

Hongos toxicogénicos y micotoxinas

Basilico, Juan Carlos

Cátedra de Microbiología, Dto. de Ingeniería en Alimentos. Facultad de Ingeniería Química.
Universidad Nacional del Litoral. Santiago del Estero 2829. 3000 Santa Fe. Argentina.
Tel. 0342 4571164 (int. 2541). Fax 0342 4571162. jcbasilico@fiqus.unl.edu.ar

RESUMEN: El crecimiento de hongos filamentosos que comúnmente contaminan alimentos puede dar como resultado la producción de toxinas denominadas micotoxinas, las cuales pueden causar distintos efectos en humanos, desde respuestas alérgicas hasta inmunodepresión y cáncer. Las principales micotoxinas son las aflatoxinas, ocratoxina A, fumonisinas, tricothecenos y zearalenona. Las aflatoxinas son potentes carcinógenos y en asociación con el virus de la hepatitis B, son los responsables de la muerte de miles de personas al año, principalmente en los países tropicales no industrializados. Ocratoxina A es un probable carcinógeno y podría ser la causa de cáncer del tracto urinario y daños en riñón en la población del norte y este de Europa. Las fumonisinas aparecen como posible causa de cáncer esofágico en Sudáfrica, ciertas regiones de China y otras partes del mundo. Los tricothecenos son altamente inmunosupresores y la zearalenona causa efectos estrógenicos en animales y en el ser humano.

Palabras claves: micotoxinas, micotoxicosis, aflatoxinas, ocratoxina A, fumonisinas, tricothecenos, zearalenona.

SUMMARY: Toxicogenic Fungi and Mycotoxins. Basilico, Juan Carlos. Growth of commonly occurring filamentous fungi in foods may result in production of toxins known as mycotoxins, which can cause a variety of ill effects in humans, from allergic responses to immunosuppression and cancer. The most important mycotoxins are aflatoxins, ochratoxin A, fumonisins, tricothecenes and zearalenone. Aflatoxins are potent carcinogens and, in association with hepatitis B virus, are responsible for many thousands of human deaths per annum, mostly in non-industrialised tropical countries.

Ochratoxin A is a probable carcinogen, and may cause urinary tract cancer and kidney damage in people from northern and eastern Europe. Fumonisins appear to be the cause of oesophageal cancer in southern Africa, parts of China and elsewhere. Tricothecenes are highly immunosuppressive and zearalenone causes oestrogenic effects in animals and in human being.

Key words: Mycotoxins, mycotoxicosis, aflatoxins, ochratoxin A, fumonisins, tricothecenes, zearalenone.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos por ciertas especies de hongos filamentosos (mohos) que pueden contaminar diversos sustratos, incluyendo los alimentos que ingiere el hombre y los animales. Los hongos toxicogénicos están ampliamente distribuidos en el medio ambiente y crecen especialmente en cereales y oleaginosas. Son consideradas micotoxinas sólo si a bajas concentraciones resultan tóxicas para vertebrados y otros animales cuando son administradas a través de una ruta natural. No se incluyen en este grupo las toxinas de las setas venenosas que pertenecen a la clase de los basidiomicetos (hongos macroscópi-

cos). Las enfermedades producidas por estas toxinas se denominan micotoxicosis. Las micotoxinas son compuestos de bajo peso molecular, caracterizadas por su diversidad de estructuras, muchas de ellas son moléculas heterocíclicas, que poseen una elevada estabilidad y no son modificadas ni por la cocción ni por otros procesos de transformación de los productos alimentarios. Estas moléculas pequeñas no inducen respuesta en el sistema inmune humano. El mayor riesgo potencial de las micotoxinas en la dieta humana reside en nuestra incapacidad para detectarlas biológicamente (1). El reconocimiento del problema derivado de la presencia de estas

sustancias como contaminantes de los alimentos es un hecho relativamente reciente, si bien existen antecedentes bastante remotos de enfermedades producidas por la ingestión de alimentos enmohecidos. Una de ellas, el ergotismo, debido al consumo de centeno contaminado con *Claviceps purpurea*, ha afectado a la población de Europa y el Lejano Oriente desde la Edad Media hasta principios de este siglo, causando en algunos casos numerosas muertes. Los metabolitos tóxicos del hongo responsable de esta enfermedad fueron identificados como alcaloides en 1875 (2).

Entre 1941 y 1947 se produjo en ciertas regiones de Rusia una epidemia grave de una enfermedad denominada leucopenia tóxica alimentaria (alimentary toxic aleukia, ATA); en este caso la causa fue la ingesta de cereales que habían permanecido en el campo durante el invierno y estaban contaminados con *Fusarium*. Como consecuencia se produjo la muerte de hasta el 10 % de las poblaciones implicadas (3). En 1960 se produjo en Inglaterra una enfermedad que afectó a las aves de corral, causando la muerte de miles de pavos. Poco después se pudo comprobar que la causa había sido la presencia de metabolitos tóxicos producidos por un hongo, *Aspergillus flavus*, contaminante del maíz usado en la preparación de alimentos para aves. A estas sustancias se las denominó aflatoxinas (4).

Las micotoxinas presentan 2 tipos básicos de toxicidad, aguda y crónica. El efecto de micotoxicosis aguda más descrito es el deterioro de la función hepática y renal, la cual en caso extremo conduce a la muerte. Sin embargo, algunas micotoxinas actúan primariamente interfiriendo con la síntesis de proteínas, y producen efectos como sensibilidad en piel, necrosis tisular e inmunodeficiencia. Otras son neurotoxinas, las cuales a bajas dosis pueden causar temblores en animales, pero sólo a dosis altas causan daño cerebral o muerte (5). Los efectos a largo plazo ocasionados por la ingesta de micotoxinas son también variados. El principal efecto crónico es la inducción de cáncer, especialmente de hígado. Algunas de estas toxinas afectan la replicación de ADN, produciendo efectos mutagénicos o teratogénicos (6).

Los síntomas de las micotoxicosis son casi siempre tan distintos como lo son sus estructuras químicas. Algunas de ellas manifiestan pocos síntomas antes de la muerte, mientras que otras pueden producir efectos severos incluyendo necrosis de piel,

leucopenia e inmunodepresión. Las dosis que producen enfermedades crónicas son generalmente mucho más bajas que aquellas responsables de efectos agudos. Efectos a largo plazo, tales como cáncer, son indetectables al momento de la ingestión y se mantienen así hasta que la enfermedad se encuentra significativamente avanzada (7).

Los principales géneros fúngicos productores de micotoxinas son: *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*. Distintas especies de *Fusarium* son patógenas destructivas de cultivos de cereales y producen micotoxinas antes o inmediatamente después de la cosecha. Ciertas especies de *Aspergillus* y *Penicillium* son también patógenas de plantas o comensales, pero estos géneros están más asociados con granos durante el almacenamiento (8).

Las micotoxinas más significativas y sus especies productoras se describen a continuación.

Aflatoxinas

Las aflatoxinas son tóxicas para el hombre y los animales tanto en forma aguda como crónica, causando daño hepático, cirrosis, inducción de tumores y efectos teratogénicos. Con el nombre genérico de aflatoxinas se designa a un grupo de compuestos químicamente relacionados producidos en la naturaleza por *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* y recientemente descrito por *A. nomius*. Son compuestos altamente fluorescentes. Su estructura se caracteriza por ser heterocíclica con un anillo dihidrofurano o tetrahidrofurano unido a una cumarina sustituida (9).

Se han aislado más de 20 compuestos pertenecientes a la familia de las aflatoxinas, pero las más importantes son las aflatoxinas B₁ (AFB₁), B₂ (AFB₂), G₁ (AFG₁) y G₂ (AFG₂), que son las halladas usualmente juntas, en diferentes proporciones. La AFB₁ es la más frecuente y tóxica. La nomenclatura hace referencia a sus propiedades físico-químicas, ya que las del tipo B presentan fluorescencia azul (blue) y las del tipo G fluorescencia verde (green), cuando se las observa bajo la luz ultravioleta. El subíndice 1 indica mayor movilidad cromatográfica que el 2. Cuando AFB₁ y AFB₂ son ingeridas por vacas lecheras u otros mamíferos, una fracción (aprox. el 1,5 %) es hidroxilada y excretada en la leche como AFM₁ (milk toxin) y AFM₂, compuestos de menor toxicidad que AFB₁ y AFB₂, pero de gran significación por el consumo masivo por parte de los niños (10). Debido

a la alta toxicidad de las aflatoxinas, se han establecido, en muchos países bajos límites de tolerancia para las mismas. En acuerdos recientes, 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de aflatoxinas totales parece ser el nivel máximo permitido para la mayoría de los alimentos con excepción de AFM, cuyo nivel de aceptación es de 0,5 $\mu\text{g}/\text{l}$ para MERCOSUR y 0,05 $\mu\text{g}/\text{l}$ para Comunidad Europea.

Estas toxinas actúan sobre las membranas celulares, sobre el ADN y la síntesis de ARN (ADN dependiente) (11, 12). Impiden la incorporación de aminoácidos y fosfolípidos y por lo tanto alteran el metabolismo de los lípidos (13). Son carcinogénicas (14), mutagénicas e inmunosupresoras (15, 16, 17, 18). AFB₁ es el carcinógeno natural más potente conocido al presente. La principal vía de absorción es la digestiva, persistiendo en los tejidos hasta 148 horas después de una dosis. La degradación de las aflatoxinas se realiza por diferentes vías metabólicas, siendo sus metabolitos tóxicos eliminados por orina. El metabolismo de estas toxinas está influenciado por la edad, el sexo, la dieta, el estado sanitario y la especie biológica (19, 20, 21). Las lesiones observadas después de una intoxicación aguda son principalmente hepáticas, incluyendo degeneración grasa y necrosis del parénquima, fibrosis y proliferación de conductos biliares. La sintomatología se caracteriza, en general, por decaimiento, falta de apetito, ataxia, ictericia en algunas especies y en algunos casos convulsiones y muerte. Cuando las cantidades consumidas son menores, puede producirse toxicidad sub-aguda, caracterizada por retardo en el crecimiento, baja conversión alimenticia y depresión. Un efecto importante, que ha sido demostrado experimentalmente, es la interferencia con el sistema inmunológico, que origina disminución de las defensas orgánicas y mayor susceptibilidad a enfermedades infecciosas de diversos tipos. Con niveles dietarios aún menores, no se observan alteraciones en el corto plazo, pero en varias especies se produce cáncer hepático a tiempos variables después de comenzar a consumir la dieta contaminada. En determinadas condiciones pueden observarse tumores en otros órganos tales como estómago, esófago, riñón o colon (22, 23, 24). La toxicidad aguda de las aflatoxinas ha sido raramente observada (25). En 1974, la causa de un brote de hepatitis que afectó a 400 personas en India, de los cuales 100 murieron, fue atribuida a aflatoxinas. El brote se debió a la ingesta de maíz contaminado con 15 mg/kg de aflatoxinas. El

cáncer hepático humano tiene una alta incidencia en África Central y ciertas regiones del Sudeste Asiático donde podría haber asociación con aflatoxinas. Estudios en varios países Africanos y Tailandia mostraron una correlación entre el logaritmo de la ingesta de aflatoxinas y la ocurrencia de cáncer hepático humano (26). Sin embargo estudios realizados en áreas de Estados Unidos donde la contaminación con aflatoxinas es apreciable indicaron que la contribución de la toxina no era significativa en la incidencia de cáncer hepático en dicho país (27). La explicación a estas diferencias parece hoy clara: el virus de la hepatitis B es también carcinógeno; aflatoxinas y hepatitis B son co-carcinogénicos y la probabilidad de desarrollar cáncer es mayor en zonas donde ambos prevalecen (28). Sin embargo existe considerable evidencia que la ingesta de altas dosis de aflatoxinas correlaciona con alta incidencia de cáncer hepático humano (29, 30). Desde 1993 AFB₁ es considerado carcinógeno humano clase 1 por la Agencia Internacional de Investigaciones sobre Cáncer (31).

Los niveles de contaminación con aflatoxinas en alimentos de zonas tropicales (32) y muestras de sangre (33) son muchas veces inaceptablemente altas. Basado en datos de Pitt y Hocking (32) ha sido estimado que el número de muertes por cáncer hepático en Indonesia excede los 20.000 por año (34).

Aspergillus flavus y *A. parasiticus* tienen particular afinidad por nueces y semillas oleosas. Maní, maíz y semillas de algodón son los cultivos más afectados. Las primeras investigaciones llevadas a cabo sobre el tema consideraban que la invasión fúngica era debida a un secado o a un almacenamiento inadecuado y estos factores son ciertamente importantes en la ocurrencia de aflatoxinas en zonas tropicales. Sin embargo en zonas de climas templados la invasión de estos cultivos por *A. flavus* antes de la cosecha es significativa. La invasión a los cultivos de maní está relacionada con el estrés de sequía (35). El ataque precosecha en el maíz se debe fundamentalmente al daño por insectos (36).

Los cereales son un buen sustrato para el crecimiento de *A. flavus* pero, el deterioro por este hongo se debe casi siempre a un mal manejo de los granos. La contaminación con aflatoxinas en granos pequeños rara vez es significativa (37). Por otra parte las especias suelen estar contaminadas con *A. flavus* y los niveles de aflatoxinas puede llegar a ser muy altos.

Ocratoxinas

Las ocratoxinas son compuestos químicos que poseen una 3, 4 dihidro3metil isocumarina unida (vía grupo 7 carboxy) a la L fenilalanina por una unión amida. La ocratoxina A (OA) es el compuesto principal del grupo, presentando la mayor toxicidad. (38, 39, 40). OA es principalmente una nefrotóxica; sus efectos han sido demostrados en todas las especies de animales estudiadas: cerdos (41), conejos (42), perros (43), pollos (44), trucha Arco Iris (42) y ratas (45). Esta micotoxina tiene una importancia significativa en la cría de cerdos y pollos pero ha sido raramente reportada como problema en rumiantes, presumiblemente por la habilidad que tienen los microorganismos del rumen para hidrolizar OA a una forma alfa no tóxica. (46, 47, 48).

Su acción biológica está basada en la inhibición que ejerce en la síntesis de proteínas, por competición con la fenilalanina, en la reacción catalizada por la fenil-ARN sintetasa (49). Interfiere también en la fosforilación oxidativa, por lo que se considera que la organela blanco de esta micotoxina es la mitocondria (50, 51). Inhibe la glucogenolisis a través de la inhibición del ácido 3' 5' AMP cíclico (52). OA se absorbe rápidamente por vía digestiva y se distribuye a todos los tejidos; a las 24 horas ya se ha eliminado por orina, materia fecal y bilis el 50 % de la misma.

En humanos esta micotoxina ha sido involucrada en la epidemiología de la Nefropatía Endémica de los Balcanes, pero no se ha podido establecer una relación clara entre ambas (53, 54). Recientemente OA ha sido asociada a enfermedades renales en Túnez y Egipto (55, 56, 57). OA es también teratogénica, inmunosupresora y posee propiedades carcinogénicas (46). Ha sido clasificada como "posible" carcinógeno humano (grupo 2B) por la Agencia Internacional de Investigaciones sobre Cáncer (47).

OA fue originalmente descrita como un metabolito de *Aspergillus ochraceus* (58), especie cuyo hábitat natural son los vegetales secos, semillas, nueces y frutas. *A. ochraceus* y especies relacionadas están ampliamente distribuidas en alimentos con baja actividad acuosa de diversos tipos (59). Los cereales pueden estar contaminados con *A. ochraceus* pero la presencia de OA es rara. Sin embargo puede ser una fuente importante de OA en granos de café verde; también ha sido reportada como metabolito de *Penicillium viridicatum* (60) y este concep-

to prevaleció por más de una década. Algunos aislados considerados como *P. viridicatum* productores de OA fueron correctamente identificados como especies de *P. verrucosum* (61). Este hongo ha sido reportado casi exclusivamente como contaminante de granos en zonas de clima templado. Ha sido asociado con avena y trigo del norte de Europa y ha sido también aislado de productos cárnicos en Alemania y otros países europeos (61).

Ocasionalmente algunos aislados de *Aspergillus niger* pueden producir OA (62). Sin embargo la especie cercana *A. carbonarius* es un productor más frecuente (63, 64). Esta especie se encuentra ampliamente distribuida en alimentos en regiones tropicales (65, 66) y sobrevive el secado al sol y es una fuente importante de OA en vinos.

Si bien el impacto de OA en la salud humana ha no sido hasta el momento suficientemente analizado, La Organización Mundial de la Salud teniendo en cuenta la carcinogenicidad de OA, propone como límite máximo permitido en cereales 5 µg/kg (67).

Fumonisinias

Las fumonisinias fueron descubiertas en 1988 (68, 69) como resultado de muchos años de estudio de una enfermedad conocida como leucoencefalomalacia equina (LEM). Constituyen una familia inusual de alcaloides solubles en agua. Si bien se han aislado e identificado hasta la fecha 8 análogos de estos amino-polialcoholes sólo 3 de ellos, las FB₁, FB₂ y FB₃ son importantes desde el punto de vista de la ocurrencia natural. Son cadenas alifáticas de 20 átomos de C con 2 uniones éster a cadenas hidrofílicas, semejantes a la esfingosina, que es un fosfolípido esencial en las membranas celulares. Su acción tóxica se debe a la competición con la esfingosina en el metabolismo de los esfingolípidos (70). Los efectos de la toxicidad debida a fumonisinias son muy variables según la especie animal y la dosis. La enfermedad mejor estudiada es LEM, caracterizada por lesiones necróticas licuefactivas de la materia blanca de los hemisferios cerebrales de los equinos.

El efecto de estas micotoxinas en humanos no ha sido aún bien establecido, pero existe evidencia que sugiere un rol en el cáncer esofágico humano. La Agencia Internacional de Investigaciones sobre Cáncer considera a la FB₁ como posible carcinógeno humano, pero no la considera ni mutagénica ni genotóxica. Su acción principal consiste en alterar la

capacidad proliferativa celular (71). Los mayores productores de fumonisinas son *Fusarium verticilloides* y especies relacionadas, las cuales son endémicas en maíz en todo el mundo; siendo el maíz la única fuente importante de estas toxinas (59)

Tricotecenos

Los tricotecenos pertenecen a un grupo de compuestos estructuralmente relacionados caracterizados por poseer un sistema cíclico, 12,13-epoxi-tricotec-9-ene. Son producidos por distintas especies de *Fusarium*, *Myrothecium*, *Cephalosporium*, *Verticimonosporium* y *Stachybotrys* (72).

Dentro de los tricotecenos producidos por especies del género *Fusarium* se han descrito más de 45 compuestos de origen natural, siendo deoxivalenol, DON (conocido también como vomitoxina) y nivalenol los 2 más importantes como contaminantes (73).

Los tricotecenos presentan una acción biológica en común, que es su capacidad de inhibir la síntesis proteica y causar necrosis tisular. Producen efectos inmunosupresores en animales de laboratorio, que conducen a un incremento en la susceptibilidad a toda clase de enfermedades microbianas. DON fue la causa de una gran intoxicación humana en India en 1988 (74). Los síntomas fueron hemorragias gastrointestinales, vómitos, diarreas, dolor de cabeza, ataxia y pérdida del apetito y en algunos casos convulsiones (75).

La mayor fuente de estas toxinas es *F. graminearum*, especie endémica en trigo y otros cereales en todo el mundo (59)

Zearalenona

La zearalenona es una micotoxina estrogénica, también producida por *F. graminearum* y especies relacionadas. Químicamente es una lactona del ácido resorcilico. La toxicidad aguda de esta micotoxina es baja, con valores de DL_{50} variables entre 2.000 y 10.000 mg/kg, dependiendo de la especie animal. El efecto de esta toxina en animales es bien conocido, maíz, centeno y trigo contaminados con zearalenona causan problemas genitales en la mayoría de los animales domésticos especialmente cerdos. Los síntomas incluyen vulvovaginitis, prolapso de vagina y recto. Los desordenes reproductivos incluyen infertilidad y abortos (76). En cerdos machos se ha observado: atrofia de testículos, disminución de la libido

e hipertrofia de las glándulas mamarias. Si bien zearalenona ha sido también involucrada hipotéticamente en varios incidentes de pubertad precoz en niños (77), no está comprobada su participación en la etiología de enfermedades que afectan al hombre. De todos modos, se recomienda controlar la exposición de la población a esta micotoxina, teniendo en cuenta sus efectos teratogénicos en ratas.

Conclusiones

La contaminación por micotoxinas en los alimentos, además de incidir en la salud pública, tiene implicancias económicas al repercutir adversamente en la producción agropecuaria, al afectar la disponibilidad de ciertos productos y la comercialización de éstos a nivel regional e internacional.

Es difícil evaluar cuantitativamente el impacto económico derivado no sólo de las pérdidas directas de cosechas y de ganado, sino también de los costos médicos y veterinarios asociados a las micotoxicosis y de los programas y monitoreos que deberían ser diseñados a fin de reducir el riesgo para la salud humana y animal.

La documentación existente sobre excesivos niveles de aflatoxinas en alimentos y muestras de sangre de personas de países no industrializados, conjuntamente al efecto sinérgico que ejerce el virus de la hepatitis B, demuestra que estas toxinas son la causa de numerosas muertes en gran parte de África y Sudeste Asiático. El hecho que muchas micotoxinas, incluyendo las aflatoxinas, las fumonisinas y los tricotecenos, sean inmunosupresoras justificaría al menos en parte, que la población posea menor resistencia a las enfermedades, especialmente en países tropicales.

Finalmente cabe acotar que si bien dentro de las enfermedades transmitidas por alimentos, las de origen bacteriano son la principal causa de preocupación, no se puede ignorar que las micotoxinas son responsables de un mayor número de muertes humanas comparadas con las de origen bacteriano.

Bibliografía

- 1- Basílico, J.C. Micotoxinas en Alimentos. Ed. por Centro de Publicaciones. Universidad nacional del Litoral. 1995. Santa Fe. Argentina.

- 2- Smith, J.E., and R.S. Henderson. 1991. Mycotoxins and animal foods. Eds. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida.
- 3- Directrices para la vigilancia de micotoxinas 1979 ONUFAO. Serie: Inspección de los alimentos N 4.
- 4- Heathcote, J.G. and J.R. Hibbert 1978. Aflatoxins: Chemical and Biological Aspects. Developments in Food Science 1. Elsevier Scientific Publisher Company. 99-102.
- 5- Moreau, C.. 1979 Moulds, Toxins and Food. Chichester, UK: Wiley.
- 6- Rodricks, J.V., Hesseltine C.W., Mehman MA. 1977 (Eds) Mycotoxins in Human and Animal Health. Park Forest South, IL: Pathotox.
- 7- Ueno Y. 1983. (Ed) Trichothecenes: Chemical, Biological and toxicological Aspects. Amsterdam: Elsevier.
- 8- Sweeney, M J. and A. Dobson 1998 Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species International Journal of Food Microbiology 43: 141-158
- 9- Detroy, R.W.; E.B. Lillehoj and A. Ciegler. 1971. In "Microbial Toxins" (S.Kadis, A. Ciegler and S.J. Ajls ed). 66-68.
- 10- Frobish RA, Bradley BD, Wagner DD, Long-Bradley PE, Hairston H. 1986. Aflatoxin residues in milk of dairy cows after ingestion of naturally contaminated grain. *J. Food Protect*; 49: 781-785
- 11- Hsieh. D.P.H.; 1987. Mode of action of mycotoxins. Chap. 7 in "Mycotoxins in Food" Ed. by P. Krogh Ac. Press London. 202-205.
- 12- Lyman, B.A. 1988. Modification of protein synthetic components by Aflatoxin B1. *Biochem. Pharmacol.* 3: 105-107.
- 13- Merkley, J.W. 1987. Hepatic fatty acid profiles in aflatoxinexposed broiler chickens. *Poultry Sci.* 4: 304-306.
- 14- Buther. W.H. 1971. In "Mycotoxins in Human Health" Ed. By Purchase. New York. 107-117.
- 15- Palmgren. M.S. and A.W. Hayes 1987. Aflatoxin in food. Chap. 4 In "Mycotoxins in Food". Ed. by P. Krogh Academic Press. London. 212-215
- 16- Pestka. J.J. and G.S. Bondy. 1989. Alteration of immune function following dietary mycotoxin exposure. *Canadian Fed. Biolol. Societes Satellite.* 100-101.
- 17- Pier, A.C.: M.J. Varman and R.R. Dahlgren 1986. Aflatoxin suppression of cell mediated immune response and interaction with T2 Toxin. Ed. By P.S. Steyn and R. Vleggaar Elsevier Science Publishers. Amsterdam. 85-87.
- 18- Shternikov, V.A. and I.N. Marokko 1984. Mycotoxins: immunity, immunologic methods of study. Centre of International Projctcs. GKNT, FAO/UNEP/USSR, 855-983, Moscow.
- 19- Appleton, B.S. and C.R. Ditcher. 1985. Aflatoxin exposure and human liver cancer risk. *Food Chem. Toxicol.* 23: 2060-2063.
- 20- Donald, T. 1988. Nucleic acid relatedness of mycotoxins. 7th. International symposium on Mycotoxins and Phycotoxins. Tokyo. 78-79.
- 21- Heathcote J.H. 1978. Aflatoxins: Chemical and biological aspects. Chap. V Ed by Elsevier Scient. Publisher. New York.
- 22- Goldblatt, L.A. 1969. Aflatoxins. Academic Press. New York and London.
- 23- Wogan, G.N. 1988. Molecular and cellular events associated with aflatoxin induced hepatocarcinogenesis. 7th. International Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins. Tokyo. 52-53.
- 24- Tandon, H. 1988. Pathology of the liver in an out break of aflatoxicosis in man with a report on the follow up. 7th. International Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins. Tokyo. 32-33.
- 25- Shank RC. 1977. Mycotoxicoses of man: dietary and epidemiological considerations. In: Wyllie TD, Morehouse LG. (Eds) *Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses, an Encyclopedic Handbook*. Vol. 1. *Mycotoxigenic Fungi*. New York: Marcel Dekker, 1- 12.
- 26- Van Rensburg S.J. 1977. Role of epidemiology in the elucidation of mycotoxin health risks. In: Rodricks JV, Hesseltine CW, Mehman MA. (Eds) *Mycotoxins in Human and Animal Health*. Park Forest South, IL: Pathotox, 699- 711.
- 27- Stoloff L. (1983). Aflatoxin as a cause of primary liver-cell cancer in the United States: a probability study. *Nutr Cancer*; 5: 165-186.
- 28- Campbell T.C. Mycotoxins. 1983. In: Wynder EE. (Ed) *Environmental Aspects of Cancer: the Role of Macro and Micro Components of Foods*. Westport, CT: Food and Nutrition Press, 187-197.
- 29- Peers F, Bosch X, Kaldor J., Linsell A., Pluumen M. 1987. Aflatoxin exposure, hepatitis B virus infection and liver cancer in Swaziland. *Int J Cancer* 39: 545- 553.
- 30- Groopman J.D, Cain L.G., Kensler T.W. 1988. Aflatoxin exposure in human populations: measurements and relation to cancer. *CRC Crit Rev Toxicol* 19: 113-145.
- 31- International Agency for Research on Cancer. 1993. *Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins*. Monograph 56. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- 32- Pitt J.I., Hocking AD. 1996. Current knowledge of fungi and mycotoxins associated with food commodities in Southeast Asia. In: Hightley E, Johnson GL (Eds) *Mycotoxin Contamination in Grains*. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research. *ACIAR Technical Reports*, 37: 5- 10.
- 33- Miller JD. 1996. Food-borne natural carcinogens: issues and priorities. *Afr Newslet Occup Health Safety*; 6 (Suppl. 1): 22-28.

- 34- Lubulwa A.S.G., Davis J.S. 1994. Estimating the social cost of the impacts of fungi and aflatoxins in maize and peanuts. In: Highley E, Wright EJ, Banks HJ, Champ BR. (Eds) *Stored Product Protection*. Wallingford, UK: CAB International, 1017-1042.
- 35- Cole R.J., Hill R.A., Blankenship P.D., Sanders T.H., Garren H. 1982. Influence of irrigation and drought stress on invasion of *Aspergillus flavus* in corn kernels and peanut pods. *Dev Ind Microbiol* **23**: 299-326.
- 36- Lillehj E.B., Kwolek W.F., Horner E.S. 1980. Aflatoxin contamination of preharvest corn: role of *Aspergillus flavus* inoculum and insect damage. *Cereal Chem* **57**: 255-257.
- 37- Stoloff, L. 1977. Aflatoxins an overview. In: Rodricks JV, Hesseltn CW, Mehlman MA. (Eds) *Mycotoxins in Human and Animal Health*. Park Forest South, IL: Pathotox, 7-28.
- 38- Nesheim, S. 1969. Isolation and purification of ochratoxin A and B and preparation of their methyl and ethyl esters. *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* **52**: 1026-1030.
- 39- Searcy, J.W.: N.D. Davis and U.L. Diener 1969. Biosynthesis of ochratoxin A. *Appl. Microbiol.* **20**: 302-306.
- 40- Basílico, M.Z. and J.C. Basílico 1999. Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 on ochratoxin A production. *Letters in Applied Microbiology* **29**: 238-241.
- 41- Buchmann, N.B. and B. Hald 1985. Analysis occurrence and control of Ochratoxin A residues in Danish pig Kidneys. *Food Addit.Contam.* **2**: 180-184.
- 42- Galtier, P. and M. Alvinerie 1981. The pharmacokinetic profiles of Ochratoxin A in pigs. Rabbits and chickens. *Food Cosmet. Toxicol.* **19**: 306-307.
- 43- Kitchen, D.N. W.W. Carlton and J. Tuite 1977. Ochratoxin A and Citrinin induced nephrosis in Beagles dogs. II. Pathology. *Vet. Pathol.* **14**: 109-107.
- 44- Chang, F.C. and P.B. Hamilton 1980. Impairments of phagocytosis by heterophils from chicken during ochratoxicosis. *Appl. Environ. Microbiol.* **39**: 572-575.
- 45- Basílico, M.Z. 2000. Efectos sinérgicos de la ingesta subcrónica combinada de diacetoxiscirpenol y de ocratoxina A. Tesis Doctoral Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas Universidad Nacional del Litoral.
- 46- Kuiper Goodman T. And P.M. Scott 1989. Risk assessment of the mycotoxin Ochtratoxin A. *Biom. Environm. Sci.* **2**: 179-248.
- 47- Kuiper Goodman T. 1996. Risk assessment of ochratoxin A: an update. *Food Addit. Contam.* **13** (Suppl.): 53-57.
- 48- Steyn P.S. 1984. Ochratoxins and related dihydroisocoumarins. In: Betina V (Ed.). *Mycotoxins: production, isolation, separation and purification* (183-216), Elsevier, Amsterdam.
- 49- Creppy, E.E. 1979. In vitro inhibition of yeast phenylalanyl RNA synthetase by Ochtratoxin A. *Chem. Biol. Interact.* **24**: 202-207.
- 50- Hiasa. Y. and N. Ito 1987. Experimental induction of renal tumors. *CRC Critical Rev. Toxicol.* **17**: 671-673.
- 51- Krogh, P.(1990) Ochtratoxins in food. Chap. 5 in "Mycotoxins in Food". Ed. by P. Krogh Ac. Press London.
- 52- Warren, M.E. and P.B. Hamilton. 1980. Inhibition of glycogen phosphorylase system during ochratoxicosis in chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* **40**: 522-525.
- 53- Peraica M., Radic B., Lucic A., Pavlovic M. 1999. Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World health Organization* **77**: 754-765.
- 54- Plestina R. 1996. Nephrotoxicity of ochratoxin A. *Food Addit. Contam.* **13** (Suppl.): 49-50.
- 55- Maaroufi A., Achour A., Zakhama A., Ellouz F, El May M. Creppy EE, Bacha H 1996. Human nephropathy related to ochratoxin A in Tunisia. *J. Toxicol. Toxin Reviews.* **15**: 223-237.
- 56- Mantle P.G., and K.M. McHugh 1993. Nephrotoxic fungi in foods from nephropathy households in Bulgaria. *Mycol. Res.* **97**: 205-212.
- 57- Waffa E.W. and R.S. Yahya. 1998 Human ochratoxicosis and nephropathy in Egypt: A preliminary study. *Human Exp. Toxicol.* **17**: 124-129.
- 58- Van der Merwe K.J., Steyn P.S., Fourie L., Scott D.B., Theron J.J. 1965. Ochtratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh. *Nature*; **205**: 1112-1113.
- 59- Pitt J.I. and A.D. Hocking.(1997) *Fungi and Food Spoilage*, 2nd edn. London: Blackie.
- 60- Van Walbeek W., Scott P.M., Harwig J., Lawrence J.W. 1969. *Penicillium veridicatum*. Westling: a new source of ochratoxin A. *Can J Microbiol*; **15**: 1281-1285.
- 61- Pitt J.I.. 1987. *Penicillium veridicatum*, *Penicillium verrucosum* and production of ochratoxin A. *Appl Environ Microbiol.* **53**: 266-269.
- 62- Abarca M.L., Bragulat M.R., Castella G., Cabanes F.J. 1994. Ochtratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. *Appl Environ Microbiol*; **60**: 2650-2652.
- 63- Varga K., Kevei E., Rinyu E., Tren J, Kozakiewicz Z. 1996. Ochtratoxin production by *Aspergillus* species. *Appl Environ Microbiol*; **62**: 4461-4464.
- 64- Heenan C.N., Shaw K.J., Pitt J.I.. 1998. Ochtratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* and A. *Niger* isolates and detection using coconut cream agar. *J Food Mycol*; **1**: 67-72.
- 65- Pitt J.I., Hocking A.D., Bhudhasamai K., Miscamble B.F., Wheeler K.A., Tanboon-Ek P. 1993. The normal mycoflora of commodities from Thailand. 1. Nuts and oilseeds. *Int J Food Microbiol*; **20**: 211-226.
- 66- Pitt J.I., Hocking A.D., Miscamble B.F. 1998 The mycoflora of food commodities from Indonesia. *J Food Mycol* **1**: 41- 60.

- 67- Höhler D. (1998). Ochratoxin A in food and feed: occurrence, legislation and mode of action. *Z Ernährungswiss* 37: 2-12.
- 68- Bezuidenhout S.C., Gelderblom W.C.A., Gorst-Allman C.P. (1988) Structure elucidation of fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *J Chem Soc Chem Commun*.743-745.
- 69- Marasas W.F.O., Kellerman T.S., Gelderblom W.C.A., Coetzer J.A.W., Thiel P.G., van der Lugt J.J. (1988). Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B₁ isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderspoort J Vet Res*. 55: 197- 203.
- 70- Riley R.T., Wang E, Schroeder J.J. (1996). Evidence for disruption of sphingolipid metabolism as a contributing factor in the toxicity and carcinogenicity of fumonisins. *Nat Toxins* 4: 3-15.
- 71- Gelderblom W.C.A. (1996).Hepatotoxicity and carcinogenicity of the fumonisins in rats.In Jackson KLS,De Vries JW, Bullerman LB (Eds). *Fumonisin in Food*. New York: Plenum, 251-264.
- 72- Smith, T.K. (1992). Recent advances in the understanding of thichothecene mycotoxicosis. *J.Animal Sci*. 70: 3989-3993.
- 73- Miller J.D., Trenholm H.I.. (1996) (Eds). *Mycotoxins in Grain*. St Paul, MN: Eagan.
- 74- Beardall JM, Miller JD. (1994). Diseases in humans with mycotoxins as possible causes. In: Miller JD, Trenholm HL (Eds) *Mycotoxins in Grain*. St Paul, MN: Eagan, 487- 540.
- 75- Yoshizawa T.(1983) Red-mold diseases and natural occurrence in Japan. In: Ueno Y. (Eds) *Trichothecenes Chemical, Biological and Toxicological Aspects*. Amsterdam: Elsevier.195-209.
- 76- Marasas W.F.O., Nelson P.E., Tousson T.A.. (1984). *Toxigenic Fusarium Species: Identity and Mycotoxicology*. University Park, PA: Pennsylvania State University Press.
- 77- Kuiper-Goodman T, Scott PM, Watanabe H. (1987).Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. *Regul Toxicol Pharmacol* 7: 253-306.