

ÉVALUATION DU RISQUE SANITAIRE LIÉ À LA PRÉSENCE D'OCRATOXINE A DANS DES FARINES ALIMENTAIRES ET LES VINS COMMERCIALISÉS AU BÉNIN

[HEALTH RISK ASSESSMENT RELATED TO THE CONTAMINATION OF FLOUR FOOD AND WINE BY OCHRATOXIN IN BENIN]

A.N.S. Christiane ADDA¹, E. Brice SOHOU¹⁻²⁻³, A. Gado DRAMANE¹, Michel BOKO²⁻³, and Virgile AHYI¹

¹Laboratoire de sécurité sanitaire, d'expertises et analyses. Institut Régional du génie industriel des Biotechnologies et Sciences Appliquées (IRGIB Africa), Benin

²Laboratoire de SIG appliqué à l'épidémiologie, à l'environnement et aux sciences de la terre, Benin

³Laboratoire de climatologie Pierre Pagney /FLASH/UAC, Benin

Copyright © 2014 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: Bromatological toxicities frequencies and probabilities of toxicological levels for ochratoxin A in flour (wheat, corn) and Drinks With Alcohol, especially samples of wine brands (Baron de Valls, Don Simon Sangria, Le Pichet, Bonita, JP. Chenet) reveal a large public health risk for consumers in Cotonou and Porto-Novo. According to European Commission's Regulation 1881/2006, meal should not exceed 3 ng/mL or $3 \cdot 10^{-6}$ g/l or $3 \cdot 10^{-3}$ mg/l or $3 \cdot 10^{-3}$ ppm. Unfortunately, corn flour has the highest average content of ochratoxin A which is 4.716 ng/mL with a probability of 0.5%. Wheat flour, has the low average of 1.6287 ng / mL with a probability of 0.5 % . In the same regulation, wines must not exceed 2ng/mL of ochratoxin A. It follows that the average content of ochratoxin A in descending order can be found in " Le Pichet " (1.635 ng / mL with a probability of 26%) ; « Sangria » (1.1359 ng/mL with a probability of 1 %) ; Bonita (0.4059 ng/mL with a probability of 0.5 %). « Baron de Valls "and "JP Chenet" not hold ochratoxin A. Corn flour, wheat, and wines such as Sangria, Bonita, especially Pichet are unfit for human health and regulars measures must be taken to ensure people safety.

KEYWORDS: Bromatological toxicity; ochratoxin ; flour ; wine ; average grade.

RESUME: La fréquence de toxicité bromatologique et les probabilités de teneurs toxicologiques en ochratoxine A des farines (blé, maïs) et des BRAA (Boissons Raffraichissantes Avec Alcool), particulièrement des échantillons de marques de vins (Baron de Valls, Sangria Don Simon, Le Pichet, Bonita, JP. Chenet) exhibent une vulnérabilité pour la santé publique des consommateurs à Cotonou et Porto-Novo. Selon le règlement 1881/2006 de la Commission Européenne, les farines ne doivent pas excéder 3 ng/mL soit $3 \cdot 10^{-6}$ g/L ou $3 \cdot 10^{-3}$ mg/L ou $3 \cdot 10^{-3}$ ppm d'ochratoxine A. Malheureusement, la farine de maïs détient la plus forte teneur moyenne en ochratoxine A qui est de 4,716 ng/mL avec une probabilité de 0,5 %. Quant à la farine de blé, elle a la plus faible teneur moyenne qui est de 1,6287 ng/mL avec une probabilité de 0,5 %. Selon ce même règlement, les vins doivent contenir au plus 2ng/mL d'ochratoxine A. Il ressort que la teneur moyenne en ochratoxine A dans l'ordre décroissant se retrouve dans « Le Pichet » (1,635 ng/mL avec une probabilité de 26 %) ; « Sangria » (1,1359 ng/mL avec une probabilité de 1 %) ; et Bonita (0,4059 ng/mL avec une probabilité de 0,5 %). Par contre Baron de Valls et JP Chenet ne détiennent pas d'ochratoxine A. En esquisse, les farines de maïs, de blé, et les vins tels que Sangria, Bonita, et particulièrement Pichet sont impropres pour la santé humaine et des mesures de contrôles réguliers doivent être prises pour l'assurance qualité des aliments et la sécurité sanitaire des consommateurs.

MOTS-CLEFS: Toxicité bromatologique ; ochratoxine A ; farine ; vin ; teneur moyenne.

1 INTRODUCTION

L'ochratoxine A (OTA) est une mycotoxine synthétisée par des moisissures appartenant aux genres *Penicillium* et *Aspergillus*. Dans le sang, elle est la source d'intoxications aiguës parfois mortelles chez les animaux, et d'intoxications chroniques chez l'homme (Merwe et al., 1965). Les risques qui résultent de cette exposition de l'homme aux mycotoxines par voie alimentaire sont considérés comme un problème majeur de santé publique (Krogh, 1987). Elles sont néphrotoxiques et demeurent la cause principale des néphropathies endémiques de Balkan. En dépit de cette néphrotoxicité, l'OTA est immunosuppressive, tératogène, génotoxique et cancérigène (Krogh et Elling, 1977).

Des dispositions légales et réglementaires sont actuellement prises au niveau international par le Codex Alimentarius et certains partenaires au développement pour le renforcement des exigences de sécurité alimentaire, en particulier au niveau de l'Union Européenne en vue de protéger les consommateurs des effets néfastes des contaminants chimiques et des mycotoxines, notamment de l'ochratoxine A (FAO, 2003 ; CE, 2005).

En vue d'une investigation des risques de contaminations à l'ochratoxine A dans les denrées alimentaires d'alerter les populations et les décideurs sur l'importance de ces risques face à la consommation incontrôlée d'aliments contaminés, est initiée la présente étude.

2 MATÉRIEL

Une gamme multi variée de matériel fait objet du présent travail. 131 échantillons de denrées alimentaires sont collectés pour l'expertise bromato-toxicologique. 76 échantillons de farines ont été prélevés et étiquetés sur les sites de Cotonou et Porto-Novo. Dans le lot se distinguent 39 échantillons de farine de blé et 37 échantillons de farine de maïs. 55 échantillons de vin sont collectés, dont 11 échantillons par marque (Baron de Valls, Sangria Don Simon, Le Pichet, Bonita, JP. Chenet) prélevés sur différents sites à Cotonou. Les réactifs utilisés sont constitués du kit ÉLISA (spécifique pour l'ochratoxine A), de l'eau distillée, de l'acide chlorhydrique (1 molaire), du di-chloro-méthane (1 molaire), et du bicarbonate de sodium (0,13 molaire). Quant à l'appareillage, il est constitué d'une chaîne ÉLISA, d'une centrifugeuse, d'un vortex, et des accessoires (verrerie, etc.).

3 MÉTHODES

3.1 COLLECTE DES ÉCHANTILLONS

Différents sites à Cotonou et Porto-Novo (boulangeries, moulins et marchés) ont fait l'objet de lieu de prélèvements des échantillons. La technique d'échantillonnage est aléatoire stratifiée, cumulée à un choix raisonné suivant la marque et la traçabilité.

- 40 échantillons sont collectés à Porto-Novo : dont 20 échantillons de farine de blé prélevés au marché/boulangerie et 20 échantillons de farine de maïs prélevés au marché/moulin.
- 36 échantillons sont recueillis à Cotonou : dont 19 échantillons de farine de blé prélevés au marché, à la boulangerie et au Grand Moulin du Bénin (GMB) et 17 échantillons de farines de maïs prélevés au marché et au moulin.
- 55 échantillons de vin sont relevés à Cotonou (marchés et supermarchés), à raison de 11 échantillons par marque (Baron de Valls, Sangria Don Simon, Le Pichet, Bonita, JP. Chenet). Ces cinq marques ont été ciblées après une enquête préalablement menée sur le terrain.

3.2 ÉTIQUETAGES

Une fois au laboratoire, tous les échantillons sont codifiés pour les besoins d'analyses. Le mode opératoire utilisé pour la recherche et le dosage de l'ochratoxine A se résume en trois grandes étapes: la préparation des réactifs, la préparation des échantillons et le dosage.

3.3 PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Les solutions d'acide chlorhydrique (1 molaire), de dichlorométhane (1 molaire), de bicarbonate de sodium (0,13 molaire), tampons (diluées au $1/10^{\text{ième}}$) et d'enzyme conjuguée (diluée au $1/200^{\text{ième}}$) sont préparées.

3.4 PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

- Farine de maïs et farine de blé

1 g de l'échantillon est prélevé et mélangé à 20 mL de solution de bicarbonate de sodium. Après 1 minute d'agitation au vortex, il s'en suit la centrifugation à 1200 tours/min 15 minutes durant.

- Boissons Rafraîchissantes Avec Alcool (BRAA) : les vins

Les échantillons sont manipulés à la température du laboratoire (18 à 25 °C). On y ajoute dans l'ordre, 5 mL d'acide chlorhydrique à 5 mL de vin et 10 mL de dichlorométhane puis on agite lentement le mélange au vortex 15min durant. Il s'en suit une centrifugation à 2200 trs/min pendant 15min ; on prélève ensuite 5 mL de la phase inférieure pour y ajouter 2,5 mL de la solution de bicarbonate de sodium. A nouveau, on tourne l'ensemble au vortex 15min durant suivi d'une centrifugation à 2200trs/min pendant 15min. Enfin on prélève et on dilue (2x) le surnageant (la phase aqueuse) avec la solution de bicarbonate de sodium.

3.5 DOSAGES AU LABORATOIRE

Les étapes qui suivent sont idem pour toutes les matrices faisant objet du présent travail. Le kit ÉLISA utilisé est '*screen OCHRA; de code OR361*'. Sa limite de détection et de quantification est de 1 ppb (partie par billions) dans les céréales et le cacao et de 0,1 ppb dans le vin et les grappes de raisin.

Deux essais ont été réalisés par échantillon en vue de réduire les erreurs liées à la manipulation. Au terme, les valeurs obtenues multipliées par le facteur de dilution (20 pour les farines et 2 pour le vin) représentent les concentrations de chaque échantillon dosé.

Suite aux deux essais réalisés, les valeurs moyennes des concentrations sont déterminées.

3.6 ANALYSES STATISTIQUES

Sur la base des résultats issus des données d'analyses de laboratoire, a été procédé une série d'analyse statistique dans différents logiciels, dont Excel, et Minitab version 14. En prélude, une base de données est réalisée dans Excel, et a servi de guide aux tests statistiques dans Minitab 14. Les analyses statistiques les plus indexées sont constituées des fréquences de toxicités bromatologiques et de la probabilité de teneurs en Ochratoxine A des denrées alimentaires.

4 RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Des Fréquences de toxicité bromatologique et des probabilités de teneurs toxicologiques, présentées dans les figures qui suivent, il ressort que :

- Pour ce qui concerne les farines, le maïs détient la plus forte teneur moyenne qui est de $1,842 + 2,874$ soit $4,716$ ng/mL avec une probabilité de 0,5 %. Quant à la farine de blé, elle a la plus faible teneur moyenne qui est de $1,092 + 0,5367$, soit $1,6287$ ng/mL avec une probabilité de 0,5 %.
- Au niveau des vins, la teneur moyenne en ochratoxine dans l'ordre décroissant se retrouve dans 'Le Pichet' ($1,225 + 0,419$, soit $1,635$ ng/mL avec une probabilité de 26 %) ; 'Sangria' ($0,5691 + 0,5668$, soit $1,1359$ ng/mL avec une probabilité de 1 %) ;et Bonita ($0,1364 + 0,2695$ soit $0,4059$ ng/mL avec une probabilité de 0,5 %). Par contre Baron de Valls et JP Chenet ne détiennent pas d'ochratoxine.

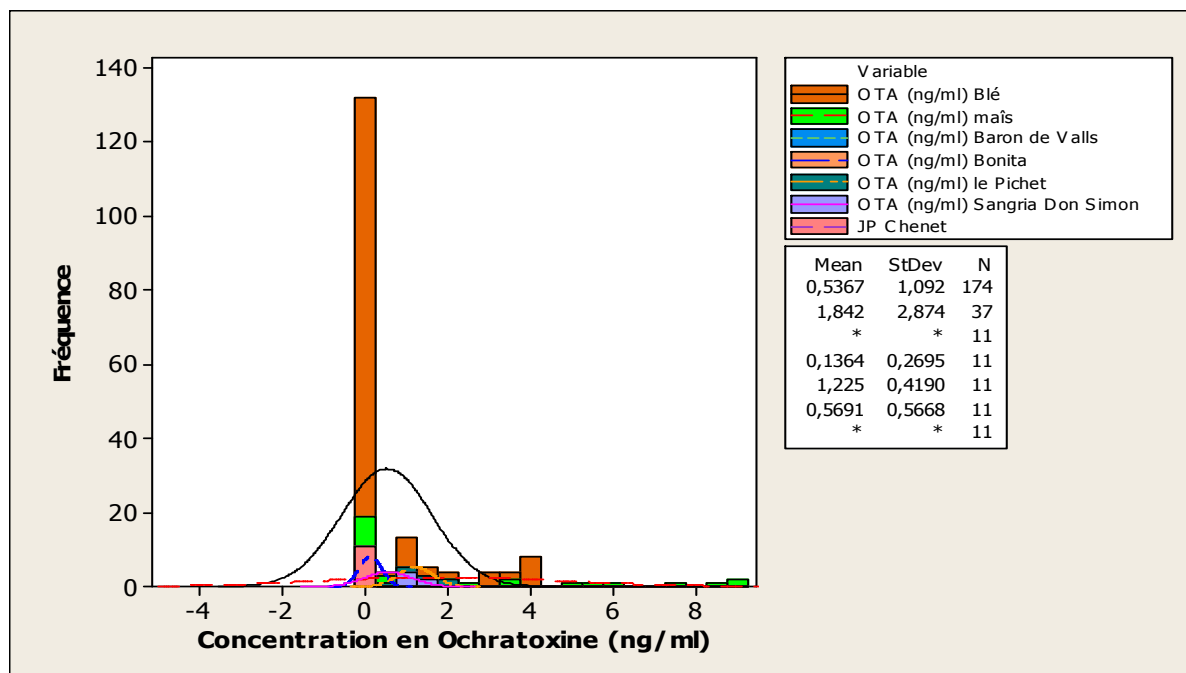


Figure 1 : Fréquences de toxicité bromatologique en ochratoxine A des denrées alimentaires à Cotonou et à Porto-Novo

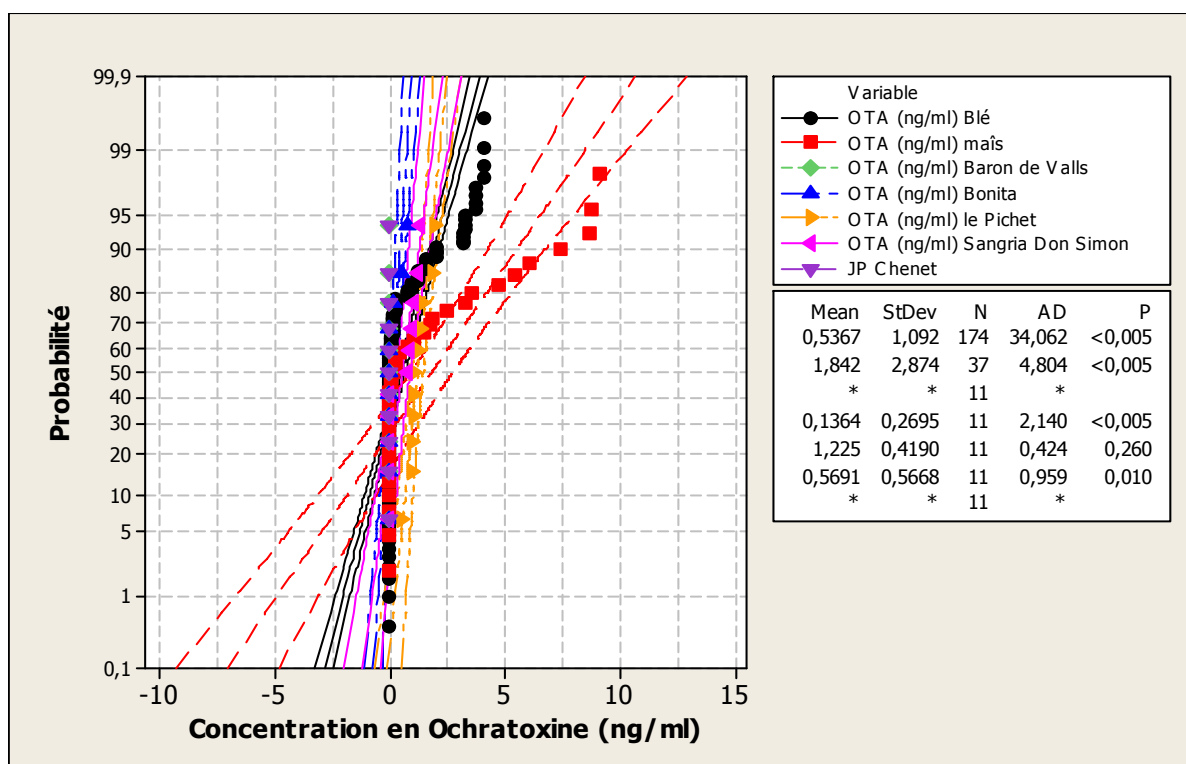


Figure 2 : Probabilités de teneurs toxicologiques en ochratoxine A des denrées alimentaires à Cotonou et à Porto-Novo

Selon le règlement 1881/2006 de la Commission Européenne, les farines ne doivent pas excéder 3 ng/mL soit $3 \cdot 10^{-6}$ g/l ou $3 \cdot 10^{-3}$ mg/l ou $3 \cdot 10^{-3}$ ppm. Il ressort que sur les 39 échantillons de farine de blé, 16 échantillons soit 41,03 % contiennent de l'OTA et que parmi ces derniers il y en a 4 (l'échantillon 26: 3,35 ng/mL ; l'échantillon 31: 3,79 ng/mL ; l'échantillon 37: 4,09 ng/mL et l'échantillon 39: 3,24 ng/mL) soit 10,24 % qui ont une concentration supérieure à la norme. Quant aux 37 échantillons de farine de maïs analysés, il y a présence de l'OTA dans 21 échantillons soit 56,76 % et 09 soit 24,32 % ont une teneur en OTA qui dépasse la valeur seuil.

Sur les 11 échantillons de vin rouge 'Baron de Valls' traités, aucun échantillon ne contient de l'OTA. 03 échantillons de vin 'Bonita' sur les 11 analysés soit 27,27 %, contiennent de l'OTA. Il y a présence d'OTA dans les 11 échantillons de vin « Le Pichet » analysés soit 100 %, avec des concentrations variant de 0,49 à 1,95 ng/mL. 06 échantillons de vin 'Sangria Don Simon' sur les 11 traités soient 54,55 %, contiennent de l'OTA quand bien même que ces valeurs ne dépassent pas le seuil réglementaire. La concentration minimale est de 0,76 ng/mL et la maximale de 1,33 ng/mL.

En ce qui concerne les échantillons de « J.P. Chenet » analysés, aucun ne révèle la présence d'OTA dans les vins.

Sur les 11 échantillons de vin rouge « Baron de Valls » traités, aucun échantillon ne contient de l'OTA. 03 échantillons de vin « Bonita » sur les 11 analysés soit 27,27 %, contiennent de l'OTA. La concentration maximale étant de 0,79 ng.

Il y a présence d'OTA dans les 11 échantillons de vin « Le Pichet » analysés soit 100 %, avec des concentrations variant de 0,49 à 1,95 ng/mL.

06 échantillons de vin « Sangria Don Simon » sur les 11 traités soient 54,55 %, contiennent de l'OTA quand bien même les valeurs ne dépassent pas le seuil réglementaire, la concentration minimale est de 0,76 ng/mL et la maximale de 1,33 ng/mL.

Quant aux échantillons de « J.P. Chenet » analysés, aucun ne révèle la présence d'OTA.

La présence des différentes concentrations d'OTA obtenues dans les vins analysés confirme l'hypothèse du passage très important des moisissures dans le moût lors de la période de macération. Les conditions de développement des champignons étant réunies, il s'en suit la production d'ochratoxine A. D'où l'intérêt de la qualité du vendange pour l'assurance de la production.

Les résultats ainsi obtenus sur l'ochratoxine A dans les denrées alimentaires, étaient prévisibles pour raison d'absence des mesures de sûreté sanitaire des aliments au Bénin. Ceux-ci se conjuguent aux études réalisées dans l'Union Européenne sur les échantillons totaux de vins rouges et ceux contaminés en OTA.

Ces différents taux de contamination obtenus représentent un véritable danger du fait que l'OTA est une substance toxique difficile à éliminer dans les réseaux trophiques. Elle affecte la santé du consommateur même à faible taux et s'accumule dans l'organisme, causant ainsi des intoxications chroniques avec de graves risques pour la santé comme tels mentionnés en prélude à ce document.

5 CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Les farines et vins à Cotonou et environs détiennent des teneurs considérables en ochratoxine A. Il se pose une réelle inquiétude de sûreté sanitaire des aliments sur les espaces littoraux du Bénin. La santé des consommateurs est très menacée, et il urge des mesures juridiques et institutionnelles pour l'instauration d'une politique de surveillance qualité des aliments en zone portuaire du Bénin.

La société civile, et la presse sont fortement invitées à se doter des présents résultats d'analyses, pour une meilleure sensibilisation sur les risques.

L'Etat central doit assurer la santé des consommateurs, et se procurer de ce document pour une meilleure conception des mesures, qui d'ailleurs méritent une collaboration intrinsèque entre la société civile, les opérateurs économiques, et les laboratoires spécialisés.

Il urge des mesures préventives.

REFERENCES

- [1] CE. (2006). Fixation des teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires. *Journal officiel de l'Union Européenne, règlement 1881/2006/CE*, pp. 5-24.
- [2] CE. (2005). Règlement (CE) No 123/2005 de la commission du 26 janvier 2005 modifiant le règlement (CE) No 466/2001 en ce qui concerne l'ochratoxine A. *Journal officiel de l'Union européenne, L 25*, pp. 3-5.
- [3] FAO. (2003). Réglementations relatives aux mycotoxines dans l'alimentation humaine et animale, à l'échelle mondiale en 2003. *Étude FAO Alimentation et Nutrition*. N° 81, 188 p.
- [4] Krogh, P. (1987). Ochratoxin A in Food, *Mycotoxin in food*. Academic Press, San Diego. pp. 97-121.
- [5] Krogh P., Elling F. (1977). Mycotoxic nephropathy. *Vet. Sci. New York, Academic Press, n° 1*, pp. 51-53.
- [6] Merwe V.D. et al. (1965). *Nature. The constitution of ochratoxin A, B and C, metabolite of Aspergillus ochraceus*. n° 205, pp. 1112-1113.