycotoxinen**

4.3.1. Biologische landbouw

De vrees dat producten van de biologische landbouw nog meer door mycotoxinen worden verontreinigd vanwege het beperkte gebruik van fungiciden en insecticiden vormde de aanzet tot een groot aantal onderzoeken op dat gebied. In België is het project CP-30 dat wordt gefinancierd door de federale dienst voor Wetenschapsbeleid en gecoördineerd door prof. Larondelle van de UCL in het bijzonder toegespitst op de verontreiniging van granen en graanproducten die zijn voortgebracht door de gangbare en door de biologische landbouw. De belangrijkste resultaten die in het kader van die studie werden verkregen worden in onderstaande tabel weergegeven.

Table 1: Summary of the mycotoxin contamination study carried out in Belgium (2002-2004) (Larondelle Y., Motte J.C., Peeters J., Van Peteghem C., Schneider Y.J. Mycotoxin contamination of regular and organic foodstuffs, Belgian Science Policy, Brussels, 2005)

Mycotoxin	Wheat cereals	Whole-wheat flour	Beer	Whole-wheat pasta	Corn-flakes	Polenta	Sweet corn
OTA	nd	CP OR > CV	CP OR > CV	nd	nd	nd	nd
FB1	nd	nd	No OR = CV	nd	PA OR > CV	CP OR < CV	No OR = CV
FB2	nd	nd	No OR = CV	nd	PA OR > CV	CP OR < CV	No OR = CV
FB3	nd	nd	nd	nd	PA OR = CV	nd	nd
DON	CP OR < CV	CP OR < CV	No OR = CV	PA ?	nd	nd	nd
ZEA	CP OR < CV	nd	nd	nd	nd	nd	nd

nd, no data;

CP, the foodstuff presents a Critical Point for contamination by the specified toxin;

PA, the foodstuff presents a Point of Attention for contamination by the specified toxin;

No, No problems awaited in this foodstuff for the studied mycotoxin;

OR > CV, organic tends to be more contaminated;

OR < CV, conventional tends to be more contaminated;

OR = CV, organic and conventional show similar contamination potential.

De tabel toont vrij uiteenlopende situaties, die verschillen naargelang het mycotoxine en de matrix die in aanmerking wordt genomen. Een frappant voorbeeld is in dit verband bier waarvoor soms vrij hoge OTA-gehalten werden vastgesteld bij de biologische productiewijze (Harcz *et al.*, 2007). Bijlage 3 geeft een synthese van alle resultaten van deze studie.

Er werd in België ook onderzoek gedaan naar patuline in appelsap en daaruit blijkt dat soms hogere gehalten aanwezig waren in biologische appelsap (Tangni *et al.*, 2006; Baert *et al.*, 2006).

4.3.2. Kuilvoer, ruwvoer en ander diervoer

De federale dienst voor Wetenschapsbeleid financiert thans een project dat betrekking heeft op de studie van schimmels en mycotoxinen die de kwaliteit en de sanitaire veiligheid kunnen aantasten van gras- en maïskuilvoeder (project BELSPO « SILFUNGITOX » C3/00/22). Daarbij worden de volgende mycotoxinen opgespoord: DON, zearalenon (ZEA) en zearalenol, T2 en HT2, enniatinen en beauvericine, patuline, OTA en citrinine, mycofenolzuur, cyclopiazonzuur, mevinolin, verruculogen, penitrem A, roquefortine C en PR toxine. De mycotoxinen werden uitgekozen op grond van de in de literatuur vermelde gegevens (zie bijvoorbeeld Fink-Gremmels, Mycotoxins in forages, The Mycotoxin blue book). In maïskuilvoeder kunnen vrij grote hoeveelheden DON voorkomen terwijl in graskuilvoeder meer patuline voorkomt (Tangni, persoonlijke mededeling). Het is zinvol de definitieve resultaten van dit onderzoek af te wachten zodat de inspanningen kunnen worden toegespitst op de toxinen die met betrekking tot de diergezondheid de grootste relevantie hebben.

De maïsteelt die in ons land vooral de diervoeding als bestemming heeft, verdient in dit opzicht bijzondere aandacht. Uit verslagen vanuit buurlanden (Frankrijk) of verder van ons verwijderde landen (VS) en uit studies die in België worden verricht is gebleken dat deze matrix ernstig verontreinigd kan zijn met verschillende fusarium-toxinen (fumonisines, maar ook DON en zearalenon). Deze matrix kan daarnaast ook (H)T-2 en enniatinen bevatten (Callebaut, persoonlijke mededeling). In de USA, werden door de Indiana Statistics Service in 2006 de hoogste mycotoxinenniveaus in 10 jaar gemeld. Het Indiana Animal Disease Diagnostic Laboratory stelde bijvoorbeeld in monsters van zes districten DON-gehalten vast

van 0,5 tot 8 ppm en ook FB1-gehalten van 0,7 tot 174 ppm (Newsletter R-Biopharm Rhone). Er zij aangestipt dat maïs in de Verenigde Staten bovendien ook bijzonder sterk verontreinigd is met de opkomende mycotoxine 'beauvericine' (zie deel over Opkomende mycotoxinen).

Volgens Galtier *et al.* (2006) moet ook aandacht worden besteed aan ruwvoer op basis van gras voor wat het risico betreft van verontreiniging met *Neotyphodium* spp dat toxische verbindingen doet ontstaan zoals o.m. ergovaline (alcaloïde) en lolitrem B. Ook hier wordt vooral blijk gegeven van bezorgdheid in verband met de diergezondheid.

De aquacultuur is in volle ontwikkeling (productietoename) en daarnaast vinden diepgaande veranderingen plaats op het vlak van de voedertechnieken. Er wordt immers steeds meer geprobeerd om plantaardige verbindingen (eiwit, olie) te gebruiken in de plaats van dierlijke producten (bijproducten van de visserij), met name om de ophoping van persistente en lipofiele stoffen (zoals dioxinen, PCB's en als bestrijdingsmiddel gebruikte organische chloorverbindingen) in aquacultuurproducten te vermijden. Die vervanging gaat gepaard met een verhoogd risico voor vergiftiging door mycotoxinen zoals aflatoxinen, Fusarium-toxinen en OTA. Uit de thans beschikbare gegevens kan niet worden afgeleid of die mycotoxinen ook een gevaar inhouden voor consumenten van aquacultuurproducten.

Wat de problemen met betrekking tot de overdracht naar dierlijke levensmiddelen betreft is voorlopig alleen degelijke documentatie beschikbaar over aflatoxine M1 (AFM1) een metaboliet van aflatoxine B1 (AFB1). Waakzaamheid is echter geboden wat de andere toxinen betreft die nog niet werden bestudeerd (bijv. enniatinen). De problematiek rond de overdracht van mycotoxinen vanuit het voeder naar dierlijke producten moet aandacht krijgen omwille van de evoluties die thans worden vastgesteld en rekening houdend met de zeer verscheiden aard van de opkomende mycotoxinen. Er moet niet alleen bijzondere aandacht worden besteed aan melk, maar ook aan eieren, eetbare weefsels van vissen en organen, zoals lever, nieren,.. Wat bijv. eieren betreft, kan de verhouding van de concentratie ten aanzien van die in het voeder voor bepaalde toxinen onrustwekkend zijn. Bij ZEA-gehalten van 3 ppm (Europese aanbeveling voor voeders op basis van maïs) kan het gehalte in eigen bijvoorbeeld oplopen tot 60 ppb als men rekening houdt met een verhouding "voeder/eigeel" van 50. Deze verhouding werd vastgesteld aan de hand van radioactiviteit tracers (Dailey *et al.*, 1980). Als men weet dat de ADI voor ZEA gelijk is aan 200 ng/kg bw (EU Scientific committee on Food, 2000) zou een consument van 60 kg die elke dag één ei eet bij dit verontreinigingsniveau (nl. ongeveer 20 g eigeel met 60 ng ZEA/g) zich, alleen daardoor, blootstellen aan een ZEA-dosis die overeenkomt met 10 % van de ADI, wat, rekening houdend met de andere bronnen van blootstelling, zeker niet onaanzienlijk is.

4.3.3. Klimaatveranderingen, internationale handel en nieuwe risico's voor heropkomende mycotoxinen

Aflatoxinen

Recente publicaties maken melding van verontreinigingen met aflatoxinen in bijzondere gevallen waar dergelijke problemen vroeger niet voorkwamen. Een eerste geval betreft de verontreiniging van Hongaarse paprika's met aflatoxine B1 (AFB1). De crisis waartoe dit in 2004 in Hongarije leidde, verplichtte de autoriteiten ertoe deze problematiek te onderzoeken. Daarbij is gebleken dat de verontreiniging een gevolg was van de vermenging van plaatselijke paprika's met paprika's die werden ingevoerd uit andere landen, zoals Zuid-Afrika en Peru. De verontreiniging van de plaatselijke paprika's kan een rechtstreeks gevolg zijn van de vermenging met het ingevoerde product maar ook van een besmetting van het plaatstelijke product met stammen die met het ingevoerde product werden aangevoerd en die aflatoxinen kunnen aanmaken (Banati and Lakner, 2006).

Een ander geval situeert zich in Italië (Piva *et al.*, 2006) en betreft de verontreiniging van maïs die in 2003 in Lombardije werd geteeld. In dat zeer warme jaar kon de soort *Aspergillus flavus*, die aflatoxinen aanmaakt, zeer goed gedijen. De verontreinigde maïs gaf aanleiding tot de verontreiniging van melk met AFM1, waarbij 14% van de in Lombardije genomen

monsters de Europese maximumwaarde¹ (van 0,05µg/kg) overschreden in de periode van oktober 2003 tot februari 2004. Er zij aangestipt dat de toestand, op enkele uitzonderingen na, weer normaal was in 2004 en 2005 toen het minder warm was. Er moet bijgevolg blijvend aandacht worden besteed aan het overleven van *A. flavus* in de betreffende regio's en elders.

De internationale handel en de opwarming van de aarde zijn zeer belangrijke parameters waarmee rekening moet worden gehouden omwille van de risico's voor het binnenbrengen van nieuwe schimmelstammen in onze contreien en van de risico's die inherent zijn aan de productie van « exotische » mycotoxinen zoals aflatoxinen.

Moederkorenalkaloïden

De moederkorenalkaloïden waren wellicht de eerste mycotoxinen die in het verleden verantwoordelijk waren voor voedselvergiftigingen. De jongste jaren lijkt het aantal gevallen weer te stijgen nadat zij tijdens de tweede helft van de vorige eeuw vrijwel niet meer voorkwamen in graan. Tot de moederkorenalkaloïden behoren een groot aantal verschillende verbindingen die worden aangemaakt door het geslacht *Claviceps* (rogge en andere graansoorten) maar ook door *Neotyphodium* (endofiete zwam in gras; zie hierboven). De belangrijkste van die verbindingen zijn o.m.ergotamine, ergocristine, ergocryptine en ergocornine (graan), maar ook ergovaline, ergine, erginine en alkaloiden van het clavine-type (grasland).

In een Europese aanbeveling wordt de lidstaten gevraagd zowel voor diervoeders als voor levensmiddelen gegevens te verzamelen.

Andere risicomatrices voor diverse mycotoxinen

Specerijen, bereidingen op basis van planten (zoals aftreksels), kruiden en voedingssupplementen zijn matrices die verontreiniging met diverse types van mycotoxinen in de hand werken, bijv. OTA, AFB1, zearalenon, tremorgene toxinen, enz. Er zijn thans maar weinig gegevens beschikbaar (behalve over specerijen) maar het lijkt zinvol te wijzen op de risico's van verontreiniging van deze producten. De EFSA raadt, bijvoorbeeld, aan om aandacht te besteden aan de « silent carriers » van aflatoxinen (EU Food Law 9 maart, 2007).

Gemaskeerde toxinen en metabolieten

Gemaskeerde vormen van mycotoxinen kunnen in verschillende levensmiddelen voorkomen. Het gaat hier vooral om vormen waarin het mycotoxine reageert met een suiker, zoals bijvoorbeeld glucose (Berthiller *et al.*, 2005). Dergelijke samenvoegingen worden doorgaans niet onderzocht terwijl het mycotoxine in vivo kan worden vrijgegeven door enzymatische hydrolyse en zijn toxische werking tot uiting kan brengen. Die samenvoegingen met mycotoxinen zouden de oorzaak kunnen zijn van de zgn. fumonisineparadox. Uit dierproeven is immers gebleken dat zeer weinig FB1 in vivo wordt geabsorbeerd terwijl zich toch een toxische werking kan voordoen ondanks de zeer lage absorptie van de toxische stof, wellicht omdat gemaskeerde vormen van FB1 in grotere hoeveelheden beschikbaar kan zijn en na absorptie snel kan worden omgezet in FB1 (Shier W T, 2000).

De metabolieten van sommige mycotoxinen kunnen eveneens voor problemen zorgen, met name bij bepaalde dierlijke producten. Het bekendste voorbeeld is AFM1 (een metaboliet van AFB1) in melk, maar er zijn ook recentere vaststellingen van bijv. metabolieten van ZEA die in eieren kunnen voorkomen. Omdat een aantal metabolieten van ZEA, net als het oorspronkelijke molecuul, oestrogene eigenschappen hebben, vormen zij een potentieel risico dat meer in detail geëvalueerd zou moeten worden.

¹ Verordening (EG) nr. 1831/2003 tot vaststelling van de maximumgehalten aan bepaalde verontreinigingen in levensmiddelen

Mengsels van toxinen en wisselwerkingen met andere verontreinigingen

Recente studies (zie bijvoorbeeld Dillenburg *et al.*, 2001) toonden aan dat de werking van geïsoleerde mycotoxinen (die in zuivere vorm in het onderzochte organisme terecht zijn gekomen) doorgaans minder schadelijk is dan die van de mycotoxinen die voorkomen in voedsel dat op natuurlijke wijze is verontreinigd met organismen die toxinen aanmaken. Men neemt aan dat dit verschil moet worden toegeschreven aan het feit dat bij een natuurlijke verontreiniging andere stoffen kunnen worden aangemaakt die een wisselwerking kunnen aangaan met de werking van de target toxine. Terwijl bepaalde wisselwerkingen tussen aflatoxinen en andere mycotoxinen reeds voldoende bekend zijn in de diervoeding, is nog geen informatie beschikbaar over de wisselwerkingen die zich kunnen voordoen tussen DON, T2, OTA, ZEA onderling of met andere toxinen zoals andere trichothecenen, penicillinezuur, fusariumzuur, moniliformine en beauvericine (De Schothorst, 2003). Er zij evenwel aangestipt dat uit een studie (Lusky *et al.*, 1998) blijkt dat de overdracht van OTA naar de organen van varkens 1,5 tot 2 maal groter is wanneer het voeder tegelijk is verontreinigd met DON.

Alternatieve wijzen van blootstelling

De voeding is niet de enige weg waarlangs mensen worden blootgesteld aan mycotoxinen. Uit studies is gebleken dat mensen in bepaalde milieus aërosolen (bijvoorbeeld stof) kunnen inademen die mycotoxinen bevatten. Epidemiologische studies schijnen erop te wijzen dat deze vorm van blootstelling bovenop de blootstelling via voeding komt, wat kan worden aangetoond door analyses op toxinen (aflatoxines, OTA) in bloedserum van populaties die een bijzondere blootstelling ondergaan in hun arbeidsomgeving (bijvoorbeeld werknemers die graansilo's vullen/leeghalen of werken in werkplaatsen waar specerijen worden gehanteerd, enz) (Autrup JL *et al.*, 1993; Brera C. *et al.*, 2002). Onlangs werd gewezen op de mogelijkheid dat werknemers die zijn blootgesteld aan aërosolen die worden gevormd in centra waar organisch afval wordt gesorteerd en in composteerbedrijven eveneens een verhoogde blootstelling aan bepaalde toxinen zoals OTA zouden ondergaan (Degen GH *et al.*, 2007).

5. Aanbevelingen

5.1. Aanbevelingen met betrekking tot het bewakingsplan van het FAVV

Het Wetenschappelijk Comité doet de volgende aanbevelingen:

Graan en graanproducten (behalve maïs)

- een hoog niveau van controle aanhouden voor zowel graan als daarvan afgeleide producten (bijv. deegwaren, meel, zemelen, brood, koekjes, tussendoortjes, ontbijtgranen, kant-en-klare gerechten, zuigelingenvoeding, ...) die in België zijn voortgebracht of uit het buitenland werden ingevoerd. Het gaat hierbij om de volgende mycotoxinen : DON, ZEA, OTA, T2, HT2 in inlandse granen. Daaraan moeten voor ingevoerd graan nog worden toegevoegd : aflatoxinen, en moederkorenalkaloïden. Belangrijk hierbij is de controles te richten op risico matrices zoals bijv. volkorenmeel, met vezels verrijkte producten,

Maïs en maïsproducten voor menselijke consumptie

- Een hoog niveau van controle aanhouden voor de betreffende producten (corn flakes, polenta, tussendoortjes op basis van maïs, enz). Het gaat om de volgende mycotoxinen: AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, DON, ZEA, T2, HT2, FB1, FB2.

Dranken

- Een hoog niveau van controle aanhouden met betrekking tot patuline in appelsap met bijzondere aandacht voor ambachtelijk en/of biologisch appelsap.
- Een behoorlijk niveau van controle aanhouden voor DON en OTA in bier met bijzondere aandacht voor ambachtelijke en/of biologische producties.
- Een behoorlijk niveau van controle aanhouden met betrekking tot OTA in wijn en druivensap met bijzondere aandacht voor uit het zuiden (bijv. Zuid-Europa) afkomstige producten.

Gedroogde vruchten kruiden & specerijen, voedingssupplementen

- Een behoorlijk niveau van controle aanhouden met betrekking tot aflatoxinen (B1, B2, G1 en G2) en OTA in gedroogde vruchten en de controle op aflatoxinen (B1, B2, G1 et G2) en OTA in kruiden, specerijen en voedingssupplementen opdrijven.

Diervoeders

- Een behoorlijk niveau van controle aanhouden met betrekking tot grondstoffen (granen, maïs, producten van de agrovoedingsindustrie) en verwerkte producten. In het bijzonder waakzaam zijn wanneer de weersomstandigheden verontreinigingen op het veld (fusariumrot) in de hand werken en voor ingevoerde producten (aflatoxinen, OTA, fumonisinen, moederkorenalkaloïden, ...).

Het Wetenschappelijk Comité onderstreept dat de monsters voor onderzoek moeten worden genomen met inachtneming van de geldende wetgevingen (als die bestaan) en dat de grootst mogelijke aandacht moet worden besteed aan de problemen die kunnen voortvloeien uit de heterogene contaminatie van de matrix.

5.2. Aanbevelingen met betrekking tot het onderzoek

Het Wetenschappelijk Comité doet de volgende aanbevelingen :

1) Analysemethoden voor meerdere mycotoxinen ontwikkelen waarmee nog meer mycotoxinen in matrices met een bijzonder belang onderzocht kunnen worden. Als voorbeeld kunnen worden vermeld:

- methoden voor meerdere mycotoxinen (aflatoxinen, DON, OTA, ZEA, T2, HT2) voor granen en graanproducten waarbij erop wordt toegezien dat de belangrijkste analyseprestaties (recovery, meetonzekerheid, toereikende gevoeligheid) behoorlijk zijn voor de verschillende toxinen en matrices die onderzocht moeten worden
- methoden voor meerdere mycotoxinen (aflatoxinen, DON, ZEA, T2, HT2, FB1, FB2) voor maïs en maïsproducten waarbij erop wordt toegezien dat de belangrijkste analyseprestaties (recovery, meetonzekerheid, toereikende gevoeligheid) behoorlijk zijn voor de verschillende toxinen en matrices die onderzocht moeten worden
- methoden voor de analyse van mycotoxinen (aflatoxinen, OTA, patuline, ZEA, Alternaria-toxinen, tremorgene toxinen, ...) in nieuwe matrices die deze kunnen bevatten (specerijen, kruiden, groenten, vruchtensappen, groentesappen, voedingssupplementen, fytotherapeutische producten, ...)
- methoden voor de analyse van mycotoxinen (OTA, citrinine, patuline, mycofenolzuur, cyclopiazonzuur, mevinolin, tremorgene toxinen, roquefortine C, PR Toxin, ...) in ruwvoer, kuilvoer en andere voor de diervoeding bestemde producten

- methoden voor de analyse van alkaloiden (van *Claviceps* en endofieten) in granen en ruwvoer (ergotamine, ergocristine, ergocryptine, ergocornine, ergovaline, ergine, erginine en alkaloiden van het type clavine).

2) Analysemethoden ontwikkelen die het mogelijk maken rekening te houden met verborgen mycotoxinen (masked mycotoxins) zoals bijvoorbeeld samenvoegingsproducten die in vivo toxische verbindingen kunnen doen ontstaan waarmee de klassieke methoden geen rekening houden.

3) De studies voortzetten die handelen over de risico's die voortkomen uit voor de diervoeding bestemde ruw- en kuilvoerders

- alle producten op basis van maïs (korrelmaïs, uit volledige planten bestaand kuilvoer, ...). De nadruk wordt hierbij gelegd op bekende en op opkomende toxinen.
- ruwvoer op basis van gras (hooi, stro, raaigraskuil).

Bovendien dient bijzondere aandacht besteed te worden aan de ontwikkelingen van de Europese reglementering betreffende de mogelijkheden om gebruik te maken van stoffen die mycotoxines binden als toevoegingmiddelen voor diervoeders. Indien de vergunning van dergelijke toevoegingmiddelen wordt overwogen, is het nodig de voor- en nadelen grondig te evalueren.

4) De studies voortzetten die handelen over de risico's die voortkomen uit de nieuwe of alternatieve productiewijzen of uit nieuwe voedingsgewoonten

- ambachtelijke en/of biologische producties
- derivaten van de productie van biobrandstoffen die in de voedselketen kunnen terechtkomen
- nieuwe inkuiltechnieken (diervoeding)
- nieuwe levensmiddelen (zoutarm, vetarm, ...) die gevoeliger zijn voor verontreiniging met schimmels
- invloed van nieuwe technologische processen (bijv. gewijzigde atmosfeer) op de ontwikkeling van schimmels en de aanmaak van toxinen
- blootstelling van de consument via kruiden, specerijen, voedingssupplementen, verse groenten of verwerkte producten, ... aan bekende of aan opkomende toxinen.

5) De studies voortzetten die handelen over de globale blootstelling van consumenten aan bekende toxinen. Alle vereiste aandacht schenken aan andere vormen van blootstelling dan die via de voeding (indoor mycotoxins, blootstelling op de werkplaats via stof, bio-aërosolen, ...).

6) De studies voortzetten die handelen over het in België voorkomen van opkomende mycotoxinen in zowel menselijke als dierlijke voeding en de toxicologische eigenschappen daarvan

- aanwezigheid van peptidotoxinen (enniatinen, beauvericine) in Belgische granen en in ingevoerde granen, wat ermee gebeurt in verwerkte producten, absorptie ervan door mensen en dieren, persistentie en overdrachten in de voedselketen, toxicologische eigenschappen (met inbegrip van genotoxiciteit en carcinogeniteit)
- aanwezigheid van *Alternaria*-toxinen in verse en verwerkte groenten. Toxisch-dynamische eigenschappen en toxicologie (hormoonontregelende werking, bijvoorbeeld)
- Aanwezigheid van fumonisine B3 en andere trichothecenen dan DON in granen (maïs inbegrepen) en toezicht op de verhouding tussen de concentraties ervan en die van de mycotoxinen waarvoor officiële normen gelden

- aanwezigheid van diverse mycotoxinen (alkaloïden zoals ergovaline, ergine, ... en alkaloiden van het type clavine, tremorge toxinen, mycofenolzuur,) in welbepaalde plantaardige producten zoals groenten, kruiden, specerijen, voedingssupplementen en fytotherapeutische producten. Studies van de toxisch-dynamische eigenschappen en de toxicologische effecten
- studies i.v.m. de overdracht van specifieke mycotoxinen zoals cyclopiazonzuur, citrinine, peptidemycotoxinen, ZEA (+ samenvoegingsproducten) naar organen en producten van dieren (met name melk en eieren), met geheel bijzondere aandacht voor de stofwisselingsproducten met behoud van biologische activiteit (alfa- en beta-zearalenol, bijvoorbeeld).

7) Studies uitvoeren die handelen over de biomonitoring van mycotoxinen in aansluiting op de blootstelling via voeding en in de arbeidsomgeving (lossen van schepen, silo's, werkplaatsen waar specerijen worden gehanteerd, enz).

8) Studies aanvatten met het oog op het vaststellen van maximumwaarden voor moederkorenalkaloïden in granen.

Voor het Wetenschappelijk Comité,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert
Voorzitter

Brussel, 07/12/2007

Referenties

Autrup JL, Schmidt J, Autrup H. 1993. Exposure to aflatoxin B1 in animal-feed production plant workers. *Environ Health Persp* (99) 195-197.

Brera C, Caputi R, Miraglia M, Iavicoli I, Salerno A and Carelli G. 2002. Exposure assessment to mycotoxins in workplaces : aflatoxins and ochratoxin A occurrence in airborne dusts and human sera, *Microchemical Journal*, 73, 167-173.

Baert K, De Meulenaer B, Verdonck F, Huybrechts I, De Henauw S, Vanrolleghem PA, Debevere J, Devlieghere F. 2007. Variability and uncertainty assessment of patulin exposure for preschool children in Flanders. *Food and Chemical Toxicology* 45 (9) 1745-1751.

Baert K, De Meulenaer B, Kamala A., Kasase C, Devlieghere F. 2006. Occurrence of patulin in organic, conventional, and handcrafted apple juices marketed in Belgium. *Journal of Food Protection*, 69, 1371-1378.

Banati D and Lakner Z. 2006. Analysis of an aflatoxin-caused food safety crisis in Hungary : Actors and strategies. In "The mycotoxin factbook" p121138 Edited by Barug, Bhatnagar, Van Egmond, Van der Kamp, Van Ossenbruggen, Visconti, Wageningen Academic Publishers.

Berthiller F, Dall'Asta C, Schuhmacher R, Lemmens M, Adam G, Krska R. 2005. Masked mycotoxins: determination of a deoxynivalenol glucoside in artificially and naturally contaminated wheat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 53, 3421-3425.

Dailey R E, Reese R E and Brouwer A. 1980. Metabolism of [14C] zearalenone in laying hens. *J Agric Food Chem.*, 28: 286-291.

Degen GH, Mayer S. and Blaskewicz. 2007. Biomonitoring of ochratoxin A in grain workers. *Mycotoxin Research* 23 (2), 94-100).

De Schothorst (Stichting instituut voor de Veevoeding), 2003, Kwaliteitsreeks nr 89, 80p).

Dillenburger T, Lauber U, Schollenberger M, Muller HM, Drochner W. 2001. Wirking von deoxynivalenol beim wachsenden Schwein. *Mycotoxin Research*, 17A, 170-173.

EU Scientific Committee on Food. 2002. Opinion of the Scientific Committee on Food on *Fusarium* toxins. Part 6: Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol. SCF/CS/CNTM/MYC/27 Final.
http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out123_en.pdf

EU Scientific Committee on Food 2000. Opinion on the Scientific Committee on Food on *Fusarium* Toxins Part 2: Zearalenone (ZEA). SCF/CS/CNTM/MYC/22 Rev 3 Final.
http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out65_en.pdf

EFSA. 2006. Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to the early identification of emerging risks .*The EFSA Journal* (2006) 375, 1-14.

FSA. 2007. Food Standards Agency's international workshop on food incident prevention and horizon scanning to identify emerging food safety risks, organised in cooperation with European Food Safety Authority London 5-6 March 2007.

Galtier P et Loiseau N, Oswald I. and Puel O. How to identify new mycotoxin risks, *The World Mycotoxin Forum*, 6-8 November 2006, Cincinnati, USA.

Fink-Gremmels J. Mycotoxins in forages. In "the mycotoxins blue book" p249-268.

Harcz P, Tangni EK, Wilmart O, Moons E. Van Peteghem C, De Saeger S, Schneider YJ, Larondelle Y, Pussemier L. 2007. Intake of OTA and DON through beer consumption in Belgium. *Food Additives and Contaminants*, 24 (8), 910-916.

Kleter GA. Poelman M, Groot MJ, Marvin HJP. 2006. Inventory of possible emerging hazards to food safety and an analysis of critical factors. Report 2006.010. RIKILT.

Lusky K., Göbel R., Tesch D., Tenner G., Haider W. 1997. Tiergesundheit und Rückstandverhalten beim Schwein bei gleichzeitiger Aufnahme der Mykotoxine Ochratoxin A and Deoxynivalenol. *Tierärztliche Umschau*, 1998, 53, 623-680.

Piva G., Battilani P and Pietri A .2006. Emerging issues in southern Europe: Aflatoxins in Italy in "The mycotoxin factbook" p139-153 Edited by Barug, Bhatnagar, Van Egmond, Van der Kamp, Van Ossenbruggen, Visconti, Wageningen Academic Publishers.

Shier WT. 2000. The fumonisin paradox: A review of research on oral bioavailability of fumonisin B1, a mycotoxin produced by *Fusarium moniliforme*. *J. Toxicol.* 19, 161–187.

Tangni EK et Pussemier L. 2007. Ergosterol and mycotoxins in grain dusts from fourteen Belgian cereal storages: A preliminary screening survey. *J. Sci Food Agric*, 87, 1263-1270.

Tangni EK, Theys R, Mignolet E, Maudoux M, Michelet JY, Larondelle Y. 2003. Patulin in domestic and imported apple-based drinks in Belgium: occurrence and exposure assessment. *Food Additives and Contaminants*, 20, 482-489.

VWA. 2006. Forming a global system for identifying food-related emerging risks Emrisk FINAL REPORT Service contract EFSA/SC/Tender/01/2004.

VWA. 2005. Report of SSA ERA-NET project PERIAPT: Pan-European Pro-Active Identification of Emerging risks in the Field of Food Production, Noteborn HPJM, Ooms BW, and M. De Prado (Eds), The Hague, VWA pp1-56.

Leden van het Wetenschappelijk Comité

Het Wetenschappelijk Comité is samengesteld uit de volgende leden:

V. Baeten, D. Berkvens, C. Bragard, P. Daenens, G. Daube, J. Debevere, P. Delahaut, K. Dierick, R. Ducatelle, L. Herman, A. Huyghebaert, H. Imberechts, L. Pussemier, B. Schiffers, E. Thiry, J. Van Hoof, C. Van Peteghem

Dankbetuiging

Het Wetenschappelijk Comité dankt het wetenschappelijk secretariaat en de leden van de werkgroep voor de voorbereiding van het ontwerp advies. De werkgroep was samengesteld uit:

Leden van het Wetenschappelijk Comité

L. Pussemier (verslaggever), P. Daenens, P. Delahaut, A. Huygebaert, B. Schiffers, C. Van Peteghem

Externe experts

B. Demeulenaer, L. Goeyens, G. Maghuin-Rogister

Wettelijk kader van het advies

Wet van 4 februari 2000 houdende oprichting van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, inzonderheid artikel 8;

Koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen;

Huishoudelijk reglement, bedoeld in artikel 3 van het koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, goedgekeurd door de Minister op 27 maart 2006.

Disclaimer

Het Wetenschappelijk Comité behoudt zich, te allen tijde, het recht voor dit advies te wijzigen indien nieuwe informatie en gegevens ter beschikking komen na de publicatie van deze versie.

Bijlage 1: Enniatinen en Beauvericine

(BRON : A. CALLEBAUT, CODA-CERVA)

1. Definitie

Enniatines (enn's) en beauvericine (beau) zijn natuurlijke cyclodepsipeptiden. Het zijn mycotoxines die geproduceerd worden door 2 groepen van schimmels : entomopathogene (*Beauveria bassiana*, *Verticillium* sp.) en plant-pathogene schimmels (voornamelijk *Fusarium* species, ook *Alternaria*).

2. Voorkomen

Fusarium-schimmels zijn vaak pathogeen voor graangewassen en deze mycotoxines komen vooral voor in tarwe, maïs, gerst, rogge en haver. Hun aanwezigheid in groenten en/of fruit werd nauwelijks onderzocht. In Scandinavië werden ppm hoeveelheden enn's teruggevonden in graangewassen, met maxima van 18 ppm in tarwe en 10 ppm in gerst. De hoeveelheid van de contaminanten varieert sterk met de klimatologische omstandigheden tijdens de aarzetting en in de periode vlak voor de oogst. Enniatine B is het voornaamste enniatine (Jestoi et al, 2004; Uhlig et al, 2006). Zuidelijker in Europa vindt men minder enn's, maar meer beau, vooral dan in maïs. Beau wordt ook in ppm hoeveelheden teruggevonden, met een uitschieter van 540 ppm in Italië. Er zijn geen data bekend over de grote Europese landen als Duitsland, Engeland, Frankrijk en Spanje. In Zuid-Afrika en in de USA wordt frequent beau gevonden.

Voor het oogstseizoen 2006 werden stalen van graangewassen, geteeld in België, gescreend op het voorkomen van enn's en beau (samenwerking BEMEFA).

Tarwe (15 stalen) bevatte gemiddeld 2.8 ppm Enn-B, met 1 uitschieter van 54 ppm. Gerst (6 st) bevatte gemiddeld 7 ppm, met 26.9 als uitschieter. Rogge (3 st) en haver (6 st) zijn vergelijkbaar met beide graangewassen, terwijl in maïs ook ppm niveau's gevonden wordt. Naast Enn-B, bevatten sommige stalen ook Enn-B₁, terwijl Enn-A en Enn-A₁ slechts sporadisch (in lage concentraties) aanwezig zijn. In één staal werd een spoor beau gevonden, waardoor de belgische situatie in 2006 sterk lijkt op de Scandinavische gegevens.

In FAVV-stalen werden enniatines teruggevonden in brood (2 st) en ontbijtgranen (3 st), op ppm niveau. Mout (16 st) bevatte tot 15 ppm Enn-B. Ook in kuilvoer werden enniatines gevonden.

3. Biologische activiteit

Enn's en beau zijn ionofore moleculen, dwz zij zijn vetoplosbaar en transporteren ionen door de celwand. Een aantal van de cyclodepsipeptiden hebben mogelijkheden als antibioticum of als antikankermiddel. Enn's en beau zijn insecticiden.

Enn's zijn cytotoxisch (Ivanova et al, 2006). In celcultuur treedt vaak celdood op, via apoptose. Lage concentraties enn's zouden kankerverwekkend kunnen zijn en hoge concentraties zouden kankercellen kunnen doden (Dornetshuber et al, 2007).

Er zijn bijzonder weinig rapporten over hun effecten op mens en dier, maar recent werden ze teruggevonden in vlees en lever van gevogelte, weliswaar op ppb niveau (Jestoi et al, 2007). Gezien hun vetoplosbaarheid kunnen ze bio-accumuleren.

4. Referenties

Dornetshuber et al : Chem Res Toxicol 2007, 20, 465 – 473

Ivanova et al : Toxicon 2006, 47, 868-876

Jestoi et al : Food Add Contam 2004, 21(8), 794-802

Jestoi et al : Mol Nutr Food Res 2007, 51(5), 625-637

Uhlig et al : Food Chem 2006, 94, 193-201

Bijlage 2: ALTERNARIA-toxinen

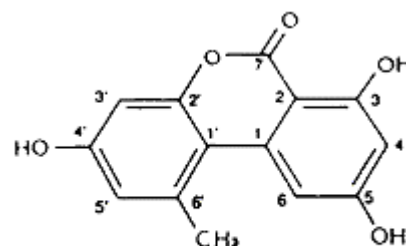
bron : EMAN - European Mycotoxin awareness network (www.mycotoxins.org)

Introduction

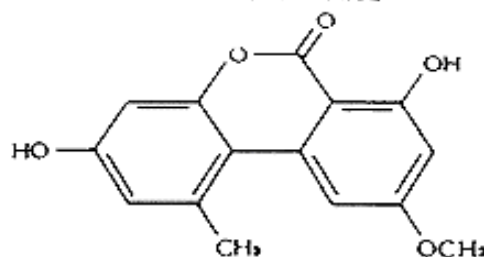
Alternaria is a common genus with a number of species that can invade crops at the pre- and post-harvest stage and cause considerable losses due to rotting of fruits and vegetables. Under suitable conditions it may lead to production of a range of mycotoxins as well as other less-toxic metabolites. Some species are fairly specific to particular crops. *A. alternata* is probably the most important mycotoxin-producing species and occurs on cereals, sunflower seeds, oilseed rape, olives, various fruits etc. A large number of metabolites have been reported so that the situation is similar to the *Fusarium* mycotoxins in that, in the present state of knowledge, only a few occur naturally in food commodities or are of major toxicological significance. The principle *Alternaria* mycotoxins that have been shown to occur naturally are tenuazonic acid, alternariol monomethyl ether, alternariol, altenuene, and altertoxin I. Iso-altenuene and altertoxin II have not been found in crops to date. AAL-toxins are produced by *A. alternata* f. sp. *Lycopersici*, a rarely occurring pathotype of *A. alternata*, and are structurally related to fumonisins. There is only one report on their natural occurrence in hay silage.

Chemical and Physical Properties

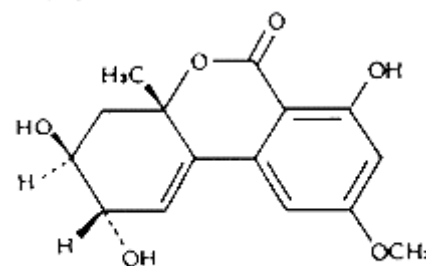
Tenuazonic acid is a colourless, viscous oil and is a monobasic acid with pKa 3.5. It is soluble in methanol and chloroform. On standing, heating or treatment with a base, optical activity is lost and crystallisation may occur as a result of formation of isotenuazonic acid. It forms complexes with calcium, magnesium, copper, iron and nickel ions. Tenuazonic acid is usually stored as its copper salt. Alternariol and alternariol monomethyl ether crystallise from ethanol as colourless needles, and melting points with decomposition are 350 Deg C and 267 Deg C respectively. They sublime in a high vacuum without decomposing at 250 Deg C and 180-200 Deg C. They are soluble in most organic solvents and give a purple colour reaction with ethanolic ferric chloride. Altenuene crystallises as colourless prisms melting at 190-191 Deg C. Altertoxin I is an amorphous solid melting at 180 Deg C and fluoresces bright yellow under UV light.



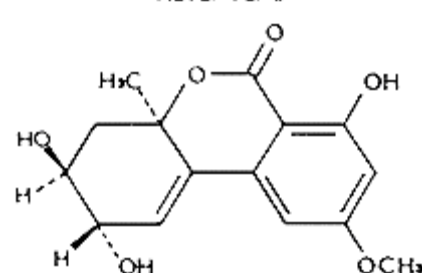
ALTERNARIOL



ALTERNARIOL METHYLËTHER



ALTENUENE



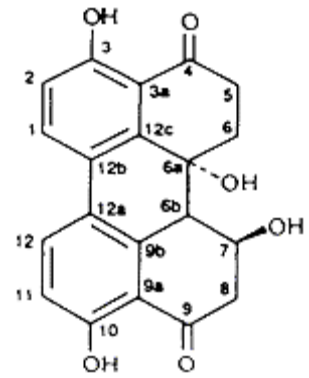
ISOALTENUENE

Toxicity and Importance

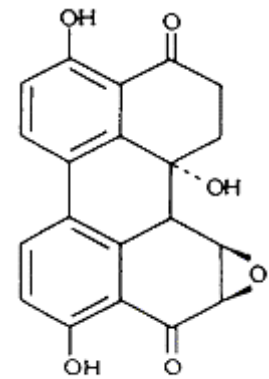
Alternaria toxins exhibit both acute and chronic effects. The LD₅₀ values for alternariol monomethyl ether, alternariol, altenuene, and altertoxin I in mice is reported as 400, 400, 50 and 200 mg/kg b. w. respectively. Those for tenuazonic acid are 162 and 115 mg/kg b.w. (i.v.) for male and female mice respectively.

Alternaria toxins have been implicated in animal and in human health disorders. During investigation into outbreaks of suspected mycotoxicoses, it was shown that cereal samples collected from affected farms in Germany were more frequently contaminated with *Alternaria* mycotoxins than samples from farms with healthy animals. Cases of death in rabbits and poultry have been reported as a result of toxic action of *Alternaria* spp. found in the fodder and feed. *Alternaria* spp. were also detected in cereal samples in which *Fusarium* spp. were implicated as the likely cause for the outbreak of alimentary toxic aleukia in Russia

Tenuazonic acid has been most studied. Its principle mode of action appears to be the inhibition of protein synthesis by suppression of the release of newly formed proteins from the ribosomes into the supernatant fluid. It exhibits antitumor, antiviral and antibacterial activity. Alternariol and alternariol monomethyl ether show foetotoxic and teratogenic effects in mice, including a synergistic effect when a combination of the toxins was administered. Most *Alternaria* mycotoxins exhibit considerable cytotoxic activity, including mammalian toxicity. and the altertoxins



ATX-I

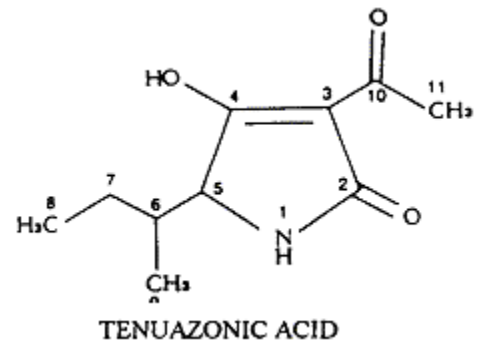


ATX-II

are of a particular concern due to their mutagenic activity. Alvertoxin III exhibits mutagenic activity that is approximately one tenth of that of aflatoxin B1, while alvertoxins I and II show lower mutagenicity.

Products Affected and Natural Occurrence

Contamination with alternariol, alternariol monomethyl ether, tenuazonic acid, and, in some cases, altenuene and alvertoxin I, is normally associated with fruits, vegetables and oilseeds visibly infected by *Alternaria* rot, including tomatoes, olives, mandarins, peppers, and apples. Occurrence of *Alternaria* spp. and their mycotoxins in oilseeds has been reported by a number of workers (e.g. discoloured pecan nuts, sunflower seed, sunflower seed meal and oil seed rape). Mycotoxins produced by *Alternaria* spp. have also been reported in cereals such as sorghum, wheat, rye, diseased rice and tobacco. Alternariol and alternariol monomethyl ether have also been produced in artificially mould-infested building materials in a study aimed at detecting mycotoxins produced by common fungi growing on such materials



Sampling and Analysis

Alternaria mycotoxins can be extracted by methods based on methanol or similar polarity solvents followed by defatting with hexane and further clean-up procedures, although the precise conditions and solvents will depend on the foodstuff and the mycotoxin being sought. Different extraction and clean-up methods are usually required for tenuazonic acid. Methods for *Alternaria* mycotoxins have been reported using TLC, HPLC, GC, GC/MS and HPLC/MS. GC/MS, HPLC/MS and HPLC-MS/MS methods have been reported for confirmation of identity of these mycotoxins in naturally contaminated samples whereas HPLC with UV or fluorometric detection is commonly used for routine analysis of food and feed commodities.

Stability and Persistence

Few studies on the stability and reactions have been carried out on *Alternaria* mycotoxins although in common with other mycotoxins they are probably quite stable. A major proportion of the toxins survived the autoclaving of tomatoes in producing tomato paste. Alternariol, alternariol monomethyl ether, and alvertoxin I were stable in fruit juices and wine over 20 days or at 80 Deg C after 20 min. When olives are pressed only a very small percentage is transferred to olive oil. However, heat treatment at 121 Deg C for 60 minutes significantly reduced the concentration of alternariol, alternariol monomethyl ether and tenuazonic acid in *A. alternata*-contaminated sunflower flour. The heat-treated material produced toxic effects when fed to rats.

Legislation and Control

There are currently no statutory or guideline limits set for *Alternaria* mycotoxins because surveys to date have shown that their natural occurrence in foods is very low and the possibility for human exposure is very limited. The need for regulation is kept under review as new information becomes available.

Bijlage 3: Mycotoxinen in de biologische landbouw

(bron: project BELSPO CP-30)

1. Levels of contamination of cereals-derived foodstuffs on the Belgian market

Seven food matrices marketed in Belgium and prone to be contaminated by mycotoxins have been investigated. Wheat cereals have been collected during two consecutive harvests (2002 and 2003). Wheat cereal-based foodstuffs including wholemeal wheat flour for bread making, beer, wholemeal pasta, as well as sweet corn, corn flour for polenta and cornflakes have been collected in retail stores.

Concerning wheat cereals at harvest, OTA, DON and ZEN have been measured.

OTA was detected in only 40% of the samples at very low levels (mean contamination of 0.065 ± 0.179 $\mu\text{g}/\text{kg}$) which is not surprising since OTA is a storage mycotoxin.

By contrast, DON occurred in almost all samples at high levels, especially in 2002 (mean concentration of 460 ± 562 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Three samples contained DON at a level over the proposed limit of 1250 $\mu\text{g}/\text{kg}$. In 2003, DON content was on average two times lower than in 2002 (mean concentration of 210 ± 226 $\mu\text{g}/\text{kg}$). These results illustrate quite well the weather-dependent contamination of cereals by DON. Rainfall during summer 2002 was indeed important while June 2003, corresponding to the flowering period of wheat, was characterized by a dry weather. Weather conditions also influenced ZEN contamination. In 2002, 67% of the samples contained detectable amounts of ZEN, including 6 samples with ZEN concentration above the proposed limit of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$. By contrast, in 2003, ZEN was found in only 6% of the samples, at trace levels.

Since DON and ZEN are produced by the same species of *Fusarium*, a nice correlation between DON and ZEN concentrations in cereals emerged from the results of 2002.

These data demonstrate once again that multi-contaminations may occur in many cases.

Wholemeal wheat flours, unlike wheat cereals samples have been collected after a storage period. Thus, OTA was found in almost all samples (98%) but at moderate levels. Mean concentration was evaluated at 354 ± 434 ng/kg . Only one sample was contaminated at a level over 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Occurrence of DON in the same samples was a little less important (85%). Mean concentration was not high (170 ± 136 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and the proposed limit of 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ was never exceeded.

Regarding OTA contamination of beer, the mycotoxin was detected in about 90% of the samples and levels were often far below the proposed limit of 200 ng/l . However, a few batches were much more contaminated, at levels exceeding this limit.

Mycotoxins are usually distributed heterogeneously in stored-grain bulks and "hot spots" of OTA may occur even if the average conditions of the bulk are not favourable to moulds development. Exceptionally high concentrations of OTA in a batch of beer may occur if such contaminated barley is employed.

Our study illustrates quite well the heterogeneity of contamination levels since we found highly significant differences ($p < 0.0001$) in contamination between different batches of the same brand.

In order to avoid highly contaminated beers, the sampling on malt must be performed in a very efficient way. The sampling methods for control analysis must respect the Commission Directive 2002/26/EC. Malt should not contain more than 3 μg OTA/kg (Commission Regulation (EC) No 123/2005). Nowadays, malt and beer producers must follow these regulations. This should guarantee the production of beers with low and acceptable levels of OTA.

Our results show that occurrence and levels of DON, FB1 and FB2 in beers should definitely not be a major cause for concern since these mycotoxins were detected at very low levels and in a small number of beers.

Wholemeal wheat pasta were analysed for DON, which was detected in around 60% of the samples at a mean level of 145 ± 147 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Maximum levels were always below the proposed limit of 750 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Contamination variations in samples from different batches of a same brand were very significant. Levels of DON do not seem to be worrying but the pasta foodstuff deserves to be followed.

Sweet corn samples were screened for FB1 and FB2. All results were below the LOD which lead to the conclusion that this matrix is not a matter of concern in terms of fumonisins.

FB1 and FB2 were analysed in corn flour for polenta. FB1 was detected in about 90% of the samples. Mean level of contamination was 753 ± 941 μg FB1/kg. A considerable part of the samples (18%) contained FB1 at levels from 1000 to 4353 μg FB1/kg. Such alarming contaminations were also found for FB2 since 70% of the samples contained DON at a mean level of 278 ± 339 $\mu\text{g}/\text{kg}$ with a maximum level of 1659 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Polenta may thus contribute to an important part to the daily intake of FB1 and FB2 and should therefore be taken into account when setting up monitoring programs. Here again, contamination variations in samples from different batches of a same brand were very significant.

A total of 205 cornflakes samples were analysed for FB1, FB2 and FB3 with the validated LC-MS/MS method. Sixty-five % of the cornflakes samples analysed in this survey were contaminated with FB1, FB2 and FB3 concentrations above the respective detection limits. FB2 and FB3 were not detected without FB1. FB1 concentrations always exceeded FB2 and FB3 concentrations.

Fumonisin concentrations found in this survey were generally low. However, batches with a considerable contamination (FB1 concentration > 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$) did occur. Therefore, conventional evaluation of fumonisins in cornflakes can be recommended. The variation between different batches of a same brand was significant. These observations are in line with the heterogeneous distribution of mycotoxins in bulk commodities and emphasize the importance of a well defined sampling plan in the process of risk management and food safety control.

The sampling plan plays an important part and influences the interpretation and statistical analysis of the results. Our results show that market-oriented supply studies should include samples from a large number of different batches since this factor is determinant regarding the contamination of products from a same brand.