

Micotoxinas en rumiantes. Un problema pasado o presente.

FUENTE: <http://www.exopol.com>

Juan Diego García Martínez
Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia
Publicado en: Alonso Díez AJ, González Montaña JR, Rejas López J. *Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria* [cd-rom]. León: Universidad de León, 2002: pp. 66-81. ISBN 84-7719-810-1.

INTRODUCCIÓN

El hombre conoce los hongos que crecen en los alimentos desde la antigüedad, y los ha utilizado en su propio beneficio como alimento directo, para mejorar alimentos y especialmente con fines terapéuticos (antibióticos). Sin embargo, ciertas especies fúngicas son capaces de producir unos metabolitos secundarios con carácter tóxico llamadas micotoxinas. La segregación de estas sustancias se produce bajo ciertas condiciones ecológicas favorables.

Debido a la reciente crisis de encefalopatía espongiforme bovina, listeriosis, salmonelosis y de la presencia de pesticidas o de dioxinas en los alimentos los consumidores hoy en día son muy sensibles a la noción de riesgo alimentario. Sin embargo, mientras que el riesgo infeccioso o parasitario es bastante entendido por el consumidor, el riesgo asociado a la presencia natural de toxinas o de sus metabolitos en el seno de un alimento animal es bastante ignorado por parte de los consumidores.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios fúngicos capaces de desencadenar cuadros de intoxicación aguda, carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos y estrogénicos que crecen sobre una amplia diversidad de mercancías y bajo diferentes situaciones (PITTET, 1998).

Debido a sus variados efectos tóxicos y su alta resistencia a los tratamientos térmicos, la presencia de micotoxinas en los alimentos y en los piensos es potencialmente peligrosa para la salud animal y humana (PITTET, 1998).

Estas toxinas cuestan millones de euros anualmente en todo el mundo ocasionando pérdidas en la salud humana, en la salud animal y en productos agrícolas que son desechados al ser inaceptables en el comercio nacional e internacional al no cumplir con las regulaciones existentes (SHANE, 1994 y VASANTHI et al., 1998).

En la práctica, los datos sobre la incidencia y niveles de contaminación están limitados por muchos factores tales como (PITTET, 1998):

- Recursos para realizar las inspecciones.
- Disponibilidad de un laboratorio para realizar los análisis.
- Fiabilidad y sensibilidad de los métodos analíticos empleados.

En este contexto consideramos de vital importancia la realización de una revisión sobre el riesgo alimentario asociado a la presencia de las micotoxinas más importantes desde el punto de vista agrícola y ganadero en los alimentos para rumiantes, tanto a escala mundial como en España, los métodos que se pueden utilizar en su prevención y control, así como las legislaciones existentes.

Generalidades

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por especies de hongos toxigénicos al menos bajo ciertas condiciones que aparecen en los forrajes, cereales y toda clase de alimentos (LE BARRS et al., 1998).

Factores que influyen en la toxigenesis.

El tipo y cantidad de sustancias producidas no solo depende de las características de la cepa individual, sino también de las condiciones medioambientales (nutrientes, parámetros físico-químicos, etc.). Las condiciones de crecimiento que permiten la toxigenesis son más limitadas que aquellas que posibilitan el crecimiento del hongo. Entre los factores que conducen a la presencia de micotoxinas en los alimentos, hay dos principales categorías (LE BARRS et al., 1998):

- Factores intrínsecos que dependen de la cepa fúngica.
- Factores extrínsecos que dependen de las condiciones medioambientales.

Factores intrínsecos.

La producción de una determinada micotoxina no está asociada con una especie en particular sino con una cepa en concreto y en algunos casos incluso depende del sustrato en que la cepa es aislada.

Factores extrínsecos.

Los principales factores extrínsecos que influyen en la toxigenesis son:

- Actividad agua (a_w). La actividad agua influye considerablemente en la producción de toxinas, particularmente en los productos poco hidratados. La mayor parte de los hongos que contaminan los cereales, por ejemplo, necesitan valores superiores a 0,7%. La toxicogénesis tiene lugar únicamente para una a_w ligeramente superior (por ejemplo + 0,02) que la a_w límite para el crecimiento.
- Descenso de la presión parcial de oxígeno. El descenso de la presión parcial de oxígeno y especialmente el incremento del nivel de CO_2 conduce a una más marcada reducción de la toxicogénesis que del crecimiento fúngico.
- Composición química del sustrato y el pH. La toxicogénesis, al menos para la mayoría de las micotoxinas conocidas, es más dependiente de la composición química del sustrato que el crecimiento fúngico.
- La temperatura. La temperatura óptima para la toxicogénesis, se define la temperatura a la cual el ritmo de producción de toxinas es máximo. Esta temperatura es normalmente ligeramente más baja que la temperatura óptima para el crecimiento del hongo. Además el rango de temperaturas que permite una toxicogénesis significativa es más estrecho que la que permite el crecimiento del hongo.
- Zonas de microflora que son pequeñas zonas del alimento con alto contenido en humedad.
- Integridad física del grano o del alimento (insectos, roedores y pájaros).

Los factores que afectan a la magnitud de la toxicidad por el consumo de alimentos y piensos contaminados en humanos y animales son la especie, mecanismo o modo de acción, metabolismo del producto y mecanismo de defensa (HUSSEIN et al., 2001). Así observamos variaciones relacionadas con la especie como es la dosis letal 50 para la aflatoxinas que varía desde 0,4, 1 y 500 mg/kg para patitos, ratas y ovejas, respectivamente (WOGAN, 1966).

Las micotoxinas que afectan negativamente a la salud del hombre y de los animales se encuentran principalmente en los granos de cereales y forrajes recolectados. Estas toxinas son producidas por hongos saprofitos durante el almacenaje o por hongos endofíticos durante el crecimiento de la planta (D'MELLO et al., 1997).

La mayoría de las micotoxinas descritas están producidas por especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Claviceps* (HUSSEIN et al., 2001). Aunque hay sobre unas 300 micotoxinas que han sido aisladas y químicamente caracterizadas (BETINA, 1984), las investigaciones se han centrado en aquellas formas que causan significativos daños al hombre y a los animales de granja y de compañía. Estas micotoxinas son las aflatoxinas, ocratoxinas, tricotecenos, zearalenona, fumonisinas, patulina, citrinina, toxinas tremogénicas y alcaloides ergóticos (POHLAND, 1993; MOSS, 1996 y PITTET, 1998).

Hongo	Toxina
Aspergillus	Aflatoxinas Sterigmatocistina Ocratoxina A
Fusarium	Tricotecenos (DON, nivalenol, toxina T2, DAS) Zearalenonas Fumonisinias Fusaria Moniliformina
Penicillium	Patulina Citrina Ocratoxina A
Claviceps	Alcaloides

Muchos hongos no son productores de micotoxinas incluso pudiendo invadir el grano, por lo que un grano enmohecido no tiene por qué ser necesariamente tóxico. Del mismo modo, puede detectarse una micotoxina sin la presencia del hongo productor, ya que éste puede haber sido inactivado por procesos químicos o por alteración de los factores ambientales mientras que las micotoxinas permanecen en el sustrato.

LAS MICOTOXINAS MÁS FRECUENTES EN LOS ALIMENTOS PARA RUMIANTES.

AFLATOXINAS

Las aflatoxinas (A -flavus- toxinas) son el grupo de micotoxinas más estudiadas (más de 5000 publicaciones) y son producidas por diferentes especies del género *Aspergillus*. Ellas fueron inicialmente aisladas e identificadas en 1966 en la enfermedad X de los pavos como responsables de una necrosis hepática (ASAO et al., 1963). Las aflatoxinas (AF) se clasifican en aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ que son metabolizadas a aflatoxinas M₁ y M₂ que son los metabolitos que podemos encontrar en la leche. Las aflatoxinas químicamente serían porciones de dihidrofuranos o tetrahydrofuranos fusionados a un anillo cumarínico. Hay aislados unos 20 derivados de aflatoxinas producidos por diferentes especies de hongos. Por ejemplo, *Aspergillus flavus*, producen AFB₁ y AFB₂, mientras que el *Aspergillus parasiticus* produce AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂ (D' MELLO et al., 1997). Estas AF, al igual que otros muchos compuestos heterocíclicos emiten fluorescencia y se distinguen por sus propiedades fluorescentes. Tanto la AFB₁ como la AFB₂ tienen fluorescencia azul mientras que la AFG₁ y AFG₂ emiten fluorescencia verde-amarilla bajo la luz ultravioleta (SARGEANT, 1963).

Las aflatoxinas se pueden presentar en cualquier parte del mundo, ya que el *Aspergillus flavus* crece a temperaturas de 25 ° C, y con una humedad relativa del 70%. Entre los alimentos en los que se puede desarrollar están el maíz, cacao, sorgo, trigo, avena, centeno, algodón, cacahuete, etc. (HUSSEIN et al., 2001).

Entre las diferentes aflatoxinas existen variaciones en la intensidad de la toxicidad. Por ejemplo, la AFB₁ es la más tóxica tanto en las aflatoxicosis agudas como crónicas mientras que la AFM₁ es tan hepatotóxica aguda como la anterior pero no tan carcinogénica (CARNAGHAN et al., 1963).

OCRATOXINAS

Las ocratoxinas son metabolitos de los géneros *Aspergillus* y *Fusarium*. Químicamente se trata de derivados del 3 -4 -dihidrometilisocumarin unido con un enlace amido a un grupo amino de la l -b -fenilalanina (COLE et al., 1981). Estos compuestos se sabe que tienen toxicidad aguda en ratas y ratones, efectos nefrotóxicos (daño renal) en pollos y efectos carcinogénicos en humanos (CARLTON et al., 1977; KROGH, 1978; LANZA et al., 1980; MANNING et al., 1984;

templados (SMITH et al., 1991).

TRICOTECENOS

Los tricotecenos son compuestos que tienen anillos sesquiterpenos caracterizados por un núcleo de 12-13-epoxy-9-tricoteceno. Ellos tienen diferentes constituyentes en las posiciones 3,4,7,8 y 15 de la molécula. (HUSSEIN et al., 2001). Los tricotecenos son producidos principalmente por varias especies del género *Fusarium* (ej. *F. Sporotrichioides*, *F. graminearum*, *F. poae* y *F. culmorum*) y puede ser producida por miembros de otros géneros tales como *Myrothecium* (TAMM et al., 1984) y *Trichothecium* (JONES et al., 1960). Los tricotecenos incluyen a la toxina T-2, el diacetoxiscirpenol (DAS), el deosinivalenol (DON o vomitoxina) y el nivalenol. Tanto la toxina T-2 como el DAS son los más tóxicos y son solubles en solventes no polares (por ejemplo, el acetil acetato y el dietil éter) mientras que el DON y el nivalenol son solubles en solventes polares tales como alcoholes (TRENHOLM et al., 1986).

ZEARALENONA

La zearalenona es un compuesto fitoestrogénico (DIEKMAN et al., 1992) conocido como ácido 6-(10-hidroxi-6-oxo-trans-1-undecenil)-b-resorcilico m-lactona. Es un metabolito primario asociado con varias especies del género *Fusarium* (por ejemplo *F. culmorum*, *F. graminearum* y *F. sporotrichioides*), siendo la *F. graminearum* la especie responsable en mayor medida de los efectos estrogénicos comúnmente encontrados en los animales de granja (MARASAS, 1991). Los metabolitos alcohólicos del ZEN (por ej. a-zearalenol y b-zearalenol) también tienen características estrogénicas (CHEEKE, 1998a).

FUMONISINAS

Las fumonisinas B₁ y B₂ son metabolitos promotores del cáncer originados por *F. proliferatum* y *F. verticillioides* que tienen una unidad hidrocarbonada de cadena larga (similar a la de la esfingosina y esfingalina) que juega un papel en su toxicidad (WANG et al., 1992). La fumonisina B₁ (FB₁) es la más tóxica y ha sido descrita por provocar tumores en ratas (GELDERBLUM et al., 1988) y causar leucoencefalomalacia equina (MARASAS et al., 1988) y edema pulmonar porcino (HARRISON et al., 1990).

MONILIFORMINA

La moniliformina (por ej. una sal sódica o potásica del 1-hidroxiciclobut-1-eno-3,4-diona) es producida por varias especies del género *Fusarium* (principalmente el *F. proliferatum*) y es normalmente encontrada en el grano de maíz. Puede ser transferida a la siguiente generación de cultivos y sobrevivir durante años en el suelo (GUZMAN et al., 1994). Aunque tanto la FB₁ como la moniliformina son producidas por la misma especie de hongo (*F. proliferatum*) no existe ninguna similitud estructural entre las dos toxinas. Ambas toxinas, según estudios de la FDA de los Estados Unidos, se encuentra de forma omnipresente en el maíz de este país (PRICE et al., 1993).

PATULINA

Esta micotoxina no solamente está producida por especies del género *Penicillium*, sobre todo por *P. expansum*, sino también por especies del género *Aspergillus* como son *A. calvatus* y *A. giganteus*. Causa irritación local en los ojos y daños patológicos en varias vísceras. Además es una neurotoxina con efectos cancerígenos y algunos autores le han detectado actividad antimicrobiana. Se le asocia a la putrefacción de manzanas, uvas y plátanos (YIANNIKOURIS et al., 2002).

CITRININA

La citrinina es otra micotoxina producida por especies del género *Penicillium*. Es una neurotoxina con propiedades antibióticas, pero es demasiado tóxica para ser usada como tal. Normalmente está asociada a la presencia de patulina en el grano teniendo un efecto tóxico sinérgico (CIEGLER et al., 1976).

TOXINAS TREMOGÉNICAS Y ALCALOIDES ERGÓTICOS

Varias especies de hongos toxigénicos como el *Acremonium lolii*, *A. coenophialium*, *Claviceps purpurea* y especies del género *Penicillium* pueden desarrollarse exclusivamente sobre forrajes vivos. Estos hongos endofíticos crecen en los tejidos de varias hierbas (gramíneas) y pueden tener

neurotoxinas de naturaleza indol-terpeno (MILES et al., 1992) llamadas sustancias tremogénicas tal como la toxina B lolitrem. La modorra del raigras en el ganado ha sido relacionada con esta sustancia y con otras toxinas tremogénicas (por ejemplo penetrem B y verruculogen) producidas por varias especies del género *Penicillium* incluyendo *P. crustosum* y *P. verruculosum*, respectivamente (MILES et al., 1992).

Otras especies de los géneros *Acremonium* y *Claviceps purpurea* son también responsables de la toxicosis de la hierba del sueño en el ganado debido a la ingestión de alcaloides ergóticos como la ergotamina, la ergostina, la ergocristina, etc. Los alcaloides ergóticos están estructuralmente relacionados con la droga alucinógena llamada dietil amida del ácido lisérgico (LSD) (HUSSEIN et al., 2001). Los dos tipos de ergotismo conocidos en humana y en los animales son convulsivos y gangrenosos (CHEEKE, 1998_a).

TOXICIDAD DE LAS MICOTOXINAS

Los riesgos para la salud humana y animal por la ingestión prolongada de alimentos con ciertos niveles de micotoxinas están sujetos a varios factores (ANTON et al., 2001):

- Tipo de micotoxina, biodisponibilidad, toxicidad y concentración de la misma en el alimento.
- Sinergismos entre las micotoxinas presentes.
- Cantidad de alimento consumido, y continuidad o intermitencia en la ingestión.
- Peso del individuo, estado fisiológico y edad del mismo.

Las micotoxinas pueden tener diferentes efectos biológicos y patológicos, entre ellos destacamos los siguientes:

1.- Riesgos cancerígenos.

Se han realizado numerosos trabajos científicos con las micotoxinas que, a pesar de las dificultades que entraña la evaluación de este riesgo, demuestran la relación existente entre el consumo de algunas de las micotoxinas y determinados tipos de cáncer (aflatoxinas B). El siguiente cuadro resume la evaluación realizada por el Centre International de Reserche contre le Cancer en 1998.

Producto	Grado de evidencia del riesgo cancerígeno		Evaluación global
	Hombre	Animal	
Aflatoxinas	S	S	1
Aflatoxina B1	S	S	
Aflatoxina B2		L	
Aflatoxina G1		S	
Aflatoxina G2		I	
Aflatoxina M1	I	S	2B
Citrinina	ADS	L	3
Ocratoxina A	I	S	2B
Patulina	ADS	I	3
Esterigmatocistina	ADS	S	2B
Zearalenona		L	
Vomitotoxina		I	
Nivalenol		I	
Toxina T2		L	
Moniliformina	I	S	2B
Fumonisina B1		L	
Fumonisina B2		I	
Fusarina C		L	

ADS: Ausencia de datos suficientes

S: Prueba suficiente
L: Prueba limitada
I: Prueba insuficiente
Grupo 1: El producto es cancerígeno para el hombre

Grupo 2A: El producto es probablemente cancerígeno para el hombre

Grupo 2B: El producto es un posible cancerígeno para el hombre

Grupo 3: No se puede pronunciarse en cuanto al riesgo cancerígeno para el hombre.

2.- Inmunotoxicidad

El impacto de las micotoxinas sobre el sistema inmunitario es importante por varias razones:

- Las micotoxinas pueden producir en los animales una bajada de defensas y aumentar la susceptibilidad a determinadas infecciones como *Listeria*, *Salmonella* y *Mycobacterium*.
- El aumento de patógenos en el animal puede conllevar la transmisión de patógenos al hombre, como es el caso de *Salmonella* y la *Listeria*.

El mecanismo de acción de las micotoxinas sobre el sistema inmunitario es diferente, dependiendo de la toxina en cuestión. Así, la aflatoxina B1 y la toxina T2, provocan una hipoplasia del timo y una depleción de los timocitos, mientras que la Ocratoxina A, provoca una necrosis del tejido linfático, que tiene una función inmunológica diferente a la del timo.

3.- Otros efectos patológicos.

3.1. Sobre el metabolismo.

Las micotoxinas pueden actuar sobre el metabolismo de los glúcidos y de los lípidos. Así, se han descrito diversos efectos de la OTA sobre la neoglucogénesis y sobre la actividad de diversas enzimas participantes en el metabolismo del glucógeno y la glucosa.

3.2.- Sobre determinados órganos diana.

Estos suelen ser el SNC, sistema gastrointestinal, hígado, riñón y piel. La aflatoxina y la OTA son hepatotóxicas. La OTA y la citrinina son nefrotóxicas.

Algunos de los síntomas agudos de estas micotoxinas se resume en el cuadro siguiente.

<p>Ocratoxinas: Cereales, verduras, legumbres, quesos, carnes ahumadas. Efecto nefrotóxico. Necrosis hepática. Efecto inmunosupresor</p> <p>Patulina: Cereales, frutas, quesos. Neurotóxico. Afecciones pulmonares. Lesiones de hígado y riñón. Carcinomas. Inmunosupresión.</p> <p>Zearalenona: Cereales y subproductos. Afecciones sistema reproductor. Estrogénica.</p> <p>Citrinina: Cereales y frutas. Efecto nefrotóxico. Inmunosupresiva.</p> <p>Tricotecenos: Cereales. Afecciones sistema digestivo, circulatorio, nervioso y piel.</p>

3.3.- Mortalidad.

Las aflatoxinas son las micotoxinas más estudiadas. Producidas esencialmente por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, se conocen hasta el momento 18 variedades de aflatoxinas. La AFB₁ y la AFM₁ son las más tóxicas de estas 18 variedades.

MODOS DE ACCION DE LAS MICOTOXINAS.

AFLATOXINAS.

Es bien conocido que la AFB₁ es tanto carcinogénica como citotóxica. El metabolito AFB₁ activado (por ejemplo, AFB₁-8,9-epóxido) se une de forma covalente con el nitrógeno de la posición 7 de la guanina (LILLEHOJ, 1991) y forma aductos de AFB₁-N7-guanina en las células diana (BAILEY, 1994). Los resultados son transversiones de guanina a timina, reparación de las lesiones en el ADN, mutaciones y posteriormente formación de tumor (FOSTER et al., 1983). Con respecto a los efectos citotóxicos la AFB₁ induce la peroxidación lipídica en hígados de rata que conducen a un daño oxidativo en los hepatocitos (SHEN et al., 1995). Un estudio más reciente (BONSI et al., 1999) ha demostrado que la AFB₁ puede inhibir la actividad de la fosfodiesterasa nucleótido cíclica en el cerebro, hígado, corazón y tejidos renales.

OCRATOXINAS

El modo de acción de las ocratoxinas es debido a (MEISNER et al., 1974, WEI et al., 1985, XIAO et al., 1996, CHEEKE, 1998, SCHWERDT et al., 1999, GEKLE et al., 2000 y DORREHANS et al., 2000):

- Inhibición competitiva de las enzimas mitocondriales como la ATP_{asa}.

- Formación de radicales hidroxilo y peróxido en los lípidos.
- Inhibición de la síntesis proteica porque inhiben de forma competitiva a la fenilalanil-ARN_t sintetasa.
- Estimular la apoptosis celular
- Inducción de la síntesis de ADN no programada.

TRICOTECENOS

La citotoxicidad de los tricotecenos ha sido atribuida a su potente inhibición de la síntesis de proteínas, ARN y ADN (LIAO et al., 1976). Los sitios activos fueron señalados como la porción 9-eno y los ésteres metabólicos formados por los grupos metabólicos formados por los grupos hidroxilos de las sustancias originarias (UENO et al., 1970).

Otros efectos tóxicos de los tricotecenos incluyen la ruptura de la función y transporte de la membrana, supresión de la respuesta inmune y anormal función sanguínea (HUSSEIN et al., 2001).

ZEARALENONA

La zearalenona tiene efectos estrogénicos sobre los animales. Se une a los receptores estrogénicos influenciando la transcripción dependiente de estrógenos en el núcleo (KOLB, 1984). Estudios recientes (AHAMED et al., 2001; WITHANAGE et al., 2001) han demostrado el potencial del ZEN para estimular el crecimiento en humanos de las células del cáncer de mama que contiene receptores estrogénicos.

FUMONISINAS

Las fumonisinas son tanto citotóxicas como carcinogénicas para los animales. Los modos de tales acciones, sin embargo, no son completamente entendidos, aunque parece ser que la FB₁ ejerce su citotoxicidad por inhibición del metabolismo esfingolípido, proteico y del ciclo de la urea (WANG et al., 1991). El papel carcinogénico de la FB₁ ha sido relacionado con la acumulación de bases esfingoides que causan la síntesis no programada del ADN (SCHROEDER et al., 1994), la alteración de la señalización por el AMP cíclico (HUANG et al., 1995), la translocación de la proteína quinasa C (YEUNG et al., 1996), y la alteración del normal ciclo celular (RAMLJAK et al., 2000).

MONILIFORMINA

La acción citotóxica de la moniliformina fue atribuida por un lado a la inhibición de la piruvato dehidrogenasa (GATHERCOLE et al., 1986) y por otro a la inhibición de la glutatión peroxidasa y glutatión reductasa (CHEN et al., 1990).

SUSTANCIAS TREMOGENICAS ENDOFITICAS Y LOS ALCALOIDES ERGOTICOS
 Los alcaloides ergóticos y las sustancias tremogénicas son conocidos por sus efectos negativos sobre los neuroreceptores. El efecto primario de los alcaloides del ergotismo es la estimulación de la musculatura lisa (CHEEKE, 1998). Los alcaloides ergóticos se unen a los α -adrenoreceptores y otros inhiben a los β -adrenoreceptores lo cual da como resultado una vasoconstricción (KOLB, 1984). Los alcaloides ergóticos también han sido descritos por inhibir la secreción de prolactina en humana (SILVESTRINI et al., 1978) y en animales (KOLB, 1984). Este efecto fue atribuido a la estimulación de los receptores dopaminérgicos, que regulan la prolactina. Estas sustancias, que son similares a las aminas biogénicas, también han sido descritas por actuar sobre los receptores de las aminas biogénicas y, por lo tanto, afectar a la neurotransmisión (CHEEKE, 1998). El mecanismo exacto de la toxicidad de lolitrem en la modorra del raigras del ganado no ha sido identificado. Mecanismos posibles en las ovejas fueron sugeridos como la inhibición de los aminoácidos neurotransmisores (MANTLE, 1983) o como la estimulación de los receptores de la colina (MCLEAY et al., 1999).

BIOCONVERSION DE LAS MICOTOXINAS EN LOS RUMIANTES

La metabolización de las micotoxinas en los rumiantes sucede en dos lugares diferentes: en el rumen y en el epitelio intestinal, hígado y riñones.

1. -En el rumen.

Los rumiantes son globalmente más resistentes a la mayoría de las micotoxinas que los animales monogástricos. Este hecho fue pronto puesto en evidencia al constatarse la gran resistencia de los

de cultivos de fluido ruminal, protozoos ruminales o bacterias ruminales. Así el 90-100% del metabolismo del OTA, ZEN, toxina T-2 y DAS es realizado por los protozoos del rumen y, por lo tanto, ellos se consideran como la población microbiana ruminal más importante en la biodegradación de las micotoxinas. Un considerable menor metabolismo de las mismas micotoxinas fue observado en cultivos conteniendo únicamente bacterias del rumen (HUSSEIN et al., 2001).

La degradación de las aflatoxinas en el rumen es generalmente débil, normalmente inferior al 10% para dosis de 1 a 10 mg/ml (WESTLAKE et al., 1989). AUERBACK et al. (1998) observaron la formación de aflatoxicol, derivado hidroxilado de la AFB1 cuya toxicidad es elevada. Contrariamente a los monogástricos, los microorganismos ruminales no hidrolizaron a la FB1 *in vitro* (CALONI et al., 2000). Así, numerosas bacterias son completamente inhibidas con menos de 10 mg/ml de AFB1 y es razonablemente lógico pensar que el crecimiento y el funcionamiento de los microorganismos en el rumen puede ser perturbado por esa toxina.

2.- En el epitelio intestinal, hígado y riñones.

El epitelio intestinal, hígado y los riñones son los sitios de biotransformación de un gran número de compuestos implicando dos fases de reacción. La primera fase hace intervenir a las reacciones de reducción, oxidación y hidrólisis. Los citocromos P450 microsomales, las monooxigenasas que contienen flavinas, la síntesis de prostanglandinas, las aminooxidases y las alcoholdehidrogenasas son las enzimas mayormente implicadas en las reacciones de oxidación, mientras que en las reacciones de reducción son regidas por las epóxido hidrolasas y las aldehído reductasas o ceto reductasas. La segunda fase tiene lugar reacciones de conjugación de moléculas formadas durante la primera fase. Esas reacciones disminuyen la toxicidad y aumentan la solubilidad en agua de las micotoxinas con lo que facilita su excreción en la orina (y en la leche) y protege al animal. Las enzimas más importantes en el proceso de conjugación son las glucuronosiltransferasas microsomales y las sulfonil-, metil-, aminoacil-, S-glutathion- y la N-acetiltransferasa citosólicas (GALTIER, 1999).

En resumen, las principales toxinas ingeridas por los rumiantes son entonces modificadas en el tubo digestivo de éstos antes de ser excretadas por las vías biliares. Esos procesos limitan su absorción en el tubo digestivo y favorecen su excreción en los medios acuosos como la orina y la leche. Por lo tanto, aunque los rumiantes están naturalmente protegidos pero la presencia de residuos tóxicos en los productos animales como leche y carne constituyen un riesgo para el consumidor (YIANNIKOURIS et al., 2002).

PREVENCIÓN DEL RIESGO MICOTOXICOLÓGICO EN LOS RUMIANTES.

1.- Control del desarrollo de los mohos.

El control de mohos supone aplicar unas medidas preventivas en todas las fases de producción del alimento en cuestión. Los controles y las medidas a aplicar deben hacerse extensivas a las siguientes etapas (ANTON et al, 2001):

- **Cultivo del alimento:**
 - Selección de las variedades de plantas bajo el criterio de resistencias a mohos.
 - Control de insectos y plagas para intentar mantener la integridad física de los granos de cereales con la finalidad de disminuir el acceso a los nutrientes que ellos contienen.
 - Fertilización.
 - Rotación de cultivos.
- **Periodo de cosecha:**
 - Procedimiento de recogida.
 - Limpieza.
 - Secado. El secado constituye una etapa esencial en la conservación de los alimentos secos y el respecto de la anaerobiosis es primordial en el caso de alimentos conservados en forma húmeda.
- **Almacenamiento, transporte y distribución:**
 - Control de insectos.
 - Control de humedad.
 - Control de temperatura
 - Limpieza de instalaciones
 - Utilización de agentes antifúngicos cuando existe un riesgo previsible. Así el ácido propiónico inhibe el desarrollo de mohos bajando el pH y disminuyendo la formación de ATP por la vía del transporte de electrones, el cloruro de sodio juega sobre la presión osmótica de las células y disminuye la cantidad de agua libre de la paja, el amoníaco destruye la microflora global, pero de manera temporal.

Las medidas a aplicar pueden variar dependiendo de la micotoxina que se quiere controlar.

2.- Tratamientos limitantes de los efectos de las micotoxinas.

En un sentido más práctico, la contaminación por micotoxinas de los alimentos y los piensos pueden originarse de un inadecuado almacenaje y/o inadecuada manipulación de productos recolectados. Los métodos de prevención y control han sido señalados para mitigar la contaminación por micotoxinas de los piensos (HARRIS, 1997).

a. Métodos físicos.

Métodos como la selección y eliminación de granos contaminados, la búsqueda por fluorescencia de la presencia de micotoxinas producidas por *Aspergillus flavus* o de otros hongos, el lavado con agua o con carbonato de sodio permite reducir la concentración de toxinas de *Fusarium* sp. en el maíz, la inactivación térmica a altas temperaturas, la irradiación por UV, rayos X, rayos gamma o microondas, la extracción de las aflatoxinas por solventes han podido ser utilizadas (SCOTT, 1998).

Es importante que los tratantes de piensos y los operarios de los molinos mantengan los recipientes para el grano limpios y que almacenen el grano con menos del 14% de humedad. Los ingredientes del pienso deben de estar secos, libre de oxígeno, fermentados o tratados con inhibidores del crecimiento de mohos (HUSSEIN et al., 2001).

La adición de absorbentes a la ración (aluminosilicatos de sodio calcio hidratados (HSCAS), bentonitas y zeolitos) capaces de fijar las micotoxinas permite el reducir su biodisponibilidad en el organismo animal y limitar o disminuir así los riesgos ligados a la presencia de residuos en los productos animales destinados al consumo humano (RAMOS et al., 1996; DIAZ et al., 1999; DEVEGOWDA et al., 2000).

b. Métodos químicos.

Una variedad de agentes químicos tales como los ácidos, las bases (amoníaco, sosa), los agentes oxidantes (peróxido de hidrógeno, ozono), los agentes reductores (bisulfitos), los agentes clorados, el formaldehído son utilizados para degradar o biotransformar las micotoxinas y más concretamente las aflatoxinas (SCOTT, 1998).

La amoníación del maíz almacenado ha sido descrita por reducir sustancialmente (mayor del 99%) los niveles de AF por hidrólisis del anillo lactona (PHILLIPS et al., 1994). También ha sido probada su efectividad por reducir la toxicidad del OTA (MARQUARDT et al., 1992).

Recientemente, el papel potencial de los factores dietéticos para contrarrestar los efectos tóxicos de las micotoxinas han sido revisados (GALVANO et al., 2001). El papel de antioxidantes (selenio, vitaminas A, C y E, y etoxiquin) y aditivos alimentarios fueron evaluados. Los mecanismos de defensa antioxidante observados incluyen la eliminación de radicales libres, una reducción de la peroxidación lipídica reducida e inhibición general de los procesos mutagénicos.

c. Métodos microbiológicos.

Algunas bacterias lácticas, las propionilbacterias y las bifidobacterias poseen estructuras parietales capaces de unirse a las micotoxinas (AHOKAS et al., 1998, EL-NEMAZI et al., 1998 y YOON et al., 1999). *Flavobacterium aurantiacum* pueden fijar la AFB1 y volverla inactiva. Algunos microorganismos pueden igualmente metabolizar las micotoxinas (*Corynebacterium rubrum*) o las bioconvierte (*Rhizopus*, *Aspergillus*, *Eurotium*) (NAKAZATO et al., 1990). De todas formas, este fenómeno es en general lento y poco eficaz. Un acercamiento nuevo a este problema es el realizado por COTTY et al. (1994) que consiste en aislar dos cepas de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* no aflatoxigénicos en vista de una biocompetición. Estas cepas ocupan los mismos nichos ecológicos que las cepas toxicogénicas y disminuyen la contaminación de las plantas por los mohos aflatoxigénicos.

El glucomanano esterificado que sale de la parte externa de la pared de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es una alternativa recientemente descubierta con un alto potencial de unión a las micotoxinas debido a su gran superficie de intercambio o unión.

REGULACIONES DE MICOTOXINAS EN LOS ALIMENTOS Y PIENSOS.

Dado el daño potencial que las micotoxinas pueden ejercer sobre la salud humana y animal, y vista su posible relación con el cáncer, muchos países han establecido regulaciones para su control, aunque en la mayoría de los casos éstas se ocupan principalmente de las aflatoxinas. Algunas de estas reglamentaciones tienen rango de ley, mientras que otras tienen únicamente un carácter consultivo. Una encuesta encargada por la F.A.O. entre 1994-95 puso de manifiesto que al menos 77 países poseían alguna legislación específica para las micotoxinas, conociéndose que al menos 13 países no han promulgado ningún tipo de legislación al respecto y no poseyendo ninguna información de unos 40 países, principalmente del continente africano. Todos los países con legislación específica para alguna micotoxina tienen regulado, al menos el nivel máximo permisible de aflatoxinas en alimentos y piensos (SANCHIS et al., 2000). En 17 países existen también regulaciones específicas para otras micotoxinas, como el DON, DAS, fumonisinas, OTA, patulina, toxinas T-2 y HT-2, y ZEN (SANCHIS et al., 2000). Reglamentaciones existentes sobre las principales micotoxinas a escala mundial.

Micotoxinas	Nivel límite (m g/kg)	Tipo de alimentos	Países
Aflatoxinas B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	0-50	Alimentos consumo humano	77
	5-1000	Alimentos consumo animal	77
M ₁	0-1	Leche y derivados	17
DON	5-10.000	Trigo y piensos	5 ^a
Fumonisinias	1000	Maíz	Suiza
OTA	1-300	Cereales, café, piensos, Alimentos y riñones	11 ^b
Patulina	20-50	Zumo de manzana y derivados	12 ^c
Toxina HT-2	25-100	Piensos	Canadá
Toxina T-2	100	Cereales y harinas	Rusia e Israel
ZEN	30-1000	Alimentos (nueces, cereales y leguminosas)	6 ^d

a: Austria, Canadá, Rumania, Rusia y EEUU

b: Austria, Brasil, Chequia, Dinamarca, Francia, Grecia, Israel, Rumania, Suecia, Suiza y Uruguay

c: Austria, Chequia, Finlandia, Francia, Grecia, Israel, Noruega, Rumania, Rusia, Suecia, Suiza y Uruguay

d: Austria, Brasil, Francia, Rumania, Rusia y Uruguay

En la U.E. el nivel máximo admisible de aflatoxina B₁ en los alimentos para consumo humano está situado en 5 m g/kg, mientras que para la suma de las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ este nivel asciende a 10 m g/kg, el contenido máximo de aflatoxina B₁ en los piensos está situado entre 10 y 50 m g/kg, según su destino, y para los ingredientes para piensos no se pueden superar los 200 m g/kg (SANCHIS et al., 2000).

En España la reglamentación de micotoxinas viene regulada por el Real Decreto 747/2001, de 29 de junio, relativa a sustancias y productos indeseables en alimentación animal. Actualmente sólo se contemplan límites para la aflatoxina B₁ (ANTON et al., 2001). Ver tabla anexa.

Aflatoxina B₁ (µg/kg)

Materias primas destinadas a elaboración de piensos
Excepción cacahuete copra, palmiste, semilla algodón, maíz: 50
Sus derivados: 20
Alimentos completos:
▪ Bovinos, ovinos y caprino, excepto: 50
Ganado lechero: 5
terneros y corderos: 10
▪ Cerdos y aves corral: 20
▪ Otros piensos completos: 10
Alimentos Complementarios
▪ Bovinos, ovinos, caprinos (excepto ganado lechero): 50
▪ Cerdos y aves de corral: 30
▪ Otros: 5

Este Real Decreto ha sufrido 2 modificaciones:

- Orden de la Presidencia 1490/2002 de 13 de junio por el que se revisan los límites permitidos para las dioxinas.
- Real Decreto 354/02 del 12 de abril por el que se establecen los principios relativos a la organización de los controles oficiales en el ámbito de la alimentación animal.

Han de continuar internacionalmente esfuerzos para establecer las pautas para el control de micotoxinas. La FAO trabaja con los países en vías de desarrollo para mitigar la contaminación por micotoxinas en alimentos y piensos. Los programas de actividades de la FAO sobre mitigación de micotoxinas incluyen asesoramiento, ayuda técnica y la aplicación de niveles de tolerancia para las micotoxinas. En un papel de asesoramiento, la FAO ha trabajado junto con el Comité de Expertos sobre Aditivos Alimentarios y Contaminantes para asegurar un muestreo y análisis de AF correcto. La ayuda técnica se ha enfocado sobre el control y la prevención de micotoxinas y ha implicado la introducción de tecnologías post-recolección en países en vías de desarrollo (BOUTRIF, 1995).

BIBLIOGRAFÍA

- AHAMED, S.; FOSTER, J.S.; BUKOVSKY, A.; WIMALASENA, J. 2001. Signal transduction through the rats/Erk pathway is essential for the mycoestrogen zearalenone-induced cell-cycle progression in MCF-7 cells. *Mol. Carcinog.* 30, 88-98.
- AHOKAS, J.; EL-NEMAZI, H.; KANKAANPÄÄ, P.; MYKKÄNEN, H.; SALINEN, S. 1998. Apilot clinical study examining the ability of a mixture of *lactobacillus* and *propionibacterium* to remove aflatoxin from the gastrointestinal tract of Egyptian volunteers. *Revue Méd. Vét.* 149, 568.
- ANTON, A.; LISAZO, J. 2001. Hongos y micotoxinas. Fundación Iberica para la Seguridad Alimentaria. Tres Cantos (Madrid).
- ASAO, T.; BUCHI, G.; ABDEL-KADER, M.M.; CHANG, S.B.; WICK, E.L.; WOGAN, G.N. 1963. Aflatoxins B and G. *Am. Chem. Soc.* 85, 1706-1707.
- BAILEY, G.S. 1994. Role of aflatoxin-DNA adducts in the cancer process. In: Eaton, D.L.; Groopman, J.D. (Eds). *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural significance.* Academic Press, San Diego, pp. 137-148.
- BETINA, V., 1984. Biological effects of mycotoxins. In: Betina, V. (Ed). *Mycotoxins-Production, Isolation, Separation and Purification.* Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp.25-36.
- BONSI, P.; AGUSTI-TOCCO, G.; PALMERY, M.; GIORGI, M. 1999. Aflatoxin B₁ is and inhibitor of cyclic nucleotide phosphodiesterase activity. *Gen. Pharmacol.* 32, 615-619.
- BOUTRIF, E. 1995. F.A.O. programmes for prevention, regulation, and control of mycotoxins in foods. *Natural Toxins*, 3, 322-326.
- CALONI, F.; SPOTTI, M.; AUERBACH, H.; OP DEN CAMP, H.; GRIMMELS, J.F.; POMPA, G. 2000. In vitro metabolism of fumonilin b1 by ruminal microflora. *Vet. Res. Commun.* 24, 379-387.
- CARLTON, W.W.; TUIITE, J., 1977. Metabolites of *P. viridicatum* toxicology. In: Rodricks, J.V.; Hesselstine, C.W.; Mehlman, M. A. (Eds). *Mycotoxins in Human and Animal Health.* Pathotox, Park Forest South, pp.525-541.
- CARNAGHAN, R.B.A.; HARTLEY, R.D.; O'KELLY, J. 1963. Toxicity and fluorescence properties of the aflatoxins. *Nature* 200, 1101-1102.
- CHEEKE, P.R. 1998_a. Mycotoxins in cereal grains and supplements. In: Cheeke, P.R. (Ed). *Natural Toxicants in Feeds, Forages, and Poisonous Plants.* Interstate Publisher, Danville, pp. 87-136.
- CHEEKE, P.R. 1998_b. Mycotoxins associated with forages. In: Cheeke, P.R. (Ed). *Natural Toxicants in Feeds, Forages, and Poisonous Plants.* Interstate Publisher, Danville, pp. 243-274.
- CHEN, L.Y.; TIAN, X.L.; YANG, B. 1990. A study on the inhibition of rat myocardium glutathione peroxidase and glutathione reductase by moniliformin. *Mycopathologia* 110, 119-124.
- CIEGLER A., BECKWITH, A.C.; JACKSON, L.K. 1976. Teratogenicity of patulin and patulin adducts with cysteine. *Appl. Environ. Microbiol.* 31, 664-667.
- COLE, R.J.; COX, R.H.; 1981. *Handbook of Toxic and Fungal Metabolites.* Academic Press, New York.
- COTTY P.J.; BHATNAGAR, D. 1994. Variability among atoxigenic *Aspergillus flavus* strains to prevent aflatoxin contamination and production of aflatoxin biosynthetic pathway enzymes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 2248-2251.
- DEVEGOWDA, G.; CASTALDO, D. 2000. Mycotoxins: hidden killers in pet foods. Is there a solution?. In: Technical Symposium on Mycotoxins. Alltech, Nicholasville.
- DIAZ, D.E.; HAGLER, W.M.; HOPKINS, B.A.; EVE, J.A.; WHITLOW, L.W. 1999. The potential for dietary sequestering agents to reduce the transmission of dietary aflatoxin to milk of dairy cows and to bind aflatoxin in vitro. *J. Dairy Sci.*, 82 (suppl.1), 838.
- DIEKMAN, M.A.; GREEN, M.L. 1992. Mycotoxins and reproduction in domestic livestock. *J. Anim. Sci.*, 70, 1616-1627.
- D'MELLO, J.P.F.; MacDONALD, A.M.C. 1997. Mycotoxins. *Anim. Feed Sci. technol.* 69, 155-166.
- DORRENHAUS, A.; FLIEGER, A.; GOLKA, K.; SCHULZE, H.; ALBRECHT, M.; DEGEN, G.H.; FOLLMAN, W.; 2000. Induction of unscheduled DNA synthesis in primary human urothelial cells by the mycotoxin ochratoxin A. *Toxicol. Sci.* 53, 271-277.
- EL-NEMAZI, H.; KANKAANPAA, P.; SALMINEN, S.; AHOKAS, J. 1998. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B1. *Food Chem. Toxicol.* 36, 321-326.
- FOSTER, P.L.; EISENSTADT, E.; MILLER, J.H. 1983. Base substitution mutations induced by metabolically activated aflatoxin B₁. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 80, 2695-2698.
- GALVANO, F.; PIVA, A.; RITIENI, A.; GALVANO, G. 2001. Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. *J. Food Prot.* 64, 120-131.

V.; DANDER, M.; SCHRAMEK, H. 2000. Ochratoxin A induces JNK activation and apoptosis in MDCK cells at nanomolar concentrations. *J. pharmacol. Exp. Ther.* 293, 837-844.

GELDERBLUM, W.C. JASKIEWICZ, K.; MARASAS, W.F.; THIEL, P.G.; HORAK, R.M.; VLEGGAR, R.; KRIEK, N. P. 1988. Fumonisin novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 1086-1811.

GUZMAN, R.E.; CASTEEL, S.W.; 1994. Fumonisin mycotoxins: their origin and effects on livestock. *Prof. Anim. Sci.* 10,124-129.

HARRIS, B. Jr. 1997. Minimizing mycotoxin problems. *Feed Manag.* 48, 27-28.

HARRISON, L.R.; COLVIN, B.M.; GREENE, J.T.; NEWMAN, L.E.; COLE, J.R. 1990. Pulmonary edema and hydrotorx in swine produced by fumonisin B₁, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2, 217-221.

HUANG, C.; DICKMAN, M.; HENDERSON, G.; JONES, C. 1995. Repression of protein kinase C and stimulation of cyclic AMP response elements by fumonisin, a fungal encoded toxin which is a carcinogen. *Cancer Res.* 55, 1655-1659.

HUSSEIN, S.H.; BRASEL, J.M. 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 101-134.

JONES, E.R.H.; LOWE, G. 1960. The biogenesis of tricothecene. *Chem. Soc. J.* 63, 3959-3962.

KIESSLING, K.H.; PETTERSSON, H.; SANDHOLM, K.; OLSEN, M. 1984. Metabolism of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, and three tricothecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa, and rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 47, 1070-1073.

KOLB, E. 1984. Recent knowledge on the mechanism of action and metabolism of mycotoxins. *Z. Gesamte. Inn. Med.* 39, 353-358.

KROGH, P. 1978. Causal association of mycotoxic nephropathy. *Acta Pathol. et Microbiol. Scand.* 269, 1S-28S.

LANZA, G.M.; WASHBURN, K. W.; WYATT, R.D. 1980. Variation with age in response of broilers to aflatoxin. *Poult. Sci.* 59, 282-288.

LE BARS, J.; LE BARS, P.1998. Strategy for safe use of fungi and fungal derivaters in food processing. *Revue Méd. Vét.* 149, 6, 493-500.

LIAO, L.L.; GROLLMAN, A. P.; HORWITZ, S.B. 1976. Mechanism of action of the 12,13-epoxytricothecene, anguidine, an inhibitor of protein synthesis. *Biochim. Biophys. Acta* 454, 273-284.

LILLEHOJ, E. B. 1991. Aflatoxin: an ecologically elicited activation signal. In: Smith, J.E.; ANDERSON, R.A. (Eds.). *Mycotoxins and Animal Foods*. CRC Press, Boca Raton, pp. 119-139.

MANNING, R.O.; WYATT, R.D. 1984. Effect of cold acclimation of broiler chicks on susceptibility to acute aflatoxicosis. *Poult. Sci.* 63, 24S.

MANTLE, P.G.; 1983. Amino acid neurotransmitter release from cerebrocortical synaptosomes of sheep with severe ryegrass staggers in New Zealand. *Res. Vet. Sci.* 34, 373-375.

MARASAS, W.F.O. 1991. Toxicogenic Fusaria. In: Smith, J.E.; Anderson, R.A. (Eds.). *Mycotoxins and Animal Foods*. CRC Press, Boca Raton, pp 119-139.

MARASAS, W.F.; KELLERMAN, T.S.; GELDERBLUM, W.C.; COETZER, J.A.; THIEL, P.G.; VAN DER LUGT, J.J. 1988. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B₁ isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 55, 197-203.

MARQUARDT, R.R.; FROLICH, A.A. 1992. A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. *J. Anim. Sci.* 70, 3968-3988.

MCLEAY, L.M.; SMITH, B.L.; MUNDAY-FINCH, SC. 1999. Tremorgenic mycotoxins paxiline, penitrem and lolitrem b, the non-tremorgenic 31-epilolitre B and electromyographic activity of the reticulum and rumen of sheep. *Res. Vet. Sci.* 66, 119-127.

MEISNER, H; CHAN, S. 1974. Ochratoxin A, an inhibitor of mitochondrial electron transport systems. *Biochemistry* 13, 2795-2800.

MILES, C.O.; WILKINS, A.L.; GALLAGHER, R.T. HAWKES, A.D., MUNDAY, S.C.T.N.R., 1992. Synthesis and tremorgenicity of paxitrols and lolitrol: possible biosynthetic precursors of lolitrem B. *J. Agric. Food Chem.* 40, 234-236.

NAKAZATO, M; MORIZUMI, S.; SAITO, K; FUJINUMA, K.; NISHIMA, T., KASAI, N. 1990. Interconversion of aflatoxin b₁ and aflatoxicol by several fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1465-1470.

PHILLIPS, T.D.; CLEMENT, B.A.; PARK, D.L. 1994. Approaches to reduction of aflatoxin. In: Eaton, D.L.; Groopman, J.L. (Eds.). *The toxicology of Aflatoxins*. Academic Press, San Diego, pp. 365-381.

PITTET, A. 1998. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds. An update review. *Revue Méd. Vét.* 149, 6, 479-492.

PRICE, W.D.; RANDALL, R.A.; MCCHESENEY, D.G. 1993. Naturally occurring toxins in feedstuffs: Center for Veterinary Medicine perspective. *J. Anim. Sci.* 71, 2556-2562.

RAMLJAK, D; CALVERT, R.J; WIESENFELD, P.W.; DIWAN, B.A.; CATIPOVIC, b.; MARASAS, W.F.; VICTOR, T.C.; ANDERSON, L.M.; GELDERBLUM, W.C. 2000. A potential mechanism for fumonisin B₁-mediated hepatocarcinogenesis: cyclin D1 stabilization associated with activation of Akt and inhibition of GSK-3beta activity. *Carcinogenesis* 21, 1537-1546.

RAMOS, J.J.; FERNANDEZ, A.; SAEZ, T.; SANZ, M.C.; MARCA, M.C. 1996. Effect of aflatoxicosis on blood mineral constituents of growing lambs. *Small Ruminant Res.* 21, 233-238.

SANCHIS, V.; MARIN, S.; RAMOS, A.J. 2000. Control de micotoxinas emergentes. Situación legislativa actual. *Rev. Iberoam. Micol.* 17, S69-S75.

SARGEANT, K.C.R.B.A.A.R. 1963. Chemistry and origin of aflatoxins, *Chemical Ind London*, 53-55.

SCOTT, P.M. 1998. Industrial and farm detoxification processes for mycotoxins. *Revue Méd. Vét.* 149, 543-548.

SCHWERDT, G.; FREUDINGER, R.; MILDENBERGER, S.; SILBERMAGL, S.; GEKLE, M. 1999. The nephrotoxin ochratoxin A induces apoptosis in cultured human proximal tubule cells. *Cell Biol. Toxicol.* 15, 405-415.

SHANE, S.H. 1994. Economic issues associated with aflatoxins. In: Eaton, D.L.; Groopman, J.D. (Eds.). *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. Academic Press, San Diego, pp. 513-527.

SHEN, H.M.; ONG, C.N.; SHI, C.Y. 1995. Involvement of reactive oxygen species in aflatoxin B₁-induced cell injury in cultured rat hepatocytes. *Toxicology* 99, 115-123.

SILVESTRINI, F.; LIUZZI, A.; CHIODINI, P.G. 1978. Effect of ergot alkaloids on growth hormone and prolactin secretion in humans. *Pharmacology* 16, 78S-87S.

SMITH, J.E.; ROSS, K. 1991. The toxigenic Aspergilli. In: Smith, J.E.; ANDERSON, R.A. (Eds.). Mycotoxins and Animal Foods. CRC Press, Boca Raton, pp.101-118.

TAMM, C; BREITENSTEIN, W. 1984. The biosynthesis of mycotoxins. In: Stein, P.S. (Eds.). Mycotoxins: A study in Secondary Metabolism. Academic Press, New York, pp. 69-91.

TRENHOLM, H.L.; FRIEND, D.W.; HAMILTON, R.M.G.; THOMPSON, B.K. 1986. Incidence and toxicology of deoxynivalenol as an emerging mycotoxin problem. In: Proc. VI International Conf. on the Mycoses. Pan American Health Organization, Washington.

UENO, Y; YAMAKAWA, H.; 1970. Cytotoxicity of tricothecenes. Jpn. J. Exp. Med. 40, 385-390.

VAN DER MERWE, K.J.; STEYN, P.S.; FOURIE, L.; SCOOT, D.B.; THERON, J.J.; 1965. Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh. Nature 205, 112-113.

WANG, E.; ROSS, F.P.; WILSON, T.M.; RILEY, R.T.; MERRILL, A.H.Jr. 1992. Increases in serum sphingosine and sphinganine and decreases in complex sphingolipids in ponies given feed containing fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. J. Nutr. 122, 1706-1716.

WEI, Y.H.; LU, C.Y.; LIN, T.N.; WEI, R.D. 1985. Effect of ochratoxin A on rat liver mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation. Toxicology 36, 119-130.

WITHANAGE, G.S.; MURATA, H.; KOYAMA, T.; ISHIWATA, I. 2001. Agonistic and antagonistic effects of zearalenone, an estrogenic mycotoxin, on SKN, HHUA, and HepG2 human cancer cell lines. Vet. Hum. Toxicol. 43, 6-10.

WOGAN, G.N.; 1966. Chemical nature and biological effects of the aflatoxins. Bacteriol. Rev. 2, 460-470.

XIAO, H.; SRINIVASA, M.; MARQUARDT, R.R.; LI, S.; VODELA, J.K; FROHLICH, A.A.; KEMPPAINEN, b.w. 1996. Toxicity of ochratoxin A, its opened lactone form, and several of its analogs: structure-activity relationships. Toxicol. Appl. Pharmacol. 137, 182-192.

YIANNIKOURIS, A.; JOUANY, J.P. 2002. Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal. INRA Prod. Anim. 15 (1), 3-16.

YOON, Y.; BAECK, Y.J. 1999. Aflatoxin binding and antimutagenic activities of *bifidobacterium bifidum* HY strains and their genotypes. Korean J. Dairy Sci. 21, 291-298.