

Riesgos de Micotoxicosis que algunas Micotoxinas (Como Contaminantes de los Alimentos) Pueden Provocar en Humanos

FUENTE: engormix.com

Autor: Alberto Gimeno - María Ligia Martín

Alberto Gimeno: Consultor técnico de SPECIAL NUTRIENTS, INC., 1394 Coral Way, Miami, Florida, 33145 USA.

María Ligia Martins: Consultoría técnica en micología y micotoxicología alimentar.

Rua Augusto Costa, nº 14-6º Dto, 1500-064 Lisboa, Portugal

El presente artículo corresponde a una revisión y actualización del trabajo que con el título **“Análisis de riesgo de las más relevantes micotoxicosis en humanos”** fue presentado por los mismos autores en el **“I SYMPOSIUM PANAMERICANO DE MICOTOXINAS PARA LA INDUSTRIA”**, ABRIL 1-4, 2003, CIUDAD DE MEXICO y del capítulo correspondiente a micotoxicosis en humanos contenido en el manual (publicado por los mismos autores) **“Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos”** Special Nutrients, Inc. USA (Ed.). Talleres gráficos del SRL, Buenos Aires (Argentina). pp. 1-160.”

Resumen

Las micotoxinas Aflatoxina B1 (AFB1), Aflatoxina M1 (AFM1), Ocratoxina A (OTA), Fumonisina B1 (FB1), Vomitoxina o Deoxivalenol (DON) y Patulina contaminan frecuentemente los géneros alimenticios, (cereales y productos de cereales, cacahuetes, nueces, pistachos y otros frutos secos, carnes ahumadas, especias, vinos, café, frutas, zumos de frutas y otros). Algunas de ellas pueden ser encontradas como residuos en leche y derivados, carne y huevos. Las micotoxinas pueden causar efectos adversos en la salud humana, problemas tales como: hepatotóxicos, nefrotóxicos, neurotóxicos, gastroentéricos, cancerígenos e inmunosupresivos. El riesgo en humanos que representa la ingestión de géneros alimenticios contaminados con micotoxinas, puede ser evaluado relacionando la TDI (dosis tolerable de micotoxina ingerida diariamente), TD50 (dosis con la cual el 50% de los individuos pueden desarrollar tumores malignos) y la exposición de los humanos a esas micotoxinas, con los valores medios de consumo diario de algunos géneros alimenticios, con los niveles de micotoxinas en el alimento que es consumido y con el peso corporal. Sin embargo, otros factores, tales como, el estado fisiológico del individuo y la edad pueden aumentar o disminuir la toxicidad. De momento, la Unión Europea (UE) tiene legislación para las aflatoxinas, ocratoxina A y patulina. En otros países existen reglamentaciones o recomendaciones para esas micotoxinas, así como también para otras micotoxinas, mismo dentro de la UE. Los niveles de micotoxinas en el alimento pueden ser controlados utilizando métodos preventivos que eviten el crecimiento de hongos toxicogénicos o bien a través de sistemas de descontaminación, inactivación y detoxificación directamente en el alimento.

Palabras llave: Aflatoxinas, Ocratoxina A, Fumonisina, Vomitoxina, Patulina, Géneros alimenticios, Micotoxicosis Humana.

1.- Introducción

Micotoxicosis es el nombre que se da al grupo de enfermedades y trastornos originados en el hombre y los animales por unos metabolitos secundarios tóxicos denominados micotoxinas. Las micotoxinas son compuestos policetónicos resultantes de las reacciones de condensación que tienen lugar cuando en determinadas condiciones físicas, químicas y biológicas se interrumpe la reducción de los grupos cetónicos en la biosíntesis de los ácidos grasos realizada por los mohos. Estos ácidos grasos son metabolitos primarios utilizados por los mohos como fuente de energía. Las micotoxinas se suelen formar al final de la fase exponencial o al principio de la fase estacionaria del crecimiento del moho.

La contaminación de los géneros alimenticios con micotoxinas puede ser de una forma indirecta a través de los residuos de éstas en la carne, los huevos y la leche como consecuencia del consumo por parte del animal de alimentos compuestos contaminados, o bien una contaminación directa de los géneros alimenticios (cereales, productos de cereales, frutos secos, frutas, y otros) por la contaminación de éstos con mohos toxicogénicos que podrán producir micotoxinas.

Los principales factores que tienen influencia sobre la toxicidad de las micotoxinas en los humanos son: La biodisponibilidad y toxicidad de la micotoxina; Los sinergismos entre ellas; La cantidad de micotoxina ingerida diariamente en función de la concentración de micotoxina y de la cantidad de alimento ingerido; La continuidad o intermitencia de ingestión del alimento contaminado; El peso del individuo y el estado fisiológico y de salud de éste; La edad del individuo. Así pues, los niños y los jóvenes son más susceptibles a la toxicidad de las micotoxinas debido a una mayor variación del metabolismo basal, ellos pueden no tener suficientes mecanismos bioquímicos para la detoxificación. En los niños el cerebro continua su desarrollo durante muchos años después del nacimiento y esto puede causar una mayor susceptibilidad a las micotoxinas que afecten al sistema nervioso central (Kuiper-Goodman, 1994). La conjugación de todos los factores antes mencionados y que tienen influencia sobre la toxicidad de las micotoxinas hace que el análisis de riesgo respecto a los problemas de salud en humanos (hepatotóxicos, nefrotóxicos, neurotóxicos, gastroentéricos, cancerígenos e inmunosupresivos) que pueden ser causados por la ingestión de esos metabolitos tóxicos, sea complejo y la mayor parte de las veces difícil de entender y correlacionar (Smith et al., 1994). Por otro lado, la situación es aun más complicada ya que en la interpretación de los datos epidemiológicos que pueden estar relacionados con una micotoxina, debemos también tener en cuenta la posible influencia de otros factores de riesgo

como, el estado nutricional del individuo, las infecciones endémicas y la ingestión de otras sustancias tóxicas (Kuiper-Goodman, 1994).

Los estudios de toxicidad de las micotoxinas en humanos son normalmente realizados en animales de laboratorio. Para una evaluación completa es necesario los datos de toxicidad aguda, toxicidad a los 30-90 días del ensayo, cambios metabólicos, efectos reproductivos, teratogenicidad, mutagenicidad y toxicidad crónica o carcinogénica. Con los datos obtenidos se hacen interpolaciones y se establecen unos parámetros de los que citaremos los que se van a utilizar en este artículo, a saber: NOAEL (no observed adverse effect levels), es la estimación del nivel de micotoxina con el que no se observan efectos adversos. La TD50, es la dosis de micotoxina con la cual el 50% de los individuos pueden desarrollar tumores malignos, estableciéndose así una estimación del potencial cancerígeno. NEL (no effect level) es la estimación del nivel de micotoxina que no causa efecto y LOAEL (lowest observed adverse effect level) es el nivel de micotoxina con el cual se observan los efectos adversos más bajos. Finalmente existe un parámetro comúnmente utilizado que es la TDI (tolerable daily intake), o sea, la ingesta de micotoxina diaria que puede ser tolerada. Todos los parámetros anteriores vendrán expresados en, microgramos de micotoxina / Kg de peso corporal (p.c.) / día o bien en el caso de la TDI puede venir expresado en algunos casos en nanogramos (ng) de micotoxina/Kg de peso corporal (p.c.) /día. Normalmente el valor de TDI se suele obtener dividiendo el valor de NOAEL o el valor de NEL por un factor de seguridad que puede oscilar entre 50 y 50000 o bien haciendo lo mismo pero con el valor de TD50, todo esto depende del método de extrapolación utilizado, siendo este último más utilizado en las micotoxinas carcinogénicas. La TDI viene acompañada de un factor de riesgo que normalmente es 1/100000 (Kuiper-Goodman, 1990; Kuiper-Goodman, 1994). Cuando el valor de TDI está aún en estudio y por lo tanto es provisional se utiliza la denominación PTDI (provisional tolerable daily intake).

En este artículo trataremos específicamente de las micotoxinas Aflatoxina B1 (AFB1), Aflatoxina M1 (AFM1), Ocratoxina A (OTA), Fumonisin B1 (FB1), Vomitoxina o Deoxinivalenol (DON) y Patulina por ser estas unas de las que más comúnmente pueden afectar a la seguridad alimentaria y en términos relativos (a depender de la micotoxina), a la salud pública (Kuiper-Goodman, 1990; Kuiper-Goodman, 1994; JECFA, 2001; WHO, 2002; CAST, 2003). Casi todas ellas son inmunosupresivas ya que inhiben la síntesis proteica e interrumpen la síntesis de ADN y ARN, inhibiendo también la fagocitosis (Sharma, 1993).

2.- Micotoxinas y micotoxicosis

2.1.- Aflatoxinas

Las aflatoxinas son producidas por varias especies de *Aspergillus* esencialmente *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. La más tóxica es la aflatoxina B1 (AFB1), siguiendo después la aflatoxina M1 (AFM1) (derivado metabólico de la AFB1 y que se forma dentro del organismo animal pasando después a contaminar, por ejemplo, la leche), la aflatoxina G1 (AFG1), la aflatoxina B2 (AFB2) y la aflatoxina G2 (AFG2). Las aflatoxinas se pueden encontrar como contaminantes naturales en una variedad de géneros alimenticios tales como, cereales y productos de cereales, cacahuetes, nueces, almendras, pistachos, avellanas y otros frutos secos, coco, cacao, patatas dulces, manteca de cacahuete, lentejas, plátanos, quesos, vinos, especias, leche y derivados (esencialmente la AFM1) y otros géneros alimenticios.

Las aflatoxinas son cancerígenas, teratogénicas y mutagénicas, hepatotóxicas e inmunosupresivas, afectando al hígado riñón y cerebro.

2.1.1.- Relación entre la cantidad de AFB1 ingerida y la concentración de AFM1 excretada en la leche

La AFM1 se encuentra en la leche y consecuentemente se puede encontrar en los alimentos derivados de la leche. Los residuos de AFM1 en la leche se pueden ya encontrar a las 6 – 24 horas de que una vaca haya ingerido un alimento contaminado con AFB1. En vacas lecheras la relación entre la concentración de AFB1 (ppb, microgramos/Kg) en la ración final (racionamiento y/o unifeed) y la de AFM1 (ppb, microgramos/Litro) excretada en la leche podría ser de 300:1, sin embargo esta relación es muy aproximada ya que el rango oscila entre 34:1 a 1600:1 (Rodricks & Stoloff, 1977; Gimeno y Martins, 2000; Gimeno y Martins 2000a). Con una ingestión de AFB1 correspondiente a 2-60 miligramos(mg)/vaca/día, los residuos de AFM1 en la leche cruda pueden oscilar entre 1 a 50 microgramos/Litro (Edds, 1979). El nivel de residuos de AFM1/día (mg) en la leche cruda podría ser aproximadamente el 2,2% de la ingesta diaria de AFB1 (mg) con un CV (coeficiente de variación) entre 42 y 59%, dividiendo el resultado obtenido por el número de litros de leche producidos/vaca/día y multiplicando por 1000 nos daría la concentración (microgramos/Litro) de AFM1 en la leche cruda (Patterson et al, 1980; Van Egmond, 1989). Incluso se llega a establecer una ecuación: $y = 2,55 + 0,84x$ ($r^2 = 0,73$; $n = 43$) donde $x = \text{mg AFB1/vaca/día}$; $y = \text{microgramos AFM1/litro de leche}$ (calculando una media de 20 litros de leche/vaca/día) (Sieber y Blanc, 1978; Van Egmond, 1989).

La concentración de AFM1 en la leche variará según la raza de la vaca, la concentración de AFB1 en la ración, la cantidad y duración del consumo de alimento contaminado y el estado de salud del animal. Sin embargo, a todo esto debemos añadir que estas discordancias de correlación entre autores serán también debidas, entre otras cosas, al sistema metabólico de un animal poligástrico, lo que provoca que las concentraciones de AFM1 en la leche varíen entre animales, de un día para otro y de una producción de leche a la siguiente.

2.1.2.- Distribución de la AFM1 en algunos derivados lácteos

La distribución de la AFM1 en algunos alimentos elaborados con leche contaminada, es aproximadamente la siguiente: 40-60% en quesos, 10% en la nata y < 2% en la mantequilla.

Visto que la AFM1 es muy soluble en agua, no se comprende cómo la mayor parte va al queso y no al suero. La asociación de la AFM1 con la caseína, cuando ésta precipita puede ser una explicación razonable para ello (Yousef & Marth, 1989).

2.1.3.- TD50, TDI y NOAEL para AFM1 y AFB1

La AFM1 y la AFB1 tienen una TD50 de 10,38 y 1,15 microgramos /Kg p.c. (peso corporal)/día, respectivamente, lo que hace suponer que la AFM1 es aproximadamente nueve veces menos carcinogénica que la AFB1. La TDI para la AFB1 está comprendida entre 0,11 y 0,19 ng (nanogramos)/Kg p.c./día, con un factor de seguridad de 5000 y un nivel de riesgo de 1/100000. Los valores de NOAEL para la AFM1 y la AFB1 son, < 2,5 y 0,75 microgramos/Kg p.c./día, respectivamente (Kuiper-Goodman, 1990; Kuiper-Goodman, 1994). Si dividimos el valor de TD50 correspondiente a la AFM1 por el factor de seguridad 5000, podríamos atribuir hipotéticamente un valor de TDI para la AFM1 de 2 ng/Kg p.c./día, lo que representa, aproximadamente, diez veces más de tolerancia que la AFB1 comparado con el mayor valor de TDI para la AFB1 (Gimeno y Martins, 2003).

2.1.4.- La Legislación

La Unión Europea (UE) tiene legislación (Official Journal of the European Union, 2003; Micotoxinas, 2003) para estas micotoxinas en géneros alimenticios para consumo humano y actualmente los niveles máximos admisibles están establecidos en 0,05 microgramos/Kg (0,05 ppb) para AFM1 en leche (leche cruda, leche para la fabricación de productos lácteos y leche tratada térmicamente) y varían entre 2 a 8 microgramos/Kg para AFB1 y de 4 a 15 microgramos/Kg para AFB1+AFB2+AFG1+AFG2, dependiendo de los diferentes géneros alimenticios (cacahuets, frutos de cáscara, frutos secos y productos derivados de su transformación, cereales y productos derivados de su transformación) tanto si son utilizados para consumo humano directo o como para ingredientes de los productos alimenticios. La legislación también incluye en estos géneros alimenticios, aquellos que son sometidos a procesos de selección o bien a otros tratamientos físicos antes del consumo humano directo o como ingredientes de productos alimenticios y tiene en cuenta que esos procesos pueden reducir la concentración original de AFB1. Se especifica también que esas concentraciones máximas admisibles se refieren a la parte comestible, excluyendo pues la cáscara en los géneros alimenticios que la tienen. La legislación de la UE también establece niveles máximos permitidos de, 5 microgramos/Kg para AFB1 y de 10 microgramos/Kg para AFB1 + AFB2+ AFG1 + AFG2, en algunas especias. En el caso de alimentos infantiles y alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad y alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes, la concentración máxima permitida de AFB1 es de 0,10 microgramos/Kg (referido a materia seca cuando se trata de alimentos infantiles y alimentos elaborados a base de cereales). En el caso de preparados para lactantes, preparados de continuación (incluidas la leche para lactantes y la leche de continuación), y alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes, la concentración máxima permitida de AFM1 es de 0,025 microgramos/Kg (Official Journal of the European Union, 2004).

En otros países (Australia, Brasil, Holanda, Rumania, Suiza, USA) las concentraciones máximas admitidas para la AFM1 en la leche y productos lácteos varían entre 0,01 y 0,5 microgramos/Kg, dependiendo del país y del alimento lácteo. Es de destacar que en Suiza y Brasil, los alimentos lácteos para niños tiene un límite de contaminación con AFM1 de 0,01 microgramos/Kg y que en Australia y USA (Estados Unidos de América) la concentración máxima de AFM1 permitida en la leche es de 0,5 microgramos/Kg. No hay legislación para la AFM1 en quesos ni mantequilla, sin embargo Holanda tiene establecido un máximo de tolerancia de 0,2 y 0,02 microgramos/Kg, respectivamente. Algunos países como Austria y Suiza tienen un límite para quesos de 0,25 microgramos de AFM1/Kg (Smith *et al*, 1994; EHSO; FDA, 2000; CAST, 2003). La norma adoptada por USA para AFM1 en la leche, lo ha sido también por algunos países de la América Latina, entre ellos los que forman parte de MERCOSUR (Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay) (Micotoxinas on line). Vemos pues que en el caso de USA y otros países, el nivel de tolerancia para AFM1 en la leche es 10 veces superior al de la UE.

Para las otras aflatoxinas y en países como Australia, Canadá, Colombia, Hungría, India, Japón, México, Cuba, Tailandia y USA también hay niveles máximos de tolerancia que oscilan entre 5 y 30 microgramos/Kg para AFB1 y para la suma de las cuatro aflatoxinas, dependiendo del país y del alimento en cuestión (frutos de cáscara y productos de éstos, cacahuets, todos los géneros alimenticios), destacamos a la India con el nivel de tolerancia más alto (30 microgramos AFB1/Kg para todos los géneros alimenticios) y a México y USA con el nivel de tolerancia más alto para la suma de las cuatro aflatoxinas (20 microgramos/Kg en todos los géneros alimenticios) (Smith *et al*, 1994).

2.1.5.- Ocurrencia de AFM1 e ingestas

Respecto a las contaminaciones en géneros alimenticios encontradas en ciertos países, referimos que en lo que respecta a AFM1 y desde 1996, en algunos países de Europa (Francia, Italia, Alemania, Holanda, Portugal) los niveles oscilaban entre < 0,001 y 0,060 microgramos/Kg para leche líquida comercial; < 0,001 y 0,080 microgramos/Kg para leche en polvo; < 0,001 y 0,098 microgramos/Kg para yogures y < 0,005- 0,500 microgramos/Kg para quesos (COST, 2001; Gimeno y Martins, 2002).

Datos más amplios y referidos al consumo de leche indican que las medias de contaminación con AFM1 en la leche correspondiente a la dieta de Europa, América Latina, Extremo Oriente, Oriente Medio y África, son de: 0,023; 0,022; 0,36; 0,005 y 0,002 microgramos/Kg, respectivamente. Estas concentraciones medias estuvieron basadas en los resultados de análisis de 10778, 893, 1191, 231 y 15 muestras de leche procedentes de Europa, América Latina, Extremo Oriente, Oriente Medio y África, respectivamente. Con estos datos y las medias del consumo de leche, la ingesta de AFM1 se estimó en: 6,8; 3,5; 12; 0,7 y 0,1 ng/persona/día, en Europa, América Latina, Extremo Oriente,

Oriente Medio y África, respectivamente. Si consideráramos que toda la leche consumida tuviera una contaminación con AFM1 de 0,05 microgramos/Kg (nivel máximo permitido en la UE) o de 0,5 microgramos/Kg (nivel máximo permitido en USA), la ingesta de AFM1 en la dieta Europea sería de 15 y de 150 ng/persona/día, respectivamente (JECFA, 2001, WHO, 2002). Así pues, considerando jóvenes de 50 Kg de peso, la ingesta de AFM1/Kg p.c./día sería de 0,3 ng y de 3 ng para los dos niveles máximos indicados, respectivamente. El primer valor está por debajo de la TDI para AFM1 que hipotéticamente se consideró de 2 ng/Kg p.c./día, no siendo lo mismo para el segundo valor. Aplicando estos cálculos a bebés de 10 Kg de peso, la ingesta sería de 1,5 y de 15 ng/Kg p.c./día, para los dos niveles máximos permitidos como antes hemos referido, respectivamente. El primer valor continúa siendo inferior a la TDI mencionado no siendo así para el segundo valor. Si hacemos los cálculos de otra forma y consideramos un niño de 20 Kg p.c. que consumiera 0,5 litros de leche diarios contaminada con 0,05 ppb (microgramos/kg) o con 0,5 ppb (microgramos/Kg) de AFM1, la ingesta de micotoxina diaria sería de 1,25 o de 12,5 ng/Kg p.c./día, respectivamente. Siendo pues el primer valor inferior a la TDI ya referida a diferencia del segundo valor que la supera significativamente. El nivel máximo permitido en USA para AFM1, no es aceptado en la UE (Gimeno & Martins, 2003; Gimeno, 2004).

Sin embargo, debemos tener en cuenta que los valores de TDI están a depender del factor de seguridad que se aplica y que puede oscilar entre 50 y 50000 (recordemos que una de las formas de obtener la TDI cuando se trata de micotoxinas carcinogénicas, es la de dividir la TD50 por el factor de seguridad, y que depende del método o criterio de extrapolación utilizado) (Kuiper-Goodman, 1990; Kuiper-Goodman, 1994; Gimeno & Martins, 2000; Gimeno & Martins, 2003). Como este factor aparece como denominador, es evidente que cuanto más alto sea, más bajo será el valor de TDI y por lo tanto más riguroso y más seguro; y viceversa cuanto más bajo sea, más alto será el valor de TDI y por lo tanto menos riguroso y menos seguro.

2.1.6.- Ocurrencia de AFB1 e ingestas

La variación de niveles de contaminación con AFB1 encontrados últimamente en diferentes países es muy grande y esta sujeta al tipo de alimento en cuestión, al país y a la disponibilidad de los datos publicados, pudiendo oscilar entre 0,05 y 789 microgramos/Kg para AFB1 y entre 0,05 y 1870 microgramos/Kg para la suma de las cuatro aflatoxinas en cacahuetes, pistacho y otros frutos secos, especias y otros géneros alimenticios (COST, 2001; Martins *et al.*, 2001). El FDA (Food and Drug Administration) estima que la ingesta de AFB1 a través de los géneros alimenticios esta en 2,73 ng/Kg p.c./día en USA y de 3,5 a 22,4 ng/Kg p.c./día en Tailandia y el Este de África. Niveles de 500 microgramos de AFB1/Kg han sido encontrados en hígado y otros tejidos de individuos de Europa y América del Norte (Smith *et al.*, 1994). Considerando el valor máximo de TDI para AFB1 de 0,19 ng/Kg p.c./día, anteriormente referido, estos valores están muy por encima de ese valor y por debajo del valor de NOAEL también referido anteriormente y que es de 750 ng/Kg p.c./día (0,75 microgramos/Kg p.c./día).

Si consideramos la concentración máxima más baja de AFB1 (2 microgramos/Kg) permitida por la UE en géneros alimenticios tales como cereales y ciertos frutos secos y tenemos en cuenta el valor anterior de TDI de 0,19 ng/Kg p.c./día, un joven de 50 Kg de peso corporal podría ingerir 9,5 ng AFB1/día, por lo tanto la ingesta máxima diaria de alimento uniformemente contaminado con 2 microgramos de AFB1/Kg no podría ser superior a 5 g, aproximadamente. Sin embargo debemos considerar que estamos ha calcular todo esto con un valor de TDI que es aproximadamente, 4000 veces inferior al valor de NOAEL.

2.1.7.- Micotoxicosis (aflatoxinas M1 y B1)

Aunque se presume que la AFM1 induce el cáncer de hígado en roedores por medio de un mecanismo semejante al de la AFB1, no existen estudios epidemiológicos adecuados que relacionen la dosis-respuesta entre la ingesta de AFM1, la exposición a la hepatitis vírica B o C y el cáncer de hígado. Los riesgos adicionales para la predicción del cáncer de hígado utilizando niveles de AFM1 comparativos de 0,05 microgramos/Kg (nivel máximo permitido por la UE) y 0,5 microgramos/Kg (nivel máximo permitido en USA y otros países) son muy pequeños. En una población como USA y Europa Occidental donde la prevalencia de hepatitis vírica B es de 1%, la prevalencia adicional de casos de cáncer de hígado asociados con la contaminación de la leche con 0,5 microgramos/Kg "versus" 0,05 microgramos/Kg sería de 29/1000 millones de individuos/año (JECFA, 2001; WHO, 2002). A todo esto, continúa el tema en debate entre la Union Europea y los países que defienden que el límite máximo de contaminación de la leche con AFM1 sea de 0,5 microgramos/Kg en lugar de 0,05 microgramos/Kg (CCFAC, 1999; CCFAC, 2000; CCFAC, 2001; CODEX, 2002).

Respecto a las otras aflatoxinas esencialmente la AFB1, los problemas hepatotóxicos con significativas incidencias de cáncer de hígado se remontan al año 1971 y anteriores con aflatoxicosis agudas en la India, África y Tailandia provocadas por el consumo de géneros alimenticios, esencialmente, maíz, mandioca, arroz, cacahuetes, patatas dulces y plátanos, contaminados con AFB1 en contaminaciones que podían oscilar entre 10 y 144000 microgramos/Kg. El síndrome de Reye caracterizado por una asociación anatomopatológica de un edema agudo cerebral con una degeneración grasa del hígado en niños, fue atribuido también al consumo de géneros alimenticios contaminados con AFB1, sin embargo la etiología de este síndrome es muy problemática y su relación directa con la AFB1 no está suficientemente esclarecido. En cuanto a la aflatoxicosis crónica, muchos son los estudios efectuados esencialmente en Tailandia, China y África, llegándose a la conclusión de que se tienen suficientes evidencias como para considerar a la AFB1 como uno de los factores de riesgo responsable por los problemas carcinogénicos (Gimeno y Martins 1987; Smith *et al.*, 1994; CAST, 2003).

2.2.- Ocratoxina A

La Ocratoxina A (OTA) es producida por varias especies de *Aspergillus* esencialmente el *Aspergillus ochraceus*. La OTA se puede encontrar como contaminante natural en cereales y productos de cereales, semillas de cacao, legumbres, quesos, cacahuetes, granos de café crudo y tostado, carne ahumadas (jamón, tocino, embutidos), vinos, cerveza y

otros géneros alimenticios.

El principal síndrome que provoca es el nefrotóxico. Es inmunosupresiva y afecta al riñón y al hígado.

2.2.1.- TDI y PTDI para Ocratoxina A

La TDI para OTA no está aún suficientemente bien establecida. Basados en estudios carcinogénicos el rango de TDI oscila entre 1,5 y 5,7 ng/Kg p.c./día con unos factores de seguridad de 50000 y 5000, respectivamente y un factor de riesgo de 1/100000. El valor de TDI correspondiente a 5,7 lo obtuvieron dividiendo el valor de NEL por 5000 y el valor de TDI = 1,5 fue obtenido dividiendo el valor de TD50 por 50000.

Canadá propone una TDI de 4 ng/Kg p.c./día a diferencia de los Países Nórdicos que la proponen de 5 ng/Kg p.c./día. La FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives, proponen también valores de TDI provisionales (PTDI) entre 10 y 16 ng/Kg p.c./día con un factor de seguridad de 500 y basados en estudios efectuados en cerdos con respecto a las alteraciones de la función renal. El valor más elevado de TDI corresponde al valor de LOAEL dividido por 500. Es evidente que este rango de PTDI tan amplio y que va de 1,5 a 16 ng/Kg p.c./día, está motivado por el efecto tóxico en que se basan los estudios, los diferentes métodos de extrapolación y los diferentes factores de seguridad que se aplican. Es necesario un mayor número de estudios al respecto. Probablemente la tendencia es la de establecer un valor de TDI igual o inferior a 5 ng/Kg p.c./día basándose en los estudios carcinogénicos, sin embargo no hay aún suficientes evidencias de que la OTA sea carcinogénica para los humanos, si las hay para los animales (Kuiper-Goodman, 1994; JECFA, 1995; Smith et al, 1994; JECFA, 2001; WHO, 2002).

2.2.2.- La legislación

La UE tiene legislación (Official Journal of the European Communities, 2002; Micotoxinas, 2003) para la OTA en géneros alimenticios de consumo humano y los niveles máximos admitidos están establecidos en 5 y 3 microgramos/Kg para cereales en grano sin transformar y para productos derivados de cereales, respectivamente. En estos últimos se incluyen los productos transformados a base de cereales y los cereales en grano para consumo directo. Con respecto a las uvas pasas el contenido máximo admitido está en 10 microgramos/Kg. En el caso de alimentos infantiles y alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad y alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes, la concentración máxima permitida de OTA es de 0,50 microgramos/Kg (referido a materia seca cuando se trata de alimentos infantiles y alimentos elaborados a base de cereales)(Official Journal of the European Union, 2004).

En otros países como Hungría y Rumania los niveles máximos admitidos son de 20 y 5 microgramos/Kg, respectivamente, para todos los géneros alimenticios. En Brasil se admite un máximo de 50 microgramos/Kg en cereales y en Grecia un máximo de 20 microgramos/Kg para cafés. En Dinamarca existen máximos admisibles para vísceras y canal de cerdo que oscilan entre 10 y 25 microgramos OTA/Kg (Smith *et al.*, 1994).

2.2.3.- Ocurrencia de Ocratoxina A e ingestas

La información sobre el rango de niveles de contaminación encontrados en los géneros alimenticios es muy amplia y esta a depender esencialmente del tipo de alimento, del área geográfica y de los datos publicados que están disponibles, así pues en cereales tenemos contaminaciones que van desde 10 a 2400 microgramos/Kg; en cafés tostados, de 0,2 a 1,7 microgramos/Kg; en granos de café crudo, de 0,4 a 23 microgramos/Kg; en vinos tenemos rangos de contaminación entre 1 a 7,63 microgramos/Kg, las mayores contaminaciones se encuentran en el vino tinto. Los análisis de OTA efectuados en riñón de cerdo y en fluidos biológicos de humanos dieron rangos de contaminación que fueron de 0,1 a 240 microgramos/Kg y de 0,05 a 14,4 microgramos/Kg, respectivamente (Smith *et al.*, 1994; Leoni *et al.*, 2000; Otteneder y Majerus, 2000; COST, 2001; Pietri *et al.*, 2001).

La incidencia de OTA se da frecuentemente en la dieta de los países de Europa, los estudios efectuados dan una media de ingestión de OTA de 6,42 ng/Kg p.c./día considerando un peso medio corporal de 60 Kg. Los cereales y el vino contribuyen, aproximadamente, en 3,57 y 1,43 ng OTA/Kg p.c./día (55 y 22%), respectivamente. Otros géneros alimenticios como el zumo de uva y el café contribuyen en 0,29 y 0,43 ng OTA/Kg p.c./día (4,51 y 6,7%), respectivamente y todo un conjunto de géneros alimenticios como los frutos secos, cerveza, té, leche, cacao, legumbres y otros contribuyen en menos de 0,14 ng OTA/Kg p.c./día (2,18%). El consumo de tejidos comestibles de cerdo contribuye en 0,21 ng OTA/Kg p.c./día (3,27%).

En vista de esas contribuciones, el riesgo para los individuos que consumen grandes cantidades de cereales es mayor. Estudios efectuados revelan que esos individuos pueden tener ingestiones de OTA de 13,14 ng/Kg p.c./día (JECFA, 2001; WHO, 2002).

Si tenemos en cuenta los estudios efectuados en cuanto a problemas cancerígenos y tomamos el valor de TDI de 5,7 ng/Kg p.c./día, la media de ingestión de OTA en la dieta Europea estaría en un 112% la TDI. Sin embargo si tomamos el criterio de alteraciones en la función renal y unos de los valores anteriores de TDI, por ejemplo, 16 ng/Kg p.c./día, esta media de ingestión sería de un 40% la TDI. A todo esto y teniendo en cuenta la concentración máxima admisible de OTA en cereales y productos de cereales establecida por la UE de 5 microgramos/Kg, un individuo de 60 Kg de peso tendría un límite de ingestión de OTA de 324 ng/día (TDI = 5,7 ng/Kg p.c./día) o de 960 ng/día (TDI = 16ng/Kg p.c./día) lo que representaría una ingestión máxima diaria permisible de 68,5 o de 192 g de cereal contaminado uniformemente con 5 microgramos OTA/Kg, respectivamente. Sin embargo debemos tener en cuenta que estamos considerando valores de TDI que son 5000 y 500 veces más bajos que los valores de NOAEL y LOAEL, respectivamente. Si aplicáramos todo esto a los niños, los límites de ingestión serían aun más bajos, visto la rigurosidad que impone la legislación en lo que se refiere a la concentración máxima de OTA (0,50 microgramos/Kg) permitida (Official Journal of the European Union, 2004).

2.2.4.- Micotoxicosis

Los primeros problemas con OTA en humanos datan del año 1956 con el apareamiento de una grave nefropatía endémica en la región de los Balcanes (Bulgaria, Rumania, Yugoslavia) atribuida al consumo de carnes ahumadas que estaban contaminadas con OTA en concentraciones comprendidas entre 10 y 920 microgramos/Kg. Parece ser que la mayor fuente de contaminación fue las condiciones insalubres con falta de higiene en el almacenamiento de estas carnes ahumadas. El análisis de OTA en el suero de individuos afectados dio niveles comprendidos entre 1 a 40 microgramos/Kg. Estudios epidemiológicos revelan que aproximadamente la mitad de la población de Europa está expuesta a la OTA. Sin embargo la relación directa de las nefropatías con la exposición a la OTA no está aún suficientemente esclarecida ya que en Alemania, Francia, Italia, Dinamarca, Suecia, Checoslovaquia, Polonia y Canadá han sido encontrados niveles de OTA comprendidos entre 0,1 y 14,4 microgramos/L en sangre y leche materna de personas saludables. La presencia de OTA en fluidos biológicos se considera más como una evaluación indirecta de la exposición a esta micotoxina. En algunos países de África, el 95% de los individuos que sufren de problemas de nefropatía son OTA positivos con concentraciones en sangre del orden de 90 microgramos/L y la prevalencia de ocratoxicosis se considera en un 55 a 80% superior a la de Europa (Gimeno y Martins, 1987; Smith *et al.*, 1994; CAST, 2003)

2.3.- Fumonisinas

Las fumonisinas son producidas por varias especies de *Fusarium*, esencialmente por el *Fusarium moniliforme*. Las más tóxicas son la fumonisina B1 (FB1) y la fumonisina B2 (FB2). Las fumonisinas pueden ser encontradas esencialmente en cereales y productos de cereales. Los principales síndromes que pueden provocar son: neurotóxicos (leucoencefalomielia), nefrotóxicos, hepatotóxicos, edema pulmonar y cerebral, lesiones cardíacas y cáncer de esófago. Los órganos afectados son: cerebro, pulmón, hígado, riñón y corazón.

2.3.1.- PTDI y NOAEL para Fumonisinas

La PTDI (TDI provisional) para FB1, FB2 y FB3, solas o en combinación es de 2 microgramos/Kg p.c./día. Este valor está obtenido dividiendo el valor de NOAEL de 200 microgramos/Kg p.c./día por el factor de seguridad de 100 (JECFA, 2001; WHO, 2002).

2.3.2.- La Legislación

La UE no tiene legislación para fumonisinas y el FDA aconseja niveles máximos de contaminación con fumonisinas (FB1+FB2+FB3), de 2000 microgramos/Kg para productos del maíz desgerminados; de 4000 microgramos/Kg para productos del maíz parcialmente desgerminados, salvado de maíz y maíz limpio destinado a la producción de pastas y de 3000 microgramos/Kg para maíz limpio destinado a la producción de palomitas de maíz.

En Suiza la concentración máxima admisible que fue propuesta para fumonisinas (FB1+FB2) fue de 1000 microgramos/Kg en productos del maíz (Zoller *et al.*, 1994; FDA, 2000a; CAST, 2003.).

2.3.3.- Ocurrencia de Fumonisinas e ingestas

La mayor incidencia de contaminación con FB1 y FB2 ocurre en el maíz y los productos del maíz (pan de maíz extrusionado, palomitas de maíz, copos de maíz, harina de maíz, pasta de maíz, polenta y otros productos del maíz), el rango de contaminación encontrado es muy amplio y puede oscilar entre 0,15 y 7900 microgramos/Kg para FB1 y entre 0,10 y 2250 microgramos/Kg para FB2. En maíces enmohecidos que fueron utilizados para la elaboración de la cerveza fueron encontrados niveles de FB1 comprendidos entre 110 y 117520 microgramos/Kg (media de 53740 microgramos/Kg) para FB1 y de 0 a 22960 microgramos/Kg (media de 13680 microgramos/Kg) para FB2 (COST, 2001, Marasas, 1995).

Los estudios estadísticos efectuados revelan que los valores medios de ingesta de FB1 a nivel internacional son: Europa, 0,2 microgramos/Kg p.c./día; América Latina, 1,0 microgramos/Kg p.c./día; África, 2,4 microgramos/Kg p.c./día; Oriente Medio, 1,1 microgramos/Kg p.c./día, Extremo Oriente, 0,7 microgramos/Kg p.c./día; Canadá, 0,02 microgramos y USA, 0,08 microgramos/Kg p.c./día. Destacamos que en el Reino Unido (UK) y Suiza la ingesta media es de 0,03 microgramos/Kg p.c./día y en Holanda es de 0,06 y 1 microgramos/Kg p.c./día, para el total de la población y para los consumidores regulares de maíz, respectivamente. Si tenemos en cuenta la PTDI anteriormente mencionada para FB1 de 2 microgramos/Kg p.c./día, vemos claramente que todos estos consumos medios respecto a todos estos países menos África, están por debajo de ese valor, mismo cuando la ingesta de FB1 debe ser incrementada en un 40% si tenemos en cuenta la presencia de las fumonisinas FB2 y FB3 (JECFA, 2001; WHO, 2002).

2.3.4.- Micotoxicosis

El mecanismo de acción de las fumonisinas consiste esencialmente en la inhibición de la síntesis de los esfingolipidos (lipoproteínas tales como esfinganina y esfingosina), éstos controlan la comunicación entre células. Actualmente, no hay una evidencia directa para afirmar que las fumonisinas causen problemas de salud en los humanos. A pesar de esto los problemas de cáncer de esófago y de estomago han sido asociados al consumo frecuente de géneros alimenticios contaminados con fumonisinas, esencialmente los productos del maíz en países tales como Sudáfrica, China, Italia y a los problemas de síntomas gastrointestinales adversos como diarreas y espasmos dolorosos en la India por consumos de sorgo y maíz enmohecidos y contaminados con altos niveles de fumonisinas. Sin embargo, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) concluye que los estudios y datos cuantitativos disponibles no son significativamente conclusivos y son insuficientes para evidenciar que las fumonisinas ingeridas por vía oral sean carcinogénicas para los humanos y así pues son consideradas como "posibles carcinogénicas" (IARC, 1993; EC, 2000; FDA, 2000a; CAST, 2003).

2.4.-Vomitoxina o deoxinivalenol

La vomitoxina o deoxinivalenol (DON) forma parte de la familia de las micotoxinas tricotecenas. Es producida por varias especies de *Fusarium*, en especial por el *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*) y el *Fusarium culmorum*. Se puede encontrar como contaminante natural en los cereales y productos de cereales. El principal síndrome que provoca es el gastroentérico. La vomitoxina tiene una potente actividad inmunosupresiva. El principal órgano afectado es el aparato digestivo. La vomitoxina reduce también el crecimiento en niños.

2.4.1.- TDI, PTDI, NOAEL para Vomitoxina o deoxinivalenol

La TDI para DON varía entre 0,04 y 0,375 microgramos/Kg p.c./día dependiendo de la dirección que se da a los estudios realizados en el efecto crítico de esta micotoxina. Actualmente se ha decidido establecer la TDI con respecto al efecto crítico producido en la reducción del crecimiento en ratones durante un periodo de 2 años y así se establece un valor de NOAEL de 100 microgramos/Kg p.c./día que dividido por el factor de seguridad de 100 nos da una TDI provisional (PTDI) de 1 microgramos/Kg p.c./día (Iverson *et al.*, 1995; EC, 1999; Pieters *et al.*, 1999).

2.4.2.- La legislación

La UE no tiene legislación para DON. En 1999 y en Holanda, se propusieron límites de concentración máxima para esta micotoxina que van desde 120 microgramos/Kg para trigo limpio; 60 microgramos/Kg para pan y 120 microgramos/Kg para géneros alimenticios con contenido de trigo superior a 33%. Para los géneros alimenticios con contenido de trigo inferior a 33% se sugiere controlar el trigo limpio utilizado como ingrediente y aplicar el criterio establecido para éste (Pieters *et al.*, 1999).

2.4.3.- Ocurrencia de Vomitoxina o deoxinivalenol e ingestas

La mayor incidencia de contaminación ocurre en los cereales (esencialmente trigo, maíz y cebada) y productos de cereales (pan, galletas, bizcochos, pastas, cereales de desayuno, croissant y otros). El rango de contaminación puede oscilar entre 1 a 5700 microgramos/Kg para el trigo; de 3 a 3700 microgramos/Kg para el maíz; de 4 a 9000 microgramos/Kg para la cebada; de 4 a 760 microgramos/Kg para la avena; de 6 a 5100 microgramos/Kg para el arroz y de 13 a 240 microgramos/Kg para el centeno. En cereales de desayuno a base de trigo se tienen encontrados niveles de contaminación que fueron desde 103 a 6040 microgramos/Kg con una media de 754 microgramos/Kg (COST, 2001; Martins y Martins, 2001; JECFA, 2001; WHO, 2002).

La ingesta de DON en las dietas de África y Oriente medio se estimó en 0,77 y 2,4 microgramos/Kg p.c./día, respectivamente. No tenemos datos sobre las medias de ingestión de DON en las dietas de Europa, América Latina y Extremo Oriente. Sin embargo, los consumos mayores de trigo (64 a 88% del total de la dieta) se dan en Europa, América Latina y Oriente Medio mientras que en África y Extremo Oriente hay mayor variedad de consumo de cereales, trigo, arroz y maíz, trigo y arroz, respectivamente (JECFA, 2001; WHO, 2002).

En Holanda hay una gran preocupación por las ingestiones de DON, ellos consideran que los niños de 1 a 4 años (media de peso corporal = 10 Kg) de edad corren un gran riesgo con la ingestión de esta micotoxina visto que calculan consumos de trigo del orden de 4,5 a 8,5 g/Kg p.c./día. El rápido crecimiento de los niños puede ser reducido por uno de los efectos adversos del DON.

Los holandeses se basan en una dieta para niños y niñas a base de pan y productos del trigo con más de 33% de trigo. Ellos consideran que niños y niñas de 1 a 4 años de edad con un peso medio de 10 Kg pueden ingerir diariamente una media de 51 g de pan + 72 g de productos del trigo y de 46 g de pan + 46 g de productos de trigo, respectivamente. A partir de estos datos hacen la suposición de que ese pan y esos productos de trigo estuvieran contaminados uniformemente con las concentraciones de DON máximas permitidas que ellos proponen y ya mencionadas de 60 microgramos/Kg para pan y de 120 microgramos/Kg para esos productos de trigo. El cálculo nos daría una ingesta diaria total de DON para los niños de 11,7 microgramos y de 8,3 microgramos para las niñas. Si dividimos esto por 10 (peso corporal medio de esos niños) nos dará la ingesta diaria por Kg de peso corporal (Pieters *et al.*, 1999) y si comparamos con la TDI para DON antes referida de 1 microgramo/Kg p.c./día, llegamos a la conclusión que los niños ingerirían en estas condiciones un 117% de la TDI y las niñas un 83% de la TDI. Es evidente que a partir de esas contaminaciones y cuanto más elevadas sean, mayor será el riesgo para esos niños y niñas.

Con las concentraciones máximas permitidas de DON y que fueron propuestas por Holanda en 1999, no es de esperar que se produzcan efectos adversos en la salud de los niños ni en la de la población en general. Esas concentraciones límite fueron calculadas considerando que los niños estuvieran ha consumir la cantidad más alta de trigo, o sea, 8,5 g/Kg p.c./día. Si asumiéramos que el consumo de trigo fuera de 4,5 g/Kg p.c./día, que es la cantidad más baja, las concentraciones de DON máximas tolerables podrían ser dos veces más grandes que las anteriormente referidas.

Teniendo en cuenta que el efecto adverso consistente en el atraso del crecimiento es un efecto reversible, podríamos dar como temporalmente aceptable que esos límites de concentración de micotoxina fueran el doble de los anteriores (Pieters *et al.*, 1999). Sin embargo, esos valores son significativamente más bajos que las concentraciones máximas de DON de 2000 y 1000 microgramos/Kg, establecidas en Estados Unidos de América y Canadá, respectivamente, para trigo y productos a base de trigo para consumo humano (FAO, 1997)

2.4.4.- Micotoxicosis

En Asia (entre 1961 y 1985) hubo casos agudos de trastornos gastrointestinales con náuseas, vómitos, diarrea con sangre, mareos dolor de cabeza y fiebre que fueron relacionados con el consumo de cereales para humanos contaminados con 3000 a 93000 microgramos DON/Kg. Los síntomas aparecieron a los 5-30 minutos del consumo de los géneros alimenticios contaminados y afectaron a un total de 7818 personas, no hubo muertes. Problemas semejantes a los expuestos anteriormente, ocurrieron en India en 1987 y afectaron a 50000 personas (150 familias), estos problemas fueron relacionados con el consumo de pan elaborado con trigo enmohecido y contaminado con 340 a 8400 microgramos DON/Kg. En los análisis fueron encontradas también otras micotoxinas tricotecenas como acetildeoxinivalenol (600 a 2400 microgramos/Kg), nivalenol (30 a 100 microgramos/Kg) y toxina T-2 (550 a 4000 microgramos/Kg). Es evidente que esas otras micotoxinas que pueden a veces estar asociadas a DON, agravaron los problemas anteriores (Kuiper-Goodman, 1994; JECFA, 2001). Recordemos finalmente, los problemas antes referidos sobre la reducción del crecimiento en niños y que puede ser provocado por la vomitoxina o deoxinivalenol.

2.5.- Patulina

La patulina es una micotoxina producida por varias especies de *Penicillium* principalmente el *Penicillium expansum*, especies de *Aspergillus* y *Byssochyllum* pueden también producir patulina. Se puede encontrar como contaminante natural en manzanas, peras, albaricoques, melocotones, uvas y otras frutas con zonas empodrecidas, zumos y compotas de fruta y quesos. El principal síndrome que provoca es el neurotóxico afectando al sistema nervioso, puede haber también hepatotóxicosis y nefrotóxicosis así como carcinomas. Se han dado casos de náuseas y vómitos. Es inmunosupresiva.

2.5.1.- NOAEL y PTDI para Patulina

El valor de NOAEL para patulina se deriva de los estudios efectuados durante 109 semanas con diferentes dosis de patulina (0,0; 100; 500 y 1500 microgramos/Kg p.c.) administradas a ratones machos y hembras, tres días por semana y por vía de intubación gástrica. La concentración más alta causó en ambos sexos una elevada mortalidad. Con la dosis de 100 microgramos/Kg p.c. no se notaron efectos adversos, esto corresponde a 300 microgramos/Kg p.c./semana lo que da 43 microgramos/Kg p.c./día y que fue el valor de NOAEL atribuido. Si este valor se divide por 100 como factor de seguridad tenemos la TDI provisional (PTDI) = 0,43 microgramos/Kg p.c./día (FDA, 2000b).

2.5.2.- La legislación

La UE tiene legislación para patulina (Official Journal of the European Union, 2003a) y los niveles de contaminación máximos permitidos varían entre 10 a 50 microgramos/Kg y están circunscritos a los zumos de frutas, concentrados de zumos de frutas, compotas y otros productos derivados de la manzana, el nivel más bajo de contaminación permitido correspondiente a 10 microgramos/Kg está referido a los alimentos antes indicados y que están destinados a los niños. Algunos países como Austria, Noruega y Suiza establecen una concentración máxima de tolerancia para esta micotoxina del orden de 50 microgramos/Litro en zumo de manzana. Otros como Polonia la establecen en 20 microgramos/Litro (Smith *et al.*, 1994).

2.5.3.- Ocurrencia de Patulina

Se han encontrado contaminaciones con patulina en zumos de fruta del orden de 2 a 60 microgramos/Litro, de 460 a 1450 microgramos/Litro en concentrados de zumo de manzana y de 5 a 960 microgramos/Litro en zumos de manzana. En manzanas y peras enmohecidas se han llegado a encontrar contaminaciones con patulina del orden de 972 a 25760 microgramos/Kg y 372 a 20634 microgramos/Kg, respectivamente. Destacamos que la mayoría de esas contaminaciones en peras y manzanas iban acompañadas de la micotoxina nefrotóxica denominada citrinina, en concentraciones del orden de 11,84 a 29,44 microgramos/Kg en las manzanas y de 51,6 a 139,8 microgramos/Kg en las peras (COST, 2001; Martins *et al.*, 2002)

2.5.4.- Micotoxicosis

Los datos sobre la toxicidad de la patulina son escasos, no hay datos epidemiológicos y tampoco hay datos conclusivos de que esta micotoxina sea cancerígena para los humanos. Se considera que la exposición a la patulina representa más riesgo para niños de 2 a 5 años de edad con un peso corporal medio de 20 Kg por consumir una media de 350 ml de zumo de manzana/semana a diferencia del consumo medio atribuido a los adultos de 430 ml de zumo de manzana/semana con un peso corporal medio de 60 Kg. Otros estudios atribuyen consumos de 216 ml de zumo de manzana/día a niños de 1 a 2 años de edad con un peso corporal medio de 12 Kg y de 200 ml/día para personas de 64 Kg de peso. Considerando que el zumo de manzana estuviera contaminado uniformemente con 10 microgramos de patulina/Kg (nivel máximo permitido en la UE para niños) y teniendo en cuenta los últimos datos de consumo diario de zumo de manzana, tendríamos que para los niños de 1 a 2 años de edad la ingesta de patulina sería de 0,18 microgramos/Kg p.c./día (valor inferior a la PTDI) y para los adultos sería de 0,16 microgramos/Kg p.c./día (valor inferior a la PTDI) si consideramos que el zumo de manzana estuviera contaminado uniformemente con 50 microgramos/Kg (nivel máximo permitido en la UE para jóvenes y adultos). Los efectos adversos gastrointestinales, inmunotóxicos y neurotóxicos producidos por esta micotoxina en las pruebas efectuadas en roedores no se han podido de momento extrapolar a los humanos. Los estudios realizados acerca de la inmunotoxicidad han sido asociados a la ingestión de cantidades de patulina que son substancialmente más elevadas que aquellas a las que normalmente están expuestas los humanos (Smith *et al.*, 1994; FDA, 2000).

3.- Prevención, Descontaminación, Inactivación y Detoxificación

La mejor prevención empieza en el campo donde son cultivados muchos de estos alimentos base como por ejemplo los cereales y es allí donde empieza uno de los focos de contaminación. El estudio de cereales genéticamente modificados o variedades resistentes al crecimiento y proliferación de ciertos mohos toxicogénicos y al ataque de insectos es cada vez mayor, sin embargo los otros estudios efectuados sobre los posibles efectos adversos en la salud humana con el consumo de estos cereales dificulta todas estas prevenciones al respecto, continuando pues con el uso de fungistáticos e insecticidas adecuados y debiendo cuidar en estos últimos de que los niveles de residuos estén dentro de las concentraciones no nocivas y permitidas

Es evidente que el control, exigencia y rugosidad en la calidad de las materias primas en el momento de la compra y uso de éstas sin contaminación detectable para la elaboración tanto de los alimentos compuestos para animales como de los géneros alimenticios para humanos, es el primer paso ha tener en consideración en la eliminación o reducción de las micotoxicosis. Sin embargo otros factores como son la higiene constante y la desinfección periódica en el almacenamiento de materias primas y en las plantas de fabricación donde son elaborados los géneros alimenticios, así como el control del producto acabado, deben ser tenidos en cuenta y puestos en práctica a fin de continuar con los objetivos de prevención de riesgos anteriormente referidos.

Se han estudiado métodos físicos, químicos, biológicos y otros, para la prevención, descontaminación, inactivación e detoxificación de las micotoxinas, algunos de ellos solo a nivel de planta piloto o laboratorial y otros que son impracticables o bien por su elevado costo, o por la falta de suficiente efectividad, o bien porque mismo siendo económicos y efectivos, éstos dejan residuos en el alimento que después por otro lado pueden ser perjudiciales a la salud.

En general, esos métodos deben ser sistemas que estén preparados para el tratamiento de grandes cantidades de alimento, su aplicación debe ser capaz de conseguir la inactivación e/o detoxificación de concentraciones elevadas de micotoxina, en estos métodos se debe tener en cuenta que a veces la micotoxina puede estar protegida dentro del alimento por estar unida a estructuras proteicas o bien a otros constituyentes, estos métodos deben tener en cuenta en su forma de aplicación, que la micotoxina, debido a las zonas de microflora, no esta uniformemente repartida en la masa alimentar. Estos métodos deben ser eficaces, baratos y no deben modificar significativamente los valores nutritivos del alimento, el tratamiento no debe dejar residuos que después puedan ser adversos para la salud animal y humana.

Citaremos de una forma breve en este artículo los métodos que pueden ser aplicables para fines de prevención, de descontaminación, de detoxificación y de inactivación más o menos con una significativa efectividad. Algunos de ellos son comunes tanto para la elaboración de alimentos compuestos para alimentación animal como para la elaboración de los géneros alimenticios para humanos.

3.1.- Métodos físicos

En cuanto a métodos físicos diremos que en la fabricación de alimentos compuestos para animales, la conservación de las materias primas con un control adecuado de humedad (no superior a 12%), actividad de agua, aw (inferior a 0,70), temperatura (20-22°C), tratamiento de las materias primas en los silos con corrientes de aire frío y seco, tratamientos con corrientes de anhídrido carbónico y la limpieza y desinfección de los circuitos de fabricación, ayudan a evitar el crecimiento de especies de mohos toxicogénicos y la posible producción de micotoxinas. El problema se origina cuando esas materias primas ya vienen contaminadas con micotoxinas antes del almacenamiento.

Los métodos de selección de granos de cereales, los descascados y posterior separación mecánica de la cáscara y el polvo del resto del cereal, resultan adecuados para una detoxificación visto que habitualmente la mayor concentración de micotoxinas ocurre en el pericarpio de los granos y en el polvo de cereal. Sistemas tales que pueden ser utilizados tanto en los alimentos para animales como para humanos.

Los tratamientos térmicos también pueden tener resultados positivos, sin embargo las micotoxinas son en general bastante resistentes a ciertas temperaturas, así pues, las aflatoxinas, ocratoxina A y fumonisinas resisten temperaturas hasta 120 , 100 y 150°C, respectivamente. La patulina resiste muy bien los procesos de pasteurización y temperaturas de 100°C. La vomitoxina o deoxinivalenol es resistente a temperaturas de 150°C y más, incluso las utilizadas en la elaboración del pan, galletas y otros productos del trigo. Sin embargo la efectividad de la detoxificación térmica esta limitado al tiempo de permanencia a determinadas temperaturas y la presión a que son realizados los tratamientos a esas temperaturas. Tiempos de permanencia mayores pueden dar detoxificaciones más efectivas pero pueden estropear el alimento y hacerlo inadecuado para consumo.

En general, el tostado o freidura a 150-200°C durante 30 minutos pueden reducir la AFB1 en cacahuets, nueces, maíz y otros géneros alimenticios en un 40 a 80% y la OTA en cafés (durante 5 minutos) en un 80 a 90%. El autoclave a 120°C durante 30 a 240 minutos, de productos tales como, harina de maíz, harina de cacahuete, arroz, frutas y especias puede reducir la AFB1 en un 29 a 95% y la OTA durante 3 horas en géneros alimenticios a bases de cereales, en un 70%. El sistema de preparación de las famosas tortillas de maíz reduce la contaminación con AFB1 en un 70%. La descafeinización de los cafés reduce el contenido en OTA en un 90% (Smith *et al.*, 1994; EC, 1999; JECFA, 2001; WHO, 2002).

En la leche, hay procesos de pasteurización a 64°C durante 20 minutos, calentamientos a 64-100°C durante 15-20 minutos, calentamientos directos durante 3-4 horas y otros procesos de pasteurización y esterilización que son inefectivos en cuanto a la reducción de la concentración de AFM1. Sin embargo, hay procesos de calentamiento a 71-120°C durante 30 minutos donde se han conseguido reducciones de 12 a 35% para esta micotoxina y existen otros procesos de pasteurización, esterilización, secado Roller y Spray en donde se han conseguido reducciones de AFM1 que oscilan entre 32 a 86%.

En quesos, con calentamientos a 82-100°C durante 5 a 30 minutos no se han conseguido reducciones significativas de AFM1, a lo sumo solo de un 9% a 90°C durante 30 minutos. La AFM1 va al queso en un 40-60% del total de AFM1 de

la leche. Se piensa que la precipitación de la caseína arrastra y se asocia con la AFM1 y es por eso que, a pesar de que AFM1 es muy soluble en agua y lo lógico sería ir al suero, una elevada proporción de ésta va al queso (Yousef y Marth, 1989).

Las técnicas habituales de producción de zumos de fruta llegan solo a reducir en un 20% la concentración de patulina. Sin embargo cuando se procede a la clarificación de los zumos de fruta por procesos de filtración, centrifugación y tratamiento con enzimas, las reducciones de contaminación pueden ser del orden de 70 a 77% si bien la mayor concentración de patulina puede pasar a la pulpa (Martins *et al.*, 2002). Es evidente que el cuidado en eliminar la parte enmohecida de las frutas antes de proceder a la fabricación de los zumos es una excelente práctica que previene la posterior contaminación del producto elaborado.

3.2.- Métodos químicos

Dentro de los métodos químicos de inactivación destacan los aplicados contra las aflatoxinas como el amoníaco y el tratamiento con hidróxido cálcico y monometilamina con los que se pueden conseguir en algunas materias primas (harinas y tortas de cacahuete, algodón y semillas de oleaginosas), reducciones de las aflatoxinas en un 98% por la transformación de éstas en metabolitos no tóxicos (aflatoxinas B2a y G2a). Se ha puesto en causa que el tratamiento con amoníaco provoca una reducción del aminoácido cisteína del orden de un 15 a 30%. En el tratamiento del maíz se produjo una decoloración y los residuos de amoníaco dejaron olores remanentes en el cereal. El segundo tratamiento con hidróxido cálcico y monometilamina no disminuyó significativamente la digestibilidad de las proteínas ni la utilización proteica neta ni interfirió con los caracteres organolépticos de la materia prima (Giddey, 1977; Jemmali, 1983; CAST, 2003). Hirviendo los granos de maíz con una solución acuosa de hidróxido cálcico, enfriando y efectuando sucesivos lavados para remover el pericarpio y el exceso de hidróxido cálcico, se pueden conseguir significativas reducciones de contaminación con fumonisinas por conversión de estas en sus formas hidrolizadas. Estos granos lavados son utilizados para elaborar géneros alimenticios tales como las tortillas de maíz y otros productos del maíz, sin embargo se pone en causa que los productos resultantes de la transformación sean también tóxicos (FDA, 2000; JECFA, 2001; WHO, 2002).

3.3.- Utilización de fungistáticos

El uso de fungistáticos como inhibidores del metabolismo, crecimiento y proliferación de los hongos (mohos + levaduras) esta ha ser utilizado desde hace ya muchos años y se aplica a los alimentos para animales y humanos. Un fungistático o mezcla de ellos actúa inhibiendo la síntesis de varias enzimas a nivel de célula fúngica y por tanto el metabolismo del hongo, evitando así su crecimiento y proliferación. Consecuentemente el riesgo de contaminación con micotoxinas se vea reducido o anulado. Sin embargo, si las micotoxinas ya están contaminando el alimento, el fungistático no actuara sobre estas.

Los fungistáticos más comunes utilizados en alimentación animal son: ácido propiónico y sus sales cálcica y sodica, propionato de amonio, ácido sórbico y su sal potásica, ácido fórmico y sus sales cálcica y sodica. En la alimentación humana son utilizados: las sales cálcica y sodica del ácido propiónico y muy comúnmente el ácido sórbico y su sal potásica en géneros alimenticios tales como quesos, productos del trigo, tartas y pasteles, frutos secos, margarinas, mayonesa, mermeladas y jaleas, vinos, zumos de fruta y otros.

Los productos anteriormente mencionados son a veces mal llamados, "fungicidas", un fungicida actúa destruyendo la membrana celular fúngica y matando al hongo este es el caso del formaldehído, de los pesticidas, herbicidas y otros. Los fungicidas no son utilizados ni están autorizados para ser utilizados en los productos alimenticios directamente, tanto en los animales como en los humanos visto que sus efectos tóxicos y agresivos pueden causar serios efectos adversos en la salud animal y humana.

Es de resaltar que el uso indebido de fungistáticos en concentraciones sub-inhedoras puede en algunos casos ocasionar que éstos sean metabolizados por algunas especies de mohos toxicogénicos favoreciendo la producción de micotoxinas (Smith *et al.*, 1994).

3.4.- Utilización de aditivos adsorbentes de micotoxinas y enzimas biotransformadoras

Actualmente hay un gran interés para el control de las micotoxinas con el uso de aditivos adsorbentes de micotoxinas como son los aluminosilicatos de calcio y sodio hidratados (HSCAS) que forman parte de la familia de las arcillas filosilicatos y con el uso de los glucomananos esterificados incorporados ambos al alimento compuesto para animales. Respecto a las arcillas hay otras que también son utilizadas como adsorbentes. El fenómeno de quimi-adsorción se efectúa dentro del organismo animal y tiende a formar con la micotoxina, compuestos inertes, estables e irreversibles que son eliminados por las heces. Algunos de estos productos tienen un espectro de acción y eficacia de adsorción muy limitada, incluso hay algunos con los que se corre el riesgo de absorber nutrientes. Existen actualmente filósilicatos modificados que parece ser que tienen una buena eficacia adsorbente dentro de un mayor espectro de acción. Esta también muy difundido el uso de enzimas biotransformadoras de micotoxinas. Estas enzimas son incorporadas al alimento compuesto y dentro del animal tienden a biotransformar la micotoxina en compuestos derivados que después son eliminados por la orina y las heces. Estos compuestos pueden ser en algunos casos menos tóxicos o no tóxicos respecto a la micotoxina original, sin embargo esto no es exactamente así para algunas micotoxinas incluso en las reacciones intermedias de biotransformación se pueden formar compuestos igual o más tóxicos que la micotoxina original.

El uso de estos productos en humanos es importante de una forma indirecta a través del animal, o sea, su incorporación en alimentos compuestos para vacas lecheras puede conseguir que con la detoxificación de la aflatoxina B1, el riesgo de que la vaca transforme la AFB1 en AFM1 sea prácticamente nulo. Si la detoxificación es efectiva para

otras micotoxinas esto impedirá la deposición de residuos tóxicos de éstas en los diferentes tejidos comestibles.

3.5.- Métodos biológicos

Dentro de los métodos biológicos se han efectuado estudios y pruebas para el estudio de microorganismos (*Sacharomices cerevisiae*, *Flavobacterium aurantiacum*, *Rhizopus*, spp, *Neurospora sitophila* y microorganismos del rumen) que degraden en determinadas condiciones ciertas micotoxinas. A nivel laboratorial se han obtenido resultados efectivos en la degradación de las micotoxinas aflatoxinas, patulina, ocratoxina A, zearalenona, toxina T-2, diacetoxiscirpenol y rubratoxina A, sin embargo la aplicación práctica de estos sistemas está aun en procesos de estudio y desarrollo (Smith *et al.*, 1994).

4.- Comentarios

Es muy difícil sacar conclusiones significativas en un tema tan complejo como es el de la micotoxicosis en humanos y mucho más cuando los riesgos están mezclados con otros tanto o más importantes como las contaminaciones con metales pesados, dioxinas, contaminaciones bacterianas ... etc. Si a todo esto le sumamos algunos de los factores antes mencionados que agravan la toxicidad como pueden ser, un mal estado fisiológico del individuo o de su salud, el artículo acaba más con "comentarios" que con "conclusiones".

El establecer una legislación para micotoxinas esta sujeto a toda una serie de factores primarios que dificultan este objetivo, a saber: Disponibilidad de datos toxicológicos; Disponibilidad de datos respecto a la incidencia de micotoxinas en varios alimentos; Homogeneidad de la micotoxina en la masa alimentaria; Disponibilidad de métodos analíticos para el control y concentraciones mínimas detectables de micotoxina; Legislación en otros países con los que hay contactos comerciales y la necesidad en algunos países de ser abastecidos suficientemente en cuanto a alimentos (Van Egmond, H.P., 1999).

Independiente de los países referidos en el artículo con respecto a legislación o reglamentaciones para micotoxinas se puede obtener un gran información mundial al respecto consultando la referencia CAST, 2003, en donde están referidos unos 88 países.

Las referencias anteriormente indicadas (CCFAC, 1999; CCFAC, 2000; CCFAC, 2001; CODEX, 2002) contienen los resultados de las discusiones establecidas al respecto del nivel máximo de contaminación con AFM1 de 0,05 microgramos/Kg "versus" 0,5 microgramos/Kg.

Teniendo en cuenta las preocupaciones con la salud pública, la UE continua manteniendo el nivel máximo de 0,05 microgramos/Kg en la leche y de 0,025 microgramos/Kg en los alimentos lácteos para lactantes.

Así, debe aplicarse el principio de ALARA, es decir, que el nivel máximo debe ser tan bajo como sea razonablemente posible, al contrario de la opinión de los países que están contra ese nivel y defienden el de 0,5 microgramos/Kg. Aunque la AFM1 tenga una potencia carcinogénica 9 a 10 veces menor que la AFB1, y aunque después de los estudios presentados y mencionados anteriormente (JECFA, 2001; WHO, 2002) el riesgo adicional de cáncer de hígado pronosticado era insignificante si se pasaba de 0,05 microgramos/Kg a 0,5 microgramos/Kg, la exposición a cualquier nivel cuando se trata de un carcinógeno genotóxico, como es el caso de la AFM1, puede suponer un riesgo sanitario para los consumidores, en especial para los niños. Esto refuerza la aplicación del principio de ALARA, que dice que para ese tipo de carcinógenos, no hay una dosis máxima por debajo de la cual no se produzcan tumores malignos, por lo que el nivel de exposición debería ser de 0 para tener un riesgo nulo a padecer cáncer de hígado que pueda ser provocado por las aflatoxinas en general.

El Comité científico de la Unión Europea indica que hay que valorar cuidadosamente los riesgos derivados de la exposición a estas micotoxinas, ya que la ingesta de leche y derivados entre lactantes y niños puede ser considerable.

No existen aún suficientes evidencias de que la OTA sea cancerígena para los humanos, sin embargo existe una conciencia de que hay que disminuir los riesgos de exposición a la micotoxina mismo para reducir los problemas de nefropatía atribuidos en algunos países al consumo de géneros alimenticios contaminados con OTA. La CE tiene establecida ya una legislación reciente para OTA en ciertos géneros alimenticios para humanos y es de esperar que en un futuro breve se establezca legislación para géneros alimenticios de consumo muy frecuente y continuado como son vinos y cafés.

A pesar de que las fumonisinas han sido consideradas como posibles carcinogénicas, los países donde la incidencia de cáncer de esófago y problemas gastrointestinales es significativa, continúan a relacionar toda esta problemática con el consumo de géneros alimenticios contaminados con fumonisinas en especial con la FB1. Solo el FDA establece unas reglamentaciones para algunos géneros alimenticios y consideramos que se deben realizar más estudios sobre los riesgos de la exposición a esta micotoxina.

Parece ser que la vomitoxina o deoxinivalenol tiene una especial atención en algunos países donde los niños son grandes consumidores de productos del trigo ya que el riesgo que ellos corren de que la exposición a esta micotoxina interfiera negativamente en su rápido crecimiento, es motivo de preocupación. Sin embargo la vomitoxina puede contaminar el género alimenticio junto con otras pertenecientes también a la familia de los tricotecenos como es el caso de la toxina T-2 y otras, situación tal que complica la evaluación de riesgos para esta micotoxina

Respecto a la patulina, los estudios sobre su toxicidad continúan a ser efectuados y muy en especial pensando en el riesgo que puede suponer para los niños que son grandes consumidores de zumos de fruta.

Los muchos datos de que disponemos sobre residuos de algunas micotoxinas en la carne y los huevos son sacados de pruebas experimentales publicadas donde las concentraciones de contaminación en los alimentos compuestos para animales son muy grandes para que las concentraciones de residuos sean significativas, si a todo esto tenemos en cuenta que los procesos térmicos a los que en general son sometidos esos alimentos antes de ser consumidos pueden conducir a una reducción de las contaminaciones, ello nos lleva a pensar que no sería muy relevante citar estos residuos en este artículo (Gimeno y Martins, 2000 y 2002a).

No pretendemos con este artículo provocar situaciones de alarma al respecto y simplemente queremos comunicar una situación lo más actualizada posible al tema en cuestión. El consumo variado de géneros alimenticios reduce los riesgos de micotoxicosis, sin embargo hay países y mismo ciertas poblaciones dentro de un mismo país que por deficiencias económicas no se pueden valer de esta variedad en sus hábitos alimentares. Es por ese motivo que los esfuerzos y ayudas económicas para conseguir mejores y más seguros métodos de prevención, descontaminación, detoxificación e inactivación, a la vez que la rigurosidad en la exigencia de calidad en los alimentos compuestos para animales y en los géneros alimenticios para los humanos, deben ser cada vez mayores.

Bibliografía

CAST (Council for Agricultural Science and Technology), 2003. "Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems". Task Force Report, nº 139, Ames, Iowa, January 2003, pp.1-199.

CCFAC (Codex Committee on Food Additives and Contaminants), 1999. Micotoxinas presentes en Alimentos y Piensos (Tema 16 del programa) "Observaciones sobre el proyecto de nivel máximo para la aflatoxina M1 en la leche (Tema 16^a del programa)".
En internet: <http://www.fao.org/docrep/meeting/005/x7137s/x7137s0n.htm> (Consultado en 4-05-04).

CCFAC (Codex Committee on Food Additives and Contaminants), 2000. Micotoxinas en los Alimentos y los Piensos (Tema 15 del programa). "Observaciones sobre el proyecto de nivel máximo para la aflatoxina M1 en la leche (Tema 15^a del programa)".
En internet: <http://www.fao.org/docrep/meeting/005/y0474s/y0474s0m.htm> (Consultado en 1-05-04).

CCFAC (Codex Committee on Food Additives and Contaminants), 2001. La Comisión Europea; Seguridad Alimentaria. (2001). Observaciones de la Comunidad Europea para la Comisión del Codex Alimentarius, 24^º Reunión. 2-7 de Julio de 2001, Ginebra, Suiza. "Proyecto del nivel máximo para la aflatoxina M1 en la leche (ALINORM 01/12 A-apéndice X)". En internet:
http://europa.eu.int/comm/foods/fs/ifsi/eupositions/cac/archives/cac_item10a_es.html (Consultado en 4-05-04).

CODEX, 2002. Examen de normas del Codex y textos afines (Tema 10 del programa). "Proyecto de Nivel Máximo para la aflatoxina M1 en la Leche". En internet:
<http://www.fao.org/docrep/meeting/005/y1560S/y1560s0d.htm> (Consultado em 4-05-04).

COST (European cooperation in the field of scientific and technical research), 2001. "Occurrence of toxicogenic fungi and mycotoxins in plants, food and feed in Europe". In: A. Logrieco (Ed.), Agriculture and biotechnology. European Commission (COST Action 835), Luxembourg, pp. 1-207.

EC (European Commission), 1999. Opinion on Fusarium Toxins, Part 1: "Deoxynivalenol (DON)". Scientific Committee on Food (SCF/CS/CNTM/MYC/19 Final). Brussels. December 2, 1999. pp.1-5.

EC (European Commission), 2000. Opinion of the Scientific Committee on Food on Fusarium Toxins, Part 3: "Fumonisin B1 (FB1)". Scientific Committee on Food (SCF/CS/CNTM/MYC/24 Final). Brussels. October 17, 2000. pp.1-33.

Edds, G.T., 1979. "Aflatoxins" in Conference on Mycotoxins in Animal Feeds Grains Related to Animal Health, W. Shimoda (Ed.) PB-300 300. Sponsored by: Bureau of Veterinary Medicine, Food Drug Administration, June 8, Rockville, Maryland (USA), pp.80-164.

EHSO (Environment, Health and Safety Online) "Aflatoxins in Your Food-and their Effect on Your Health" . U.S. FDA (Food and Drug Administration) REGULATIONS. En internet:
<http://www.ehso.com/ehshome/aflatoxin.php> (Consultado en 1-05-04).

FDA (Food and Drug Administration), 2000. "Action Levels for Poisonous or Deleterious Substances in Human Food and Animal Feed". En internet: <http://vm.cfsan.fda.gov/~lrd/fdaact.html> (Consultado en 1-05-04).

FDA (Food and Drug Administration), 2000a. Background Paper in "Support of Fumonisin Levels in Corn and Corn Products Intended for Human Consumption". June 6, 2000. pp. 1-8

FDA (Food and Drug Administration), 2000b. "Patulin in Apple Juice, Apple Juice Concentrates and Apple Juice Products". (Draft) Guidance for FDA Components and Industry: Apple Juice, Apple Juice Concentrates, and Apple Juice Products – Adulteration with Patulin. June 15, 2000, pp. 1-12.

FAO (Food and Agriculture Organisation), 1997. "Worldwide Regulations for Mycotoxin 1995". A compendium. FAO Food and Nutrition: Paper 64. (Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations).

Giddey, C., 1977. "Mecanismos de detoxificación de las micotoxinas y procedimientos industriales para tratamiento de los alimentos para animales". XV Symposium Científico de la Asociación Española Mundial de Avicultura Científica. Barcelona, España, 29 de Noviembre a 1 de Diciembre, 1977. Libro del Symposium pp. 53-67.

Gimeno, A. y M.L. Martins, 1987. "Influencia de algunas micotoxinas en los problemas de salud humana". Curso Teorico Practico sobre Micotoxinas y Hongos Toxicogenicos. Universidad Complutense de Madrid (Facultad de Veterinaria), 6 a 10 de Julio, 1987. Libro del Curso. pp.1-27.

Gimeno, A. y M.L. Martins, 2000. "Residuos de Micotoxinas en leche, huevos y tejidos comestibles de aves, cerdos y rumiantes" (parte I). Albéitar. 36: 40-42.

Gimeno, A. y M.L. Martins, 2000a. "Residuos de Micotoxinas en leche, huevos y tejidos comestibles de aves, cerdos y rumiantes" (parte II). Albéitar. 37: 44-46.

Gimeno, A. y M.L. Martins, 2002. "La aflatoxina M1 y otras micotoxinas: control y recomendaciones". Albéitar. 53: 52-54.

Gimeno, A. y M.L. Martins, 2003. "Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos". Special Nutrients, Inc. USA (Ed.). Talleres graficos del SRL, Buenos Aires (Argentina). pp. 1-160.

Gimeno, A., 2004. "Aflatoxina M1 no leite; riscos para a saúde pública, prevenção e controlo" Alimentação Animal (Revista da Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais – IACA). 49: 32-44.

IARC (International Agency for Research on Cancer), 1993. "Toxins derived from F.moniliforme: Fumonsins B1 and B2 and Fusarin C". In: some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Lyon. 56: 445-466.

Iverson, F., C. Armstrong, E. Nea, J. Truelove, S. Fernie, P.M. Scott, R. Stapley, S. Hayward y S. Gunner, 1995. "Chronic feeding study of deoxynivalenol in B6C3F1 male and female mice". Teratogenesis Carcinogenesis Mutagenesis. 15: 283-306.

Jemmali, M., 1983. "Decontamination of mycotoxins. International Symposium on Mycotoxins". Cairo, Egypt, 6-8 September, 1981. Proceedings book pp. 143-150.

JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), 1995. "Evaluation of certain food additives and contaminants". Forty-fourth report. WHO Technical Report Series 859, pp.35-36.

JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), 2001. Fifty-sixth meeting, Geneva, 6-15 February 2001, pp.1-33.

Kuiper-Goodman, T. (1990). "Uncertainties in the risk assessment of three mycotoxins: aflatoxins, ochratoxins, and zearalenone. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 68: 1017-1024.

Kuiper-Goodman, T., 1994. "Prevention of Human Mycotoxicoses Through Risk Assessment and Risk Management". In: J.D. Miller and H.L. Trenholm (eds.), Mycotoxins In Grain, Compounds Other Than Aflatoxin. Eagan Press, St. Paul, Minnesota, pp. 439-469.

Leoni, L.A.B., L.M. Valente Soares y P.L.C. Oliveira, 2000. "Ochratoxin A in Brazilian roasted and instant coffees". Food Add. Contam. 17: 867-870.

Marasas W.F.O., 1995. "Fumonisin: Their Implications for Human and Animal Health". Natural Toxins. 3: 193-198.

Martins, M.L., H.M. Martins y F. Bernardo, 2001. "Aflatoxins in spices marketed in Portugal". Food Add. Contam. 18: 315-319.

Martins, M.L., A. Gimeno, H.M. Martins y F. Bernardo, 2002. "Co-occurrence of patulin and citrinin in Portuguese apples with rotten spots". *Food Add. Contam.* 19: 568-574.

Martins, M.L y H.M. Martins, 2001. « Determination of deoxinivalenol in wheat-based breakfast cereals marketed in Portugal". *J. Food Prot.* 64: 1848-1850.

Micotoxinas on line. "Legislação sobre Micotoxinas".
En internet: <http://www.micotoxinas.com.br/legisla.html> (Consultado en 1-05-04).

Micotoxinas, 2003. Revisión Diciembre 2003. "Legislación Comunitaria sobre contenidos máximos de micotoxinas en productos alimenticios". En Internet: <http://www.mcx.es/plaguicidas/MicotoxUE.asp>

Otteneder, H y P. Majerus, 2000. "Occurrence of ochratoxin A (OTA) in wines: influence of the type of wine and its geographical origin". *Food Add. Contam.* 17: 793-798.

Official Journal of the European Communities, 2002. "Amending Regulation (EC) 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs" L75/20. 12/3/02. Reg (EC) N° 472/2002.

Official Journal of the European Union, 2003. "Amending Regulation (EC) 466/2001 as regard aflatoxins". 12 December 2003. Commission Regulation (EC) No. 2174/2003. L326/12.

Official Journal of the European Union, 2003a. "Amending Regulation (EC) 466/2001 as regards patulin". 11 August 2003. Commission Regulation (EC) No. 1425/2003. L.203/1

Official Journal of the European Union, 2004. "Amending Regulation (EC) 466/2001 as regards aflatoxins and ochratoxin A in foods for infants and young children". 13 April 2004. Commission Regulation (EC) No. 683/2004. L106/3.

Patterson, D.S., E.M. Glancy y B.A. Roberts, 1980. "The carry-over of aflatoxin M1 into the milk of cows fed rations containing a low concentration of aflatoxin B1". *Food Cosmet. Toxicol.* 18: 35-37.

Pieters, M.N., D.C.M. Fiolet y A.J. Baars, 1999. "Deoxynivalenol: Derivation of concentration limits in wheat and wheat containing food products". RIVM (Rijks Instituut voor Volksgezondheid en Milieu), RIVM report 388802 018. Bilthoven. October, 1999. pp.1-32.

Pietri, A., T. Bertuzzi, L.Pallaroni y G.Piya, 2001. "Occurrence of ochratoxin A in Italian wines". *Food Add. Contam.* 18: 647-654.

Rodricks J.V. y L.Stoloff, 1977. "Aflatoxin Residues from Contaminated Feed in Edible Tissues of Food-Producing Animals" in *Mycotoxins in Human and Animal Health*. Edited by : Joseph V.Rodricks, Clifford H.Hesseltine and Myron A.Melham. Pathotox Publishers, INC . Park Forest South Illinois., pp.67-79.

Sharma, R. P., 1993. "Immunotoxicity of mycotoxins". *J.Dairy Sci.* 76: 892-897.

Sieber, R. y B.Blanc, 1978. "Zur Ausscheidung von Aflatoxin M1 in die Milch und dessen Vorkommen in Milch und Milchprodukten – eine Literaturübersicht". *Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmittel-untersuchung un Hygiene*, 69: 477-491.

Smith, J.E., G.L. Solomons, C.W.Lewis y J.G. Anderson, 1994. "Mycotoxins in Human Nutrition and Health". Directorate-General XII Science, Research and Development (ed.), European Commission, pp. 1-300.

Van Egmond, H.P., 1989. " Aflatoxin M1: Occurrence, Toxicity, Regulation" in *Mycotoxins in Dairy Products*. Hans P.Van Egmond (Ed.) Elsevier Applied Science, London and New York. Chapter 2, pp.11-55.

Van Egmond, H.P., 1999. *Worldwide Regulations for Mycotoxins*. Third Joint FAO/WHO/ UNEP International Conference on Mycotoxins (MYC-CONF/99/8a). Tunis, Tunisia 3-6 March, 1999. pp. 1-8. <http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/Economic/ESN/mycoto/mycoto-s.htm> (March 5, 2002)

WHO (World Health Organization), 2002. *Evaluation of Certain Mycotoxins in Food*. Fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 906. Geneva, pp. 1-62

Yousef, A.E. y E.H. Marth, 1989. *Stability and Degradation of Aflatoxin M1*. In: Hans P.Van Egmond (Ed.), *Mycotoxins in Dairy Products*. Elsevier Science Publishing Co, INC, New York, pp. 127-161.

Zoller, O., F. Sager y B. Zimmerli, 1994. Vorkommen von Fumonisin in Lebensmitteln. Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene. 85: 81-99.